目次

略号一覧.....2
2.6.6 毒性試験の概要文.....4
2.6.6.1 まとめ.....4
2.6.6.2 単回投与毒性試験.....9
2.6.6.3 反復投与毒性試験.....16
2.6.6.4 遺伝毒性試験.....45
2.6.6.5 がん原性試験.....48
2.6.6.6 生殖発生毒性試験.....59
2.6.6.7 局所刺激性試験.....71
2.6.6.8 その他の毒性試験.....73
2.6.6.9 考察及び結論.....82
2.6.6.10 図表.....91

略号一覧

略号	説明
2AA	2-aminoanthracene：2-アミノアントラセン
9AA	9-aminoacridine： 9-アミノアクリジン
2NF	2-nitrofluorene：2-ニトロフルオレン
ABASO	absolute basophils：好塩基球数
AEOS	absolute eosinophils：好酸球数
A/G	albumin/globulin ratio：アルブミン/グロブリン比
ALB	albumin：アルブミン
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALYM	absolute lymphocytes：リンパ球数
ANEU	absolute neutrophils：好中球数
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the plasma concentration-time curve from 0 to the last measurable point：0 時間から最終測定時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}tau}$	area under the plasma concentration-time curve from 0 to tau：0 時間から t 時間まで（投与間隔ごと）の血漿中濃度－時間曲線下面積
BUN	blood urea nitrogen：血液尿素窒素
Ca^{++}	calcium ion：カルシウムイオン
CD	Ceasarean Derived：チャールス・リバー株式会社の SD ラットの系統名
CHOL	cholesterol：コレステロール
Cl^{-}	chloride ion：塩素イオン
C_{max}	maximum observed plasma concentration：最大血漿中濃度
CP	cyclophosphamide：シクロフォスファミド
CPN	chronic progressive nephropathy：慢性進行性腎症
CREAT	creatinine：クレアチニン
DMSO	dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
F_1, F_2	Final generation：第 1 世代、第 2 世代
FDA	Food and Drug Administration：アメリカ食品医薬品局
GD	gestational day：妊娠日数
Glob	globulin：グロブリン
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
GLU	glucose：グルコース
HCT	hematocrit：ヘマトクリット値
HGB	hemoglobin concentration：ヘモグロビン濃度

略号	説明
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
ICR	Institute of Cancer Research：マウスの系統名
JW	Japanese white：日本白色種（ウサギの品種名）
K^+	potassium ion：カリウムイオン
KOR	kappa opioid receptor：カッパ（κ）オピオイド受容体
MCH	mean corpuscular hemoglobin：平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	mean corpuscular volume：平均赤血球容積
MMC	mitomycin C：マイトマイシン C
MMS	methyl methanesulphonate：メタンスルホン酸メチル
MPV	mean platelet volume：平均血小板容積
MPCE	micronucleated polychromatic erythrocyte：小核を有する多染性赤血球
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
Na^+	sodium ion：ナトリムイオン
NC	not calculated：算出できず
ND	not detected：検出されず
NaN_3	sodium azide：アジ化ナトリウム
NZW	New Zealand White：ニュージーランドホワイト種（ウサギの品種名）
PAS	periodic acid Schiff：過ヨウ素酸シッフ
PCE	polychromatic erythrocyte：多染性赤血球
PHOS	phosphorus：無機リン
PLT	platelet count：血小板数
RBC	erythrocyte count：赤血球数
SD	Sprague-Dawley 又は standard deviation：ラットの系統名又は標準偏差
SPF	Specific Pathogen Free：特定の病原微生物がいない動物
$T_{1/2}$	elimination half-life at terminal phase：消失半減期
TDAR	T-cell dependent antibody response：T 細胞依存性抗体産生
TG	transgenic：トランスジェニック
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
TP	total Protein：総タンパク質
TRIG	triglycerides トリグリセリド
WBC	white blood cells count：白血球数

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

新有効成分医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な試験を医薬品規制調和国際会議（以下、ICH）M3（R2）ガイドライン及びその他安全性評価に関する ICH ガイドラインに従って実施した。ジフェリケファリン酢酸塩（米国開発コード名：CR845、国内開発コード名：MR13A9。以下、ジフェリケファリンと表記。また、投与量、*in vitro* の設定濃度及び測定濃度は、遊離塩基として表記した。）の毒性試験として、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、依存性試験及び局所刺激性試験を実施した。ジフェリケファリンの毒性試験一覧（表 2.6.6.1- 1 参照）に示した。

また、本試験における適切な用量設定のため、ラット及びサルを用いた反復投与用量設定試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験の用量設定試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験を非 GLP 又は GLP 下で実施した。

反復投与毒性試験はラット及びサルにジフェリケファリンを 1 日 1 回、4 週間、13 週間及び 26 週間又は 39 週間反復静脈内投与した。遺伝毒性試験は標準的な組合せとして、細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）、ほ乳類培養細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験（ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験）及び *in vivo* 染色体損傷試験（マウス小核試験）で評価した。がん原性試験は、ラットを用いた 2 年間反復皮下投与がん原性試験及び TG マウスを用いた 26 週間反復皮下投与がん原性試験を実施した。生殖発生毒性試験は、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生への影響に関する試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生ならびに母動物機能に関する試験を実施した。ジフェリケファリン製剤のヒト静脈内投与時に血管外への漏出時の安全性を検討するため、局所刺激性試験はウサギを用いて血管周囲皮下に単回投与した。また、米国でジフェリケファリンの経口製剤開発のため、ヒト経口投与時における安全性の検討として、ラットへの経口投与による拡張型単回投与毒性試験、4 週間反復投与毒性試験及び 26 週間反復投与毒性試験を行った。以上の試験はすべて GLP 下で実施した。

その他の毒性試験として、非 GLP 下でラットを用いた依存性試験を実施した。

表 2.6.6.1- 1　ジフェリケファリンの毒性試験一覧

試験の種類及び期間	投与経路/処理	動物種	被験物質	GLP 適用
単回投与毒性試験				
単回	静脈内	マウス	原薬	適用
単回	静脈内	ラット	原薬	非適用
単回（拡張型）	経口	ラット	原薬	適用
単回	静脈内	サル	原薬	非適用

表 2.6.6.1- 1　ジフェリケファリンの毒性試験一覧（続き）

試験の種類及び期間	投与経路/処理	動物種	被験物質	GLP 適用
反復投与毒性試験				
4 週間	静脈内	ラット	原薬	適用
13 週間	静脈内	ラット	原薬	適用
26 週間	静脈内	ラット	原薬	適用
4 週間	経口	ラット	原薬	適用
26 週間	経口	ラット	原薬	適用
4 週間	静脈内	サル	原薬	適用
13 週間	静脈内	サル	原薬	適用
39 週間（国内実施）	静脈内	サル	原薬	適用
39 週間（米国実施）	静脈内	サル	原薬	適用
遺伝毒性試験				
復帰突然変異試験	*in vitro*	*S.typhimurium*、*E.coli*	原薬	適用
染色体異常試験	*in vitro*	ヒト末梢血リンパ球	原薬	適用
小核試験	静脈内	マウス	原薬	適用
がん原性試験				
26 週間（用量設定試験）	皮下	ラット	原薬	適用
2 年間	皮下	ラット	原薬	適用
4 週間（用量設定試験）	皮下	マウス	原薬	適用
26 週間	皮下	マウス	原薬	適用
生殖発生毒性試験				
受胎能及び初期胚発生	静脈内	ラット	原薬	適用
胚・胎児発生	静脈内	ラット	原薬	適用
胚・胎児発生	静脈内	ウサギ	原薬	適用
出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能	静脈内	ラット	原薬	適用
局所刺激性試験				
血管周囲刺激性試験	皮下	ウサギ	製剤	適用
その他の毒性試験				
依存性試験				
場所嗜好性/嫌悪性試験	静脈内	ラット	原薬	非適用
薬物自己投与試験	静脈内	ラット	原薬	非適用
薬物弁別試験	静脈内	ラット	原薬	非適用
身体依存性試験	静脈内	ラット	原薬	非適用

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

ジフェリケファリンを静脈内投与した時の概略の致死量は、マウスでは雌雄とも 200 mg/kg、ラットでは雌雄とも 100 mg/kg 超、サルでは雌雄とも 16 mg/kg 超であった。

ラット拡張型単回経口投与毒性試験では、雌雄とも 2000 mg/kg まで良好な忍容性を示し、無毒性量は雄で 500 mg/kg、雌で 2000 mg/kg であった。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0、1、5、25 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。1 mg/kg/day 以上で体重及び摂餌量の減少、5 mg/kg/day 以上で活性低下がみられた。25 mg/kg/day において、剖検では精巣上体及び精巣の矮小、病理組織学的検査では精巣上体管腔内に細胞片及び精巣の精細管の胚上皮の変性がみられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 5 mg/kg/day と考えられた。

ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0、0.25、2.5、25 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で、自発運動の減少、よろめき歩行、前肢の外転、体重及び摂餌量の減少、2.5 mg/kg/day 以上で尿量の減少がみられたが、いずれも投与初期に認められた一過性の変化であった。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg/day と考えられた。

ラット 26 週間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0、0.25、2.5、25 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で自発運動の減少、2.5 mg/kg/day 以上でよろめき歩行、前肢の外転がみられた。0.25 mg/kg/day 以上で体重及び摂餌量の減少がみられた。以上の変化はいずれも投与初期に認められた一過性の変化であった。病理組織学的検査では 25 mg/kg/day の雄で両側性に精巣の精細管の萎縮、精巣上体管腔内に細胞残屑が認められた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雄が 2.5 mg/kg/day、雌が 25 mg/kg/day と考えられた。

ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（投与量：0、10、50、250 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。50 mg/kg/day 以上で活性低下、半眼、体重及び摂餌量の減少がみられ、雌では猫背姿勢もみられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 250 mg/kg/day と考えられた。

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験（投与量：0、10、50、250 mg/kg/day）では、いずれの群においてもジフェリケファリンに関連した死亡例はみられなかった。50 mg/kg/day 以上で活性低下、半眼、体重及び摂餌量の減少が、250 mg/kg/day で立毛、猫背姿勢がみられたが、いずれも投与初期に認められた一過性の変化であった。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 250 mg/kg/day と考えられた。

サル 4 週間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0、0.25、1、4 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で嗜眠、猫背姿勢が、1 mg/kg/day 以上で体重の減少がみられた。器官重量では 0.25 mg/kg/day 以上で胸腺、甲状腺、上皮小体（雌）、

卵巣及び子宮重量の減少がみられ、病理組織学的検査では胸腺及び脾臓でリンパ球枯渇がみられたが、甲状腺、上皮小体、卵巣あるいは子宮には変化はみられなかった。また、投与部位の変化（急性及び慢性炎症、線維化、血管壁の再生/変性、出血及び壊死）は、対照群でもみられ、1 mg/kg/day 以上でその発現頻度は増加したが、回復性試験においては 4 mg/kg/day と対照群の変化はほぼ同等であった。無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg/day と考えられた。

サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0、0.06、0.25、1 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で鎮静、傾眠、自発運動減少、口腔粘膜蒼白及び嘔吐、1 mg/kg/day で体重の減少、0.06 mg/kg/day 以上で摂餌量及び尿量の減少がみられたが、いずれも投与初期に認められた一過性の変化であった。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day と考えられた。

サル 39 週間反復静脈内投与毒性試験（国内実施、投与量：0、0.06、0.25、1 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で鎮静、傾眠、自発運動減少、嘔吐、1 mg/kg/day の雄で嗜眠がみられた。0.25 mg/kg/day 以上で摂餌量の減少、0.06 mg/kg/day 以上で尿量の減少がみられた。いずれも投与初期に認められた一過性の変化であった。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day と考えられた。

サル 39 週間反復静脈内投与毒性試験（米国実施、投与量：0、0.06、0.25、1 mg/kg/day）では、0.25 mg/kg/day の雄 1 例で後肢廃用のため投与 9 日に、1 mg/kg/day の雌 1 例で体重減少及び中等度の腹部腫大のため投与 253 日に切迫屠殺を行った。0.25 mg/kg/day の雄 1 例は病理組織学的検査により投与前から継続した慢性変化と推察されたことからジフェリケファリンに関連しない変化であったと考えられたが、1 mg/kg/day の雌 1 例はジフェリケファリンとの関連性はわからなかった。0.06 mg/kg/day 以上で活性低下、半眼、猫背姿勢、瞳孔散大などが、0.25 mg/kg/day 以上で非協調性行動の症状がみられたが、いずれも投与初期に認められた一過性の変化であった。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞（ヒト末梢血リンパ球）を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を実施した。いずれの試験においても遺伝毒性を示唆する結果は得られなかった。

2.6.6.1.4 がん原性試験

ラット 2 年間反復皮下投与がん原性試験（投与量：0、0.25、0.5、1 mg/kg/day）では、生存率は雌雄ともに各群ともほぼ同様であり、統計学的有意差は認められなかった。一般状態では、雌雄の 0.25 mg/kg/day 以上で活性低下がみられた。病理組織学的検査において、腫瘍性病変及び非腫瘍性病変ともにジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。ジフェリケファリンはラットに対してがん原性を示さなかった。

TG マウス 26 週間反復皮下投与がん原性試験（投与量：0、3、10、30 mg/kg/day）では、いずれの群においてもジフェリケファリンに関連した死亡例はみられなかった。一般状態では、3 mg/kg/day 以上で自発運動の減少、浅速呼吸及びよろめき歩行が、10 mg/kg/day 以上で腹臥位及び呼吸困難がみられ、これらの症状は投与 7 日までみられた。体重及び体重増加率は雌雄ともに対照群と比べて高値であった。病理組織学的検査において、腫瘍性病変及び非腫瘍性病変ともジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。ジフェリケファリンは TG マウスに対してがん原性を示さなかった。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（投与量：0、0.25、2.5、25 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上の雌雄で自発運動の減少、体重の減少、摂餌量の減少などがみられた。交配前投与では 2.5 mg/kg/day 以上の雌で性周期発情休止期の延長がみられ、0.25 mg/kg/day 以上の雌で性周期回数が対照群と比較して有意に減少した。親動物に対する一般毒性学的な無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg/day、生殖機能の無毒性量は雄で 25 mg/kg/day、雌で 0.25 mg/kg/day、初期胚発生に対する無毒性量は 25 mg/kg/day と考えられた。

ラット胚・胎児発生に関する試験（投与量：0、0.25、2.5、25 mg/kg/day）では、いずれの群においてもジフェリケファリンに関連した死亡例はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で自発運動の減少、体重増加量及び摂餌量の減少などがみられた。母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 0.25 mg/kg/day 未満、母動物の生殖機能及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 25 mg/kg/day と考えられ、催奇形性は認められなかった。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験（投与量：0、0.025、0.05、0.1 mg/kg/day）では、0.1 mg/kg/day で 1 例が妊娠 16 日に死亡、妊娠 23 日に 1 例が流産したため安楽死させた。0.05 mg/kg/day 以上で痩身、軽度の脱水などがみられた。0.05 mg/kg/day 以上で体重増加量の低値及び 0.025 mg/kg/day 以上で摂餌量の減少などがみられた。0.1 mg/kg/day で妊娠動物数が対照群と比較して減少していたが、剖検ではいずれの群の妊娠動物及び非妊娠動物においてもジフェリケファリンに関連したと考えられる異常はみられなかった。ジフェリケファリンの母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 0.025 mg/kg/day 未満、母動物の生殖機能は 0.05 mg/kg/day、胚・胎児発生に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/day と考えられ、催奇形性は認められなかった。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（投与量：0、0.6、2.5、10 mg/kg/day）では、いずれの群においても死亡例はみられなかった。0.6 mg/kg/day 以上で自発運動の減少、体重増加量及び摂餌量の減少などがみられたが、母動物の妊娠期間、同腹児数、生存児数、分娩時症状観察及び剖検において、ジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。出生児（F_1）及び胎児（F_2）においても異常はみられなかった。母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 0.6 mg/kg/day、生殖機能に関する無毒性量は 10 mg/kg/day、出生児の発育・生殖機能に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

2.6.6.1.6 局所刺激性試験

0.1 及び 10 mg/mL の MR13A9（ジフェリケファリン製剤、遊離塩基濃度として表記した。）をウサギ耳介静脈周囲皮下に単回投与し、血管周囲刺激性について検討した。0.1 及び 10 mg/mL の製剤はいずれも軽度の血管周囲刺激性が認められた。

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

依存性試験において、ジフェリケファリンをラットに静脈内投与したときに、報酬及び強化効果は認められず、自覚効果は低レベルであった。また、ジフェリケファリン長期投与による耐性や感作は認められず、退薬症状及び身体依存性も認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

表 2.6.6.2- 1　単回投与毒性試験概略

動物種	動物数／群	投与方法	投与量（mg/kg）	概略の致死量 （無毒性量）
マウス	♂：3　♀：3	静脈内	50、100、200	200mg/kg
ラット	♂：3　♀：3	静脈内	50、75、100	＞100mg/kg
ラット	♂：15　♀：15	経口	0、100、500、2000	（♂500mg/kg） （♀2000mg/kg）
サル	♂：2　♀：2	静脈内	0.5、1、2、4、8、16	＞16mg/kg

2.6.6.2.1 マウスにおける単回静脈内投与毒性試験（試験番号：CR845-TOX054）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.1-1 参照

ジフェリケファリンを生理食塩液に溶解し、50、100 及び 200 mg/kg の用量を 10 mL/kg で、6～8 週齢の ICR マウス各群雌雄各 3 例（雄 30.6～33.7 g、雌 25.4～27.7 g）に単回静脈内投与した。

200 mg/kg の雌雄全例で投与後 30 分以内に死亡例がみられ、50 及び 100 mg/kg の雌雄全例で立毛及び虚脱がみられた。また、50 mg/kg の雄全例及び雌 1 例、100 mg/kg の雄全例及び雌 2 例に嗜眠がみられた。

以上の結果、概略の致死量は雌雄とも 200 mg/kg と考えられた。

表 2.6.6.2.1- 1　マウスにおける単回静脈内投与毒性試験の成績

動物種（系統、週齢）	投与経路	性	投与量（mg/kg）	死亡数/動物数	成績	
					概略の致死量（mg/kg）	特記所見
マウス（ICR、6～8 週齢）	静脈内 1)	♂	50	0/3	200	50、100mg/kg：立毛、虚脱、嗜眠 200mg/kg：投与後 30 分以内に全例死亡
			100	0/3		
			200	3/3		
		♀	50	0/3	200	
			100	0/3		
			200	3/3		

1）10mL/kg の投与容量で静脈内投与した。

2.6.6.2.2 ラットにおける単回静脈内投与毒性試験（試験番号：CR845-TOX042）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.1-2 参照

ジフェリケファリンを生理食塩液に溶解し、50、75 及び 100 mg/kg の用量を 1 mL/kg で、8 週齢の SD ラット各群雌雄各 3 例（体重：雄 259.5～288.8 g、雌 214.4～245.2 g）に単回静脈内投与した。

いずれの群においても死亡例はみられなかった。すべての投与群において全例で投与後約 5～10 分から嗜眠がみられ、投与後 1～2 時間までに消失した。75 及び 100 mg/kg で投与後 2～4 日に身づくろい不足によると考えられる尿による汚れ、眼周囲にポルフィリンと考えられる乾燥赤色物及び発声がみられた。雄ではいずれの投与群においても摂餌量の減少に伴った体重増加の抑制がみられたが、雌では体重及び摂餌量に減少はみられなかった。

以上の結果、概略の致死量は雌雄とも 100 mg/kg 超と考えられた。

表 2.6.6.2.2- 1　ラットにおける単回静脈内投与毒性試験の成績

動物種（系統、週齢）	投与経路	性	投与量（mg/kg）	死亡数/動物数	成 績	
					概略の致死量（mg/kg）	特記所見
ラット（SD、8 週齢）	静脈内 1)	♂	50	0/3	＞100	一般状態：50mg/kg 以上で嗜眠、75mg/kg 以上で尿による汚れ、眼周囲に乾燥した赤色物質、発声 体重：50mg/kg 以上で減少（♂） 摂餌量：50mg/kg 以上で減少（♂）
			75	0/3		
			100	0/3		
		♀	50	0/3	＞100	
			75	0/3		
			100	0/3		

1）1 mL/kg の投与容量で 5 分間持続静脈内投与した

2.6.6.2.3 ラットにおける拡張型単回経口投与毒性試験（試験番号：CR845-TOX202）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.1-3 参照

ジフェリケファリン（100、500 及び 2000 mg/kg）又は媒体（対照群、0 mg/kg、蒸留水）を SD ラットに単回強制経口投与した。動物は、各群とも雌雄各 15 例とし、うち 10 例は投与翌日（投与後 2 日）に屠殺し、残り 5 例は 2 週間の回復期間を設け、回復期間終了翌日（投与後 15 日）に屠殺し、毒性を検討した。また、トキシコキネティクス用動物として、対照群は雌雄 3 例ずつ、ジフェリケファリン群は雌雄各群 6 例ずつ設けた。

試験期間を通して、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、雌雄の 100 mg/kg 以上で嗜眠、活性低下などが用量依存的にみられたが、投与後 8 又は 24 時間（投与後 2 日）には回復した。また、投与後 2 日の観察で 100 mg/kg 以上に肛門性器の汚れ、色素涙がみられ、2000 mg/kg の雌雄で下痢（水様便/未形成便）がみられた。体重は投与後 8 及び 14 日に雄の 2000 mg/kg で減少し、摂餌量は投与後 8 日に雄の 100 mg/kg 以上で減少した。血液学的検査及び血液生化学的検査では、投与後 2 日において 100 mg/kg 以上で赤血球、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血液尿素窒素、クレアチニン、総タンパク質、ナトリウム、塩素、カルシウムの増加などがみられた。これらの変化は、KOR アゴニストの利尿作用により尿量増加（水分損失）を引き起こすことが知られており [1]、ジフェリケファリンによる体液消失（脱水）によるものと考えられた。脱水はストレス的変化を起こす可能性があり、100 mg/kg 以上ではリンパ球の減少と好中球の増加、並びに関連する血液生化学的検査の変化（グルコース、コレステロール、トリグリセリドの増加）が認められた。雄の 500 mg/kg 以上でみられたナトリウム及び雌の 2000 mg/kg でみられたナトリウム及び塩素の僅かな上昇以外のすべての値は投与後 15 日までに回復した。

器官重量は投与後 2 日において、雌雄の 100 mg/kg 以上で脾臓重量の減少及び肝臓重量の増加、雌の 500 mg/kg 以上で胸腺重量の減少傾向がみられた。甲状腺／副甲状腺重量の減少は雄の 100 mg/kg 以上でみられたが、雌の 100 mg/kg 以上ではみられなかった。雌では副腎重量の増加傾向がみられた。投与後 15 日では、雌の 100 mg/kg 以上での副腎重量の増加を除く他の所見はすべて回復性を示した。これらの器官重量変化と病理組織学的な相関がみられなかった。投与後 2 日における病理組織学的所見は、100 mg/kg 以上で唾液腺の粘液腺肥大及びハーダー腺からのポルフィリン色素沈着の増強がみられたが、投与後 15 日ではこれらの所見はみられなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与用量比よりも大きく増加し、雄より雌の方が曝露量は多かった。

以上の結果、ジフェリケファリンは 2000 mg/kg まで良好な忍容性を示した。ほとんどの所見は過剰な薬理作用に起因するものであり、これらは回復性を示した。無毒性量は、体重減少が認められた雄で 500 mg/kg、雌は 2000 mg/kg と考えられた。

---

[1] Blackburn TP, Borkowski KR, Friend J, Rance MJ. On the mechanisms of kappa-opioid-induced diuresis. Br J Pharmacol. 1986;89(3):593-8.［資料 4.3-25］

表 2.6.6.2.3- 1　ラットにおける拡張型単回経口投与毒性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）IGS BR ラット、雌雄、8 週齢（投与時体重：♂240～297g、♀157～228g）			
投与経路、観察期間	経口、2 日間又は 2 週間（回復期間）			
被験物質	蒸留水	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg）	0	100	500	2000
投与容量（mL/kg）	10	10	10	10
動物数（♂：♀） （回復 2 週間用）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態	－	嗜眠（♂8：♀6）、活性低下（♂0：♀1）、肛門性器の汚れ（♂0：♀1）、色素涙（♂4：♀5）	嗜眠（♂12：♀13）、活性低下（♂1：♀3）、肛門性器の汚れ（♂4：♀4）、色素涙（♂5：♀8）	嗜眠（♂15：♀15）、活性低下（♂2：♀1）、肛門性器の汚れ（♂15：♀12）、色素涙（♂2：♀3）、下痢（水様便/未形成便、♂11：♀7）
体重 [1)]	－	－	－	♂↓
摂餌量 [1)]	－	♂↓	♂↓	♂↓
投与後 2 日				
血液学的検査 [1)]	－	RBC♂♀↑、HCT♂♀↑、HGB♂♀↑、ANEU♀↑、ALYM♀↓	RBC♂♀↑、HCT♂♀↑、HGB♂♀↑、MPV♂♀↑、WBC♂♀↓、ANEU♀↑、ALYM♂♀↓、AEOS♂↓、ABASO♂↓	RBC♂♀↑、HCT♂♀↑、HGB♂♀↑、PLT♂↑、MPV♂♀↑、MCV♂↑、MCH♂↑、WBC♂♀↓、ANEU♀↑、ALYM♂♀↓、AEOS♂↓、ABASO♂↓

表 2.6.6.2.3- 1　ラットにおける拡張型単回経口投与毒性試験の成績（続き）

血液生化学的検査 [1)]	－	BUN♂↑、CREAT♂↑、GLU♂↑、CHOL♀↑、TRIG♀↑、TP♂♀↑、ALB♂♀↑、Glob♂♀↑、A/G♀↓、Na＋♂♀↑、K+♀↓、Cl-♂♀↑、Ca++♂↑	BUN♂♀↑、CREAT♂↑、GLU♂♀↑、CHOL♀↑、TRIG♀↑、TP♂♀↑、ALB♂♀↑、Glob♂♀↑、A/G♀↓、Na＋♂♀↑、K+♀↓、Cl-♂♀↑、Ca++♂↑、PHOS♀↑	ALT♂↓、BUN♂♀↑、CREAT♂♀↑、GLU♂♀↑、CHOL♀↑、TRIG♀↑、TP♂♀↑、ALB♂♀↑、Glob♂♀↑、A/G♂♀↓、Na＋♂♀↑、K+♀↓、Cl-♂♀↑、Ca++♂♀↑、PHOS♀↑
剖検	－	－	－	－
器官重量 [1)] 絶対重量	－	脾臓♂♀↓、肝臓♂↑、甲状腺♂↓	脾臓♂♀↓、肝臓♂↑、甲状腺♂↓ 、胸腺♀↓	脾臓♂♀↓、甲状腺♂↓ 、胸腺♀↓
相対重量	－	副腎♀↑、脾臓♂♀↓、肝臓♂♀↑、甲状腺♂↓	副腎♀↑、脾臓♂♀↓、肝臓♂♀↑、甲状腺♂↓、脳♂↑	副腎♀↑、脾臓♂♀↓、肝臓♂♀↑、甲状腺♂↓、脳♂♀↑、精巣♂↑
病理組織学的検査	ハーダー腺ポルフィリン色素沈着（♂10：♀10）	唾液腺粘液性腺肥大（♂10：♀10）、ハーダー腺ポルフィリン色素沈着（♂10：♀10）	唾液腺粘液性腺肥大（♂10：♀10）、ハーダー腺ポルフィリン色素沈着（♂10：♀10）	唾液腺粘液性腺肥大（♂9：♀10）、ハーダー腺ポルフィリン色素沈着（♂10：♀10）
回復 2 週間（投与後 15 日）				
血液学的検査	－	－	－	PLT♀↓、ABASO♂↓
血液生化学的検査 [1)]	－	－	Na＋♂↑	Na＋♂♀↑、Cl-♀↑
剖検	－	－	－	－

表 2.6.6.2.3- 1　ラットにおける拡張型単回経口投与毒性試験の成績（続き）

器官重量 1) 絶対重量		－	－	副腎♀↑、前立腺/精嚢腺♂↓	副腎♀↑、心臓♂↓、前立腺/精嚢腺♂↓
相対重量		－	副腎♀↑	副腎♀↑	腎臓♀↑、副腎♀↑、肝臓♀↑
病理組織学的検査		－	－	－	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	6：6	6：6	6：6
投与 1 日					
C_{max}	♂	NC	498	4750	58400
（ng/mL）	♀	NC	669	6780	109000
$T_{1/2}$	♂	NC	2.81	12.36	3.66
（hr）	♀	NC	3.56	3.49	3.62
AUC_{last}	♂	NC	1851	23030	231800
（ng· hr/mL）	♀	NC	2682	41130	506400
無毒性量		♂500mg/kg、♀2000mg/kg			

－：特記すべき所見なし、↑：増加、↓：減少、RBC：赤血球数、HCT：ヘマトクリット値、HGB：ヘモグロビン濃度、PLT：血小板数、MPV：平均血小板容積、MCV：平均赤血球容積、MCH：平均赤血球ヘモグロビン量、WBC：白血球数、ANEU：好中球数、ALYM：リンパ球数、AEOS：好酸級数、ABASO：好塩基球数、BUN：血液尿素窒素、CREAT：クレアチニン、GLU：グルコース、CHOL：コレステロール、TRIG:トリグリセリド、TP:総タンパク質、ALB：アルブミン、Glob：グロブリン、A/G：アルブミン/グロブリン比、Na+：ナトリウムイオン、K+：カリウムイオン、Cl-：塩素イオン、Ca++：カルシウムイオン、PHOS：無機リン、ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ

1）：Dunnett 検定または Steel 検定（P<0.05, P<0.01, P<0.001）、NC：算出できず

2.6.6.2.4 サルにおける単回静脈内投与毒性試験（試験番号：CR845-TOX043）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.1-4 参照

ジフェリケファリンを生理食塩液に溶解し、0.5、1、2、4、8 及び 16 mg/kg の用量を 1 mL/kg で、2.5 歳齢のカニクイザル各群雌雄各 2 例に単回静脈内投与した。動物を 2 つの Group に分け（雌雄各 2 例/group）、4 日間以上の投与間隔を設け、それぞれ漸増的に（Group 1：2→4→8 mg/kg、Group 2：1→0.5→16 mg/kg）投与した。

いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態の観察では、0.5～16 mg/kg の全群で嗜眠、活性低下、間欠性振戦、糞便減少及び摂餌量減少がみられた。8 mg/kg 以上では、嗜眠及び/又は活性低下が投与後数分から 2 時間までに発現し、数例では投与後 72 時間までみられた。4 mg/kg 以上では、運動失調及び散発性の吐気/嘔吐がみられた。16 mg/kg では、同様の症状がより重度で、長期間みられた。さらに、1 例で体温低下がみられたことから獣医学的な処置として、症状改善のため非選択的オピオイド受容体アンタゴニストであるナロキソンを投与し、回復させた。

以上の結果、最大耐量は雌雄とも 8 mg/kg、概略の致死量は 16 mg/kg 超と考えられた。

表 2.6.6.2.4- 1　サルにおける単回静脈内投与毒性試験の成績

動物種・月齢・性・体重	カニクイザル、2.5 歳、♂：3.10～3.28kg、♀：2.62～4.11kg					
投与経路（投与方法）	伏在静脈内に漸増投与（投与間隔：4 日間）した。 Group 1：2→4→8mg/kg Group 2：1→0.5→16mg/kg 投与容量：1mL/kg、投与速度：5 分以上かけて投与					
投与量（mg/kg）	0.5	1	2	4	8	16
動物数（♂：♀）	2：2	2：2	2：2	2：2	2：2	2：2
死亡数	0	0	0	0	0	0
一般状態	嗜眠、間欠性振戦（0.5mg/kg のみ）、糞便減少、摂餌量減少、活性低下、吐気/嘔吐（1mg/kg のみ）		嗜眠、間欠性振戦、糞便減少、摂餌量減少、活性低下、運動失調、散発性の吐気/嘔吐（4mg/kg のみ）		嗜眠、活性低下、間欠性振戦、摂餌量減少、運動失調、糞便減少、散発性の吐気/嘔吐、体温低下及び上記の症状が重度（16mg/kg のみ）	
体重	－		－		－	
血漿中薬物濃度測定						
C_{max}（ng/mL）	1135	1628	3428	11380	15250	48425
$T_{1/2}$（hr）	1.62	1.85	1.50	1.65	1.65	1.75
AUC_{last}（ng· hr/mL）	1297	2102	5244	17831	20106	54086
最大耐量（概略の致死量）	♂♀：8mg/kg（＞16mg/kg）					

－：特記すべき所見なし

2.6.6.3 反復投与毒性試験

表 2.6.6.3- 1　反復投与毒性試験概略

動物種	動物数／群	投与期間	投与方法	投与量 （mg/kg/day）	無毒性量
ラット	♂ 15 ♀ 15	4 週間	静脈内	0、1、5、25	♂、♀：5mg/kg/day
ラット	♂ 10 又は 15 ♀ 10 又は 15	13 週間	静脈内	0、0.25、2.5、25	♂、♀：25mg/kg/day
ラット	♂ 12 又は 18 ♀ 12 又は 18	26 週間	静脈内	0、0.25、2.5、25	♂：2.5mg/kg/day ♀：25mg/kg/day
ラット	♂ 15 ♀ 15	4 週間	経口	0、10、50、250	♂、♀：250mg/kg/day
ラット	♂ 25 ♀ 25	26 週間	経口	0、10、50、250	♂、♀：250mg/kg/day
サル	♂ 4 又は 6 ♀ 4 又は 6	4 週間	静脈内	0、0.25、1、4	♂、♀：0.25mg/kg/day
サル	♂ 4 又は 6 ♀ 4 又は 6	13 週間	静脈内	0、0.06、0.25、1	♂、♀： 1mg/kg/day
サル	♂ 4 又は 6 ♀ 4 又は 6	39 週間 （国内実施）	静脈内	0、0.06、0.25、1	♂、♀： 1mg/kg/day
サル	♂ 6 又は 8 ♀ 6 又は 8	39 週間 （米国実施）	静脈内	0、0.06、0.25、1	♂、♀： 0.25mg/kg/day

2.6.6.3.1 ラットにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

（試験番号：CR845-TOX044）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-2 参照

ジフェリケファリン（1、5 及び 25 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラットに 1 日 1 回 4 週間反復静脈内投与した。動物は各群とも雌雄各 15 例とし、うち 5 例は投与終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。なお、トキシコキネティクス用動物は雌雄各 10 例とし、対照群のみ雌雄各 3 例とした。投与量は、7 日間反復静脈内投与用量設定試験（添付資料：4.2.3.1-2、試験番号：CR845-TOX042、投与量：0、25 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 25 mg/kg/day とし、以下公比 5 で中及び低用量を 5 及び 1 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、投与 1 週において、5 mg/kg/day 以上で活性低下がみられた。体重は、1 mg/kg/day 以上の雄で

投与期間を通じて減少し、回復期間においても対照群よりも低値傾向（有意差なし）を示した。これは、投与 2 週以降の体重推移は対照群と同等であったことから、投与 1 週間の顕著な体重増加抑制の影響と考えられた。雌においても同様の傾向がみられたが、投与 1 週の体重増加抑制は対照群と比較してわずかであった。摂餌量は雄では試験期間を通じて減少がみられたが、その程度は徐々に軽減された。雌においても同様の傾向がみられたが、対照群と比較してわずかな減少であった。

剖検において 25 mg/kg/day で精巣上体及び精巣の矮小化が観察され、病理組織学的検査では、精巣上体管腔内に細胞片及び/あるいは精巣の精細管の胚上皮の変性がみられた。これらの所見で、両側性にみられた動物は 10 例中 4 例のみで、回復動物ではみられなかったことから、ジフェリケファリン投与による一過性の反応であると考えられた。また、1 及び 5 mg/kg/day の病理組織学的検査においても同様の所見が観察されたが、これらの所見はラットでよく散見される所見であり、剖検では精巣及び精巣上体において両側性の矮小化がみられていないことから偶発的な所見と判断した。雄で観察された各種臓器における絶対臓器重量の減少は、相対臓器重量には影響せず、体重の減少によるものと考えられた。肝臓、腎臓、甲状腺及び心臓などの臓器において、重量変化が散見されたが、剖検あるいはそれらの病理組織学的検査において異常な所見は認められなかった。その他、対照群及び 25 mg/kg/day の全例で投与部位の炎症が観察されたが、反復静脈内投与による二次的な影響と考えられた。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に応じ増加した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 5 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.1- 1　ラットにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雌雄、7 週齢（群分け時体重：♂216～253g、♀159～194g）			
投与経路、投与期間	静脈内〈約 30 秒以上かけて投与〉、4 週間（1 回/日、28 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	1	5	25
投与容量（mL/kg）	1	1	1	1
動物数（♂：♀） （回復性試験用）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態	－	尿の汚れ（♂1:♀2）	活性低下（♂4：♀3）、尿の汚れ（♂1:♀5）、糞の汚れ（♂1:♀0）、横臥位（♂0：♀1）	活性低下（♂5：♀4）、尿の汚れ（♂2：♀4）、糞の汚れ（♂0：♀0）、自発運動増加（♂0:♀3）

表 2.6.6.3.1- 1　ラットにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

体重 [1)]	－	♂↓	♂♀↓	♂♀↓
摂餌量 [1)]	－	♂↓	♂↓	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
剖検	－	－	－	精巣上体の矮小（♂2）、軟性の精巣で矮小（♂1）
器官重量 [1)] 絶対重量	－	副腎、心臓、腎臓、肝臓、精嚢腺♂↓	前立腺♂↓	心臓、腎臓、肝臓、前立腺♂↓、 甲状腺、心臓♀↓
相対重量	－	脳♂↑、肝臓♂↓	－	脳♂↑、甲状腺、心臓♀↓
病理組織学的検査	投与部位の炎症（♂10：♀10）	精巣上体：細胞片（♂1）、精巣：精細管の胚上皮の変性（♂1）	精巣上体：細胞片（♂4）、精巣：精細管の胚上皮の変性（♂2）	精巣上体：細胞片（♂5）、無精子症（♂3）、精巣：精細管の胚上皮の変性（♂3）、無形成（♂1）、投与部位の炎症（♂10：♀10）
回復性試験（回復 2 週間）				
一般状態	－	－	－	－
体重	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
剖検	－	－	精巣の矮小（♂1）	－

表 2.6.6.3.1- 1　ラットにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

器官重量 1) 絶対重量 相対重量		 － －	 － －	 精嚢腺♂↓ 精嚢腺♂↓	 － －
病理組織学的検査		－	精巣：精細管の胚上皮の変性（♂2）	精巣上体：細胞片（♂1）、精巣：精細管の胚上皮の変性（♂1）	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	10：10	10：10	10：10
投与 1 日					
C_{max}	♂	NC	2740	13900	48200
（ng/mL）	♀	NC	1820	8920	61600
$T_{1/2}$	♂	NC	0.56	0.48	NC
（hr）	♀	NC	0.54	0.50	0.73
AUC_{last}	♂	NC	1130	6470	32500
（ng· hr/mL）	♀	NC	967	5040	30400
投与 28 日					
C_{max}	♂	NC	2960	14700	99600
（ng/mL）	♀	NC	2810	11100	75900
$T_{1/2}$	♂	NC	0.36	0.44	NC
（hr）	♀	NC	0.29	0.31	7.1
AUC_{last}	♂	NC	1130	6540	38100
（ng· hr/mL）	♀	NC	962	4490	28500
無毒性量		♂♀：5mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↑：増加、↓：減少、NC：算出できず

1）：Dunnett 検定（P<0.05）又は Dunn 検定（P<0.05）

2.6.6.3.2 ラットにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（試験番号：[redacted]-078）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-3 参照

ジフェリケファリン（0.25、2.5 及び 25 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラットに 1 日 1 回 13 週間反復静脈内投与した。動物は対照群及び 25 mg/kg/day が雌雄各 15 例、0.25 及び 2.5 mg/kg/day は雌雄各 10 例を用いた。対照群及び 25 mg/kg/day の雌雄各群 5 例については、投与終了後 4 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。なお、トキシコキネティクス用動物は雌雄各 8 例とし、対照群のみ雌雄各 4 例とした。投与量は、4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.2-2、試験番号：CR845-TOX044、投与量：0、1、5 及び 25 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 25 mg/kg/day とし、以下公比 10 で中及び低用量を 2.5 及び 0.25 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、0.25 mg/kg/day 以上の雌、2.5 mg/kg/day 以上の雄で自発運動の減少、よろめき歩行、前肢の外転がみられた。体重の減少が 0.25 mg/kg/day 以上の雄、2.5 mg/kg/day 以上の雌で、摂餌量の減少が 0.25 mg/kg/day 以上の雌雄でみられた。尿検査では、2.5 mg/kg/day 以上の雌雄で尿量の減少がみられた。以上の変化は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。

眼科学的検査、血液学的検査、末梢血イムノフェノタイピング、血液生化学的検査、器官重量及び剖検ではジフェリケファリンに起因する毒性変化は認められなかった。病理組織学的検査では、2.5 mg/kg/day 以上の雌で腎臓の近位尿細管黄赤色色素沈着が認められた。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量比よりもわずかな増加傾向を示した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.2- 1　ラットにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雌雄、6 週齢（群分け時体重：♂172～196g、♀142～171g）			
投与経路、投与期間	静脈内（投与速度：1mL/分）、13 週間（1 回/日、91 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	0.25	2.5	25
投与容量（mL/kg）	2	2	2	2
動物数（♂：♀） （回復性試験用）	10（5）：10（5）	10：10	10：10	10（5）：10（5）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0

表 2.6.6.3.2- 1　ラットにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

一般状態	脱毛（♂0：♀1）	自発運動減少（♂0:♀3）、よろめき歩行（♂2：♀2）、前肢の外転（♂0：♀1）	自発運動減少（♂9:♀9）、よろめき歩行（♂9：♀4）、前肢の外転（♂3：♀3）	自発運動減少（♂15：♀14）、よろめき歩行（♂12：♀14）、前肢の外転（♂9：♀3）
体重 [1)]	－	♂↓	♂♀↓	♂♀↓
摂餌量 [1)]	－	♂♀↓	♂♀↓	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
末梢血イムノフェノタイピング	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査 [1)]	－	－	尿量♂♀↓	尿量♂♀↓
剖検	－	精巣上体の矮小（♂1）、精巣の矮小（♂1）	－	－
器官重量	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	精巣上体：萎縮・無精子症（♂1）、細胞片（♂1）、精巣：精細管萎縮（♂1）	腎臓：近位尿細管黄赤色色素沈着（♀1）	精巣上体：細胞片（♂1）、精巣：精細管萎縮（♂2）、腎臓：近位尿細管黄赤色色素沈着（♀10）
回復性試験（回復 4 週間）				
一般状態	－			－
体重	－			－
摂餌量	－			－
眼科学的検査	－			－
血液学的検査	－			－
末梢血イムノフェノタイピング	－			－
血液生化学的検査	－			－
尿検査	－			－
剖検	－			－
器官重量	－			－
病理組織学的検査	－			－

表 2.6.6.3.2- 1　ラットにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		4：4	8：8	8：8	8：8
投与 0 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	928.7	11300	104900
（ng/mL）	♀	NC	1159	11280	96620
$T_{1/2}$	♂	NC	0.592	5.828	6.592
（hr）	♀	NC	0.544	4.301	5.038
AUC_{last}	♂	NC	487.6	5861	55980
（ng·hr/mL）	♀	NC	499.5	5337	51700
投与 48 日					
C_{max}	♂	NC	1183	11460	152700
（ng/mL）	♀	NC	1145	11100	118700
$T_{1/2}$	♂	NC	6.572	2.014	5.861
（hr）	♀	NC	8.632	8.338	8.451
AUC_{last}	♂	NC	610.9	6025	105100
（ng·hr/mL）	♀	NC	481.6	4659	62390
投与 90 日					
C_{max}	♂	NC	1346	12520	145400
（ng/mL）	♀	NC	1113	12420	127200
$T_{1/2}$	♂	NC	14.305	17.693	8.920
（hr）	♀	NC	6.609	17.889	15.716
AUC_{last}	♂	NC	690.8	6102	104900
（ng·hr/mL）	♀	NC	494.2	5140	58860
無毒性量		♂♀：25mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、斜線：未実施

1）：Dunnett 検定又は Dunnett 型検定（P<0.05, P<0.01）

2.6.6.3.3 ラットにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 9 週間回復性試験

（試験番号：[redacted]-104）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-4 参照

ジフェリケファリン（0.25、2.5 及び 25 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラットに 1 日 1 回 26 週間反復静脈内投与した。動物は対照群及び 25 mg/kg/day が雌雄各 18 例、0.25 及び 2.5 mg/kg/day は雌雄各 12 例を用いた。対照群及び 25 mg/kg/day の雌雄各群 6 例については、投与終了後 9 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。

なお、トキシコキネティクス用動物は雌雄各 8 例とし、対照群のみ雌雄各 4 例とした。投与量は、13 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.2-3、試験番号：[redacted]-78、投与量：0、0.25、2.5 及び 25 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 25 mg/kg/day とし、以下公比 10 で中及び低用量を 2.5 及び 0.25 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、0.25 mg/kg/day 以上の雌及び 2.5 mg/kg/day 以上の雄で自発運動の減少、2.5 mg/kg/day 以上の雌雄でよろめき歩行、前肢の外転がみられた。体重の減少が 0.25 mg/kg 以上の雄及び 2.5 mg/kg/day 以上の雌でみられた。摂餌量においても 0.25 mg/kg/day 以上の雌雄で減少した。以上の変化は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量及び剖検ではジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査では 25 mg/kg/day の雄において対照群と比較して腎臓の近位尿細管の好塩基性変性が高頻度にみられた。回復性試験ではこの変化の悪化は認められなかった。また、2.5 mg/kg/day 以上の雌で腎臓の近位尿細管黄赤色色素沈着が認められた。25 mg/kg/day の雄において両側性に精巣の精細管の萎縮がみられ、その萎縮に付随したと考えられる精巣上体管腔内に細胞残屑もみられたが、回復性試験ではみられなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量比よりもわずかな増加傾向を示した。なお、雌雄差は明らかではなかった。

以上の結果、無毒性量は雄が 2.5 mg/kg/day、雌が 25 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.3- 1　ラットにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雌雄、6 週齢（群分け時体重：♂179～204g、♀139～165g）			
投与経路、投与期間	静脈内（投与速度：1mL/分）、26 週間（1 回/日、182 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	0.25	2.5	25
投与容量（mL/kg）	2	2	2	2
動物数（♂：♀） （回復性試験用）	12（6）：12（6）	12：12	12：12	12（6）：12（6）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態	―	自発運動減少（♂0：♀2）	自発運動減少（♂12：♀12）、よろめき歩行（♂9：♀12）、前肢の外転（♂6：♀3）	自発運動減少（♂18：♀18）、よろめき歩行（♂16：♀16）、前肢の外転（♂8：♀14）

表 2.6.6.3.3- 1　ラットにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

体重 [1)]	－	♂↓	♂♀↓	♂♀↓
摂餌量 [1)]	－	♂♀↓	♂♀↓	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
剖検	－	精巣上体の矮小（♂1）、精巣の矮小（♂1）	精巣上体の矮小（♂1）、精巣の矮小（♂1）	精巣上体の矮小（♂1）、精巣の矮小（♂1）
器官重量	－	－	－	－
病理組織学的検査	腎臓：近位尿細管好塩基性変性（♂3：♀0）、近位尿細管硝子滴蓄積（♂5：♀0）、精巣上体：管腔内細胞残屑（♂1）、精巣：精細管変性（♂1）	腎臓：近位尿細管好塩基性変性（♂1：♀2）、近位尿細管硝子滴蓄積（♂4：♀0）、精巣上体：精子欠如（♂1）、精巣：精細管萎縮（♂1）	腎臓：近位尿細管好塩基性変性（♂2：♀1）、近位尿細管硝子滴蓄積（♂8：♀0）、近位尿細管黄赤色色素沈着（♂0：♀3）、精巣上体：精子減少（♂1）、管腔内細胞残屑（♂3）、精巣：精細管萎縮（♂3）	腎臓：近位尿細管好塩基性変性（♂12：♀2）、近位尿細管硝子滴蓄積（♂12：♀0）、近位尿細管黄赤色色素沈着（♂0：♀10）、精巣上体：精子欠如（♂1）、管腔内細胞残屑（♂6）精巣：精細管萎縮（♂6）
回復性試験（回復 9 週間）				
一般状態	－			－
体重	－			－
摂餌量	－			－
眼科学的検査	－			－
血液学的検査	－			－
血液生化学的検査	－			－
尿検査	－			－
剖検	－			－
器官重量	－			－

表 2.6.6.3.3- 1　ラットにおける 26 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

病理組織学的検査		腎臓：近位尿細管好塩基性変性（♂2：♀1）、近位尿細管硝子滴蓄積（♂1：♀0）			腎臓：近位尿細管好塩基性変性（♂5：♀0）、近位尿細管硝子滴蓄積（♂1：♀0）
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		4：4	8：8	8：8	8：8
投与 0 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	726.8	8635	102000
（ng/mL）	♀	NC	901.8	9809	98620
$T_{1/2}$	♂	NC	0.679	6.440	1.849
（hr）	♀	NC	6.328	6.447	6.450
AUC_{last}	♂	NC	474.2	4561	58170
（ng· hr/mL）	♀	NC	433.7	5079	51810
投与 90 日					
C_{max}	♂	NC	1330	11040	139600
（ng/mL）	♀	NC	1043	11350	119800
$T_{1/2}$	♂	NC	3.246	2.109	5.228
（hr）	♀	NC	7.942	8.182	7.162
AUC_{last}	♂	NC	687.6	5524	108900
（ng· hr/mL）	♀	NC	473.7	5318	58380
投与 181 日					
C_{max}	♂	NC	1630	16410	158000
（ng/mL）	♀	NC	1226	13550	104100
$T_{1/2}$	♂	NC	24.227	79.719	17.468
（hr）	♀	NC	2.159	91.616	19.401
AUC_{last}	♂	NC	873.3	8640	139600
（ng· hr/mL）	♀	NC	561.3	6348	53870
無毒性量		♂2.5mg/kg/day、♀25mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、斜線：未実施

1）：Dunnett 検定又は Dunnett 型検定（$P<0.05$, $P<0.01$）

2.6.6.3.4 ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

（試験番号：CR845-TOX214）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-5 参照

ジフェリケファリン（10、50 及び 250 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：逆浸透脱イオン水）を SD ラットに 1 日 1 回 4 週間反復強制経口投与した。動物は各群とも雌雄各 15 例とし、うち 5 例は投与終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。なお、トキシコキネティクス用動物は雌雄各 10 例とし、対照群のみ雌雄各 3 例とした。投与量は、ラット拡張型単回経口投与毒性試験（添付資料：4.2.3.1-3、試験番号：CR845-TOX202、投与量：0、100、500、2000 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 250 mg/kg/day とし、以下公比 5 で中及び低用量をそれぞれ 50、10 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においてもジフェリケファリン投与に起因した死亡例はみられなかった。一般状態では、投与 3 日までに 50 mg/kg/day 以上の雌雄で活性低下及び半眼がみられ、50 mg/kg/day 以上の雌で猫背姿勢がみられた。これらの症状は投与 4 日以降にはみられなかった。体重は、投与 4 日までに 50 mg/kg/day 以上の雄と 250 mg/kg/day の雌で減少がみられ、投与 8 日以降は対照群と同様の推移を示した。これらの体重の変化は、ジフェリケファリンの薬理作用に関連したものと考えられた。摂餌量は、投与 1～2 日において、雄では 10 mg/kg/day 以上の群で、雌では 50 mg/kg/day 以上の群で減少し、投与 2～4 日において雄の 50 mg/kg/day 以上の群で減少していた。投与 4 日以降、ジフェリケファリン群の摂餌量は対照群と同様の推移を示した。摂水量は、投与 1～3 日において雌雄の 250 mg/kg/day で減少がみられた。回復性試験では、一般状態、体重、摂餌・摂水量にジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。

眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査において、ジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に応じ増加した。その増加は 10 と 50 mg/kg/day 間では用量に比例していたが、50 と 250 mg/kg/day 間では用量比例以上の増加であった。血漿中のジフェリケファリン濃度は、50 mg/kg/day 以上の群では投与後 24 時間値まで定量できたが、10 mg/kg/day では雌で 8 時間値、雄で 12 時間値までしか定量できなかった。なお、雌雄差及び反復投与による蓄積性はみられなかった。

以上の結果、投与初期に一般状態で自発運動減少などの症状及び体重、摂餌・摂水量の減少がみられたが、ジフェリケファリンの一時的な作用と考えられたことから、無毒性量は雌雄とも 250 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.4- 1　ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雌雄、8 週齢（投与開始時体重：♂226～272g、♀171～211g）			
投与経路、投与期間	経口、4 週間（1 回/日、28 日間）			
被験物質	逆浸透脱イオン水	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	10	50	250
投与容量（mL/kg）	10	10	10	10
動物数（♂：♀） （回復性試験用）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）	10（5）：10（5）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態	－	－	活性低下（♂1：♀1）、半眼（♂1:♀2）、猫背姿勢（♂0:♀1）	活性低下（♂15:♀15）、半眼（♂15:♀15）、猫背姿勢（♂0：♀3）
体重 [1)]	－	－	♂↓	♂♀↓
摂餌量 [1)]	－	♂↓	♂♀↓	♂♀↓
摂水量	－	－	－	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
剖検	－	－	－	精巣上体の矮小（♂1）、精巣の矮小（♂1）
器官重量	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	精巣上体:無精子症（♂1）、精巣:精細管萎縮（♂1）
回復性試験（回復 2 週間）				
一般状態	－	－	－	－
体重	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－
摂水量	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－

表 2.6.6.3.4- 1　ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験の成績（続き）

尿検査		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
器官重量		－	－	－	－
病理組織学的検査		－	－	－	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	10：10	9[2)]：10	10：10
投与 1 日					
C_{max} （ng/mL）	♂	NC	29.7	166	976
	♀	NC	32.9	223	1660
$T_{1/2}$ （hr）	♂	NC	2.05	NC	NC
	♀	NC	NC	NC	NC
AUC_{last} （ng· hr/mL）	♂	NC	103	613	4540
	♀	NC	111	579	4800
投与 28 日					
C_{max} （ng/mL）	♂	NC	31.7	167	2910
	♀	NC	44.8	212	5620
$T_{1/2}$ （hr）	♂	NC	1.73	6.46	7.04
	♀	NC	NC	NC	NC
AUC_{last} （ng· hr/mL）	♂	NC	86.4	553	6270
	♀	NC	124	642	7090
無毒性量		♂♀：250mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず

1）：Dunnett 検定（P<0.05, P<0.01, P<0.001）または Dunn 検定（P<0.001）

2）：投与 1 日に採血処置により 1 例死亡した

2.6.6.3.5 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

（試験番号：CR845-TOX219）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-6 参照

ジフェリケファリン（10、50 及び 250 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：逆浸透脱イオン水）を SD ラットに 1 日 1 回 26 週間反復強制経口投与した。動物は各群とも雌雄各 25 例とし、うち 10 例は 13 週間の投与後に、他の 10 例は 26 週間の投与後に屠殺し剖検を行った。残り 5 例は 26 週間投与終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。なお、トキシコキネティクス用動物として、ジフェリケファリン群は雌雄各 10 例とし、対照群のみ雌雄各 3 例とした。投与量は、4 週間反復経口投与毒性試験（添付資料：4.2.3.2-5、試験

番号 : CR845-TOX214、投与量 : 0、10、50 及び 250 mg/kg/day）の成績を参考に、250 mg/kg/day で忍容性が認められたことから、高用量を 250 mg/kg/day とし、以下公比 5 で中及び低用量を 50 及び 10 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、雄の対照群の 2 例及び 250 mg/kg/day の 1 例で切迫屠殺例又は死亡例がみられたが、ジフェリケファリンに関連した切迫屠殺例又は死亡例はみられなかった。一般状態では、50 mg/kg/day 以上の雌雄で活性低下、250 mg/kg/day の雄及び 50 mg/kg/day 以上の雌で半眼、250 mg/kg/day の雌雄で立毛、猫背姿勢がみられた。体重の減少が投与 4 日までに 50 mg/kg/day 以上の雌雄でみられた。摂餌量においても 50 mg/kg/day 以上の雌雄で減少した。以上の変化は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査ではジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、投与 1、90 及び 182 日において、C_{max} は投与量比に応じて増加し、蓄積比は 0.57～4.81 と変動が大きかったが、AUC_{last} の蓄積比は 1.05～1.35 と一貫性があった。なお、雌雄差は明らかではなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 250 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.5- 1　ラットにおける 26 週間反復経口与毒性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雌雄、8 週齢（投与開始時体重：♂233～278g、♀170～225g）			
投与経路、投与期間	経口、13 週間又は 26 週間（1 回/日、90 又は 182 日間）			
被験物質	逆浸透脱イオン水	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	10	50	250
投与容量（mL/kg）	10	10	10	10
動物数（♂：♀）（回復性試験用）	20（5）：20（5）	20（5）：20（5）	20（5）：20（5）	20（5）：20（5）
死亡 a)動物数（♂：♀）	2：0	0：0	0：0	1：0
一般状態	－	－	活性低下（♂6：♀17、半眼（♂0：♀3）	活性低下（♂25：♀25）、猫背姿勢（♂1：♀1）、立毛（♂14：♀6）、半眼（♂25：♀25）
体重 1)	－	－	♂♀↓	♂♀↓
摂餌量 1)	－	－	♂♀↓	♂♀↓
血液学的検査	－	－	－	－

表 2.6.6.3.5- 1　ラットにおける 26 週間反復経口与毒性試験の成績（続き）

血液生化学的検査		－	－	－	－
尿検査		－	－	－	－
剖検		－	－	－	精巣の矮小（♂1）
器官重量		－	－	－	－
病理組織学的検査		－	－	－	－
回復性試験（回復 2 週間）					
一般状態		－	－	－	－
体重		－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－
血液学的検査		－	－	－	－
血液生化学的検査		－	－	－	－
尿検査		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
器官重量		－	－	－	－
病理組織学的検査		－	－	－	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	10：10	10：10	10：10
投与 1 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	44.0	167	2120
（ng/mL）	♀	NC	43.2	210	2040
$T_{1/2}$	♂	NC	1.08	ND	3.29
（hr）	♀	NC	ND	ND	4.01
AUC_{last}	♂	NC	114	588	5730
（ng·hr/mL）	♀	NC	119	860	6580
投与 90 日					
C_{max}	♂	NC	24.9	228	4180
（ng/mL）	♀	NC	88.1	1010	5180
$T_{1/2}$	♂	NC	ND	4.24	ND
（hr）	♀	NC	ND	ND	ND
AUC_{last}	♂	NC	112	772	7300
（ng·hr/mL）	♀	NC	151	1150	8910

表 2.6.6.3.5- 1　ラットにおける 26 週間反復経口与毒性試験の成績（続き）

投与 182 日					
C_{max} （ng/mL）	♂	NC	75.0	259	3880
	♀	NC	47.2	738	8030
$T_{1/2}$ （hr）	♂	NC	7.09	5.25	5.60
	♀	NC	5.79	ND	ND
AUC_{last} （ng·hr/mL）	♂	NC	172	1020	9210
	♀	NC	118	1010	9260
無毒性量		♂♀250mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、ND：検出できず

a）：切迫屠殺例も含む、1）：Dunnett 検定又は Dunn 検定（P<0.05, P<0.01, P<0.001）

2.6.6.3.6 サルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

（試験番号：CR845-TOX045）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-7 参照

ジフェリケファリン（0.25、1 及び 4 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）をカニクイザルに 1 日 1 回 4 週間反復静脈内投与した。動物は対照群及び 4 mg/kg/day が雌雄各 6 例、0.25 及び 1 mg/kg/day は雌雄各 4 例とした。対照群及び 4 mg/kg/day の 2 例は投与終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。投与量は、7 日間反復静脈内投与用量設定試験（添付資料：4.2.3.1-4、試験番号：CR845-TOX043、投与量：4、8 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 4 mg/kg/day とし、以下公比 4 で中及び低用量を 1 及び 0.25 mg/kg/day に設定した。

投与期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、0.25 mg/kg/day 以上で嗜眠（自発運動減少）、猫背姿勢又は屈曲位がみられ、その頻度、症状継続期間、重症度は用量依存的であった。症状のほとんどは、投与初期の数日間に観察され、投与 2 週以降は散発的に嗜眠又は猫背姿勢が観察されたのみであった。

1 及び 4 mg/kg/day の投与 1 及び 2 日に流涎がみられた。0.25 mg/kg/day 以上で嘔吐が散発的に観察されたがその頻度は低いものであった。自発運動の減少に伴って、0.25 mg/kg/day 以上で主に投与 1 週に摂餌量の減少がみられた。全く摂食しない数例の動物には、別途餌を補給した。餌の補給はジフェリケファリンの体重推移に影響する可能性はあるが、1 mg/kg/day 以上の投与 1 週に軽微な体重減少が認められた。

心電図検査、眼検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検においてはジフェリケファリンに起因すると考えられる所見はみられなかった。

1 mg/kg/day 以上の雌で胸腺重量の減少がみられ、回復性試験においても減少傾向がみられた。雌で、甲状腺/上皮小体（雄は軽微な上昇）、卵巣及び子宮重量が用量依存的に減少傾向（有意差なし）を示したが、これらの変化は回復性が認められた。

病理組織学的検査の結果、0.25 mg/kg/day 以上の胸腺で軽微から中等度のリンパ球の枯渇がみられ、4 mg/kg/day の雄ではより重度であった。なお、対照群でも 1 例に同じ所見が観察されている。この変化は皮質及び髄質のリンパ球の消失によるものであり、枯渇領域は不明瞭であった。さらに、脾臓においては雌で用量依存的に、雄では 4 mg/kg/day で軽微から軽度のリンパ球の枯渇がみられた。胸腺と脾臓の所見は回復性試験においても観察された。リンパ球の枯渇は投与に起因するストレスにより二次的に起こった非特異的な所見と考えられるが、ジフェリケファリンの直接的な影響の可能性も否定できない。

投与部位の変化（急性及び慢性炎症、線維化、血管壁の再生/変性、出血及び壊死）はジフェリケファリン投与群で対照群と比較して重度であった。1 及び 4 mg/kg/day でその発現頻度は増加したが、回復性試験においては 4 mg/kg/day と対照群の変化はほぼ同等であった。1 及び 4 mg/kg/day で坐骨神経の軽微な軸索変性（ミエリン鞘の腫脹、軸索の断片化、軸索内の残屑）がみられた。なお、対照群の雌においても軽微な坐骨神経の炎症がみられた。坐骨神経の変化は、投与部位から筋膜面に沿って炎症が広がった二次的なものであると考えられた。腸では、ジフェリケファリンの投与用量に応じて固有層に色素沈着がみられ、回復性試験でもみられたが、毒性学的意義は明らかではない。

以上、サルでみられた顕著な所見は自発運動減少/嗜眠といった行動に対する影響であり、動物に対して過剰なストレスをもたらしたと考えられた。観察された所見がジフェリケファリンの直接的な影響であるか、行動に対する障害やその後のストレスによる二次的なものかは明らかではない。行動に対する影響は反復投与によって累積はせず、投与期間とともに症状の改善がみられた。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に応じ増加した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg/day と考えられた。

表 2.6.6.3.6- 1　サルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	カニクイザル、雌雄、3～7 歳（群分け時体重：♂3.069～3.779kg、♀2.888～3.293kg）			
投与経路、投与期間	静脈内（投与速度：5 分以上かけて投与）、4 週間（1 回/日、28 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与（mg/kg/day）	0	0.25	1	4
投与容量（mL/kg）	1	1	1	1

表 2.6.6.3.6- 1　サルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

動物数（♂：♀） （回復性試験用）	4（2）：4（2）	4：4	4：4	4（2）：4（2）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態	嗜眠（♂1：♀0）、異常便（♂0：♀1）、	嗜眠（♂4：♀3）、猫背姿勢（♂3：♀1）、異常便（♂4：♀3）、嘔吐（♂0：♀2）	嗜眠（♂4：♀4）、猫背姿勢（♂4：♀4）、屈曲位（♂2：♀1）、異常便（♂3：♀3）、嘔吐（♂0：♀2）、流涎（♂1：♀0）	嗜眠（♂6：♀6）、猫背姿勢（♂6：♀5）、屈曲位（♂4：♀1）、平衡感覚障害（♂1：♀0）、異常便（♂6：♀4）、嘔吐（♂1：♀1）、流涎（♂1：♀1）
体重	－	－	♂♀↓	♂♀↓
摂餌量	♀↓	♂♀↓	♂♀↓	♂♀↓
心電図検査	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－
器官重量 [1)] 絶対重量 相対重量	 － －	 － －	 － 胸腺♀↓	 胸腺♀↓ 胸腺♀↓
病理組織学的検査	胸腺リンパ球枯渇（♂1：♀0）、投与部位病変（♂3：♀4）	胸腺リンパ球枯渇（♂4：♀4）、脾臓リンパ球枯渇（♂0：♀1）、投与部位病変（♂3：♀3）、腸色素沈着（♂4：♀0）	胸腺リンパ球枯渇（♂4：♀4）、脾臓リンパ球枯渇（♂0：♀2）、投与部位病変（♂4：♀4）、坐骨神経軸索変性（♂1：♀1）、腸色素沈着（♂2：♀4）	胸腺リンパ球枯渇（♂4：♀4）、脾臓リンパ球枯渇（♂2：♀3）、投与部位病変（♂3：♀4）、坐骨神経軸索変性（♂2：♀0）、腸色素沈着（♂3：♀1）
回復性試験（回復 2 週間）				
一般状態	－			－
体重	－			－
摂餌量	－			－

表 2.6.6.3.6- 1　サルにおける 4 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

心電図検査		－			－
眼科学的検査		－			－
尿検査		－			－
血液学的検査		－			－
血液生化学的検査		－			－
剖検		－			－
器官重量		－			－
病理組織学的検査		投与部位病変（♂2：♀2）、坐骨神経病変（♂0：♀1）			胸腺リンパ球枯渇（♂2：♀2）、脾臓リンパ球枯渇（♂1：♀0）、投与部位病変（♂2：♀1）、坐骨神経病変（♂0：♀1）、腸色素沈着（♂1：♀1）
血漿中薬物濃度測定					
投与 1 日					
C_{max}	♂	NC	1300	4760	21800
（ng/mL）	♀	NC	1190	4750	26600
$T_{1/2}$	♂	NC	1.5	1.2	1.6
（hr）	♀	NC	1.3	1.6	2.4
AUC_{last}	♂	NC	1540	6490	27800
（ng·hr/mL）	♀	NC	1720	7800	43700
投与 28 日					
C_{max}	♂	NC	1270	4510	24000
（ng/mL）	♀	NC	1110	4310	22900
$T_{1/2}$	♂	NC	1.4	1.9	3.6
（hr）	♀	NC	1.4	1.2	3.0
AUC_{last}	♂	NC	1370	6770	29100
（ng·hr/mL）	♀	NC	1230	5090	28700
無毒性量		♂♀：0.25mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↑：増加、↓：減少、斜線：未実施、NC：算出できず

1）：Dunnett 検定（P<0.05）又は Steel 検定（P<0.05）

2.6.6.3.7 サルにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

（試験番号：[redacted]-076）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-8 参照

ジフェリケファリン（0.06、0.25 及び 1 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）をカニクイザルに 1 日 1 回 13 週間反復静脈内投与した。動物は対照群及び 1 mg/kg が雌雄各 6 例、0.06 及び 0.25 mg/kg/day は雌雄各 4 例を用いた。対照群及び 1 mg/kg/day の雌雄各群 2 例については、投与終了後 4 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。投与量は、4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.2-7、試験番号：CR845-TOX045、投与量：0、0.25、1 及び 4 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 1 mg/kg/day とし、以下公比 4 で中及び低用量を 0.25 及び 0.06 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、0.25 mg/kg/day 以上で鎮静、傾眠、自発運動減少、口腔粘膜蒼白及び嘔吐がみられた。体重の減少（投与前値体重の 90%以下の減少：対照群とは有意差なし）が 1 mg/kg/day の雌雄で、摂餌量の減少が 0.06 mg/kg/day の雌及び 0.25 mg/kg/day 以上の雌雄でみられ、尿量の減少が 0.06 及び 0.25 mg/kg/day の雌雄及び 1 mg/kg/day の雄でみられた。以上の変化は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。

尿検査、眼科学的検査、心電図、血液学的検査、末梢血イムノフェノタイピング、血液生化学的検査、器官重量、剖検、免疫組織化学検査及び抗 KLH 抗体（T 細胞依存性抗体産生：TDAR）の産生能ではジフェリケファリンに起因する毒性変化は認められなかった。病理組織学的検査では、0.06 mg/kg/day 以上で腎臓の近位尿細管褐色色素沈着が認められ、回復性試験においても 1 mg/kg/day で認められた。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に応じ増加した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.7- 1　サルにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	カニクイザル、雌雄、3～6 歳（群分け時体重：♂3.78～5.54kg、♀2.53～4.13kg）			
投与経路、投与期間	静脈内（投与速度：1mL/分）、13 週間（1 回/日、91 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与（mg/kg/day）	0	0.06	0.25	1
投与容量（mL/kg）	2	2	2	2
動物数（♂：♀） （回復性試験用）	4（2）：4（2）	4：4	4：4	4（2）：4（2）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0

表 2.6.6.3.7- 1　サルにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

一般状態	－	－	鎮静（♂3：♀4）、傾眠（♂1：♀3）、自発運動減少（♂0：♀4）、口腔粘膜蒼白（♂2：♀0）、嘔吐（♂3：♀2）	鎮静（♂6：♀6）、傾眠（♂6：♀6）、自発運動減少（♂5：♀6）、口腔粘膜蒼白（♂1：♀0）、嘔吐（♂5：♀2）
体重	－	－	－	－
摂餌量 [1)]	－	♀↓	♂♀↓	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
心電図	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
末梢血イムノフェノタイピング	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
尿量 [1)]	－	♂♀↓	♂♀↓	♂↓
剖検	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂1：♀0）	腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂2：♀2）	腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂4：♀4）
免疫組織化学検査	－	－	－	－
T 細胞依存性抗体産生能	－	－	－	－
回復性試験（回復 4 週間）				
一般状態	－			－
体重	－			－
摂餌量	－			－
眼科学的検査	－			－
心電図	－			－
血液学的検査	－			－
末梢血イムノフェノタイピング	－			－
血液生化学的検査	－			－

表 2.6.6.3.7- 1　サルにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

尿検査		－			－
尿量		－			－
剖検		－			－
器官重量		－			－
病理組織学的検査		－			腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂1：♀0）
免疫組織化学検査		－			－
T 細胞依存性抗体産生能		－			－
血漿中薬物濃度測定					
投与 0 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	319.6	1287	4928
（ng/mL）	♀	NC	298.6	1336	4892
$T_{1/2}$	♂	NC	2.492	2.637	2.837
（hr）	♀	NC	1.439	2.330	2.606
AUC_{last}	♂	NC	446.6	1862	6809
（ng･hr/mL）	♀	NC	345.0	1521	5254
投与 48 日					
C_{max}	♂	NC	304.1	1330	4977
（ng/mL）	♀	NC	287.3	1193	5023
$T_{1/2}$	♂	NC	2.893	2.548	3.769
（hr）	♀	NC	2.857	2.780	3.014
AUC_{last}	♂	NC	416.2	1843	7566
（ng･hr/mL）	♀	NC	369.4	1260	5575
投与 90 日					
C_{max}	♂	NC	290.7	1150	5118
（ng/mL）	♀	NC	275.2	1225	5047
$T_{1/2}$	♂	NC	4.207	3.247	7.367
（hr）	♀	NC	2.559	4.351	6.909
AUC_{last}	♂	NC	548.2	1768	15290
（ng･hr/mL）	♀	NC	338.4	1535	10150
無毒性量		♂♀：1mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、斜線：未実施

1）：Dunnett 検定又は Dunnett 型検定（P<0.05, P<0.01）

2.6.6.3.8 サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（国内実施）

（試験番号：[redacted]-103）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-9 参照

ジフェリケファリン（0.06、0.25 及び 1 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）をカニクイザルに 1 日 1 回 39 週間反復静脈内投与した。動物は対照群及び 1 mg/kg/day が雌雄各 6 例、0.06 及び 0.25 mg/kg/day は雌雄各 4 例を用いた。対照群及び 1 mg/kg/day の雌雄各群 2 例については、投与終了後 4 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。投与量は、13 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.2-8、試験番号：[redacted]-76、投与量：0、0.06、0.25 及び 1 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 1 mg/kg/day とし、以下公比 4 で中及び低用量を 0.25 及び 0.06 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、0.25 mg/kg/day 以上の雌雄で鎮静、傾眠（0.25 mg/kg/day の雌を除く）、自発運動減少及び嘔吐が、1 mg/kg/day の雄で嗜眠みられた。摂餌量の減少が 0.25 mg/kg/day の雌及び 1 mg/kg/day の雌雄で、尿量の減少が 0.06 mg/kg/day 以上の雌雄でみられた。以上の変化は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。

体重、眼科学的検査、心電図、尿検査（尿量以外）、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び剖検ではジフェリケファリンに起因する毒性変化は認められなかった。病理組織学的検査では、全群で十二指腸の粘膜固有層褐色色素沈着、0.25 mg/kg/day 以上で腎臓の近位尿細管褐色色素沈着が認められた。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に応じ増加した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.8- 1　サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	カニクイザル、雌雄、3～6 歳（群分け時体重：♂3.79～5.29kg、♀2.64～3.91kg）			
投与経路、投与期間	静脈内（投与速度：1mL/分）、39 週間（1 回/日、273 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	0.06	0.25	1
投与容量（mL/kg）	2	2	2	2
動物（♂：♀） （回復性試験用）	4（2）：4（2）	4：4	4：4	4（2）：4（2）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0

表 2.6.6.3.8- 1　サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

一般状態	－	－	鎮静（♂4：♀4）、傾眠（♂1：♀0）、自発運動減少（♂2：♀4）、嘔吐（♂1：♀2）	鎮静（♂6：♀6）、傾眠（♂6：♀6）、自発運動減少（♂6：♀6）、嗜眠（♂3：♀0）、嘔吐（♂3：♀4）
体重	－	－	－	－
摂餌量 1)	－	－	♀↓	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
心電図	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
尿量 1)	－	♂♀↓	♂♀↓	♂♀↓
剖検	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－
病理組織学的検査	十二指腸：粘膜固有層褐色色素沈着（♂1：♀0）	十二指腸：粘膜固有層褐色色素沈着（♂3：♀0）	腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂1：♀2）、十二指腸：粘膜固有層褐色色素沈着（♂3：♀2）	腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂4：♀2）、十二指腸：粘膜固有層褐色色素沈着（♂2：♀1）
回復性試験（回復 4 週間）				
一般状態	－			－
体重	－			－
摂餌量	－			－
眼科学的検査	－			－
心電図	－			－
血液学的検査	－			－
血液生化学的検査	－			－
尿検査	－			－
尿量	－			－
剖検	－			－
器官重量	－			－

表 2.6.6.3.8- 1　サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

病理組織学的検査		十二指腸：粘膜固有層褐色色素沈着（♂0：♀1）			腎臓：近位尿細管褐色色素沈着（♂2：♀2）、十二指腸：粘膜固有層褐色色素沈着（♂0：♀2）
血漿中薬物濃度測定					
投与 0 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	363.4	1698	5278
（ng/mL）	♀	NC	349.8	1478	5443
$T_{1/2}$	♂	NC	2.105	3.009	2.953
（hr）	♀	NC	1.590	2.730	2.437
AUC_{last}	♂	NC	426.2	2120	7460
（ng· hr/mL）	♀	NC	405.4	1838	6813
投与 181 日					
C_{max}	♂	NC	311.1	1250	6877
（ng/mL）	♀	NC	409.5	1826	7616
$T_{1/2}$	♂	NC	4.190	5.542	17.202
（hr）	♀	NC	7.838	13.190	29.143
AUC_{last}	♂	NC	530.8	2844	62190
（ng· hr/mL）	♀	NC	2071	12470	78480
投与 272 日					
C_{max}	♂	NC	307.3	1029	8893
（ng/mL）	♀	NC	346.3	1835	10890
$T_{1/2}$	♂	NC	8.935	7.507	24.521
（hr）	♀	NC	10.674	22.591	31.214
AUC_{last}	♂	NC	1472	3205	105500
（ng· hr/mL）	♀	NC	2242	15420	134600
無毒性量		♂♀：1mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、斜線：未実施

1）：Dunnett 検定又は Dunnett 型検定（$P<0.05$, $P<0.01$）

2.6.6.3.9 サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（米国実施）（試験番号：CR845-TOX085）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.2-10 参照

ジフェリケファリン（0.06、0.25 及び 1 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）をカニクイザルに 1 日 1 回 39 週間（272 日間）反復静脈内投与した。動物は対照群及び 1 mg/kg/day が雌雄各 8 例、0.06 及び 0.25 mg/kg/day は雌雄各 6 例を用い、うち 3 例は 26 週間（181 日間）の投与後に、他の 3 例は 39 週間の投与後に屠殺し剖検を行った。対照群及び 1 mg/kg/day の残り 2 例は 39 週間投与終了後 4 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。投与量は、13 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.2-8、試験番号：[redacted]-76、投与量：0、0.06、0.25 及び 1 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 1 mg/kg/day とし、以下公比 4 で中及び低用量を 0.25 及び 0.06 mg/kg/day に設定した。

投与期間中、0.25 mg/kg/day の雄 1 例を投与 9 日に、1 mg/kg/day の雌 1 例を投与 253 日に切迫屠殺を行った。0.25 mg/kg/day の雄 1 例は投与 5 日から後肢の廃用がみられ、2～3 週間継続したと考えられる慢性化した筋萎縮が組織学的に確認され、投与 9 日までの採血や投与操作で悪化させた可能性が考えられた。後肢廃用の原因は特定できなかったが、動物は被験物質を 9 回しか投与されておらず、萎縮の発現は 2～3 週間前であると判断されたためジフェリケファリンに関連した変化ではないと考えられた。1 mg/kg/day の雌 1 例は、体重減少及び中等度の腹部腫大の既往があったため、投与 253 日に安楽死させた。病理組織学的検査では、壁細胞充実性の低下を伴う胃の軽度の粘膜萎縮と膵臓外分泌部の中等度の腺房萎縮が認められたが、病因は同定されなかった。これらの変化は同群の他動物では認められなかったが、ジフェリケファリンとの関連性は完全には否定できなかった。

一般状態では、0.06 mg/kg/day 以上の雌雄で活性低下、半眼、猫背姿勢、瞳孔散大などが、0.25 mg/kg/day 以上で非協調性行動の症状がみられたが、投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。

血液学的検査において、白血球数の減少が 1 mg/kg/day で認められたが、対照群でも数例にみられた変化で、背景データ範囲内であることからジフェリケファリンに関連した変化ではないと判断した。

病理組織学的検査において、26 週間投与の 0.06 mg/kg/day 以上の雄で肝臓及び脾臓にヘモジデリン貪食するマクロファージ集積像が認められた。この変化はジフェリケファリン群に特徴的であった。39 週間投与動物においても同様の変化がジフェリケファリン群にみられたが、対照群でもみられたことからジフェリケファリンに関連しない変化と考えられた。なお、回復性試験動物でも同様に対照群の動物でみられた。

体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、尿検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検ではジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に応じ増加した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、1 mg/kg/day の雌の早期死亡は被験物質関連の影響として完全には否定できなかったことから、無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.3.9- 1　サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験の成績

使用動物	カニクイザル、雌雄、2.2～5.1 歳（群分け時体重：2.3～3.4kg）			
投与経路、投与期間	静脈内（緩徐ボーラス投与）、1 回/日、26 週間（181 日間）又は 39 週間（272 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	0.06	0.25	1
投与容量（mL/kg）	2	2	2	2
動物数（♂：♀） （回復性試験用）	6（2）：6（2）	6：6	6：6	6（2）：6（2）
死亡動物数（♂：♀） （切迫屠殺数）	0：0	0：0	1：0	0：1
一般状態	眼のくぼみ（♂1:♀1）、半眼（♂1:♀0）、食欲低下（♂0:♀1）	活性低下（♂0：♀1）、半眼（♂1:♀0）、眼のくぼみ（♂2:♀0）、猫背姿勢（♂1:♀0）、瞳孔散大（♂1：♀1）	活性低下（♂2：♀0）、半眼（♂2:♀2）、眼のくぼみ（♂1:♀1）、猫背姿勢（♂1:♀0）、異常歩行（♂1：♀0）、瞳孔散大（♂1:♀1）、非協調性行動（♂1：♀1）	活性低下（♂8：♀8）、半眼（♂8:♀5）、眼のくぼみ（♂2:♀2）、猫背姿勢（♂6:♀4）、瞳孔散大（♂4:♀5）、非協調性行動（♂5：♀4）
体重	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
心電図	－	－	－	－
血液学的検査 [1)]	－	－	－	白血球数♂↓
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
尿量	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－
器官重量	－	－	－	－

表 2.6.6.3.9- 1　サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

病理組織学的検査					
26 週間（♂：♀）		―	肝臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）、脾臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）	肝臓：マクロファージ集積（♂2：♀0）、脾臓：マクロファージ集積（♂2：♀0）	肝臓：マクロファージ集積（♂2：♀0）、脾臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）
39 週間（♂：♀）		肝臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）、脾臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）	肝臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）、脾臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）	肝臓：マクロファージ集積（♂2：♀0）	肝臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）
回復性試験（回復 4 週間）					
一般状態		―			―
体重		―			―
摂餌量		―			―
眼科学的検査		―			―
心電図		―			―
血液学的検査		―			―
血液生化学的検査		―			―
尿検査		―			―
尿量		―			―
剖検		―			―
器官重量		―			―
病理組織学的検査		肝臓：マクロファージ集積（♂1：♀0）			―
血漿中薬物濃度測定					
投与 1 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	335	1710	7520
（ng/mL）	♀	NC	365	1740	6990
$T_{1/2}$	♂	NC	1.21	1.45	2.91
（hr）	♀	NC	1.14	2.04	3.08
AUC_{last}	♂	NC	311	1490	7580
（ng· hr/mL）	♀	NC	350	1570	8740

表 2.6.6.3.9- 1　サルにおける 39 週間反復静脈内投与毒性試験の成績（続き）

投与 90 日					
C_{max}	♂	NC	406	1700	7290
（ng/mL）	♀	NC	342	1770	6840
$T_{1/2}$	♂	NC	1.14	3.89	6.35
（hr）	♀	NC	1.15	5.44	4.29
AUC_{last}	♂	NC	393	2810	18200
（ng· hr/mL）	♀	NC	348	1800	20400
投与 181 日					
C_{max}	♂	NC	400	2240	9620
（ng/mL）	♀	NC	403	2030	9570
$T_{1/2}$	♂	NC	1.50	1.08	2.34
（hr）	♀	NC	5.14	7.12	ND
AUC_{last}	♂	NC	440	15300	83100
（ng· hr/mL）	♀	NC	744	5580	66200
投与 271 日					
C_{max}	♂	NC	400	2460	15000
（ng/mL）	♀	NC	500	2670	9040
$T_{1/2}$	♂	NC	3.86	ND	ND
（hr）	♀	NC	1.25	ND	ND
AUC_{last}	♂	NC	734	21000	169000
（ng· hr/mL）	♀	NC	3000	17200	55100
無毒性量		♂♀：0.25mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、ND：検出できず、斜線：未実施

1）：Dunnett 検定又は Dunn 検定（P<0.05）

2.6.6.4 遺伝毒性試験

表 2.6.6.4- 1　遺伝毒性試験概略

	試験系	投与量	試験方法	試験結果
復帰突然変異試験	TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2*uvrA*	150～5000 μg/plate	プレート法 S9 mix(-) S9 mix(+)	陰性 陰性
染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	1250～5000 μg/mL	連続処理法 短時間処理法　S9 mix(-) S9 mix(+)	陰性 陰性 陰性
小核試験	ICR マウス	25、50、100 mg/kg	単回静脈内投与	陰性

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（試験番号：CR845-TOX029）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.3.1-1 参照

Salmonella typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvrA* を用いて、ジフェリケファリンの 150～5000 μg/plate の濃度をプレート法による代謝活性化存在下又は非存在下で試験した結果、復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

以上の結果、細菌を用いた復帰突然変異試験においてジフェリケファリンは変異原性を示さないと判断した。

表 2.6.6.4.1- 1　細菌を用いた復帰突然変異試験の成績

試験方法				*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*;プレート法				
代　謝 活性化	被験物質		用　量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	復帰変異コロニー数 */ﾌﾟﾚｰﾄ				
				塩基対置換型			フレームシフト型	
				TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
なし (S9(-))	媒体対照			178	27	27	24	8
	ジフェリケファリン		150	178	30	27	21	8
			500	187	28	32	21	9
			1500	187	25	27	20	5
			2500	184	24	33	18	10
			5000	178	22	27	22	11
	陽性対照	NaN_3	1	577	582	－	－	－
		MMS	1000	－	－	165	－	－
		2NF	1	－	－	－	243	－
		9AA	75	－	－	－	－	1285

表 2.6.6.4.1- 1　細菌を用いた復帰突然変異試験の成績（続き）

あり（S9(+)）	媒体対照			184	14	36	33	10
	ジフェリケファリン		150	162	18	28	32	6
			500	188	20	28	35	8
			1500	192	14	31	31	9
			2500	179	17	37	26	12
			5000	173	17	33	30	13
	陽性対照	2AA	1	639	92	－	766	72
			10	－	－	424	－	－

－：未実施、*：3 枚のプレートにおける平均値、媒体対照：生理食塩液

NaN3：Sodium azide、MMS：Methylmethanesulfonate、2NF：2-Nitrofluorene

9AA：9-Aminoacridine、2AA：2-Aminoanthracene

2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（試験番号：CR845-TOX031）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.3.1-2 参照

ヒト末梢血リンパ球を用いて、1250～5000 μg/mL のジフェリケファリン濃度で染色体異常試験を連続処理法及び短時間処理法で実施した結果、ジフェリケファリンは染色体異常細胞の出現頻度を増加させなかった。

以上の結果、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験ではジフェリケファリンは染色体異常誘発能を有さないと判断した。

表 2.6.6.4.2- 1　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の成績

使用細胞		ヒト末梢血リンパ球					
陽性対照薬		連続処理法：MMC、　短時間処理法：MMC、CP					
試験方法		[連続処理法]　処理時間；20 時間 [短時間処理法]　処理時間；4 時間（S9 mix(-) or (+)）後、16 時間回復					
連続処理法	S9(-)	群構成	陰性対照	陽性対照 MMC	ジフェリケファリン		
		濃度（μg/mL）	0	0.3	1250	2500	5000
		染色体構造異常細胞出現頻度（%）（ギャップを除く）	0.0	18.0**	0.0	0.0	0.0
		染色体数的異常細胞出現頻度（%）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 2.6.6.4.2- 1　ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の成績（続き）

短時間処理法	S9(-)	群構成	陰性対照	陽性対照 MMC	ジフェリケファリン		
		濃度（μg/mL）	0	0.6	1250	2500	5000
		染色体構造異常細胞出現頻度（%）（ギャップを除く）	0.0	17.0**	0.0	0.0	0.0
		染色体数的異常細胞出現頻度（%）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	S9(+)	群構成	陰性対照	陽性対照 CP	ジフェリケファリン		
		濃度（μg/mL）	0	20	1250	2500	5000
		染色体構造異常細胞出現頻度（%）（ギャップを除く）	0.0	18.0**	0.0	0.0	0.0
		染色体数的異常細胞出現頻度（%）	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

陰性対照：生理食塩液、MMC：Mitomycin C、CP：Cyclophosphamide

**：Fisher’s Exact test（p≦0.01）

2.6.6.4.3 マウスを用いた小核試験（試験番号：CR845-TOX054）

・・・・・・・・・**添付資料 4.2.3.1-1 参照**

6～8 週齢の ICR マウス（雄 27.3～33.3 g、雌 24.3～28.8 g）を用いて小核試験を実施した。投与量は、用量設定試験（各群雌雄各 3 例、投与量：50、100、200 mg/kg）の成績を参考に、高用量を 100 mg/kg とし、以下 50 及び 25 mg/kg の 3 用量を設定した。ジフェリケファリンを生理食塩液に溶解し、各群雌雄各 5 例に単回静脈内投与した。投与後 24 及び 48 時間に骨髄標本を作製し、小核を有する多染性赤血球の出現頻度を評価した結果、増加はみられなかった。

以上の結果、マウスを用いた小核試験ではジフェリケファリンは染色体異常誘発能を有さないと判断した。

表 2.6.6.4.3- 1　マウスを用いた小核試験の成績

使用動物				ICR マウス、6～8 週齢、♂27.3～33.3g、♀24.3～28.8g				
使用動物数				5 匹／群／性				
投与経路				静脈内（10mL/kg の投与容量で静脈内投与）				
投与回数				単回投与				
標本染色方法				メイ・グリュンワルド・ギムザ染色				
陽性対照薬				Cyclophosphamide monohydrate				
標本作製時期				投与後 24 及び 48 時間				
被験物質				陰性対照	陽性対照	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg）				0	50	25	50	100
試験成績	小核を有する多染性赤血球の出現頻度（‰）	24 時間	♂	0.0	12.1	0.2	0.3	0.2
			♀	0.5	11.8	0.2	0.1	0.3
		48 時間	♂	0.1	－	－	－	0.1
			♀	0.2	－	－	－	0.1
	全赤血球に対する多染性赤血球の比	24 時間	♂	0.470	0.372	0.491	0.470	0.446
			♀	0.438	0.355	0.456	0.380	0.407
		48 時間	♂	0.435	－	－	－	0.417
			♀	0.441	－	－	－	0.440

－：未実施、陰性対照：生理食塩液

2.6.6.5 がん原性試験

表 2.6.6.5- 1　がん原性試験概略

動物種	動物数／群	投与期間	投与方法	投与量 （mg/kg/day）	試験結果 （最大耐量又は無毒性量）
ラット	♂ 15 又は 20 ♀ 15 又は 20	26 週間 （用量設定）	皮下	0、1、5、25	（♂、♀：25mg/kg/day）
ラット	♂ 60 ♀ 60	2 年間 （長期）	皮下	0、0.25、0.5、1	♂、♀：陰性
マウス	♂ 10 ♀ 10	4 週間 （用量設定）	皮下	0、3、10、33	（♂、♀：33 mg/kg/day）
マウス	♂ 25 ♀ 25	26 週間	皮下	0、3、10、30	♂、♀：陰性

2.6.6.5.1 長期がん原性試験

2.6.6.5.1.1 ラットにおける 26 週間反復皮下投与用量設定試験

（試験番号：CR845-TOX084）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.4.1-2 参照

ジフェリケファリン（1、5 及び 25 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラットに 1 日 1 回 26 週間反復皮下投与した。動物は対照群及び 25 mg/kg/day が雌雄各 20 例、1 及び 5 mg/kg/day は雌雄各 15 例を用いた。対照群及び 25 mg/kg/day の雌雄各群 5 例については、投与終了後 2 週間の回復期間を設け、毒性の回復性を検討した。なお、トキシコキネティクス用動物は雌雄各 9 例とし、対照群のみ雌雄各 3 例とした。投与量は、10 日間反復皮下投与毒性試験（添付資料：4.2.3.4.1-1、試験番号：CR845-TOX082、投与量：10 及び 50 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量は死亡しないと考えられる 25 mg/kg/day とし、以下公比 5 で中及び低用量を 5 及び 1 mg/kg/day に設定した。

投与期間及び回復期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、1 mg/kg/day 以上の雌雄で活性低下、半眼がみられた。5 mg/kg/day 以上の雌及び 25 mg/kg/day の雄で猫背姿勢、25 mg/kg/day の雄で歩行異常がみられた。摂餌量減少に関連した体重増加抑制が 1 mg/kg/day 以上の雌雄でみられた。以上の変化は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。これらの所見は回復性試験ではみられなかった。眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び剖検ではジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、投与部位で皮下投与に関連した変化と考えられる細胞浸潤等の刺激性反応がみられ、特に皮筋層の筋線維の軽微から軽度の変性/再生像がジフェリケファリン群で多くみられたことから、ジフェリケファリンの僅かな刺激作用が示唆された。回復性試験ではこの変化は回復性を示した。また、25 mg/kg/day の雌雄において対照群と比較して慢性進行性腎症が高頻度にみられたが、この変化はラットにおいて一般的にみられる加齢性変化であることから、ヒトへの外挿性はないと判断した。

血漿中薬物濃度測定の結果、投与 1 日では C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量比に応じて増加したが、投与 90 及び 182 日ではその増加は投与量比未満であった。なお、雌雄差は明らかではなかった。

以上の結果、無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.5.1.1- 1　ラットにおける 26 週間反復皮下投与用量設定試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雌雄、8 週齢（投与開始時体重：♂230～283g、♀174～221g）			
投与経路、投与期間	皮下、26 週間（1 回/日、182 又は 183 日間）			
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）	0	1	5	25
投与容量（mL/kg）	1	1	1	1
動物数（♂：♀）（回復性試験用）	15（5）：15（5）	15：15	15：15	15（5）：15（5）
死亡動物数（♂：♀）	0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態	－	活性低下（♂15：♀15）、半眼（♂1：♀6）	活性低下（♂15：♀15）、半眼（♂1：♀4）、猫背姿勢（♂0：♀2）	活性低下（♂19：♀20）、半眼（♂18：♀13）、歩行異常（♂2：♀0）、猫背姿勢（♂8：♀4）
体重 [1)]	－	♂♀↓	♂♀↓	♂♀↓
摂餌量 [1)]	－	♂♀↓	♂♀↓	♂♀↓
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－
尿検査	－	－	－	－
剖検	精巣上体及び精巣の矮小（♂1）	－	－	精巣上体及び精巣の矮小（♂1）
器官重量 [1)]	－	－	－	腎臓：絶対・相対重量↑
病理組織学的検査	投与部位の刺激性反応（♂10：♀14）、皮筋層の変性/再生（♂0：♀1）、慢性進行性腎症（♂9：♀2）、精巣上体の萎縮/精子減少（♂1）、精巣の萎縮及び精細管細胞数減少（♂1）			投与部位の刺激性反応（♂14：♀14）、皮筋層の変性/再生（♂14：♀12）、慢性進行性腎症（♂15：♀9）、精巣上体の萎縮/精子減少（♂1）、精巣の萎縮及び精細管細胞数減少（♂1）

表 2.6.6.5.1.1- 1　ラットにおける 26 週間反復皮下投与用量設定試験の成績（続き）

回復性試験（回復 2 週間）					
一般状態		－			－
体重		－			－
摂餌量		－			－
眼科学的検査		－			－
血液学的検査		－			－
血液生化学的検査		－			－
尿検査		－			－
剖検		－			－
器官重量		－			腎臓：相対重量↑
病理組織学的検査		投与部位の刺激性反応（♂3：♀3）、皮筋層の変性/再生（♂0：♀0）、慢性進行性腎症（♂2：♀0）			投与部位の刺激性反応（♂2：♀3）、皮筋層の変性/再生（♂0：♀0）、慢性進行性腎症（♂5：♀4）
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	9：9	9：9	9：9
投与 1 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	1770	7180	22500
（ng/mL）	♀	NC	1560	5860	16500
$T_{1/2}$	♂	NC	0.501	ND	ND
（hr）	♀	NC	0.553	ND	ND
$AUC_{0\text{-}last}$	♂	NC	2800	14700	72100
（ng· hr/mL）	♀	NC	2490	14200	59600
投与 90 日					
C_{max}	♂	NC	4550	17100	18200
（ng/mL）	♀	NC	7580	14100	22300
$T_{1/2}$	♂	NC	ND	ND	ND
（hr）	♀	NC	ND	ND	ND
AUC_{last}	♂	NC	14700	115000	124000
（ng· hr/mL）	♀	NC	58800	131000	149000

表 2.6.6.5.1.1- 1　ラットにおける 26 週間反復皮下投与用量設定試験の成績（続き）

投与 182 日					
C_{max}	♂	NC	7560	21400	18100
（ng/mL）	♀	NC	16900	18600	19100
$T_{1/2}$	♂	NC	ND	ND	ND
（hr）	♀	NC	ND	ND	ND
AUC_{last}	♂	NC	36700	172000	127000
（ng· hr/mL）	♀	NC	177000	212000	122000
無毒性量		♂♀25mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし　↓：減少　NC：算出できず　ND：検出できず　斜線：未実施

1)：Dunnett 検定又は Dunnett 型検定（P<0.05, P<0.01）

2.6.6.5.1.2 ラットにおける 2 年間反復皮下投与がん原性試験（試験番号：CR845-CARC088）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.4.1-3 参照

ジフェリケファリン（0.25、0.5 及び 1 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラットに 1 日 1 回 2 年間（雄：104 週間、雌：93 週間）反復皮下投与した。動物は各群とも雌雄各 60 例とし、トキシコキネティクス用動物は、雌雄各 9 例とし、対照群のみ雌雄各 3 例とした。投与量は、ラットにおける 13 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.2-3、試験番号：[redacted]-078、投与量：0、0.25、2.5 及び 25 mg/kg/day）、ラットにおける 7 日間反復皮下投与毒性試験予備試験（添付資料：4.2.3.2-1、試験番号：[redacted]-067、投与量：1、10 及び 100 mg/kg/day）、ラットにおける 10 日間反復皮下投与毒性試験（添付資料：4.2.3.4.1-1、試験番号：CR845-TOX082、投与量：10 及び 50 mg/kg/day）、ラットにおける 26 週間反復皮下投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（添付資料：4.2.3.4.1-2、試験番号：CR845-TOX084、投与量：0、1、5 及び 25 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 1 mg/kg/day とし、以下公比 2 で中及び低用量を 0.5 及び 0.25 mg/kg/day に設定した。

生存率では、雌雄ともに各群ともほぼ同様であり、統計学的有意差は認められなかった。なお、雌の対照群で投与 92 週において生存率が 33％となり、FDA の同意を得た後、93 週で雌の全群で投与を終了させた。一般状態では、雌雄の 0.25 mg/kg/day 以上で活性低下がみられた。この症状は投与初期のみに認められた一過性のもので、ジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。体重、体重増加率、摂餌量及び剖検においては雌雄ともにジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。病理組織学的検査において、腫瘍性病変は雌雄ともにジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。非腫瘍性病変では、投与部位である皮膚にいずれの群にも炎症反応等がみられたが、対照群にもみられた変化でありジフェリケファリンに起因しない反応と考えられた。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量に比例して増加し、投与 1 日では雌雄差はみられなかったが、投与 183 日では雄よりも雌の方が高値を示した。

以上の結果、ジフェリケファリンはラットに対してがん原性を示さなかった。

表 2.6.6.5.1.2- 1　ラットにおける 2 年間反復皮下投与がん原性試験の成績

使用動物		Crl:CD（SD）ラット、雌雄、8 週齢（投与開始時体重：♂215～273g、♀170～219g）			
投与経路、投与期間		皮下、2 年間（1 回/日、♂104 週間、♀93 週間）			
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）		0	0.25	0.5	1
投与容量（mL/kg）		1	1	1	1
動物数（♂：♀）		60：60	60：60	60：60	60：60
死亡動物数（♂：♀）[a)]		40：40	38：39	41：38	38：35
生存率（%）（♂：♀）[a)]		33.3：33.3	36.7：35.0	31.7：36.7	36.7：41.7
一般状態		活性低下（♂13：♀21）	活性低下（♂41：♀32）	活性低下（♂39：♀30）	活性低下（♂28：♀28）
体重		－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
病理組織学的検査					
腫瘍性病変		－	－	－	－
非腫瘍性病変		－	－	－	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	9：9	9：9	9：9
投与 1 日（初日）					
C_{max}	♂	NC	404	818	1520
（ng/mL）	♀	NC	320	667	1500
$T_{1/2}$	♂	NC	0.366	NC	NC
（hr）	♀	NC	NC	NC	NC
AUC_{last}	♂	NC	696	1380	2730
（ng· hr/mL）	♀	NC	602	1410	2900

表 2.6.6.5.1.2- 1　ラットにおける 2 年間反復皮下投与がん原性試験の成績（続き）

投与 183 日					
C_{max}	♂	NC	372	2350	5080
（ng/mL）	♀	NC	4890	7460	15300
$T_{1/2}$	♂	NC	NC	NC	NC
（hr）	♀	NC	NC	NC	NC
AUC_{last}	♂	NC	763	18500	46900
（ng· hr/mL）	♀	NC	59000	88100	161000
結果		♂♀：がん原性なし			

－：特記すべき所見なし　　NC：算出できず

a)：ジフェリケファリンに関連しない死亡及び瀕死動物を含む

2.6.6.5.2 短期又は中期がん原性試験

2.6.6.5.2.1 マウスにおける 4 週間反復皮下投与用量設定試験（試験番号：CR845-TOX083）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.4.2-1 参照

ジフェリケファリン（3、10 及び 33 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を CByB6F1 マウス[CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic（-/-homozygous c-Ha-ras）]に 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与した。動物は各群とも雌雄各 10 例とし、トキシコキネティクス用動物は雌雄各 38 例とし、対照群のみ雌雄各 8 例とした。投与量は、本試験内で実施した 5 日間反復皮下投与毒性用量設定試験（添付資料：4.2.3.4.2-1、試験番号：CR845-TOX083、投与量：0、1、3、10、33 及び 100 mg/kg/day）の成績を参考に、100 mg/kg/day の雄で瀕死が 1 例みられ、雌雄全例で呼吸困難がみられたことから、高用量を 33 mg/kg/day とし、以下公比約 3 で中及び低用量を 10 及び 3 mg/kg/day に設定した。

いずれの群においても死亡例はみられなかった。一般状態では、3 mg/kg/day 以上の雌雄で自発運動の減少、10 mg/kg/day 以上の雄及び 10 mg/kg/day の雌でよろめき歩行、10 mg/kg/day 以上の雌で腹臥位及び浅速呼吸がみられた。これらの症状は投与 5 日以降みられなくなった。体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査ではジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} とも投与量比に応じて増加を示した。なお、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、最大耐量は雌雄とも 33 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.5.2.1- 1　マウスにおける 4 週間反復皮下投与用量設定試験の成績

使用動物		CByB6F1 マウス、雌雄、7 週齢（投与開始時体重：♂21.5～26.2g、♀16.7～21.2g）			
投与経路、投与期間		皮下、4 週間（1 回/日、28 日間）			
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）		0	3	10	33
投与容量（mL/kg）		10	10	10	10
動物数（♂：♀）		10：10	10：10	10：10	10：10
死亡動物数（♂：♀）		0：0	0：0	0：0	0：0
一般状態		－	自発運動減少（♂6:♀10）	自発運動減少（♂8:♀6）、よろめき歩行（♂4:♀3）、腹臥位（♂0:♀1）、浅速呼吸（♂0：♀1）	自発運動減少（♂9:♀10）、よろめき歩行 （♂4：♀0）、腹臥位（♂0:♀7）、浅速呼吸 （♂0：♀7）
体重		－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－
血液学的検査		－	－	－	－
血液生化学的検査		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
器官重量		－	－	－	－
病理組織学的検査		－	－	－	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		8：8	38：38	38：38	38：38
投与 1 日					
C_{max} （ng/mL）	♂	NC	4310	12600	22700
	♀	NC	4550	9810	25800
$T_{1/2}$ （hr）	♂	NC	NC	NC	NC
	♀	NC	NC	NC	NC
AUC_{last} （ng· hr/mL）	♂	NC	3300	12900	44000
	♀	NC	3340	10500	38400

表 2.6.6.5.2.1- 1　マウスにおける 4 週間反復皮下投与用量設定試験の成績（続き）

投与 25 日					
C_{max}	♂	NC	3320	16100	32900
（ng/mL）	♀	NC	3530	14500	27700
$T_{1/2}$	♂	NC	NC	NC	NC
（hr）	♀	NC	NC	NC	5.91
AUC_{last}	♂	NC	3620	16400	35200
（ng· hr/mL）	♀	NC	2540	13800	31100
最大耐量		♂♀：33mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし　NC：算出できず

2.6.6.5.2.2 TG マウスにおける 26 週間反復皮下投与がん原性試験

（試験番号：CR845-CARC086）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.4.2-2 参照

ジフェリケファリン（3、10 及び 30 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を Tg.rasH2 マウス[CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic（+/-hemizygous c-Ha-ras）]に 1 日 1 回 26 週間反復皮下投与した。動物は各群とも雌雄各 25 例とし、トキシコキネティクス用動物は wild-type CByB6F1 マウス[CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic（-/-homozygous c-Ha-ras）]を用い、雌雄各 20 例とし、対照群のみ雌雄各 5 例とした。また、陽性対照としてウレタンを生理食塩液に溶解し、雌雄各 10 例に 1000 mg/kg/day を 1 日 1 回、隔日に 3 日間腹腔内投与した。投与量は、5 日間反復皮下投与毒性用量設定試験及び 28 日間反復皮下投与毒性試験（添付資料：4.2.3.4.2-1、試験番号：CR845-TOX083、5 日間反復投与量：0、1、3、10、33 及び 100 mg/kg/day、28 日間反復投与量：0、3、10 及び 33 mg/kg/day）の成績を参考に、高用量を 30 mg/kg/day とし、以下公比約 3 で中及び低用量を 10 及び 3 mg/kg/day に設定した。

いずれの群においてもジフェリケファリンに関連した死亡例はみられなかった。一般状態では、3 mg/kg/day 以上の雌雄で自発運動の減少及びよろめき歩行が、10 mg/kg/day 以上の雄で腹臥位及び呼吸困難が、3 mg/kg/day 以上の雄及び 10 mg/kg/day の雌で浅速呼吸がみられた。これらの症状は投与 7 日までみられたが、投与 141～148 日に行った詳細な観察では、3 mg/kg/day 以上の雄で浅速呼吸のみが認められた。体重及び体重増加率はジフェリケファリン群の雌雄ともに対照群と比べて高値であった。摂餌量、剖検及び器官重量ではジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。病理組織学的検査において、腫瘍性病変はジフェリケファリンに起因する変化は認められなかった。非腫瘍性病変は、投与部位である皮膚にいずれの群にも炎症反応がみられたが、対照群にもみられた変化でありジフェリケファリンに起因しない反応と考えられた。また、3 mg/kg/day 以上の雌雄で腎臓の梗塞巣が対照群よりも多くみられたが、これらの病変は小さく、限局性、片側性で、用量依存性はなく、病因

が不明であったことから、ジフェリケファリンとの関連性は明らかではなかった。血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{0-24} とも投与量に比例して増加し、雌雄差はみられなかった。

以上の結果、ジフェリケファリンは TG マウスに対してがん原性を示さなかった。

表 2.6.6.5.2.2- 1　TG マウスにおける 26 週間反復皮下投与がん原性試験の成績

使用動物	CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic マウス、雌雄、8 週齢（投与開始時体重：♂18.8～24.9g、♀15.3～20.1g）				
投与経路、投与期間	皮下、26 週間（1 回/日、182 又は 183 日間）				腹腔内、3 日間（1 回/隔日）
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン			ウレタン
投与量（mg/kg/day）	0	3	10	30	1000
投与容量（mL/kg）	10	10	10	10	10
動物数（♂：♀）	25：25	25：25	25：25	25：25	10：10
死亡動物数 a)（♂：♀）	2：0	3：1	0：1	0：1	2：1
一般状態	－	自発運動減少（♂6：♀2）、よろめき歩行（♂24：♀12）、浅速呼吸（投与 141-148 日）（♂10：♀0）	自発運動減少（♂23：♀6）、よろめき歩行（♂25：♀12）、腹臥位（♂3：♀0）、呼吸困難（♂8：♀0），浅速呼吸（♂21：♀2）、浅速呼吸（投与 141-148 日）（♂9：♀0）	自発運動減少（♂23：♀3）、よろめき歩行 （♂24：♀15）、腹臥位（♂7：♀0）、呼吸困難 （♂16：♀0）、浅速呼吸（♂21：♀0）、浅速呼吸（投与 141-148 日）（♂13：♀0）	自発運動減少（♂10：♀10）、よろめき歩行（♂10：♀10）、腹臥位（♂10：♀1）、浅速呼吸（♂10：♀10）
体重	－	♂♀↑1)	♂♀↑1)	♂♀↑1)	♂♀↓
摂餌量	－	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－	肺結節性病変（♂8：♀10）
器官重量	－	－	－	－	

表 2.6.6.5.2.2- 1　TG マウスにおける 26 週間反復皮下投与がん原性試験の成績（続き）

病理組織学的検査 腫瘍性病変		－	－	－	－	多発性肺腺腫（♂10：♀10）
非腫瘍性病変		投与部位の炎症（♂17：♀24）、腎臓の梗塞巣（♂0：♀2）	投与部位の炎症（♂13：♀22）、腎臓の梗塞巣（♂7：♀4）	投与部位の炎症（♂20：♀22）、腎臓の梗塞巣（♂7：♀4）	投与部位の炎症（♂21：♀18）、腎臓の梗塞巣（♂4：♀5）	
血漿中薬物濃度測定						
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン			
投与量（mg/kg/day）		0	3	10	30	
動物数（♂：♀）		5：5	20：20	20：20	20：20	
投与 170 日						
C_{max}（ng/mL）	♂	NC	4140	10500	41700	
	♀	NC	4260	12700	33300	
$T_{1/2}$（hr）	♂	NC	NC	NC	NC	
	♀	NC	5.89	NC	NC	
AUC_{0-24}（ng· hr/mL）	♂	NC	4200	12300	42800	
	♀	NC	3810	11300	34700	
結果		♂♀：がん原性なし				

－：特記すべき所見なし、↑：増加、↓：減少、NC：算出できず、斜線：未実施

a)：ジフェリケファリンに関連しない死亡及び瀕死動物を含む

1)：Dunnett 検定（$P<0.05$）

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

表 2.6.6.6- 1　生殖発生毒性試験概略

試験種	動物種	動物数／群	投与量（mg/kg/day）	投与方法	投与期間	無毒性量
受胎能及び初期胚発生	ラット	♂：25 ♀：25	0、0.25、2.5、25	静脈内	♂：交配前 28 日～交配期間～剖検前日 ♀：交配前 15 日～交配期間～妊娠 7 日	親動物（一般毒性） ♂♀：25mg/kg/day 親動物（生殖機能） ♂：25mg/kg/day ♀：0.25mg/kg/day 初期胚発生： 25mg/kg/day
胚・胎児発生	ラット	♀：25	0、0.25、2.5、25	静脈内	♀：妊娠 7～17 日	母動物（一般毒性）： 0.25mg/kg/day 未満 母動物（生殖機能）： 25mg/kg/day 胚・胎児：25mg/kg/day
	ウサギ	♀：20	0、0.025、0.05、0.1	静脈内	♀：妊娠 7～19 日	母動物（一般毒性）： 0.025mg/kg/day 未満 母動物（生殖機能）： 0.05mg/kg/day 胚・胎児：0.1mg/kg/day
出生前及び出生後の発生ならびに母動物機能	ラット	♀：25	0、0.6、2.5、10	静脈内	♀：妊娠 7～授乳 20 日	母動物（一般毒性）： 0.6mg/kg/day 母動物（生殖機能）： 10mg/kg/day 出生児の発育・生殖機能：10mg/kg/day

2.6.6.6.1 ラットにおける静脈内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

（試験番号：CR845-TOX073）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.5.1-1 参照

ジフェリケファリン（0.25、2.5 及び 25 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラット各群雌雄 25 例に、雄は交配前 28 日間と交配期間を通じて剖検前日まで、雌は交配前 15 日間と交配期間を通じて妊娠 7 日まで 1 日 1 回静脈内投与（ボーラス投与）した。雄動物は投与 78～81 日に、雌動物は妊娠 13 日に屠殺し、外表、内部器官及び組

織を肉眼的に観察した。また、各群 3 又は 6 例のサテライト群を設け、投与 1 日又は 2 日に採血して、血漿中ジフェリケファリン濃度を測定した。

投与量は、4 週間反復静脈内投与毒性試験（添付資料：4.2.3.2-2、試験番号：CR845-TOX044、投与量：0、1、5、25 mg/kg/day）の成績を参考にした。5 及び 25 mg/kg/day において、自発運動の減少などのジフェリケファリンの薬理作用に起因とする所見がみられた。以上から、25 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 10 で中及び低用量をそれぞれ 2.5、0.25 mg/kg/day に設定した。

投与期間中、いずれの投与群においても死亡はみられなかった。一般状態において、0.25 mg/kg 以上の雌雄で猫背姿勢、自発運動の減少、運動失調、挙尾、脱水症状、色素涙、接触による過敏あるいは発声、眼瞼下垂、流涙、緩徐呼吸、無身づくろいなどがみられた。これらの症状はジフェリケファリンの薬理作用に起因したものと考えられ、交配開始前までにはみられなくなった。体重は、0.25 mg/kg/day 以上の雄で投与期間を通じて（投与 78 日まで）減少した。雌では交配前の投与 1～8 日間での体重増加量が低値を示した。妊娠期間ではジフェリケファリンに関連した体重の変化はみられなかった。摂餌量は、雄では交配前投与 1～28 日、雌では交配前投与 1～15 日に減少がみられた。

0.25 mg/kg/day 以上の雄において、精子検査（運動性、濃度、形態）及び精巣あるいは精巣上体の組織学的検査においてジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。2.5 mg/kg/day 以上の雌において、交配前投与では性周期発情休止期の延長がみられ、0.25 mg/kg/day 以上の雌では性周期回数が対照群と比較して有意に減少した。しかし、剖検所見、交尾率、受胎率、平均交配所要日数、黄体数及び着床数については、ジフェリケファリンの影響はみられなかった。妊娠 13 日開腹検査では、着床前胚死亡率、着床後胚死亡率、死亡胚数及び生存胚数にジフェリケファリンの影響はみられなかった。また、ジフェリケファリンを投与した雄と交配させた無処置の雌においても、ジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、雌雄ともジフェリケファリンの C_{max} 及び AUC_{last} の値は投与用量に依存して増加した。性差については、雄は雌よりも曝露量が高い傾向を示した。

以上の結果、親動物では、一般状態の変化、体重及び摂餌量の減少などがみられたが、ジフェリケファリンの薬理学的作用に起因した一過性の作用であったことから、一般毒性学的な無毒性量は雌雄とも 25 mg/kg/day、生殖機能の無毒性量は雄で 25 mg/kg/day、雌では性周期発情休止期の延長と性周期回数の減少がみられたことから 0.25 mg/kg/day、初期胚発生に対する無毒性量は 25 mg/kg/day であると考えられた。

表 2.6.6.6.1- 1　ラットにおける静脈内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の成績

使用動物		Crl:CD（SD）ラット、♂：71 日齢（入荷時体重：282～340g）、♀：66 日齢（入荷時体重：191～224g）			
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）		0	0.25	2.5	25
動物数（♂：♀）		25：25	25：25	25：25	25：25
親動物♂	死亡数	0	0	0	0
	一般状態	－	猫背姿勢、自発運動減少、運動失調、挙尾、脱水症状、色素涙、過敏、発声、眼瞼下垂、流涙、緩徐呼吸、無身づくろい	猫背姿勢、自発運動減少、運動失調、挙尾、脱水症状、色素涙、過敏、発声、眼瞼下垂、流涙、緩徐呼吸、無身づくろい	猫背姿勢、自発運動減少、運動失調、挙尾、脱水症状、色素涙、過敏、発声、眼瞼下垂、流涙、緩徐呼吸、無身づくろい
	体重 [1)]	－	↓	↓	↓
	摂餌量 [1)]	－	↓	↓	↓
	交尾率（%）	100.0	100.0	100.0	100.0
	受胎率（%）	100.0	92.0	92.0	100.0
	剖検	－	－	－	－
	器官重量（精巣、精巣上体、前立腺及び精嚢）	－	－	－	－
	病理組織学的検査（精巣及び精巣上体）	－	－	－	－
	精子検査	－	－	－	－
親動物♀	死亡数	0	0	0	0
	一般状態	－	自発運動減少、脱水症状	猫背姿勢、自発運動減少、脱水症状、色素涙、過敏、発声、眼瞼下垂、流涙、無身づくろい	猫背姿勢、自発運動減少、運動失調、脱水症状、色素涙、発声、眼瞼下垂、流涙、無身づくろい
	体重 [1)]	－	↓	↓	↓
	摂餌量 [1)]	－	↓	↓	↓
	性周期回数 [1)]	3.3±0.5	2.6±0.6↓	1.8±1.2↓	1.3±1.1↓
	発情休止期延長動物数（%） [1)]	0（0.0）	3（12.0）	12（48.0）↑	17（68.0）↑

表 2.6.6.6.1- 1　ラットにおける静脈内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の成績（続き）

親動物♀	平均交配所要日数（日）	2.4±1.2	2.7±2.1	3.4±1.9	3.0±3.2
	交尾率（%）	100.0	100.0	100.0	100.0
	受胎率（%）	100.0	96.0	96.0	92.0
	剖検	―	―	―	―
	黄体数（平均±SD）	16.1±1.6	15.4±3.1	16.8±3.0	16.5±2.7
親動物♀	着床数（平均±SD）	15.0±3.0	14.2±3.6	16.1±2.7	15.5±3.4
	着床前胚死亡率（%、平均±SD）	7.0±15.1	9.2±13.0	4.0±4.7	7.1±10.4
	着床後胚死亡率（%、平均±SD）	3.0±4.0	7.7±12.2	3.8±3.7	3.7±6.1
	死亡胚数（平均±SD）	0.4±0.6	1.0±1.5	0.6±0.6	0.6±0.8
	生存胚数（平均±SD）	14.6±3.0	13.2±4.1	15.4±2.5	15.0±3.5
血漿中薬物濃度測定					
動物数（♂：♀）		3：3	6：6	6：6	6：6
投与 1 日					
C_{max}（ng/mL）	♂	NC	953	10400	105000
	♀	NC	803	7370	84400
$T_{1/2}$（hr）	♂	NC	0.367	0.668	4.78
	♀	NC	0.336	0.689	5.73
AUC_{lastt}（ng·hr/mL）	♂	NC	483	5950	76300
	♀	NC	401	4410	49900
無毒性量		親動物　（一般毒性）♂♀：25mg/kg/day 親動物（生殖機能）♂：25mg/kg/day、♀：0.25mg/kg/day 初期胚発生：25mg/kg/day			

―：特記すべき所見なし、↓：低値あるいは増加抑制、↑：高値（相補的な上昇）　NC：算出できず

1)：Dunnett 検定又は Dunn 検定（P<0.05, P<0.01）

2.6.6.6.2 ラットにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験

（試験番号：CR845-TOX075）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.5.2-2 参照

ジフェリケファリン（0.25、2.5 及び 25 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラット各群 25 例の妊娠動物に妊娠 7 日から妊娠 17 日まで静脈内投与（ボーラス投与）した。動物は妊娠 21 日に帝王切開し、胎児検査を行った。また、各群 3 又は 10 例

のサテライト群を設け、妊娠 7 日、妊娠 17 日又は 18 日に採血して、血漿中ジフェリケファリン濃度を測定した。

投与量は、ラットにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験（添付資料：4.2.3.5.2-1、試験番号：CR845-TOX074、投与量：0、0.2、1、5、25 mg/kg/day）の成績を参考にした。25 mg/kg/day において、ジフェリケファリンの薬理作用に関連した所見がみられたが、忍容性はあると考えられたことから、25 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 10 で中及び低用量をそれぞれ 2.5、0.25 mg/kg/day と設定した。

投与期間中、いずれの投与群においても死亡はみられなかった。0.25 mg/kg/day 以上で、猫背姿勢、自発運動の減少、軽微から中等度の脱水症状、眼瞼下垂及び尿による腹部被毛の汚れがみられた。2.5 mg/kg/day 以上で、色素涙、色素鼻漏、つま先歩行及び低頻度であるが接触による発声がみられた。25 mg/kg/day で無身づくろい、痩身及び低頻度であるが音による過敏がみられた。これらのほとんどの症状は妊娠 14 日までの投与初期にみられたものであった。母動物の体重は、投与期間中に 0.25 mg/kg/day 以上で減少がみられ、投与終了後の妊娠 18～21 日でもみられた。体重増加率も妊娠 7～18 日（投与期間）あるいは妊娠 7～21 日（投与開始～剖検時）において、0.25 mg/kg/day 以上で低値であった。摂餌量は、0.25 mg/kg/day 以上で妊娠 7～18 日（投与期間）あるいは妊娠 7～21 日（投与開始～剖検時）に減少がみられた。母動物の体重及び摂餌量への影響はジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。

剖検所見、受胎率、黄体数、着床数、着床前胚死亡率、生存・死亡胎児数、早期・後期吸収胚、胎児体重、着床後胚死亡率、吸収受胎産物数率、生存雄胎児数率（性比）、外表観察及び内臓検査については、いずれもジフェリケファリンに関連した異常はみられなかった。骨格検査において、25 mg/kg で低頻度ではあるが波状肋骨、不完全骨化肋骨の変異がみられた。これらの変化は低頻度であり、成長及び発育に伴って消失することから毒性学的意義のない変化と判断した。これら以外は特にジフェリケファリンに関連した異常はみられなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、妊娠 7 及び 17 日のジフェリケファリンの C_{max} 及び AUC_{0-24} の値は投与用量に依存して増加し、妊娠 17 日の AUC_{0-24} の値は妊娠 7 日の値に近似していた。

以上の結果、ジフェリケファリンの母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 0.25 mg/kg/day 未満、母動物の生殖機能及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 25 mg/kg/day であり、ジフェリケファリンに催奇形性はないと考えられた。

表 2.6.6.6.2- 1　ラットにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の成績

使用動物		Crl:CD（SD）ラット、妊娠動物：12～14 週齢（群分け時体重：208～246g）			
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）		0	0.25	2.5	25
母動物	母体数	25	25	25	25
	死亡数	0	0	0	0
	一般状態	－	自発運動減少、軽度脱水症、猫背姿勢、眼瞼下垂、腹部被毛尿汚れ	自発運動減少、中等度脱水症、猫背姿勢、眼瞼下垂、腹部被毛尿汚れ、色素涙、色素鼻漏、つま先歩行、発声	自発運動減少、中等度脱水症、猫背姿勢、眼瞼下垂、腹部被毛尿汚れ、色素涙、色素鼻漏、つま先歩行、無身づくろい、痩身、発声、過敏
	体重 [1)]	－	↓	↓	↓
	摂餌量 [1)]	－	↓	↓	↓
	受胎率（%）	100.0	100.0	92.0	100.0
	黄体数（平均±SD）	15.8±2.1	15.8±2.9	15.0±1.6	15.3±2.6
	着床数（平均±SD）	15.1±1.6	14.8±2.5	14.4±1.6	14.6±2.3
	剖検	－	－	－	－
胎児 F_1	着床前胚死亡率（%、平均±SD）	3.8±6.4	6.4±11.0	3.7±4.4	4.2±6.4
	着床後胚死亡率（%、平均±SD）	3.0±5.0	4.8±8.8	4.9±5.3	4.0±7.3
	早期吸収胚数（平均±SD）	0.4±0.7	0.6±1.1	0.6±0.8	0.6±1.0
	後期吸収胚数（平均±SD）	0.0±0.2	0.0±0.2	0.0±0.2	0.0±0.2
	吸収受胎産物数率（%、平均±SD）	3.0±5.0	4.8±8.8	4.9±5.3	4.0±7.3
	生存胎児数（平均±SD）	14.6±1.9	14.1±2.8	13.7±1.9	14.0±2.4
	死亡胎児数（平均±SD）	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	性比（♂、%）	50.6±13.0	48.7±14.4	50.0±13.3	47.0±9.3

表 2.6.6.6.2- 1　ラットにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の成績（続き）

	体重（g、平均±SD）♂	5.80±0.30	5.70±0.26	5.69±0.39	5.59±0.37
	♀	5.47±0.30	5.44±0.24	5.38±0.33	5.36±0.29
胎	外形異常	－	－	－	－
児	内臓異常	－	－	－	－
F_1	骨格異常 所見・頻度（%）	－	－	－	波状肋骨 4（2.2）、不完全骨化肋骨 5（2.7）
血漿中薬物濃度測定					
動物数		3	10	10	10
妊娠 7 日（投与 1 日）					
C_{max}（ng/mL）		NC	926	7530	109000
$T_{1/2}$（hr）		NC	0.391	0.676	NC
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）		NC	493	4930	70400
妊娠 17 日（投与 11 日）					
C_{max}（ng/mL）		NC	891	9560	90400
$T_{1/2}$（hr）		NC	0.714	NC	7.02
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）		NC	508	5080	55900
無毒性量		母動物（一般毒性）0.25mg/kg/day 未満 母動物（生殖機能）：25mg/kg/day 胚・胎児：25mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：増加抑制、NC：算出できず

1)：Dunnett 検定又は Dunn 検定（P<0.05）

2.6.6.6.3 ウサギにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験

（試験番号：CR845-TOX076）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.5.2-4 参照

ジフェリケファリン（0.025、0.05 及び 0.1 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を New Zealand White ウサギ各群 20 例の妊娠動物に妊娠 7 日から妊娠 19 日まで静脈内投与した。動物は妊娠 29 日に帝王切開し、胎児検査を行った。また、各群 3 例のサテライト群を設け、妊娠 7 日、妊娠 19 日又は 20 日に採血して、血漿中ジフェリケファリン濃度を測定した。

投与量は、ウサギにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験（添付資料：4.2.3.5.2-3、試験番号：CR845-TOX072）の成績を参考にした。ジフェリケファリンを 0、0.2、1、5、25 mg/kg/day の用量で非妊娠動物に 10 日間投与した。また、0、0.02、0.1、0.5、

2.5 mg/kg/day の用量を妊娠動物に妊娠 7 日から妊娠 19 日まで投与した。非妊娠動物では、5 mg/kg/day で投与 2 日に 3 例中 1 例が死亡したため 25 mg/kg/day は投与しなかった。また、5 mg/kg/day の一般状態では少量の糞便、糞便による汚れ、無身づくろい、痩身などの症状がみられ、重度の体重減少及び摂餌量減少がみられた。妊娠動物では、2.5 mg/kg/day で重度の頻呼吸、縮瞳、自発運動減少などの症状、体重減少、摂餌量減少がみられたため、妊娠 9 日に屠殺した。0.5 mg/kg/day では子宮重量減少、着床後胚死亡率の増加、産児数減少及び胎児体重減少がみられた。0.1 mg/kg/day では、母動物には同様の一般症状、体重減少及び摂餌量減少がみられたが、胚胎児には影響がみられなかった。以上から、0.1 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 2 で中及び低用量をそれぞれ 0.05、0.025 mg/kg/day と設定した。

投与期間中、0.025 及び 0.05 mg/kg/day では死亡例はみられなかった。0.1 mg/kg/day では妊娠 16 日に 1 例が死亡し、もう 1 例が妊娠 23 日に流産したため、屠殺した。流産はジフェリケファリンに関連した母動物の体重減少によるものと考えられた。一般状態では、0.05 mg/kg/day 以上で痩身、軽度の脱水症が、0.1 mg/kg/day ではさらに少量糞便、頻呼吸、ケージ受け皿に赤色物付着がみられた。0.025 mg/kg/day ではジフェリケファリンに関連した症状はみられなかった。母動物の体重増加量は、0.05 mg/kg/day 以上で妊娠 7～13 日、0.1 mg/kg/day 以上で妊娠 7～20 日において低値を示した。0.05 mg/kg/day 以上では妊娠 10～13 日で体重の減少があり顕著であった。摂餌量は妊娠 7～20 日でジフェリケファリン用量依存的に減少した。0.1 mg/kg/day では妊娠 7～10 日の減少が顕著であった。母動物の体重や摂餌量への影響はジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。

0.1 mg/kg/day で妊娠率が減少していたが、母動物毒性の二次的な変化と考えられ、剖検ではいずれの群もジフェリケファリンに関連した異常はみられなかった。黄体数、着床数、着床前胚死亡率、生存・死亡胎児数、早期・後期吸収胚数、胎児体重、着床後胚死亡率、死亡・吸収受胎産物数率、生存雄胎児数率（性比）、外表観察、骨格検査及び内臓検査については、いずれもジフェリケファリンに関連した異常はみられなかった。

血漿中薬物濃度測定の結果、妊娠 7 及び 19 日のジフェリケファリンの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}tau}$ の値は投与用量に依存して増加し、妊娠 19 日の $AUC_{0\text{-}tau}$ の値は妊娠 7 日の値に近似していた。

以上の結果、ジフェリケファリンの母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 0.025 mg/kg/day 未満、母動物の生殖機能については 0.1 mg/kg/day で妊娠動物数の減少が認められたことから無毒性量は 0.05 mg/kg/day、胚・胎児発生に対する無毒性量は 0.1 mg/kg/day であり、ジフェリケファリンに催奇形性はないと考えられた。

表 2.6.6.6.3- 1　ウサギにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の成績

使用動物		New Zealand White Hra:（NZW）SPF ウサギ、妊娠動物：5.5～6.5 月齢（群分け時体重：2.8～4.1kg）			
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）		0	0.025	0.05	0.1
母動物	母体数	20	20	20	20
	死亡数	0	0	0	1
	流産数	0	0	0	1
	一般状態	－	－	痩身、軽度脱水症	痩身、軽度脱水症、少量糞便、頻呼吸、赤色物付着（ケージ受け皿）
	体重増加 [1)]	－	－	↓	↓
	摂餌量 [1)]	－	↓	↓	↓
	妊娠率（%）[1)]	100.0	90.0	95.0	70.0↓
	黄体数（平均±SD）	10.0±2.2	9.7±2.4	9.8±2.7	9.2±2.9
	着床数（平均±SD）	9.5±2.0	9.2±1.8	9.4±2.4	8.9±3.0
	剖検	－	－	－	－
胎児 F_1	着床前胚死亡率（%、平均±SD）	4.7±7.6	4.2±6.4	3.4±6.1	6.6±14.3
	着床後胚死亡率（%、平均±SD）	2.8±6.2	4.6±12.3	3.3±5.4	7.7±12.1
	早期吸収胚数（平均±SD）	0.2±0.7	0.3±1.2	0.3±0.6	0.5±1.0
	後期吸収胚数（平均±SD）	0.1±0.3	0.1±0.3	0.1±0.3	0.2±0.4
	死亡・吸収受胎産物数率（%、平均±SD）	2.8±6.2	4.6±12.3	3.3±5.4	7.7±12.1
	生存胎児数（平均±SD）	9.2±1.9	8.7±1.5	9.0±2.2	8.2±3.2
	死亡胎児数（平均±SD）	0.0±0.0	0.1±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0
	性比（♂、%）	46.6±17.1	52.4±15.3	47.3±12.1	58.6±24.8

表 2.6.6.6.3- 1　ウサギにおける静脈内投与による胚・胎児発生に関する試験の成績（続き）

胎児 F_1	体重（g、平均±SD）♂	41.98±5.76	40.52±3.96	42.60±6.38	41.67±8.80
	♀	41.70±4.89	39.60±4.58	40.48±7.15	40.93±9.35
	外形異常	－	－	－	－
	内臓異常	－	－	－	－
	骨格異常	－	－	－	－
血漿中薬物濃度測定					
動物数		3	3	3	3
妊娠 7 日（投与 1 日）					
C_{max}（ng/mL）		NC	178	372	772
$T_{1/2}$（hr）		NC	0.602	0.812	0.814
$AUC_{0\text{-}tau}$（ng·hr/mL）		NC	130	332	671
妊娠 19 日（投与 13 日）					
C_{max}（ng/mL）		NC	178	390	906
$T_{1/2}$（hr）		NC	0.619	0.817	0.861*
$AUC_{0\text{-}tau}$（ng·hr/mL）		NC	143	354	787
無毒性量		母動物（一般毒性）：0.025mg/kg/day 未満 母動物（生殖機能）：0.05mg/kg/day 胚・胎児：0.1mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、NC：算出できず、*：n=2
1)：Dunnett 検定又は Dunn 検定（P<0.05, 0.01）

2.6.6.6.4 ラットにおける静脈内投与による出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験（試験番号：CR845-TOX077）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.5.3-1 参照

ジフェリケファリン（0.6、2.5 及び 10 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を SD ラット各群 25 例の妊娠動物に、妊娠 7 日から授乳 20 日まで 1 日 1 回静脈内投与（ボーラス投与）した。動物は自然分娩させ、一部の出生児は性成熟時まで飼育した後に同群内の雌雄を交配させて生殖機能を検査した。また、各群 7 例の妊娠動物をサテライト群とし、妊娠 7 日から妊娠 20 日あるいは授乳 14 日まで投与し、妊娠 20 日あるいは授乳 14 日に採血及び授乳 14 日に乳汁を採取して、血漿中あるいは乳汁中のジフェリケファリン濃度を測定した。

投与量は、ラットにおける静脈内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（添付資料：4.2.3.5.1-1、試験番号：CR845-TOX073、投与量：0、0.25、2.5、25 mg/kg/day）及び胚・胎児発生に関する試験（添付資料：4.2.3.5.2-2、試験番号：CR845-TOX075、投与量：

0、0.25、2.5、25 mg/kg/day）の成績を参考に、10 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 4 で中及び低用量をそれぞれ 2.5、0.6 mg/kg/day に設定した。

母動物において、投与期間中、いずれの群においてもジフェリケファリンに関連した死亡はみられなかった。一般状態では、0.6 mg/kg/day 以上で自発運動の減少、猫背姿勢、眼瞼下垂、発声、尿による腹部被毛の汚れなどの発生頻度が用量依存的に増加した。これらの症状は投与初期にみられ、妊娠 16 日以降はみられなくなった。体重あるいは体重増加量及び摂餌量において、0.6 mg/kg/day 以上で減少がみられた。一般状態、体重、摂餌量の変化はジフェリケファリンの薬理作用に伴う二次的な変化と考えられた。妊娠期間、同腹児数、生存児数、分娩時症状観察及び剖検において、ジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。

出生児（F_1）では、一般状態、体重、摂餌量、受動的回避学習、運動性、水迷路、性成熟、生殖機能及び剖検においてジフェリケファリンに関連した所見はみられなかった。また、胎児（F_2）においても異常はみられなかった。

血漿中あるいは乳汁中薬物濃度測定の結果、妊娠 20 日の母動物及び胎児の血漿中、あるいは授乳 14 日の母動物の血漿中及び乳汁中のジフェリケファリン濃度は概ね用量依存的な増加を示した。

以上の結果、本試験条件下ではジフェリケファリンの母動物に対する一般毒性学的な無毒性量は 0.6 mg/kg/day、生殖機能に関する無毒性量は 10 mg/kg/day、出生児の発育及び生殖機能に対する無毒性量は 10 mg/kg/day と考えられた。

表 2.6.6.6.4- 1　ラットにおける静脈内投与による出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験の成績

使用動物		Crl:CD（SD）ラット、妊娠動物（群分け時体重：200～233g）			
被験物質		生理食塩液	ジフェリケファリン		
投与量（mg/kg/day）		0	0.6	2.5	10
母動物	母体数	25	25	25	25
	死亡数	0	0	1	0
	一般状態	－	自発運動減少、猫背姿勢、眼瞼下垂、尿による腹部被毛の汚れ、発声	自発運動減少、猫背姿勢、眼瞼下垂、運動失調、脱水症、尿による腹部被毛の汚れ、前肢制限	自発運動減少、猫背姿勢、眼瞼下垂、運動失調、脱水症、流涙、尿による腹部被毛の汚れ、色素涙、発声、前肢制限
	体重 [1)]	－	↓	↓	↓
	摂餌量 [1)]	－	↓	↓	↓
	妊娠動物数	24	25	24	23

表 2.6.6.6.4- 1　ラットにおける静脈内投与による出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験の成績（続き）

母動物	出産率（%）	100.0	100.0	100.0	100.0
	妊娠期間（日）（平均±SD）	22.4±0.5	22.8±0.4	22.9±0.3	22.8±0.4
	着床数（平均±SD）	12.8±1.2	13.5±1.8	12.9±1.7	13.2±1.3
	剖検	―	―	―	―
出生児 F_1	生存児数	12.3±1.4	12.2±1.8	12.0±2.5	11.2±3.0
	死亡児数	0.0±0.0	0.1±0.3	0.4±1.6	0.2±0.6
	4 日生存率（%、平均±SD）	99.3	100.0	99.0	99.2
	哺育率（%）	100.0	100.0	100.0	100.0
	性比（♂、%）	54.5±13.0	52.2±14.9	49.7±14.4	55.4±18.4
	体重（g、平均±SD）	7.0±0.4	7.0±0.5	7.0±0.6	7.2±0.7
	死亡数	0（1）*	0（1）#	0	0
	一般状態	―	―	―	―
	体重	―	―	―	―
	摂餌量	―	―	―	―
	性成熟	―	―	―	―
	受動的回避学習	―	―	―	―
	運動性	―	―	―	―
	水迷路	―	―	―	―
	交尾率（%）　♂	100.0	100.0	96.0	96.0
	♀	100.0	100.0	100.0	100.0
	受胎率（%）　♂	95.8	100.0	87.5	83.3
	♀	96.0	100.0	88.0	84.0
	剖検	―	―	―	―
	黄体数（平均±SD）	16.6±1.9	17.5±2.0	17.8±1.6	16.1±2.0
	着床数（平均±SD）	15.8±1.9	16.9±1.3	16.0±4.0	15.8±1.8

表 2.6.6.6.4- 1　ラットにおける静脈内投与による出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験の成績（続き）

胎児 F_2	着床前胚死亡率（%、平均±SD）	4.3±7.4	2.8±6.8	10.2±21.2	1.6±3.2
	着床後胚死亡率（%、平均±SD）	5.8±7.0	4.6±6.7	6.9±21.1	8.4±17.4
	生存胎児数（平均±SD）	14.9±2.0	16.1±1.5	15.6±4.0	14.6±3.6
	死亡胎児数	0	0	0	0
血漿中・乳汁中薬物濃度測定					
妊娠 20 日		血漿中濃度（ng/mL）			
母動物 2)		0	928	4353	14717
胎児		0	23.4	116	369
授乳 14 日		濃度（ng/mL）			
血漿中	母動物 2)	0	590	1827	9420
	出生児	0	0	0	0
乳汁中	母動物 2)	0	26.2	93.7	400
無毒性量		母動物（一般毒性）：0.6mg/kg/day 母動物（生殖機能）：10mg/kg/day 出生児の発育・生殖機能：♂♀10 mg/kg/day			

－：特記すべき所見なし、↑：増加、↓：減少、*：分娩後 25 日に 1 例屠殺、#：予定より早く出産した 1 例屠殺
1)：Dunnett 検定又は Dunn 検定（P<0.05, 0.01）、2)：各群 n=3

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギにおける血管周囲皮下投与による局所刺激性試験（試験番号：[redacted]-105）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.6-1 参照

0.1 mg/mL 及び 10 mg/mL のジフェリケファリン製剤（MR13A9）を各群 6 例の日本白色種（Kbl：JW）雄性ウサギの耳介静脈周囲皮下に 0.2 mL/site で単回投与し、血管周囲刺激性について検討した。陰性対照物質として生理食塩液、媒体対照物質としてプラセボ製剤（MR13A9 プラセボ）を被験物質と同様に投与した。

0.1 mg/mL の MR13A9 では、肉眼的検査でごく軽度の紅斑及び浮腫がみられたが、これらの症状は投与後 4 日までに回復した。病理組織学的検査では、投与後 2 日でごく軽度の細胞浸潤及び浮腫が認められたが、投与後 14 日では変化は認められなかった。10 mg/mL の MR13A9 では、肉眼的検査でごく軽度の紅斑及びごく軽度から軽度の浮腫がみられたが、これらの症状は投与後 3 日までに回復した。病理組織学的検査では、投与後 2 日でごく軽度の

細胞浸潤、浮腫及び変性、ごく軽度から軽度の出血が認められたが、投与後 14 日では変化は認められなかった。MR13A9 プラセボでは肉眼的検査でごく軽度の浮腫がみられたが、投与後 2 日までに回復した。病理組織学的検査において、MR13A9 プラセボに起因する変化は認められなかった。生理食塩液では肉眼的検査でごく軽度の浮腫がみられたが、投与後 4 時間までに回復し、病理組織学的検査では変化は認められなかった。

以上の結果、0.1 及び 10 mg/mL の MR13A9 は軽度、MR13A9 プラセボはごく軽度の血管周囲刺激性が認められた。

表 2.6.6.7.1- 1　ウサギにおける血管周囲皮下投与による局所刺激性試験の成績

使用動物	Kbl：JW ウサギ、♂：14 週齢（群分け時体重：2.51～2.88kg）							
試験方法	耳介静脈周囲皮下に 0.2mL/site で単回投与し、投与後 1、4、8、24 及び 48 時間、投与後 3 日から 14 日まで毎日 1 回、肉眼的検査を行った。投与後 2 及び 14 日、各群 3 匹ずつ屠殺し、投与部位の病理組織学的検査を行った。							
被験物質	陰性対照		ジフェリケファリン製剤（MR13A9）					
濃度（mg/mL）	0		0（媒体対照）		0.1		10	
例数	6		6		6		6	
肉眼的検査	観察された例数／全例数							
紅斑	0／6		0／6		4*／6		5*／6	
痂皮	0／6		0／6		0／6		0／6	
浮腫	6*／6		6*／6		6*／6		6#／6	
病理組織学的検査	観察された例数／全例数							
	a	b	a	b	a	b	a	b
出血	0／3	0／3	0／3	1#／3	0／3	0／3	2#／3	0／3
浮腫	0／3	0／3	0／3	0／3	2*／3	0／3	3*／3	0／3
細胞浸潤	0／3	0／3	1*／3	0／3	2*／3	0／3	2*／3	0／3
変性	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	2*／3	0／3
壊死	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3
線維化	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3
結論	0.1 及び 10mg/mL の MR13A9：軽度の血管周囲刺激性あり MR13A9 プラセボ：ごく軽度の血管周囲刺激性あり							

陰性対照：生理食塩液、媒体対照：MR13A9 プラセボ

a：投与後 2 日、b：投与後 14 日

*：ごく軽度、#：ごく軽度又は軽度

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 免疫毒性試験

ラット及びサルを用いた 13 週間反復静脈内投与毒性試験（2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.7 参照）において、末梢血イムノフェノタイピング検査ではジフェリケファリンに関連した変化は認められず、さらにサルでは、脾臓及び胸腺の免疫組織化学検査及び T 細胞依存性抗体産生能評価においても、いずれも対照群と差はみられなかった。したがって、ラット及びサルにおける免疫毒性評価では、免疫細胞数、細胞種分布及び免疫機能に影響は認められなかった。

2.6.6.8.2 光毒性試験

ジフェリケファリンは、D-体アミノ酸からなる分子量約 680 の低分子ペプチドであり、270nm 以上の紫外線を吸収しない（3.2.P.5.3 参照）ことから、ICH S10 ガイドラインに従い、光毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.3 依存性試験

表 2.6.6.8.3- 1　ラットにおける依存性試験の成績

試験の種類	動物種（系統） 動物数/群	投与 経路	投与量 （mg/kg）	特記所見
条件付き場所嗜好性/嫌悪性（報酬効果）	ラット（SD） ♂：10～14	静脈内	0、0.32、1、3.2	いずれの投与群も条件付き場所嗜好性/嫌悪性は認められなかった。
薬物自己投与（強化効果）	ラット（SD） ♂：5～8	静脈内	0、0.001、0.005、0.025、0.125	いずれの投与群もヘロイン維持ラットにおいてジフェリケファリンの強化効果は認められなかった。
薬物弁別（自覚効果）	ラット（Lister Hooded） ♀：6～15	静脈内	0、0.05、0.125、0.25、0.5	ジフェリケファリンのペンタゾシンへの般化は低レベルで、用量相関は認められなかった。
身体依存性	ラット（SD） ♂：10～15	静脈内	0、5	自発運動の減少等の一般状態変化、体重及び摂餌量の減少がみられたが、耐性あるいは感作は認められず、退薬症状及び身体依存性も認められなかった。

2.6.6.8.3.1 ラットにおける場所嗜好性/嫌悪性試験（試験番号：CR845-SP036）

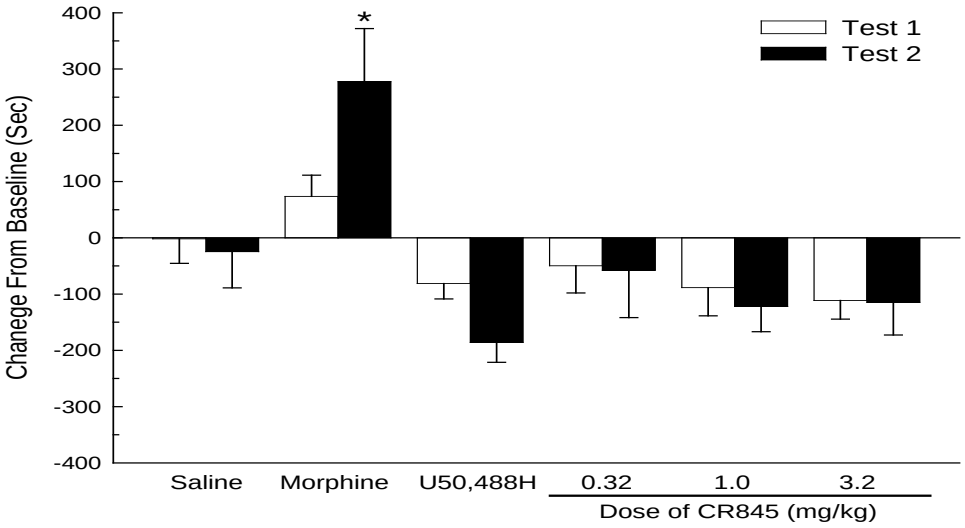
・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.7.4-1 参照

雄性 SD ラット（体重 : 163.7～193.1 g）を 1 群 10～14 例用い、ジフェリケファリン（0.32、1.0 及び 3.2 mg/kg）、モルヒネ（Morphine、陽性嗜好対照、3.2 mg/kg）、U50,488H（陽性嫌悪対照、3.2 mg/kg）及び溶媒（生理食塩液 Saline）群を設定した。場所嗜好性/嫌悪性試験の装置としては、白・灰・黒の 3 コンパートメントボックスを使用し、黒の区画はステンレスの格子床、白の区画はステンレスの網目床とし、視覚に加え触覚の違いを条件刺激とした。条件付け前に動物を中央の区画に置き、それぞれの区画で過ごす時間を算出し、ベースラインの嗜好性を測定した後、カウンターバランス法により群分けした。条件付けは、動物に薬物あるいは溶媒を静脈内投与し、白あるいは黒のボックス（仮想的な条件付け区画）に 30 分間置き、その後、薬物及び溶媒の投与とボックスの組み合わせを入れ替え、再度ボックスに置くことで行った。これらの操作を 1 セッションとし、この条件付けを 2 日間繰り返し、その翌日、試験を行った（試験 1、Test 1）。その翌日に条件付けセッションをもう一度繰り返し、その後、同様に試験を行った（試験 2、Test 2）。試験試行では、動物に薬物及び溶媒は投与せず、白・黒ボックスの滞在時間を測定し、薬物投与側の滞在時間が溶媒投与側の滞在時間より長い場合は薬物の報酬効果の発現、短い場合は嫌悪効果の発現と評価した。

試験 1 では、各薬物投与群は、溶媒群と比べて有意な差は認められなかった。試験 2 では、モルヒネの投与により有意な場所嗜好性が認められたが、他の薬物投与群では場所嗜好性は認められなかった（図 2.6.6.8.3.1- 1 参照）。

以上の結果、ジフェリケファリンは溶媒群と比べて有意な場所嗜好性及び嫌悪性を示さなかった。

図 2.6.6.8.3.1- 1　各薬物処置後の場所嗜好性/嫌悪性



データは平均値±標準誤差（n=10-14）を示す。CR845：ジフェリケファリン

*：Tukey-Kramer 検定（P<0.05）

2.6.6.8.3.2 ラットにおける薬物自己投与試験（試験番号：CR845-TOX081）

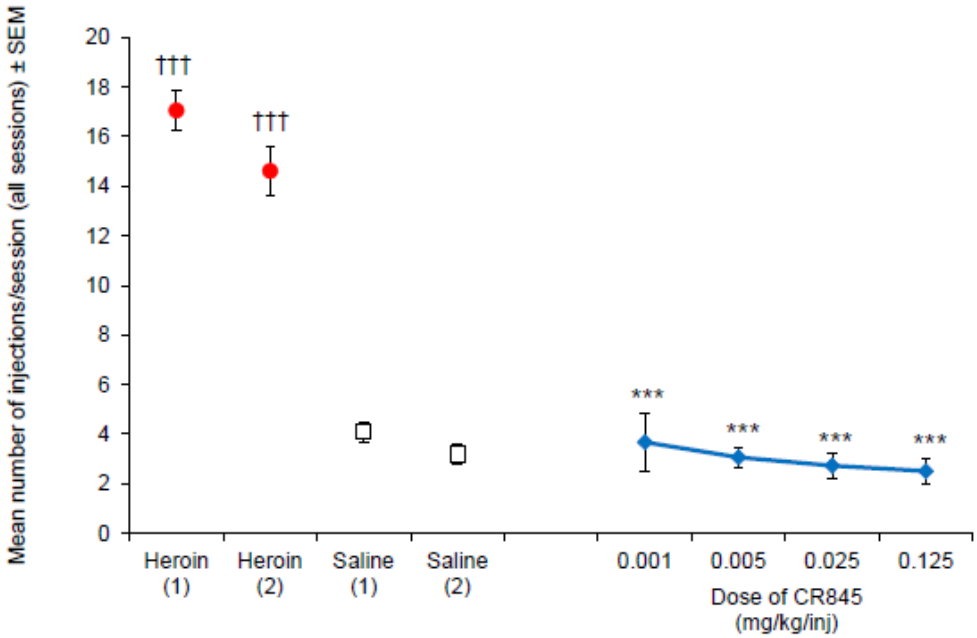
・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.7.4-2 参照

7～8 週齢の雄性 SD ラット（体重：200～300 g）を 6 日間検疫馴化後に用いた。最初に、ラットに餌を報酬として自己投与のためのレバー押しの訓練を行った。次に、薬物投与のため外科的にラットの頸静脈にカテーテルを埋植し、ジフェリケファリンの用量設定試験を行った。ジフェリケファリン（0.01、0.05、0.125 及び 0.25 mg/kg）又は溶媒（対照群、生理食塩液）を埋植したカテーテルから投与し、症状観察を行った。その結果、0.125 mg/kg 以上で自発運動の減少、眼瞼下垂、よろめき歩行、腹臥体位等がみられたことから、最高用量を 0.125 mg/kg として、以下公比 5 で 0.025、0.005、0.001 mg/kg の用量を設定した。次に、レバーを 5 回押す毎に 0.015 mg/kg のジアモルヒネ塩酸塩（ヘロイン、Heroin）が 1 回投与される条件の自己投与の訓練を行った。この条件を満たしたラットを 5～8 例/群用い、ジフェリケファリン（0.001、0.005、0.025 及び 0.125 mg/kg）群、溶媒（対照群、生理食塩液 Saline）群、ヘロイン（Heroin、陽性対照群、0.015 mg/kg）群及びペンタゾシン（Pentazocine、比較対照群、0.03、0.1、0.245 mg/kg）群を設定し、各薬物の自己投与回数を測定した。投与はヘロイン（1）→生理食塩液（1）→ジフェリケファリン→生理食塩液（2）→ヘロイン（2）、またはヘロイン→生理食塩液→ペンタゾシンの順で行った。また、サテライト動物を用いて 0.001～0.350 mg/kg のジフェリケファリンを尾静脈内投与し、血漿中ジフェリケファリン濃度を測定した。

自己投与回数測定（平均値±標準誤差（SEM））の結果、陽性対照としたヘロイン群では 15.83±0.85、溶媒群は 3.65±0.37 で、ジフェリケファリン群の 0.001、0.005、0.025 及び 0.125 mg/kg では、それぞれ 3.68±1.17、3.07±0.41、2.73±0.49 及び 2.51±0.50（図 2.6.6.8.3.2- 1 参照）で、溶媒群と同等であった。比較対照であるペンタゾシン群の 0.03、0.1 及び 0.245 mg/kg ではそれぞれ 7.83±2.45、11.45±1.66 及び 12.48±1.79（図 2.6.6.8.3.2- 2 参照）であり、溶媒群よりも有意に多かった。血漿中薬物濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{inf} とも投与量に応じ増加した。

以上の結果、ヘロイン維持ラットにおいてジフェリケファリンの強化効果は認められなかった。

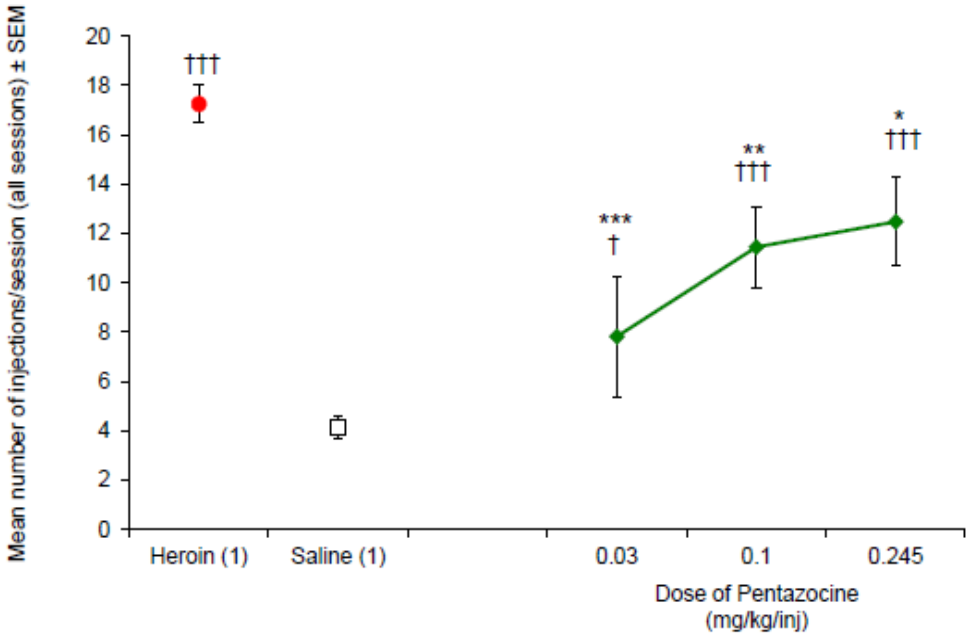
図 2.6.6.8.3.2- 1　ラットにおける薬物自己投与試験の成績 1



†††P<0.001 vs. Saline by Multiple t test、*** P<0.001 vs. Heroin by Dunnett's test

CR845：ジフェリケファリン

図 2.6.6.8.3.2- 2　ラットにおける薬物自己投与試験の成績 2



†P<0.05, †††P<0.001 vs. Saline by Multiple t test

* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 vs. Heroin by Dunnett's test

2.6.6.8.3.3 ラットにおける薬物弁別試験（試験番号：CR845-TOX079）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.7.4-3 参照

4 週齢の雌性 Lister Hooded ラット（体重：200～250 g）を用いて実施した。最初に、ペンタゾシンの用量設定試験として、2 つのレバーが備え付けられたオペラント実験箱を用いて、レバーを押すと報酬（加糖ミルク）が与えられるよう訓練された動物にペンタゾシン（2.5、5.0 及び 10.0 mg/kg）又は溶媒（0.25 %メチルセルロース/生理食塩液）を腹腔内投与し、10 分間のレバー押し回数を測定した。その結果、10.0 mg/kg でオペラント反応の減少がみられたことから、ペンタゾシンの投与量を 5.0 mg/kg に設定した。次に、ジフェリケファリンの用量設定試験を行うためジフェリケファリン（0.125、0.25、0.30、0.375、0.50 及び 0.75 mg/kg）又は溶媒（生理食塩液）を尾静脈内投与し、10 分間のレバー押し回数、血漿中ジフェリケファリン濃度測定及び一般状態を観察した。その結果、0.75 mg/kg で猫背姿勢や立毛がみられ、オペラント反応が著しく減少した。サテライト動物を用いて 0.125～0.50 mg/kg のジフェリケファリンを尾静脈内投与し、血漿中ジフェリケファリン濃度を測定した結果、C_{max} 及び AUC_{inf} とも投与量に応じ増加した。以上からジフェリケファリンの最高用量を 0.5 mg/kg として、以下 0.25、0.125 及び 0.05 mg/kg の用量を設定した。

本試験はペンタゾシン（腹腔内投与、5 mg/kg）とその溶媒を弁別できるようになった各群 6～15 例の動物に、ペンタゾシン（投与量：0、0.017、0.05、0.17 及び 0.5 mg/kg）、ジフェリケファリン（投与量：0、0.05、0.125、0.25 及び 0.5 mg/kg）及びブトルファノール（比較対照、投与量：0、0.001、0.01、0.05 及び 0.25 mg/kg）を尾静脈内投与し、投与 15 分後にオペラント実験箱に 10 分間入れ、ペンタゾシンあるいは溶媒に割り当てられた、それぞれのレバー押しの回数を測定し、ペンタゾシンへの般化を検討した。

静脈内投与によるペンタゾシン及びブトルファノールのペンタゾシン（腹腔内投与）への般化は用量依存的にみられ、本試験系の妥当性と感受性は確認された。ジフェリケファリンにおいては、ペンタゾシン（腹腔内投与）への部分般化はみられたが、ペンタゾシン及びブトルファノールとは比較にならない程度であり、用量相関は認められなかった。

表 2.6.6.8.3.3- 1　ラットにおける薬物弁別試験の成績

試験方法			般化試験	
被験物質	用　量 （mg/kg）	動物数	ペンタゾシンへの般化率（%）[1)] （Mean±SD）	結果[2)]
ペンタゾシン （IV）	0（溶媒）	10	16.6±4.8	Vehicle
	ペンタゾシン （IP）	10	85.5±4.8	Pentazocine
	0.017	6	17.7±8.9	Vehicle
	0.05	7	29.9±16.0	Partial
	0.17	6	36.4±23.6	Partial
	0.5	6	75.8±8.2	Pentazocine
ジフェリケファリン （IV）	0（溶媒）	15	19.1±4.4	Vehicle
	ペンタゾシン （IP）	15	82.2±4.7	Pentazocine
	0.05	7	23.6±10.5	Vehicle
	0.125	7	35.4±20.2	Partial
	0.25	7	31.0±17.9	Partial
	0.5	7	34.5±10.1	Partial
ブトルファノール （IV）	0（溶媒）	10	19.7±4.6	Vehicle
	ペンタゾシン （IP）	10	83.9±6.5	Pentazocine
	0.001	6	17.1±11.7	Vehicle
	0.01	6	52.9±30.9	Partial
	0.05	6	60.8±22.4	Partial
	0.25	7	76.6±17.5	Pentazocine

IV：静脈内投与、IP：腹腔内投与

1)：ペンタゾシンへの般化率（%）　= ペンタゾシンのレバー押し回数/総レバー押し回数×100

2)：Vehicle：≤25% Generalization to Pentazocine、Partial：26～74% Generalization to Pentazocine、Pentazocine：≥75% Generalization to Pentazocine

2.6.6.8.3.4 ラットにおける身体依存性試験（試験番号：CR845-TOX080）

・・・・・・・・・添付資料 4.2.3.7.4-4 参照

約 8 週齢の雄性 SD ラット（体重：226.6～304.3 g）にジフェリケファリン（5 mg/kg/day）又は溶媒（対照群、0 mg/kg/day：生理食塩液）を各群 15 又は 11 例に 1 日 1 回 28 日間反復静脈内投与した。陽性対照としてモルヒネ（30 mg/kg/回）とその溶媒（水）を各 10 例に 1 日 2 回 28 日間反復経口投与した。各群、28 日間の投与終了後、7 日間の退薬期間を設けた。投与

から退薬期間中、一般症状観察、体重、摂餌量、摂水量及び直腸温の測定を行い、身体依存性を評価した。また、サテライト動物を用いて血漿中ジフェリケファリン濃度を測定した。なお、ジフェリケファリンの用量は当初 25 mg/kg/day を計画し、1 日目の投与（Day 1）をしたところ、体重、摂餌量及び摂水量の大幅な減少がみられたことから、1 週間の wash-out 後に 5 mg/kg/day に変更して 28 日間（Day 8～Day 35）の投与を行った。

投与期間及び退薬期間中、いずれの群においても死亡例はみられなかった。投与期間中、ジフェリケファリン群では、症状観察において全例でよろめき歩行、猫背姿勢、不活発、立毛、眼球突出が投与 2～3 週までみられた。体重及び摂餌量の減少が一過性にみられた。摂水量及び直腸温ではジフェリケファリンに関連したと考えられる変化はみられなかった。退薬期間中の一般状態、体重、摂餌量、摂水量及び直腸温の変化は対照群と同程度であった。一方、モルヒネ投与群では、投与期間中、全例で猫背姿勢、不活発、挙尾、頭振り、立毛、眼球突出、被毛の汚れなどの症状がみられ、体重、摂餌量、摂水量及び直腸温の減少もみられた。また、投与初日に体調低下及び自発運動減少がみられたが、投与 3 日以降には体調改善、自発運動亢進、音への反応性増加の症状がみられ、耐性が認められた。退薬期間では、よろめき歩行、猫背姿勢、挙尾、立毛、興奮増大やライジングや尾振りなどの新たな行動及び身体徴候が認められ、体重、摂餌量、摂水量及び直腸温の減少あるいは代償性の体重及び摂餌量増加がみられた。血漿中ジフェリケファリン濃度測定の結果、C_{max} 及び AUC_{last} ともに投与初日と比べて投与 28 日の蓄積性は軽微だった。

以上の結果、ジフェリケファリンには耐性あるいは感作は認められず、退薬症状や身体依存性も認められなかった。

表 2.6.6.8.3.4- 1　ラットにおける身体依存性試験の成績

使用動物	Crl:CD（SD）ラット、雄、約 8 週齢（体重：226.6～304.3g）			
投与経路 投与期間	静脈内 28 日間（1 回/日、Day8～Day35）		経口 28 日間（2 回/日、Day1～Day28）	
被験物質	生理食塩液	ジフェリケファリン	水	モルヒネ
投与量（mg/kg/day）	0	5	0	60
投与容量（mL/kg）	1	1	5	5
動物数	11	15	10	10
死亡動物数	0	0	0	0

表 2.6.6.8.3.4- 1　ラットにおける身体依存性試験の成績（続き）

一般状態（例数）	よろめき歩行（4）、猫背姿勢（9）、不活発（5）、頭振り（2）、挙尾（2）、体調改善（7）、体調低下（2）、自発運動亢進（5）、自発運動減少（3）、音への反応性増加（4）、立毛（10）、眼球突出（7）、不規則呼吸（3）、呼吸増加（1）、被毛の汚れ（10）	よろめき歩行（15）、猫背姿勢（15）、不活発（15）、頭振り（11）、挙尾（14）、体調改善（12）、体調低下（7）、自発運動亢進（14）、自発運動減少（13）、音への反応性増加（11）、立毛（15）、眼球突出（15）、眼瞼下垂（11）、不規則呼吸（10）、呼吸増加（7）、被毛の汚れ（14）	猫背姿勢（2）、不活発（4）、頭振り（2）、挙尾（4）、立ち上がり（1）、跳び上がり（1）、ケージから逃避行動（3）、体調改善（5）、体調低下（1）、自発運動亢進（8）、音への反応性増加（7）、興奮増大（4）、立毛（10）、眼球突出（7）、被毛の汚れ（9）、鼻の汚れ（5）	猫背姿勢（10）、不活発（10）、頭振り（10）、挙尾（10）、立ち上がり（9）、跳び上がり（8）、ケージから逃避行動（8）、体調改善（10）、体調低下（5）、自発運動亢進（10）、自発運動減少（4）、音への反応性増加（10）、興奮増大（8）、立毛（10）、眼球突出（10）、被毛の汚れ（10）、鼻の汚れ（6）
体重 [1)]	－	↓（Day9～Day23）	－	↓（Day4～Day28）
摂餌量 [1)]	－	↓（Day9～Day12）	－	↓（Day1～Day28）
摂水量 [1)]	－	－	－	↓（Day2～Day28）
直腸温 [1)]	－	－	－	↓（Day5～Day28）
退薬期間（退薬 7 日間）				
	Day36～Day42		Day29～Day35	
一般状態（例数）	猫背姿勢（5）、挙尾（1）、ケージから逃避行動（5）、体調改善（5）、自発運動亢進（3）、音への反応性増加（1）、興奮増大（4）、立毛（1）、眼球突出（3）、被毛の汚れ（8）	猫背姿勢（10）、挙尾（8）、ケージから逃避行動（8）、体調改善（11）、自発運動亢進（11）、音への反応性増加（6）、興奮増大（4）、立毛（10）、眼球突出（10）、被毛の汚れ（15）	猫背姿勢（5）、挙尾（3）、ケージから逃避行動（4）、体調改善（5）、自発運動亢進（4）、ライジング（1）、興奮増大（2）、尾振り（1）、立毛（3）、眼球突出（5）、被毛の汚れ（5）	よろめき歩行（10）、猫背姿勢（10）、挙尾（9）、ケージから逃避行動（5）、体調改善（8）、体調低下（8）、自発運動亢進（8）、ライジング（8）、興奮増大（10）、尾振り（7）、立毛（10）、眼球突出（8）、呼吸増加（8）、被毛の汚れ（9）

表 2.6.6.8.3.4- 1　ラットにおける身体依存性試験の成績（続き）

体重 1)	－	－	－	↓（Day29～Day35）
摂餌量 1)	－	－	－	↓（Day29～Day31） ↑（Day33～Day34）
摂水量 1)	－	－	－	↓（Day29、Day30） ↑（Day33）
直腸温 1)	－	－	－	↓（Day29、Day31～Day35） ↑（Day30、Day31）
血漿中薬物濃度測定				
	C_{max}（ng/mL）	T_{max}（hr）	$T_{1/2}$（hr）	AUC_{last}（ng·hr/mL）
Day8：投与初日	22250	0.08	6.03	9987
Day35：投与 28 日	25550	0.08	7.07	11310
結果	身体依存性なし			

－：特記すべき所見なし、↓：減少、↑：増加

1)：Student’s t-test（P<0.05, P<0.01, P<0.001）

2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験

安全性評価が必要な代謝物は存在しなかったため、代謝物単独の毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.5 不純物の毒性試験

ICH Q3A（R2）、ICH Q3B（R2）、ICH Q3C（R6）、ICH Q3D（R1）及び ICH M7（R1）ガイドラインに規定された安全性確認の必要な閾値を超える不純物は認められなかったため、個々の不純物に対する安全性評価は実施しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

ジフェリケファリンの安全性評価として、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、局所刺激性試験及び依存性試験を実施した。毒性試験結果の一覧を表 2.6.6.9.7- 1 に示した。本考察では、主として、臨床適用投与経路である静脈内投与による毒性試験の結果を焦点にした。また、皮下投与及び経口投与試験では、皮下投与後の注射部位におけるごく軽度の刺激性を除いて、静脈内投与試験と比較して新たな毒性所見は認められなかった。

2.6.6.9.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験において、マウス、ラット及びサルに単回投与した時の一般症状は嗜眠、自発運動減少などがみられ、体重や摂餌量の減少もみられた。死亡例が認められたマウスでは投与後 30 分以内に死亡がみられた。概略の致死量は、マウスの静脈内投与は雌雄ともに 200 mg/kg、ラットの静脈内投与は雌雄ともに 100 mg/kg 超、サルの静脈内投与では雌雄ともに 16 mg/kg 超であった。

2.6.6.9.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験において、投与後の症状として、ラットでは自発運動減少、よろめき歩行、前肢の外転などが認められた。サルでは嗜眠、傾眠、自発運動減少、鎮静、猫背姿勢、異常便、嘔吐、流涎などが認められた。ラット及びサルの体重、摂餌量において、一過性の体重減少、体重増加抑制、摂餌量の減少及び尿量の低値がみられた。体重増加量は投与開始後数日以内に対照群のレベルに戻ったが、体重及び摂餌量が対照群のレベルに回復するまで時間を要した。一般状態、体重、体重増加量、摂餌量及び尿量の変化は主に投与初期にみられ、回復期間までには消失したことから、薬理作用に伴う二次的な変化と考えられ、毒性学的意義は低いと判断した。

サル 4 週間反復静脈内投与毒性試験において、胸腺及び脾臓のリンパ球枯渇を含む免疫系器官重量及び組織学的変化が認められた。カッパオピオイド受容体（KOR）は T 細胞に発現しており [2]、KOR を含むオピオイド受容体での活性化は免疫調節作用と関連している [3]。ICH S8 ガイドライン（免疫毒性試験）に基づきジフェリケファリンに関連した免疫系への影響の可能性について、ラット及びサルを用いて評価した。ジフェリケファリンを 25 mg/kg/day までの用量で 13 週間反復静脈内投与したラットの末梢血イムノフェノタイピングでは、免疫細胞数に影響は認められなかった。また、サルに 1 mg/kg/day までを 13 週間反復静脈内投与して評価した脾臓及び胸腺の末梢イムノフェノタイピング、免疫組織化学的検査及び T 細胞依存性抗体産生能検査において、免疫機能に関する潜在的な毒性は認められなかった。これらの結果は、臨床に

[2] Liang X, Liu R, Chen C, Ji F T, Li T. Opioid System Modulates the Immune Function: A Review. Transl Perioper Pain Med. 2016;1(1):5-13. ［資料 4.3-9］

[3] Bidlack JM. Detection and Function of Opioid Receptors on Cells from the Immune System. Clin Diagn Lab Immunol. 2000;7(5):719-723. ［資料 4.3-26］

おいて、ジフェリケファリンの予定臨床用量投与では免疫毒性リスクと関連しないことを示唆している。現在までのところ、臨床的に免疫毒性に関連した報告はされていない。

ラット及びサルの反復静脈内投与毒性試験において、十二指腸、脾臓、肝臓のマクロファージ、腎臓を含むいくつかの組織で軽微から軽度の色素沈着が認められたが、各色素の組成が異なっており、毒性学的意義はないと考えられた。サル 39 週間反復静脈内投与毒性試験において、十二指腸の色素沈着（国内実施試験）はベルリンブルー染色陽性でヘモジデリンと考えられ、肝臓及び脾臓マクロファージで観察された褐色色素沈着（米国実施試験）もヘモジデリンと推察された。サルの腎臓近位尿細管の色素沈着は、PAS 染色及びシュモール反応が陽性であることからリソソーム内のリポフスチン滴と考えられた。ラットの腎臓の色素沈着は PAS 染色陽性、シュモール反応陰性であったことから、この色素沈着は吸収されたタンパク質/ペプチド、グリコーゲン及び/又は中性ムチン物質で構成されている可能性が高い [4,5,6]。ラット及びサルにおける 26 週間あるいは 39 週間の投与期間の延長に伴い、色素沈着の発現率も重症度も増加しなかった。また、対照群においても色素沈着が認められたことから、ジフェリケファリン投与により発現頻度が増加する傾向が認められたものの、当該色素顆粒は加齢性変化と考えられる。色素顆粒は、十二指腸 [7,8,9]、腎臓 [10,11]、脾臓及び肝臓のマクロファージ [12]において、本質的に機能的影響を及ぼさない共通の所見として報告されている。

ラット反復静脈内投与毒性試験における腎臓の病理組織学的検査において、対照群を含む全群の雄で主として慢性進行性腎症（CPN）に関連した変化を伴う腎尿細管の好塩基性変性、及び腎尿細管の硝子滴の蓄積が認められた。尿細管好塩基性変性及び/又は CPN は、主に雄ラットによくみられる自然発生病変であり、全試験にわたって観察された。ジフェリケファリンを投与したラットの尿細管好塩基性変性/CPN の発現率及び重症度は、4 週間及び 13 週間反復静脈内投与試験ともに対照群の発現率及び重症度と同程度であったが、ラット 26 週間反復静脈内投与試験の 25mg/kg/day では対照群と比較して発現率が増加した。CPN の増悪は、90 日間以上の

---

4 Lalich JJ, Faith GC, Harding GE. Protein Overload Nephropathy In Rats Subjected to Unilateral Nephrectomy. Arch Pathol. 1970; 89:548-559. ［資料 4.3-27］

5 Rabkin R, Dahl DC. Renal Uptake and Disposal of Proteins and Peptides. Biological Barriers to Protein Delivery. 1993; 4:299-338. ［資料 4.3-28］

6 Carone FA, Peterson DR, Flouret G. Renal tubular processing of small peptide hormones. J Lab Clin Med. 1982;100(1):1-14. ［資料 4.3-29］

7 Sato J, Doi T, Kanno T, Wako Y, Tsuchitani M, Narama I. Histopathology of Incidental Findings in Cynomolgus Monkeys (Macaca Fascicularis) Used in Toxicity Studies. J Toxicol Pathol. 2012;25(1):63-101. ［資料 4.3-30］

8 Bronson RT. Ultrastructure of Macrophages and Karyolytic Bodies in Small Intestinal Villi of Macaque Monkeys and Baboons. Vet Pathol. 1981;18(6):727-737. ［資料 4.3-31］

9 Colman K, Anderews RN, Atkins H, Boulineau T, Bradley A, Braendli-Baiocco A. International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND): Non-proliferative and Proliferative Lesions of the Non-human Primate (M. fascicularis). J Toxiclo Pathol. 2021;34(3 Suppl):1S-182S.［資料 4.3-32］

10 Frazier KS, Seely JC, Hard GC, Betton G, Burnett R, Nakatsuji S. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. Toxicol Pathol. 2012;40(4 suppl):14S-86S. ［資料 4.3-33］

11 Chamanza R, Naylor SW, Carreira V, Amuzie C, Ma JY, Bradley AE, et al. Normal Anatomy, Histology, and Spontaneous Pathology of the Kidney, and Selected Renal Biomarker Reference Ranges in the Cynomolgus Monkey. Toxicol Pathol. 2019;47(5):612-633. ［資料 4.3-34］

12 Willard-Mack CL, Elmore SA, Hall WC, Harleman J, Kuper CF, Losco P, et al. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Hematolymphoid System. Toxicol Pathol. 2019;47(6):665-783. ［資料 4.3-35］

毒性試験でよくみられる変化である[13,14]。CPN の発生率及び/又は重症度は、ストレス等の多くの異なる因子によって影響を受ける可能性があるため、ラット 26 週間反復静脈内投与毒性試験で認められた所見は間接的であると推察される。CPN の悪化はラットにとって有害作用であるが、ヒトとの相関性は明らかではないため[14]、この変化はヒトへのリスクを示すものではない。

ラット 26 週間反復静脈内投与試験の 2.5 mg/kg/day 以上では対照群と比較して雄ラットの腎近位尿細管における軽微から軽度の両側性硝子滴蓄積が認められた。硝子滴は、腎臓の近位尿細管リソソームの低分子量タンパク質である[11]。硝子滴を構成するタンパク質は同定されなかったが、対照群及びジフェリケファリン群における雄の近位尿細管のみに観察されていることから、正常時でも発現する二次リソソーム及び/又は雄ラット特異的タンパク質である α2μ-グロブリンの沈着[15]である可能性が示唆され、いずれもヒトとの関連性はない。α2μ-グロブリン蛋白は一般に PAS 染色陰性である[15]。PAS 染色した腎臓のうち、対照群では 5 匹中 5 匹、25 mg/kg/day のジフェリケファリンを投与したラットでは 5 匹中 3 匹が陰性であり、残りの 2 匹のラットの腎臓は 25 mg/kg/day の染色でごくわずかに陽性であった。

マウスを用いた 26 週間反復皮下投与がん原性試験では、軽微から中等度の腎梗塞が、対照群を含む全群で認められ、ジフェリケファリン群で発現率が増加した。腎梗塞とジフェリケファリンとの関連性は不明であるが、この変化は用量依存性の反応を示さず（すなわち、高用量群の雄の発生率は低用量群及び中用量群の雄よりも低く）、病変は主に片側性であり、両側性変化ではなかった。また、対照群の雌 2 例でも腎梗塞が認められ、自然発生病変の可能性が考えられた。

ラット反復投与毒性試験の雄において、精巣の精細管の胚上皮変性及び/又は精巣上体の管腔細胞片が認められた。ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験では、片側性及び両側性病変の両方が観察された。ジフェリケファリン投与によるラットの活性低下（自発運動減少）と侵害受容活性の低下（2.6.2 参照）のため、底部がワイヤーのケージにラットを収容すると、不活動（臥床）ラットの精巣にかかるワイヤーの圧力が不均等になるため、一過性の損傷（すなわち、血流障害）が生じたのではないかと懸念された。その後の試験では、ラットを頑丈な底のポリカーボネート製ボックスに収容した。これにより、精巣病変の発生率が軽減されたことから、機械的因子が精巣及び精巣上体の所見の根底にある病因であることが裏付けられた。同様の精巣病変は、ラット 13 週間及び 26 週間反復静脈内投与毒性試験及びラット 26 週間反復皮下投与毒性試験での病理組織学的検査において対照群及びジフェリケファリン群で散発的に認められたが、その発生率は自然発生病変について報告されている発生率と一致していると考えられた

[13] Hard GC, Johnson KJ, Cohen SM. A comparison of rat chronic progressive nephropathy with human renal disease-implications for human risk assessment. Crit Rev Toxicol. 2009;39(4):332-346. ［資料 4.3-36］

[14] Travlos GS, Hard GC, Betz LJ, Kissling GE. Chronic Progressive Nephropathy in Male F344 Rats in 90-Day Toxicity Studies: Its Occurrence and Association with Renal Tubule Tumors in Subsequent 2-Year Bioassays. Toxicol Pathol. 2011;39(2):381-389. ［資料 4.3-37］

[15] Hamamura M, Oshikata T, Katoku K, Tsuchitani M, Yamaguchi R. Two types of deposits, hyaline droplets and eosinophilic bodies, associated with α2u-globulin accumulation in the rat kidney. J Toxicol Pathol. 2017;30(4):275-282. ［資料 4.3-38］

[16,17]。ラット 26 週間反復静脈内投与毒性試験では、25 mg/kg/day で 4 匹、対照群で 1 匹に軽微から軽度の両側性の精巣及び精巣上体の病変が認められたが、0.25 mg/kg/day 及び 2.5 mg/kg/day では両側性の精巣病変は認められなかった。ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、25 mg/kg/day までの用量で精子検査（精子の形態及び運動性）、生殖機能、受胎能にジフェリケファリンに関連した影響は認められなかった。

サルを用いた試験においては、ジフェリケファリンに関連した上記の腎臓並びに精巣、精巣上体の病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果より、反復静脈内投与毒性試験における無毒性量は、ラットでは 4 週間試験で 5 mg/kg/day、13 週間試験で 25 mg/kg/day、26 週間試験で雄 2.5 mg/kg/day、雌 25 mg/kg/day、サルでは 4 週間試験で 0.25 mg/kg/day、13 週間試験で 1 mg/kg/day、国内実施の 39 週間試験で 1 mg/kg/day 及び米国実施の 39 週間試験では 0.25 mg/kg/day であると考えられた。

2.6.6.9.3 遺伝毒性及びがん原性試験

遺伝毒性試験はいずれも陰性であり、マウス及びラットのがん原性試験においても発がん性が認められなかったことから、ジフェリケファリンはヒトにおいて発がん性を示さないものと考えられた。

2.6.6.9.4 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験では、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験で性周期発情休止期の延長及び性周期回数の減少が認められた。性周期への影響は、プロラクチンの分泌増加と関連している可能性がある [18,19]。下垂体前葉ホルモンであるプロラクチンの分泌は、オピオイド全般及び特に KOR アゴニストの作用として知られている [20]。プロラクチン分泌はジフェリケファリンの KOR 活性の生理学的バイオマーカーとして用いられ、そう痒症を有する日本人血液透析患者を対象とした第 II 相試験：週 3 回/8 週間投与（MR13A9-4 試験、投与量：0.25、0.5 及び 1.0 μg/kg、2.7.6.13 参照）では、プロラクチンの軽微な上昇が認められたが、臨床的に問題となる変動とは認められず、投与終了後はベースラインまで回復した。以上から、ラットで観察された性周期への影響はプロラクチン分泌によるものと推察されるが、ヒトでのリスク

---

16 Creasy D, Bube A, de Rijk E, Kandori H, Kuwahara M, Masson R, et al. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Male Reproductive System. Toxicol Pathol. 2012;40(6 Suppl):40S-121S. ［資料 4.3-39］

17 For Histopathological Evaluation, Male Reproductive System. Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) Guidelines. 2020. ［資料 4.3-40］

18 Wise PM. Effects of hyperprolactinemia on estrous cyclicity, serum luteinizing hormone, prolactin, estradiol, and progesterone concentrations, and catecholamine activity in microdissected brain areas. Endocrinology. 1986;118(3):1237-1245. ［資料 4.3-41］

19 Rehm S, Stanislaus DJ, Wier PJ. Identification of drug-induced hyper- or hypoprolactinemia in the female rat based on general and reproductive toxicity study parameters. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2007;80(3):253-257. ［資料 4.3-42］

20 Dunn AD, Reed B, Guariglia C, Dunn AM, Hillman JM, Kreek MJ. Structurally Related Kappa Opioid Receptor Agonists with Substantial Differential Signaling Bias: Neuroendocrine and Behavioral Effects in C57BL6 Mice. Int J Neuropsychopharmacol. 2018;21(9):847-857. ［資料 4.3-43］

は低いと考えられた。また、ラット性周期への影響が認められたが、交尾能、受胎能、着床及び初期胚発生への影響は認められなかった。

ラット胚・胎児発生に関する試験では、25 mg/kg/day を投与された母動物からの胎児において、骨格変異（波状肋骨及び不完全骨化肋骨）が低発生率ではあるが認められた。これらの変化は、成長及び発達に伴って消失することから毒性学的意義のない変化と判断した。ウサギ胚・胎児発生に関する試験では、0.1 mg/kg/day 投与では、妊娠動物数が少なかった。これは非妊娠ウサギ 6 匹のうち 5 匹は着床又は妊娠の痕跡を示しておらず、卵巣は正常であったことから、5 匹は妊娠していなかった可能性が示唆された。ジフェリケファリンに関連した母体の生殖への影響を完全に否定することはできないが、胚・胎児発生への影響はなかった。

ラット出生前及び出生後の発生に関する試験では、経胎盤及び乳汁移行の評価において胎盤及び乳汁移行することが確認された。ラット胚・胎児発生に関する試験で 25mg/kg/day までの用量で胚・胎児発生に明らかな影響がないことが示されており、胎盤通過による胚・胎児曝露によって潜在的な影響がないことが考えられた。また、乳汁移行性においても、用量相関的な乳汁移行が確認されたが、出生児の血漿中には検出されなかった。ジフェリケファリンの乳汁及び経胎盤移行は起こるが、哺育後のジフェリケファリンの吸収は、10 mg/kg/day までの用量では認められず、出生児への毒性作用に関連しなかったことから、予定臨床用量 0.5 μg/kg ではこれらの移行によるヒトへのリスクは低いと考えられる。

以上の結果より、母動物の生殖機能及び初期胚発生、胚・胎児発生あるいは出生児の発育・生殖機能に対する無毒性量は、受胎能及び初期胚発生試験では母動物生殖機能 0.25 mg/kg/day、初期胚発生 25 mg/kg/day、ラット胚・胎児発生試験では母動物生殖機能、胚・胎児発生ともに 25 mg/kg/day、ウサギ胚・胎児発生試験では母動物生殖機能 0.05 mg/kg/day、胚・胎児発生 0.1 mg/kg/day、出生前後発生ならびに母動物機能試験では母動物生殖機能、出生児発育・生殖機能とも 10 mg/kg/day であると考えられた。

2.6.6.9.5 局所刺激性試験

局所刺激性試験では、MR13A9（ジフェリケファリン製剤）をウサギ耳介静脈周囲皮下に単回投与した時、刺激性は軽度であったことから、ヒトへの投与時に血管外へ漏出した場合の忍容性は良好であると考えられる。

2.6.6.9.6 依存性試験

薬物依存性試験において、ラット場所嗜好性/嫌悪性試験では、ジフェリケファリン群で場所嗜好性は認められず、報酬効果はないと考えられた。ラット薬物自己投与試験では、ヘロインを自己投与するように訓練されたラットにおける自己投与行動はみられず、強化効果はないと考えられた。ラット薬物弁別試験では、ジフェリケファリンのペンタゾシンへの部分般化は認められたが、その反応は用量依存的ではなく、ペンタゾシン及びブトルファノールと比較にならない程度であり、自覚効果は低レベルであると示唆された。ラット身体依存性試験では、投与 2～3 週までによろめき歩行や不活発などの症状はみられたが、退薬症状や身体依存の徴候は

認められなかった。この結果は、ラット 26 週間及びサル 39 週間反復静脈内投与毒性試験及び回復性試験の結果と一致している。したがって、ジフェリケファリンの臨床使用において精神依存及び身体依存を発現する可能性は極めて低いと考えられる。

2.6.6.9.7 各種毒性試験における無毒性量とヒトとの曝露比較

ヒトでの安全性評価を考察するため、主要な毒性試験における無毒性量と日本人血液透析患者を対象とした週 3 回/1 週間投与時の薬物動態（MR13A9-2 試験、2.7.6.2 参照）でジフェリケファリンを 0.5 μg/kg 投与時（3 回目）の C_{max}：5.38 ng/mL、AUC_{last}：103.59 ng· hr/mL を用いて曝露量比を算出した（表 2.6.6.9.7- 2 参照）。その曝露量比は、C_{max} は 168～19517 倍、AUC_{last} は 8～1554 倍の範囲にあり、ヒトでの予定臨床用量 0.5 μg/kg 投与時での安全域は大きいと考えられる。

表 2.6.6.9.7- 1　毒性試験結果

試験の種類及び期間	投与経路/処置	動物種等	投与量（mg/kg）又は処置濃度	試験結果（mg/kg/day）
単回投与毒性試験				
単回	静脈内	マウス	50、100、200	♂、♀：200[a]
単回	静脈内	ラット	50、75、100	♂、♀：＞100[a]
単回（拡張型）	経口	ラット	0、100、500、2000	♂：500、♀：2000[b]
単回	静脈内	サル	0.5、1、2、4、8、16	♂、♀：＞16[a]
反復投与毒性試験				
4 週間	静脈内	ラット	0、1、5、25	♂、♀：5[b]
13 週間	静脈内	ラット	0、0.25、2.5、25	♂、♀：25[b]
26 週間	静脈内	ラット	0、0.25、2.5、25	♂：2.5、♀：25[b]
4 週間	経口	ラット	0、10、50、250	♂、♀：250[b]
26 週間	経口	ラット	0、10、50、250	♂、♀：250[b]
4 週間	静脈内	サル	0、0.25、1、4	♂、♀：0.25[b]
13 週間	静脈内	サル	0、0.06、0.25、1	♂、♀：1[b]
39 週間（国内実施）	静脈内	サル	0、0.06、0.25、1	♂、♀：1[b]
39 週間（米国実施）	静脈内	サル	0、0.06、0.25、1	♂、♀：0.25[b]
遺伝毒性試験				
復帰突然変異	*in vitro*	*S.typhimurium* *E.coli*	0、150～5000.0（μg/plate）	代謝活性化なし：陰性 代謝活性化あり：陰性
染色体異常	*in vitro*	ヒト末梢血リンパ球	0、1250～5000（μg/mL）	連続処理法：陰性 短時間処理法：陰性
小核試験	静脈内	マウス	0、25、50、100	陰性
がん原性試験				
4 週間（用量設定試験）	皮下	マウス	0、3、10、33	♂、♀：33[c]
26 週間	皮下	マウス	0、3、10、30	♂、♀：陰性
26 週間（用量設定試験）	皮下	ラット	0、1、5、25	♂、♀：25[b]
2 年間	皮下	ラット	0、0.25、0.5、1	♂、♀：陰性

表 2.6.6.9.7- 1　毒性試験結果（続き）

生殖発生毒性試験				
受胎能及び 胚･胎児発生	静脈内	ラット	0、0.25、2.5、25	親動物： 一般毒性 ♂♀：25[b] 生殖機能 ♂：25、♀：0.25[b] 初期胚発生：25[b]
胚・胎児発生	静脈内	ラット	0、0.25、2.5、25	母動物： 一般毒性 ＜0.25[b] 生殖機能 25[b] 胚・胎児：25[b]
	静脈内	ウサギ	0、0.025、0.05、0.1	母動物： 一般毒性 ＜0.025[b] 生殖機能 0.05[b] 胚・胎児：0.1[b]
出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能	静脈内	ラット	0、0.6、2.5、10	母動物： 一般毒性 0.6[b] 生殖機能 10[b] 出生児：10[b]
局所刺激性試験				
血管周囲刺激性試験	皮下	ウサギ	0（プラセボ）、 0.1、10	プラセボ：ごく軽度の刺激性 被験薬：軽度の刺激性
その他の毒性試験				
依存性試験				
場所嗜好性/嫌悪性	静脈内	ラット	0、0.32、1、3.2	陰性
薬物自己投与	静脈内	ラット	0 、 0.001 、 0.005 、 0.025、0.125	陰性
薬物弁別	静脈内	ラット	0、0.05、0.125、0.25、 0.5	ペンタゾシンへの般化は低レベルで、用量依存性なし
身体依存性	静脈内	ラット	0、5	陰性

a：概略の致死量、b：無毒性量、c：最大耐量

表 2.6.6.9.7- 2　各種毒性試験の無毒性量におけるヒトとの曝露比較

試験種	無毒性量（mg/kg/day）	血漿中薬物濃度 [a]		曝露量比 [b]	
		C_{max}（ng/mL）	AUC_{last}（ng· hr/mL）	C_{max}	AUC_{last}
ラット 26 週間反復静脈内投与	♂：2.5	16410	8640	3050	83
	♀：25	104100	53870	19349	520
サル 39 週間反復静脈内投与（国内実施）	♂：1	8893	105500	1653	1018
	♀：1	10890	134600	2024	1299
サル 39 週間反復静脈内投与（米国実施）	♂：0.25	2460	21000	457	203
	♀：0.25	2670	17200	496	166
ラットがん原性	♂：1	5080	46900	944	453
	♀：1	15300	161000	2844	1554
マウスがん原性	♂：30	41700	42800	7751	413
	♀：30	33300	34700	6190	335
ラット受胎能・初期胚発生	♂：25[c]	105000	76300	19517	737
	♀：25[c]	84400	49900	15688	482
ラット胚・胎児発生	25[d]	90400	55900	16803	540
ウサギ胚・胎児発生	0.1[d]	906	787[e]	168	8
ラット身体依存性	5[f]	25550	11350	4749	110

a：特に明記していない場合は各試験の最終 TK 測定日の値を記載し、上段に雄、下段に雌の曝露量を記載

b：日本人血液透析患者を対象とした週 3 回/1 週間投与時の薬物動態（MR13A9-2 試験）でジフェリケファリンを 0.5 μg/kg 投与時（3 回目）の C_{max}：5.38 ng/mL、AUC_{last}：103.59 ng· hr/mL を用いて曝露量比を算出した

c：初期胚発生に対する無毒性量

d：胚・胎児発生に対する無毒性量

e：$AUC_{0\text{-}tau}$

f：雄の無毒性量

2.6.6.9.8 総括

ジフェリケファリンの毒性試験において、一般状態で薬理作用に関連する種々の変化がみられたが、臨床使用に際して問題となるような重篤な毒性はみられなかった。遺伝毒性のリスクはなく、がん原性についてはジフェリケファリンに関連する腫瘍の発生は認められなかった。生殖発生毒性試験では、母動物の性周期に影響はみられたが、初期胚発生に対する影響、催奇形性、出生児の発育及び生殖機能に対する影響は認められなかった。

以上、ジフェリケファリンは予定している臨床用量において安全に使用することができ、重篤な副作用を起こす可能性は低いと結論した。

2.6.6.10 図表

本文中に記載した。

目次

略号一覧 3
2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 8
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧表 10
2.6.7.3.A トキシコキネティクス成績の一覧表 10
2.6.7.3.B トキシコキネティクス成績の一覧表 14
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 18
2.6.7.5 単回投与毒性試験 22
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 25
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 26
2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復静脈内投与 26
2.6.7.7.B 反復投与毒性試験：ラット 13 週間反復静脈内投与 30
2.6.7.7.C 反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復静脈内投与 33
2.6.7.7.D 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復経口投与 36
2.6.7.7.E 反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復経口投与 39
2.6.7.7.F 反復投与毒性試験：サル 4 週間反復静脈内投与 42
2.6.7.7.G 反復投与毒性試験：サル 13 週間反復静脈内投与 46
2.6.7.7.H 反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（国内実施） 49
2.6.7.7.I 反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（米国実施） 52
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 56
2.6.7.8.A *In vitro* 遺伝毒性試験：細菌を用いた復帰突然変異試験 56
2.6.7.8.B *In vitro* 遺伝毒性試験：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 59
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 61
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験：マウスを用いた小核試験 61
2.6.7.10 がん原性試験 62
2.6.7.10.A がん原性試験：重要な試験以外の試験 62
2.6.7.10.B がん原性試験：ラット 26 週間反復皮下投与用量設定試験 64
2.6.7.10.C がん原性試験：ラット 2 年間反復皮下投与がん原性試験 68
2.6.7.10.D がん原性試験：マウス 4 週間反復皮下投与用量設定試験 70
2.6.7.10.E がん原性試験：マウス 26 週間反復皮下投与がん原性試験 72
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 75
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 77
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 80
2.6.7.13.A ラット胚・胎児発生に関する試験 80

2.6.7.13.B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験 83
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 86
2.6.7.15　新生児を用いた試験 91
2.6.7.16　局所刺激性試験 92
2.6.7.17　その他の毒性試験 93
2.6.7.17.A　免疫毒性試験 93
2.6.7.17.B　光毒性試験 93
2.6.7.17.C　依存性試験：ラット場所嗜好性／嫌悪性試験 94
2.6.7.17.C　依存性試験：ラット薬物自己投与試験 95
2.6.7.17.C　依存性試験：ラット薬物弁別試験 96
2.6.7.17.C　依存性試験：ラット身体依存性試験 97
2.6.7.17.D　代謝物の毒性試験 99
2.6.7.17.E　不純物の毒性試験 99

略号一覧

略号	説明
ACN	acetonitrile：アセトニトリル
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the plasma concentration-time curve from 0 to the last measurable point：0 時間から最終測定時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}tau}$	area under the plasma concentration□time curve from 0 to tau：0 時間から t 時間まで（投与間隔ごと）の血漿中濃度－時間曲線下面積
CD	Ceasarean Derived：チャールス・リバー株式会社の SD ラットの系統名
C_{max}	maximum observed plasma concentration：最大血漿中濃度
DMSO	dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
F_1, F_2	Final generation：第 1 世代、第 2 世代
GD	gestational day：妊娠日数
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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
ICR	Institute of Cancer Research：マウスの系統名
MA	Commonwealth of Massachusetts：マサチューセッツ州
MPCE	micronucleated polychromatic erythrocyte：小核を有する多染性赤血球
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NA	not applicable：算出できず
ND	not detected：検出されず
NV	State of Nevada：ネバダ州
NZW	New Zealand White：ニュージーランドホワイト種（ウサギの品種名）
OH	State of Ohio：オハイオ州
P	Pregnancy：妊娠、Present：有
PA	Commonwealth of Pennsylvania：ペンシルベニア州
PCE	polychromatic erythrocyte：多染性赤血球
RP-HPLC	reversed phase liquid chromatography：逆相高速液体クロマトグラフィー
RRT	relative retention time：相対保持時間
SA	self-administration：自己投与
SD	Sprague-Dawley：ラットの系統名
SPF	Specific Pathogen Free：特定の病原微生物がいない動物
TFA	trifluoroacetic acid：トリフルオロ酢酸
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験一覧表

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所 Section
単回投与毒性試験	マウス/ICR	静脈内	単回	50, 100, 200	適	[redacted]	CR845-TOX054	4.2.3.1-1
	ラット/CD（SD）	静脈内	単回	50, 75, 100	不適	[redacted]	CR845-TOX042	4.2.3.1-2
	ラット/CD（SD）	強制経口（拡張型）	単回	0, 100, 500, 2000	適	[redacted]	CR845-TOX202	4.2.3.1-3
	カニクイザル	静脈内	単回	0.5, 1, 2, 4, 8, 16	不適	[redacted]	CR845-TOX043	4.2.3.1-4
反復投与毒性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	7 日間	0, 25	不適	[redacted]	CR845-TOX042	4.2.3.1-2
	ラット/CD（SD）	静脈内	7 日間	10	不適	[redacted]	[redacted]-067	4.2.3.2-1
	ラット/CD（SD）	静脈内	4 週間	0, 1, 5, 25	適	[redacted]	CR845-TOX044	4.2.3.2-2
	ラット/CD（SD）	静脈内	13 週間	0, 0.25, 2.5, 25	適	[redacted]	[redacted]-078	4.2.3.2-3
	ラット/CD（SD）	静脈内	26 週間	0, 0.25, 2.5[a], 25[a]	適	[redacted]	[redacted]-104	4.2.3.2-4
	ラット/CD（SD）	強制経口	4 週間	0, 10, 50, 250	適	[redacted]	CR845-TOX214	4.2.3.2-5
	ラット/CD（SD）	強制経口	26 週間	0, 10, 50, 250	適	[redacted]	CR845-TOX219	4.2.3.2-6
	カニクイザル	静脈内	7 日間	4, 8	不適	[redacted]	CR845-TOX043	4.2.3.1-4

主要な反復投与毒性試験については下線を施した投与量は、無毒性量を示す。

a：雄の無毒性量が 2.5 mg/kg、雌が 25 mg/kg

2.6.7.1 毒性試験一覧表（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所 Section
反復投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	4 週間	0, 0.25, 1, 4	適	[redacted]	CR845-TOX045	4.2.3.2-7
	カニクイザル	静脈内	13 週間	0, 0.06, 0.25, 1	適	[redacted]	[redacted]-076	4.2.3.2-8
	カニクイザル	静脈内	39 週間	0, 0.06, 0.25, 1	適	[redacted]	[redacted]-103	4.2.3.2-9
	カニクイザル	静脈内	39 週間	0, 0.06, 0.25, 1	適	[redacted]	CR845-TOX085	4.2.3.2-10
遺伝毒性試験	*S.typhimurium* E.coli	*in vitro*	－	150, 500, 1500, 2500, 5000 μg/プレート	適	[redacted]	CR845-TOX029	4.2.3.3.1-1
	ヒト/末梢血リンパ球	*in vitro*	－	1250, 2500, 5000 μg/mL	適	[redacted]	CR845-TOX031	4.2.3.3.1-2
	マウス/ICR（骨髄細胞）	静脈内	単回	0, 25, 50, 100	適	[redacted]	CR845-TOX054	4.2.3.1-1
がん原性試験	ラット/CD（SD）	皮下（用量設定）	7 日間	1, 10, 100	不適	[redacted]	[redacted]-067	4.2.3.2-1
	ラット/CD（SD）	皮下（用量設定）	10 日間	10, 50	不適	[redacted]	CR845-TOX082	4.2.3.4.1-1
	ラット/CD（SD）	皮下（用量設定）	26 週間	0, 1, 5, 25	適	[redacted]	CR845-TOX084	4.2.3.4.1-2
	ラット/CD（SD）	皮下	2 年間	0, 0.25, 0.5, 1	適	[redacted]	CR845-CARC088	4.2.3.4.1-3

主要な反復投与毒性試験については下線を施した投与量は、無毒性量を示す。

2.6.7.1 毒性試験一覧表（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所 Section
がん原性試験	マウス/CByB6F1[a]	皮下（用量設定）	5 日間	0, 1, 3, 10, 33, 100	適	[redacted]	CR845-TOX083	4.2.3.4.2-1
	マウス/CByB6F1[a]	皮下（用量設定）	4 週間	0, 3, 10, 33	適	[redacted]	CR845-TOX083	4.2.3.4.2-1
	マウス/CByB6F1[b]	皮下	26 週間	0, 3, 10, 30	適	[redacted]	CR845-CARC086	4.2.3.4.2-2
生殖発生毒性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	交配前～剖検前日 or 妊娠 7 日[c]	0, 0.25, 2.5, 25	適	[redacted]	CR845-TOX073	4.2.3.5.1-1
	ラット/CD（SD）	静脈内（用量設定）	妊娠 7～17 日	0, 0.2, 1, 5, 25	適	[redacted]	CR845-TOX074	4.2.3.5.2-1
	ラット/CD（SD）	静脈内	妊娠 7～17 日	0, 0.25, 2.5, 25	適	[redacted]	CR845-TOX075	4.2.3.5.2-2
	ラット/CD（SD）	静脈内	妊娠 7～授乳 20 日	0, 0.6, 2.5, 10	適	[redacted]	CR845-TOX077	4.2.3.5.3-1
	ウサギ/NZW	静脈内（用量設定）	10 日間 妊娠 7～19 日	0, 0.2,1, 5, 25 0, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5	適	[redacted]	CR845-TOX072	4.2.3.5.2-3
	ウサギ/NZW	静脈内	妊娠 7～19 日	0, 0.025, 0.05, 0.1	適	[redacted]	CR845-TOX076	4.2.3.5.2-4
局所刺激性試験	ウサギ/JW	血管周囲皮下	単回	0, 0.1, 10mg/mL	適	[redacted]	[redacted]-105	4.2.3.6-1

a：non-Transgenic マウス

b：Transgenic マウス

c：雄：交配前 28 日～交配期間～剖検前日（77～80 日間）まで、雌：交配前 15 日～交配期間～妊娠 7 日まで

2.6.7.1 毒性試験一覧表（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/day）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所 Section
その他の毒性試験								
依存性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	2 日間	0, 0.32, 1, 3.2	不適	[redacted]	CR845-SP036	4.2.3.7.4-1
	ラット/CD（SD）	静脈内	連続 5～6 日間	0, 0.001, 0.005, 0.025, 0.125	不適	[redacted]	CR845-TOX081	4.2.3.7.4-2
	ラット/Lister Hooded	静脈内	単回	0, 0.05, 0.125, 0.25, 0.5	不適	[redacted]	CR845-TOX079	4.2.3.7.4-3
	ラット/CD（SD）	静脈内	28 日間	0, 5	不適	[redacted]	CR845-TOX080	4.2.3.7.4-4

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	試験番号	記載箇所 Section
ラット単回経口投与毒性試験（拡張型）	ラット/CD（SD）	強制経口	0, 100, 500, 2000	適	CR845-TOX202	4.2.3.1-3
サル単回静脈内投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	0.5, 1, 2, 4, 8, 16	不適	CR845-TOX043	4.2.3.1-4
ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 1, 5, 25	適	CR845-TOX044	4.2.3.2-2
ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 0.25, 2.5, 25	適	[redacted]-078	4.2.3.2-3
ラット 26 週間反復静脈内投与毒性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 0.25, 2.5, 25	適	[redacted]-104	4.2.3.2-4
ラット 4 週間反復経口投与毒性試験	ラット/CD（SD）	強制経口	0, 10, 50, 250	適	CR845-TOX214	4.2.3.2-5
ラット 26 週間反復経口投与毒性試験	ラット/CD（SD）	強制経口	0, 10, 50, 250	適	CR845-TOX219	4.2.3.2-6
サル 7 日間反復静脈内投与毒性試験（用量設定）	カニクイザル	静脈内	4, 8	不適	CR845-TOX043	4.2.3.1-4
サル 4 週間反復静脈内投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	0, 0.25, 1, 4	適	CR845-TOX045	4.2.3.2-7
サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	0, 0.06, 0.25, 1	適	[redacted]-076	4.2.3.2-8
サル 39 週間反復静脈内投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	0, 0.06, 0.25, 1	適	[redacted]-103	4.2.3.2-9
サル 39 週間反復静脈内投与毒性試験	カニクイザル	静脈内	0, 0.06, 0.25, 1	適	CR845-TOX085	4.2.3.2-10
ラット 10 日間反復皮下投与毒性試験（がん原性用量設定）	ラット/CD（SD）	皮下	10, 50	不適	CR845-TOX82	4.2.3.4.1-1
ラット 26 週間反復皮下投与毒性試験（がん原性用量設定）	ラット/CD（SD）	皮下	0, 1, 5, 25	適	CR845-TOX84	4.2.3.4.1-2
ラット 2 年間反復皮下投与がん原性試験	ラット/CD（SD）	皮下	0, 0.25, 0.5, 1	適	CR845-CARC088	4.2.3.4.1-3

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	試験番号	記載箇所 Section
マウス 4 週間反復皮下投与毒性試験（がん原性用量設定）	マウス/CByB6F1	皮下	0, 3, 10, 33	適	CR845-TOX083	4.2.3.4.2-1
マウス 26 週間反復皮下投与がん原性試験	マウス/CByB6F1	皮下	0, 3, 10, 30	適	CR845-CARC086	4.2.3.4.2-2
ラット 2 年間反復皮下投与がん原性試験	ラット/CD（SD）	皮下	0, 0.25,0.5, 1	適	CR845-CARC088	4.2.3.4.1-3
ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 0.25,2.5, 25	適	CR845-TOX073	4.2.3.5.1-1
ラット胚・胎児発生に関する試験	ラット/CD（SD）（妊娠）	静脈内	0, 0.25,2.5, 25	適	CR845-TOX075	4.2.3.5.2-2
ラット出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 0.6, 2.5, 10	適	CR845-TOX077	4.2.3.5.3-1
ウサギ胚・胎児発生に関する試験	ウサギ/NZW（妊娠）	静脈内	0, 0.025, 0.05, 0.1	適	CR845-TOX076	4.2.3.5.2-4
ラット薬物自己投与試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 0.001, 0.005, 0.025, 0.125	不適	CR845-TOX081	4.2.3.7.4-2
ラット薬物弁別試験	ラット/ Lister Hooded	静脈内	0, 0.05, 0.125, 0.25, 0.5	不適	CR845-TOX079	4.2.3.7.4-3
ラット身体依存性試験	ラット/CD（SD）	静脈内	0, 5	不適	CR845-TOX080	4.2.3.7.4-4

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧表

2.6.7.3.A トキシコキネティクス成績の一覧表

AUC（ng· hr/mL） 被験物質：ジフェリケファリン

1日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
静脈内投与								
0.004（0.001）	-	-	7.11（1.50）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.019（0.005）	-	-	45（13.5）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.089（0.025）	-	-	222（55.1）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.025	-	-	-	-	143（P）	-	-	CR845-TOX076（GD7-19; 13日間）
0.05	-	-	-	-	354（P）	-	-	CR845-TOX076（GD7-19; 13日間）
0.06	-	-	-	-	-	548	338	[redacted]-076（13週間）
	-	-	-	-	-	1472	2242	[redacted]-103（39週間）
	-	-	-	-	-	734	3000	CR845-TOX085（39週間）
0.1	-	-	-	-	787（P）	-	-	CR845-TOX076（GD7-19; 13日間）
0.125	-	-	-	414	-	-	-	CR845-TOX079（単回）
0.25	-	-	-	317	-	-	-	CR845-TOX079（単回）
	-	-	691	494	-	-	-	[redacted]-078（13週間）
	-	-	873	561	-	-	-	[redacted]-104（26週間）
	-	-	-	-	-	1370	1230	CR845-TOX045（4週間）
	-	-	-	-	-	1768	1535	[redacted]-076（13週間）
	-	-	-	-	-	3205	15420	[redacted]-103（39週間）
	-	-	-	-	-	21000	17200	CR845-TOX085（39週間）

2.6.7.3.A トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

AUC（ng· hr/mL） 被験物質：ジフェリケファリン

1日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
静脈内投与								
0.25	-	-	483	401	-	-	-	CR845-TOX073（単回）
	-	-	-	508（P）	-	-	-	CR845-TOX075（GD7-17; 11日間）
0.350（0.125）	-	-	698（273）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.5	-	-	-	736	-	-	-	CR845-TOX079（単回）
	-	-	-	-	-	1297[b]		CR845-TOX043（単回）
1	-	-	1130	962	-	-	-	CR845-TOX044（4週間）
	-	-	-	-	-	2102[b]		CR845-TOX043（単回）
	-	-	-	-	-	6770	5090	CR845-TOX045（4週間）
	-	-	-	-	-	15290	10150	[redacted]-076（13週間）
	-	-	-	-	-	105500	134600	[redacted]-103（39週間）
	-	-	-	-	-	169000	55100	CR845-TOX085（39週間）
2	-	-	-	-	-	5244[b]		CR845-TOX043（単回）
2.5	-	-	6102	5140	-	-	-	[redacted]-078（13週間）
	-	-	8640	6348	-	-	-	[redacted]-104（26週間）
	-	-	5950	4410	-	-	-	CR845-TOX073（単回）
	-	-	-	5080（P）	-	-	-	CR845-TOX075（GD7-17; 11日間）
4	-	-	-	-	-	17831[b]		CR845-TOX043（単回）
	-	-	-	-	-	26222[b]		CR845-TOX043（7日間）
	-	-	-	-	-	29100	28700	CR845-TOX045（4週間）

2.6.7.3.A トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

AUC（ng· hr/mL） 被験物質：ジフェリケファリン

1日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
静脈内投与								
5	-	-	11310	-	-	-	-	CR845-TOX080（4週間）
	-	-	6540	4490	-	-	-	CR845-TOX044（4週間）
8	-	-	-	-	-	20106[b]		CR845-TOX043（単回）
	-	-	-	-	-	77240[b]		CR845-TOX043（7日間）
16	-	-	-	-	-	54086[b]		CR845-TOX043（単回）
25	-	-	38100	28500	-	-	-	CR845-TOX044（4週間）
	-	-	104900	58860	-	-	-	[redacted]-078（13週間）
	-	-	139600	53870	-	-	-	[redacted]-104（26週間）
	-	-	76300	49900	-	-	-	CR845-TOX073（単回）
	-	-	-	55900（P）	-	-	-	CR845-TOX075（GD7-17; 11日間）
強制経口投与								
10	-	-	86.4	124	-	-	-	CR845-TOX214（4週間）
	-	-	172	118	-	-	-	CR845-TOX219（26週間）
50	-	-	553	642	-	-	-	CR845-TOX214（4週間）
	-	-	1020	1010	-	-	-	CR845-TOX219（26週間）
100	-	-	1851	2682	-	-	-	CR845-TOX202（単回）
250	-	-	6270	7090	-	-	-	CR845-TOX214（4週間）
	-	-	9210	9260	-	-	-	CR845-TOX219（26週間）
500	-	-	23030	41130	-	-	-	CR845-TOX202（単回）

2.6.7.3.A トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

AUC（ng· hr/mL） 被験物質：ジフェリケファリン

1 日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
強制経口投与								
2000	-	-	231800	506400	-	-	-	CR845-TOX202（単回）
皮下投与								
0.25	-	-	763	59000	-	-	-	CR845-CARC088（26週間）
0.5	-	-	18500	88100	-	-	-	CR845-CARC088（26週間）
1	-	-	36700	177000	-	-	-	CR845-TOX084（26週間）
	-	-	46900	161000	-	-	-	CR845-CARC088（26週間）
3	3620	2540	-	-	-	-	-	CR845-TOX083（4週間）
	4200	3810	-	-	-	-	-	CR845-CARC086（26週間）
5	-	-	172000	212000	-	-	-	CR845-TOX084（26週間）
10	16400	13800	-	-	-	-	-	CR845-TOX083（4週間）
	12300	11300	-	-	-	-	-	CR845-CARC086（26週間）
	-	-	29600	15800	-	-	-	CR845-TOX082（10日間）
25	-	-	127000	122000	-	-	-	CR845-TOX084（26週間）
30	42800	34700	-	-	-	-	-	CR845-CARC086（26週間）
33	35200	31100	-	-	-	-	-	CR845-TOX083（4週間）
50	-	-	112000	118000	-	-	-	CR845-TOX082（10日間）

GD：妊娠日数、P：妊娠動物、SA：自己投与、-：データ無

AUC 値は、CR845-TOX076 試験が $AUC_{0\text{-}tau}$、CR845-TOX075 試験及び CR845-CARC086 試験が $AUC_{0\text{-}24}$ で、それら以外の全試験は AUC_{last} である。

a：平均自己投与回数から換算した投与量における曝露量を示し、括弧内は単回投与時の値

b：雌雄合わせた値

2.6.7.3.B　トキシコキネティクス成績の一覧表

Cmax（ng/mL）　　被験物質：ジフェリケファリン

1 日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
静脈内投与								
0.004（0.001）	-	-	15.1（5.64）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.019（0.005）	-	-	101（21.4）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.089（0.025）	-	-	375（95.2）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.025	-	-	-	-	178（P）	-	-	CR845-TOX076（GD7-19; 13日間）
0.05	-	-	-	-	390（P）	-	-	CR845-TOX076（GD7-19; 13日間）
0.06	-	-	-	-	-	291	275	[redacted]-076（13週間）
	-	-	-	-	-	307	346	[redacted]-103（39週間）
	-	-	-	-	-	400	500	CR845-TOX085（39週間）
0.1	-	-	-	-	906（P）	-	-	CR845-TOX076（GD7-19; 13日間）
0.125	-	-	-	1666	-	-	-	CR845-TOX079（単回）
0.25	-	-	-	1127	-	-	-	CR845-TOX079（単回）
	-	-	1346	1113	-	-	-	[redacted]-078（13週間）
	-	-	1630	1226	-	-	-	[redacted]-104（26週間）
	-	-	-	-	-	1270	1110	CR845-TOX045（4週間）
						1150	1225	[redacted]-076（13週間）
	-	-	-	-	-	1029	1835	[redacted]-103（39週間）
	-	-	-	-	-	2460	2670	CR845-TOX085（39週間）

2.6.7.3.B トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

Cmax（ng/mL） 被験物質：ジフェリケファリン

1日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
静脈内投与								
0.25	-	-	953	803	-	-	-	CR845-TOX073（単回）
	-	-	-	891（P）	-	-	-	CR845-TOX075（GD7-17; 11日間）
0.350（0.125）	-	-	1345（555）	-	-	-	-	CR845-TOX081（SA、単回）[a]
0.5	-	-	-	2487	-	-	-	CR845-TOX079（単回）
	-	-	-	-	-	1135[b]		CR845-TOX043（単回）
1	-	-	2960	2810	-	-	-	CR845-TOX044（4週間）
	-	-	-	-	-	1628[b]		CR845-TOX043（単回）
	-	-	-	-	-	4510	4310	CR845-TOX045（4週間）
	-	-	-	-	-	5118	5047	[redacted]-076（13週間）
	-	-	-	-	-	8893	10890	[redacted]-103（39週間）
	-	-	-	-	-	15000	9040	CR845-TOX085（39週間）
2	-	-	-	-	-	3428[b]		CR845-TOX043（単回）
2.5	-	-	12520	12420	-	-	-	[redacted]-078（13週間）
	-	-	16410	13550	-	-	-	[redacted]-104（26週間）
	-	-	10400	7370	-	-	-	CR845-TOX073（単回）
	-	-	-	9560（P）	-	-	-	CR845-TOX075（GD7-17; 11日間）
4	-	-	-	-	-	11380[b]		CR845-TOX043（単回）
	-	-	-	-	-	13300[b]		CR845-TOX043（7日間）
	-	-	-	-	-	24000	22900	CR845-TOX045（4週間）

2.6.7.3.B　トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

Cmax（ng/mL）　　被験物質：ジフェリケファリン

1 日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
静脈内投与								
5	-	-	25550	-	-	-	-	CR845-TOX080（4週間）
	-	-	14700	11100	-	-	-	CR845-TOX044（4週間）
8	-	-	-	-	-	15250[b]		CR845-TOX043（単回）
	-	-	-	-	-	44975[b]		CR845-TOX043（7日間）
16	-	-	-	-	-	48425[b]		CR845-TOX043（単回）
25	-	-	99600	75900	-	-	-	CR845-TOX044（4週間）
	-	-	145400	127200	-	-	-	[redacted]-078（13週間）
	-	-	158000	104100	-	-	-	[redacted]-104（26週間）
	-	-	105000	84400	-	-	-	CR845-TOX073（単回）
	-	-	-	90400（P）	-	-	-	CR845-TOX075（GD7-17; 11日間）
強制経口投与								
10	-	-	31.7	44.8	-	-	-	CR845-TOX214（4週間）
	-	-	75.0	47.2	-	-	-	CR845-TOX219（26週間）
50	-	-	167	212	-	-	-	CR845-TOX214（4週間）
	-	-	259	738	-	-	-	CR845-TOX219（26週間）
100	-	-	498	669	-	-	-	CR845-TOX202（単回）
250	-	-	2910	5620	-	-	-	CR845-TOX214（4週間）
	-	-	3880	8030	-	-	-	CR845-TOX219（26週間）
500	-	-	4750	6780	-	-	-	CR845-TOX202（単回）

2.6.7.3.B トキシコキネティクス成績の一覧表（続き）

Cmax（ng/mL） 被験物質：ジフェリケファリン

1日投与量（mg/kg）	マウス		ラット		ウサギ	サル		試験番号（投与期間）
	雄	雌	雄	雌	雌	雄	雌	
強制経口投与								
2000	-	-	58400	109000	-	-	-	CR845-TOX202（単回）
皮下投与								
0.25	-	-	372	4890	-	-	-	CR845-CARC088（26週間）
0.5	-	-	2350	7460	-	-	-	CR845-CARC088（26週間）
1	-	-	7560	16900	-	-	-	CR845-TOX084（26週間）
	-	-	5080	15300	-	-	-	CR845-CARC088（26週間）
3	3320	3530	-	-	-	-	-	CR845-TOX083（4週間）
	4140	4260	-	-	-	-	-	CR845-CARC086（26週間）
5	-	-	21400	18600	-	-	-	CR845-TOX084（26週間）
10	16100	14500	-	-	-	-	-	CR845-TOX083（4週間）
	10500	12700	-	-	-	-	-	CR845-CARC086（26週間）
	-	-	9680	8730	-	-	-	CR845-CARC082（10日間）
25	-	-	18100	19100	-	-	-	CR845-TOX084（26週間）
30	41700	33300	-	-	-	-	-	CR845-CARC086（26週間）
33	32900	27700	-	-	-	-	-	CR845-TOX083（4週間）
50	-	-	25500	24700	-	-	-	CR845-CARC082（10日間）

GD：妊娠日数、P：妊娠動物、SA：自己投与、-：データ無

a：平均自己投与回数から換算した投与量における曝露量を示し、括弧内は単回投与時の値

b：雌雄合わせた値

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

被験物質：ジフェリケファリン

バッチ/ロット番号[a]	純度（ペプチド含有量[b]）%	不純物[c]						試験番号	試験の種類
		RRT [d] (% area)	(%w/w)	(%w/w)	RRT	(ppm)	RRT		
申請規格									
		-	-	-	-	-	-	CR845-TOX042	ラット単回及び反復静脈内投与毒性試験（用量設定）
								CR845-TOX043	サル単回及び反復静脈内投与毒性試験（用量設定）
[h]（20 年 月又は 20 年 月）								CR845-TOX202	ラット単回経口投与毒性試験（拡張型）
								CR845-TOX044	ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験
								CR845-TOX045	サル 4 週間反復静脈内投与毒性試験
								CR845-TOX029	復帰突然変異試験
								CR845-TOX031	染色体異常試験
								CR845-TOX054	マウス小核試験
（20 年 月）								CR845-TOX074	ラット胚・胎児発生への影響に関する用量設定試験
								CR845-TOX075	ラット胚・胎児発生への影響に関する試験
								CR845-TOX072	ウサギ胚・胎児発生への影響に関する用量設定試験
								CR845-TOX076	ウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

バッチ/ロット番号[a]	純度（ペプチド含有量[b]）%	不純物[c]						試験番号	試験の種類
		RRT [redacted] (% area)	[redacted] (%w/w)	[redacted] (%w/w)	RRT [redacted]	[redacted] (ppm)	RRT [redacted]		
申請規格	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]（20[redacted]年[redacted]月）	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ND	[redacted]	[redacted]	[redacted]-067	ラット7日間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（用量設定）
								CR845-TOX073	ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
[redacted]（20[redacted]年[redacted]月）	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ND	ND	ND	[redacted]	[redacted]-078	ラット13週間反復静脈内投与毒性試験
								[redacted]-076	サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験
[redacted]（20[redacted]年[redacted]月）	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ND	[redacted]	[redacted]	CR845-TOX214	ラット4週間反復経口投与毒性試験
								CR845-TOX077	ラット出生前及び出生後の発生並びに初期胚発生に関する試験
[redacted]（20[redacted]年[redacted]月）	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ND	[redacted]	[redacted]	CR845-TOX082	ラット10日間反復皮下投与毒性試験（用量設定）
[redacted]（20[redacted]年[redacted]月）[i,j]	[redacted]	-	-	-	-	-	-	[redacted]-105	ウサギ局所刺激性試験
[redacted]（20[redacted]年[redacted]月）[j]	[redacted]	-	-	-	-	-	-		

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧（続き）

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

バッチ/ロット番号[a]	純度（ペプチド含有量[b]）%	不純物[c]						試験番号	試験の種類
		RRT [redacted] (% area)	[redacted] (%w/w)	[redacted] (%w/w)	RRT [redacted]	[redacted] (ppm)	RRT [redacted]		
申請規格	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	CR845-TOX219	ラット26週間反復経口投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	CR845-TOX084	ラット26週間反復皮下投与毒性試験
								CR845-TOX085	サル39週間反復静脈内投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ND	ND	ND	[redacted]	[redacted]-104	ラット26週間反復静脈内投与毒性試験
								[redacted]-103	サル39週間反復静脈内投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ND	[redacted]	[redacted]	CR845-CARC086	マウス26週間反復皮下投与がん原性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	CR845-CARC088	ラット2年間反復皮下投与がん原性試験

-：データなし、RRT：相対保持時間、[redacted]、[redacted]、ND：検出されず

a：複数の分析証明書のあるロットについては、試験日を記載する。

b：ペプチドアッセイ

c：非臨床試験に用いられたロット間で、[redacted]は認められなかった。元素不純物はバッチを超えて認められたが、ICH Q3D（R1）で概要が示された最大許容一日曝露量の範囲内であった。

d：[redacted] と [redacted] の合計

e：[redacted]、[redacted] を参照

f：未同定及び特定不純物 A （RRT[redacted]）。なお、本物質は、[redacted]と同一物質である。

g：[redacted] および[redacted] では、[redacted]、[redacted]であった。

h:感度の高いバリデートされた RP-HPLC 法([redacted])を用いて [redacted]及び[redacted]、未同定及び特定不純物 A、並びに当該試験のペプチド含量の合計の不純物含量値を測定した。これらの評価値は、先行する HPLC 法（[redacted]）に由来する分析証明書に示された当初の値に代わるものである。

i：[redacted]に由来する純度当該ロットの[redacted]であった。

j：製剤バッチ

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
マウス /ICR	静脈内 （生理食塩液）	50 100 200	雌雄 各3匹	100	200	50、100mg/kg：立毛、虚脱、嗜眠 200mg/kg：投与後30分以内に全例死亡	CR845-TOX054
ラット /SD	静脈内 （生理食塩液）	50 75 100	雌雄 各3匹	100	＞100	死亡例なし 一般状態：50mg/kg以上で嗜眠、75mg/kg以上で尿による汚れ、眼周囲に乾燥した赤色物質、発声 体重：50mg/kg以上で減少（雄） 摂餌量：50mg/kg以上で減少（雄）	CR845-TOX042
ラット /Crl:CD®（SD） IGS BR	強制経口 （蒸留水）	0 100 500 2000	本試験 雌雄 各10匹 回復試験 雌雄 各5匹	2000	NA	死亡例なし 一般状態：100mg/kg以上で嗜眠/活性低下（用量依存性）;投与後8～24時間までに消失 体重：投与後8日及び14日に雄の2000mg/kgで減少 摂餌量：投与後8日まで雄の100mg/kg以上で減少 血液学的検査及び血液生化学的検査：投与後2日において100mg/kg以上で赤血球、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血液尿素窒素、クレアチニン、総タンパク質、ナトリウム、塩素、カルシウム、好中球の増加、リンパ球の減少など 100mg/kg以上でグルコース、コレステロール、トリグリセリドの増加など	CR845-TOX202

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
						500mg/kg以上でみられたナトリウム及び2000mg/kgでみられた塩素の僅かな上昇以外の全ての値は投与後15日までに回復した。 剖検：異常なし 器官重量:軽度な脾臓重量の減少（≧100mg/kg）、肝臓重量の増加（≧100mg/kg）、胸腺重量の減少（≧500mg/kg）、甲状腺/副甲状腺重量の減少（≧100mg/kgの雄）、2日目の副腎重量の増加（≧100mg/kgの雌） 病理組織学的検査:唾液腺粘液性腺肥大（≧100mg/kg）、ハーダー腺ポルフィリン色素沈着（≧100mg/kg） 投与後15日までにすべての所見は回復（ただし、以下は除く：副腎重量（≧100mg/kgの雌）、血清ナトリウム又は塩素の軽度の上昇（≧500mg/kg）：これの変化に関連した病理組織学的所見は認められなかった） 経口投与による消化管への影響は認められなかった。 無毒性量は、体重減少が認められた雄で500mg/kg、雌は2000mg/kgと考えられた	CR845-TOX202

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
カニクイザル	静脈内 （生理食塩液）	0.5 1 2 4 8 16	雌雄 各2匹	16	＞16	死亡例なし 一般状態：0.5～16mg/kgの全群で嗜眠、自発運動の減少、間欠性振戦、糞便減少及び摂餌量減少がみられ、8mg/kg以上では、嗜眠及び/又は自発運動の減少が投与後数分から2時間までに発現し、数例では投与後72時間までみられた。4mg/kg以上では、運動失調及び散発性の吐気/嘔吐がみられた。16mg/kgでは、同様の症状がより重度で、長期間みられた。さらに、1例で体温低下がみられた 最大耐量：8mg/kg	CR845-TOX043

NA：該当せず

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	無毒性量（mg/kg/day）	特記すべき所見	試験番号
ラット/SD	静脈内（生理食塩液）	7日間	0 25	雌雄 各5例	NA	死亡例なし 一般状態：投与3日まで嗜眠 体重：投与初期に体重減少（雄）又は体重増加量の減少（雌） 摂餌量：減少	CR845-TOX042
ラット/Crl:CD（SD）	静脈内（生理食塩液）	7日間	10	雌1匹	NA	死亡例なし 一般状態：投与2日まで自発運動の減少、前肢外転 体重：投与2日に減少 血液学的検査、剖検、病理組織学的検査：著変なし	[redacted]-067
カニクイザル	静脈内（生理食塩液）	7日間	4 8	雌雄 各2例	NA	死亡例なし 一般状態：嗜眠、活性低下、糞便減少、嘔吐、運動失調及び間欠性振戦（8mg/kg/dayでは、作用の重症度、発現、及び持続時間が増加、１例で体温低下により獣医学的処置としてナロキソン投与） 体重・摂餌量：減少 MTD：4mg/kg/day	CR845-TOX043

NA：該当せず、MTD：最大耐量

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復静脈内投与

報告書の題名：CR845: A 28-Day Intravenous Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats with 2 Weeks Recovery

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：4 週間　試験番号：CR845-TOX044

試験開始週齢：7 週齢　休薬期間：2 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.2-2

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：静脈内　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：なし

無毒性量：雌雄 5 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	2740	1820	13900	8920	48200	61600
投与28日	-	-	2960	2810	14700	11100	99600	75900
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	1130	967	6470	5040	32500	30400
投与28日	-	-	1130	962	6540	4490	38100	28500
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態（投与1週）[a]								
活性低下	-	-	-	-	P	P	P	P
体重（%）[b]、投与28日	404 g	230 g	-10*	-3	-8*	-4	-8*	-4
体重増加量（g、投与1週）	54	20	26*	13*	27*	9*	25*	8*

2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：CR845-TOX044　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
摂餌量（%）[b]、投与22～28日	30g/日	21g/日	-10*	1	-8	17	-7	-2
投与1週の影響	28g/日	19g/日	-19*	-5	-20*	-3	-19*	-10*
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%）[b]								
心臓、絶対重量（g）	1.37	0.90	-14*	-5	-9	-5	-13*	-13*
心臓、相対重量（%体重）	0.368	0.432	-4	-7	-2	-4	-3	-10*
甲状腺、絶対重量（g）	0.0196	0.0165	-4	-11	-1	-11	5	-20*
甲状腺、相対重量（%体重）	0.00527	0.00796	7	-13	6	-11	17	-17*
胸腺、絶対重量（g）	0.52	0.46	4	-7	11	-10	-2	-16
胸腺、相対重量（%体重）	0.142	0.223	15	-9	17	-9	9	-14
肝臓、絶対重量（g）	11.44	6.22	-22*	-3	-13	-3	-15*	-6
肝臓、相対重量（%体重）	3.036	2.992	-12*	-4	-5	-2	-5	-3
腎臓、絶対重量（g）	2.81	1.68	-15*	-3	-9	-4	-9*	-1
腎臓、相対重量（%体重）	0.751	0.811	-4	-5	-2	-4	1	2
脾臓、絶対重量（g）	0.76	0.44	-6	9	-9	0	-11	0
脾臓、相対重量（%体重）	0.204	0.212	5	7	-2	0	-1	3

2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX044　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
前立腺、絶対重量（g）	0.92	NA	-13	NA	-14*	NA	-20*	NA
前立腺、相対重量（%体重）	0.246	NA	-2	NA	-7	NA	-10	NA
精巣、絶対重量（g）	3.31	NA	-2	NA	-2	NA	-13	NA
精巣、相対重量（%体重）	0.888	NA	9	NA	6	NA	-3	NA
精巣上体、絶対重量（g）	1.05	NA	-3	NA	-4	NA	-11	NA
精巣上体、相対重量（%体重）	0.283	NA	7	NA	3	NA	0	NA
精嚢腺、絶対重量（g）	1.25	NA	-32*	NA	-20	NA	-18	NA
精嚢腺、相対重量（%体重）	0.339	NA	-25	NA	-15	NA	-9	NA
剖検所見								
精巣上体、矮小	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
精巣、矮小/軟性	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
病理組織学的検査								
精巣上体								
無精子症、片側性	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
無精子症、両側性	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
細胞片、内腔（軽微～軽度）	0	NA	1	NA	4	NA	5	NA
精巣								
片側性変性	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7.A 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX044　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
両側性変性								
軽微	0	NA	1	NA	2	NA	0	NA
軽度	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
中等度	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
無形成、片側性	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
回復性評価（動物数）	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
剖検所見								
精巣（左）、矮小	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
病理組織学的検査								
精巣上体、内腔の細胞片	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
精巣、精細管の胚上皮変性								
軽微	0	NA	2	NA	0	NA	0	NA
中等度	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA

- ：特記すべき所見なし、*：p<0.05 （Dunnett 検定又は Dunn 検定）、NA：該当せず、P：有

a：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、投与 1 週以降観察されなかった。

b：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。

すべての%差の値は整数に四捨五入。

2.6.7.7.B　反復投与毒性試験：ラット 13 週間反復静脈内投与

報告書の題名：A 13-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of CR845 in Rats followed by a 4-Week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/ Crl:CD（SD）　投与期間：13 週間　試験番号：[redacted]-078

試験開始週齢：6 週齢　休薬期間：4 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.2-3

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：静脈内　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：末梢血イムノフェノタイピング

無毒性量：雌雄 25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.25**		**2.5**		**25**	
動物数	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	929	1159	11300	11280	104900	96620
投与48日	-	-	1183	1145	11460	11100	152700	118700
投与90日	-	-	1346	1113	12520	12420	145400	127200
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	488	500	5861	5337	55980	51700
投与48日	-	-	611	482	6025	4659	105100	62390
投与90日	-	-	691	494	6102	5140	104900	58860
特記すべき所見:								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態（投与1週）								
自発運動減少	-	-	-	P	P	P	P	P
よろめき歩行	-	-	P	P	P	P	P	P
前肢の外転	-	-	-	P	P	P	P	P

2.6.7.7.B　反復投与毒性試験：ラット 13 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：[redacted]-078　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		2.5		25	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
体重（%）[b]、投与90日	484 g	275 g	2	0	-1	3	-3	2
投与6日（投与1週）	246 g	179 g	-7**	-2	-11**	-4	-10**	-5
投与13日（投与2週）	297 g	197 g	-6*	-4	-9**	-1	-8**	-5
投与20日（投与3週）	332 g	212 g	-3	-5	-6*	-3	-6*	-5
体重増加量（g、投与1日）	2.5	1.3	-8.7	-4.2	-23.1**	-15.1**	-26.3**	-23.9**
摂餌量（%）[b]								
投与2日	20.8g/日	15.5g/日	-2	1	-13**	1	-16**	4
投与5日	22.7g/日	15.1g/日	-13**	-5	-11**	-7	-15**	2
投与12日	23.7g/日	15.8g/日	-5	-13*	-11*	3	-11**	-10*
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
末梢血イムノフェノタイピング	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査								
尿量（mL）、投与1週	7.75	8.55	8.17	8.45	1.95**	2.48**	1.97**	2.19**
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見								
精巣上体、矮小、片側性	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
精巣、矮小、片側性	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA

2.6.7.7.B　反復投与毒性試験：ラット 13 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：[redacted]-078　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		2.5		25	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
病理組織学的検査								
精巣上体								
萎縮と無精子症	0	NA	1	NA	NA	NA	0	NA
管腔内の細胞片	0	NA	1	NA	NA	NA	1	NA
精巣								
萎縮、精細管（片側性）	0	NA	1	NA	NA	NA	2	NA
腎臓								
黄赤色色素沈着、近位尿細管	0	0	NA	0	NA	1	0	10
回復性評価（動物数）	雄：5	雌：5	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：5	雌：5
–								

－：特記すべき所見なし、*：p<0.05, **：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunnett 型検定）、NA：該当せず、P：有

a：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与 0 日及び/又は 1 日にのみ認められた。

b：投与期間終了時。対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。すべての%差の値は、整数に四捨五入。

2.6.7.7.C　反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復静脈内投与

報告書の題名：A 26-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of CR845 in Rats followed by a 9-Week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：26 週間　試験番号：[redacted]-104

試験開始週齢：6 週齢　休薬期間：9 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.2-4

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：静脈内　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：なし

無毒性量：雄 2.5 mg/kg/day、雌 25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.25**		**2.5**		**25**	
動物数	**雄：12**	**雌：12**	**雄：12**	**雌：12**	**雄：12**	**雌：12**	**雄：12**	**雌：12**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	727	902	8635	9809	102000	98620
投与90日	-	-	1330	1043	11040	11350	139600	119800
投与181日	-	-	1630	1226	16410	13550	158000	104100
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	474	434	4561	5079	58170	51810
投与90日	-	-	688	474	5524	5318	108900	58380
投与181日	-	-	873	561	8640	6348	139600	53870
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態（投与1週）								
自発運動減少	-	-	-	P	P	P	P	P
よろめき歩行	-	-	-	-	P	P	P	P
前肢の外転	-	-	-	-	P	P	P	P

2.6.7.7.C 反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：[redacted]-104　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		2.5		25	
動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
体重（%）[b]、投与181日	615 g	314 g	9	2	6	7	2	0
体重増加量（g、投与1日）	2.0	-0.6	-8.4*	-4.6	-23.9**	-16.0**	-31.7*	-22.0**
摂餌量（%）[b]、投与0日	21.3g/日	14.8g/日	-20*	-20**	-40**	-35**	-43**	-34**
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%）[b]								
卵巣（左右）、絶対重量（g）	NA	0.08459	NA	-15	NA	-21	NA	-33**
卵巣（左右）、相対重量（%体重）	NA	0.02770	NA	-15	NA	-25*	NA	-34**
剖検所見								
精巣上体、矮小、片側性	0	NA	1	NA	1	NA	1	NA
精巣、矮小、片側性	0	NA	1	NA	1	NA	1	NA
病理組織学的検査[c]								
精巣上体								
精子の欠如/減少	0	NA	1	NA	1	NA	1	NA
管腔内の細胞残屑	1	NA	0	NA	3	NA	6	NA
精巣								
精細管萎縮又は変性	1	NA	1	NA	3	NA	6	NA

2.6.7.7.C　反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：[redacted]-104　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		2.5		25	
動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
腎臓								
硝子滴蓄積、近位尿細管	5	0	4	0	8	0	12	0
黄赤色色素沈着、近位尿細管	0	0	0	0	0	3	0	10
好塩基性変性、近位尿細管	3	0	1	2	2	1	12	2
回復性評価（動物数）	雄：6	雌：6	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：6	雌：6
病理組織学的検査								
腎臓								
硝子滴蓄積、近位尿細管	1	0	NA	NA	NA	NA	1	0
好塩基性変性、近位尿細管	2	1	NA	NA	NA	NA	5	0

－：特記すべき所見なし、*：p<0.05, **：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunnett 型検定）、NA：該当せず、P：有

a：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与 0 日及び/又は 1 日にのみ認められた。

b：投与期間終了時。対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。すべての%差の値は、整数に四捨五入。

c：精巣上体の病理組織学的所見は、軽微にグレード分類され、精巣および腎臓の所見は軽微又は軽度にグレード分類された。

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復経口投与

報告書の題名：A 28-day Study of CR845 by Oral Gavage in Rats with a 14-day Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：4 週間　試験番号：CR845-TOX214

試験開始週齢：8 週齢　休薬期間：2 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.2-5

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：強制経口　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：逆浸透脱イオン水

特記事項：なし

無毒性量：雌雄 250 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**10**		**50**		**250**	
動物数	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	30	33	166	223	976	1660
投与28日	-	-	32	45	167	212	2910	5620
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	103	111	613	579	4540	4800
投与28日	-	-	86	124	553	642	6270	7090
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態（投与1週）								
活性低下	-	-	-	-	P	P	P	P
半眼	-	-	-	-	P	P	P	P
猫背姿勢	-	-	-	-	-	P	-	P

2.6.7.7.D 反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復経口投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX214　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		10		50		250	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
体重（%）[b]、投与28日	374 g	256 g	1	3	-1	-5	2	-1
投与2日	250 g	189 g	0	2	-3	-3	-13***	-12***
投与3日	256 g	192 g	-1	2	-5*	-4	-8***	-4
投与4日	263 g	196 g	-1	2	-7**	-4	-8***	-3
体重増加量（g、投与1日）	3.2	1.8	1.7	2.5	-10.8***	-4.4**	-30.4***	-24.7***
摂餌量（%）[b]、投与22～28日	24.7g/日	19.0g/日	-3	0	-4	-8	1	0
投与1～2日	21.7g/日	16.4g/日	-14*	-3	-44***	-24**	-52***	-45***
投与2～3日	22.8g/日	14.9g/日	-11	7	-28***	-6	-27***	-2
投与3～4日	24.4g/日	17.3g/日	-7	5	-19***	-4	-17***	-10
摂水量（%）[b]								
投与1～2日	28.7g/日	20.1g/日	-25	0	-31	-4	-58***	-48***
投与2～3日	25.3g/日	18.7g/日	-10	12	-12	5	17*	41***
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見								
精巣上体、矮小	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
精巣、矮小	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験：ラット 4 週間反復経口投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX214　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		10		50		250	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
病理組織学的検査								
精巣上体、無精子症	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
精巣、精細管萎縮	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
回復性評価（動物数）	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5
-								

- ：特記すべき所見なし、*：P<0.05, **：P<0.01, ***：P<0.001 （Dunnett 検定又は Dunn 検定）、NA：該当せず、P：有

a：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与開始から 3 日間のみにみられた。

b：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。

すべての%差の値は、整数に四捨五入。

2.6.7.7.E　反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復経口投与

報告書の題名：A 26-week Study of CR845 by Oral Gavage Administration in Rats with a 2-week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：26 週間　試験番号：CR845-TOX219

試験開始週齢：8 週齢　休薬期間：2 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.2-6

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：強制経口　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：逆浸透脱イオン水

特記事項：13 週で中間屠殺（雌雄各 10 匹/群）、26 週間屠殺（雌雄各 10 匹/群）、回復（雌雄各 5 匹/群）消化管に限定した病理

無毒性量：雌雄 250 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**10**		**50**		**250**	
動物数	**雄：20**	**雌：20**	**雄：20**	**雌：20**	**雄：20**	**雌：20**	**雄：20**	**雌：20**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	44.0	43.2	167	210	2120	2040
投与90日	-	-	24.9	88.1	228	1010	4180	5180
投与182日	-	-	75.0	47.2	259	738	3880	8030
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	114	119	588	860	5730	6580
投与90日	-	-	112	151	772	1150	7300	8910
投与182日	-	-	172	118	1020	1010	9210	9260
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数[a]	2	-	-	-	-	-	1	-
一般状態（投与1週）[b]								
活性低下	-	-	-	-	P	P	P	P
猫背姿勢	-	-	-	-	-	-	P	P
半眼	-	-	-	-	-	P	P	P

2.6.7.7.E　反復投与毒性試験：ラット 26 週間反復経口投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX219　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		10		50		250	
動物数	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20
体重（%）[c]、投与182日	672 g	385 g	1	-8	9	-5	10	0
投与2日	261 g	198 g	-1	-2	-6***	-5**	-11***	-12***
投与4日	273 g	200 g	-2	-1	-7***	-4*	-7***	-4*
投与8日	303 g	213 g	-2	-1	-5**	-2	-6***	0
体重増加量（g、投与1～2日）	3.6	2.0	1.8	1.4	-10.5 ***	-5.8**	-23.6***	-20.7***
摂餌量（%）[c]、投与176～182日	31.9g/日	22.4g/日	-6	-5	4	-16	8	-6
投与1～2日	27.1g/日	20.1g/日	-13	-14*	-50***	-43***	-48***	-29***
投与2～4日	26.8g/日	18.2g/日	-6	-11**	-17***	-18***	-25***	-26***
投与4～8日	27.3g/日	19.8g/日	-5**	-14***	-3	-14***	-7***	-5
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%）	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見								
精巣、矮小	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性評価（動物数）	**雄：5**	**雌：5**	**雄：5**	**雌：5**	**雄：5**	**雌：5**	**雄：5**	**雌：5**
-								

- ：特記すべき所見なし、*：p<0.05, **：p<0.01, ***：p<0.001（Dunnett 検定又は Dunn 検定）、NA：該当せず、P：有

a：対照群の雄各 1 例で投与 72 日に頸部腫瘤、投与 196 日に胸部腫瘤が認められ安楽死させた。250mg/kg の雄 1 例で投与 69 日に死亡を発見したがジフェリケファリンに関連する所見は認められなかった。

b：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与開始 1 週目のみ認められた。

c：投与期間終了時。対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。すべての%差の値は、整数に四捨五入。

2.6.7.7.F　反復投与毒性試験：サル 4 週間反復静脈内投与

報告書の題名：A 4-Week Intravenous Toxicity Study of CR845 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 2-Week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：カニクイザル　　投与期間：4 週間　　試験番号：CR845-TOX045

試験開始週齢：3～7 齢　　休薬期間：2 週間　　CTD における記載箇所：4.2.3.2-7

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：なし

無毒性量：雌雄 0.25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.25**		**1**		**4**	
動物数 [a]	**雄：6**	**雌：6**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：6**	**雌：6**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	1300	1190	4760	4750	21800	26600
投与28日	-	-	1270	1110	4510	4310	24000	22900
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	1540	1720	6490	7800	27800	43700
投与28日	-	-	1370	1230	6770	5090	29100	28700
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態[b]								
嗜眠（自発運動減少）	P	-	P	P	P	P	P	P
猫背姿勢	-	-	P	P	P	P	P	P
屈曲位	-	-	-	-	P	P	P	P
体重（%）[c]、投与7日	3.454 kg	2.884 kg	-2	1	-4	-1	-6	-4
体重増加量[d]（g、投与1週）	110	45	24	-69	-136	-67	-108	-120

2.6.7.7.F　反復投与毒性試験：サル 4 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX045　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		1		4	
動物数 [a]	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
摂餌量[e]、減少（投与1週）	-	P	P	P	P	P	P	P
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%）[c]								
胸腺、絶対重量（g）	2.6652	1.5677	-70	-26	-60	-48	-60	-64*
胸腺、相対重量（%体重）	0.0813	0.0574	-73	-33	-63	-51*	-62	-64**
甲状腺/上皮小体､絶対重量(g)	0.3433	0.4696	32	-7	39	-20	27	-27
甲状腺/上皮小体、相対重量（%体重）	0.0102	0.0170	25	-15	29	-24	22	-27
卵巣、絶対重量（g）	NA	0.4329	NA	-26	NA	-42	NA	-50
卵巣、相対重量（%体重）	NA	0.0158	NA	-32	NA	-45	NA	-50
子宮、絶対重量（g）	NA	6.2374	NA	-13	NA	-26	NA	-41
子宮、相対重量（%体重）	NA	0.2324	NA	-22	NA	-31	NA	-42
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査								
胸腺、リンパ球枯渇（軽微～中等度）	1	0	4	4	4	4	4	4
脾臓、リンパ球枯渇（軽微～軽度）	0	0	0	1	0	2	2	3

2.6.7.7.F　反復投与毒性試験：サル 4 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX045　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.25**		**1**		**4**	
動物数 [a]	**雄：6**	**雌：6**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：6**	**雌：6**
投与部位病変[f]								
血管壁の変性・再生（軽微～中等度）	1	0	2	0	2	0	2	4
出血（軽度～重度）	2	1	2	1	3	4	3	3
線維症/線維増殖症（軽微～中等度）	1	2	1	2	3	1	2	4
急性炎症（軽微～中等度）	0	1	1	1	2	2	2	2
壊死（軽微～中等度）	0	1	0	1	2	4	1	4
坐骨神経[f] 軸索変性（軽微）	0	0	0	0	1	1	2	0
十二指腸 色素沈着、粘膜固有層（軽微～中等度）	0	0	4	0	2	4	3	1
回復性評価（動物数）	**雄：2**	**雌：2**	**雄：0**	**雌：0**	**雄：0**	**雌：0**	**雄：2**	**雌：2**
器官重量（%）[c]								
胸腺、絶対重量（g）	3.3403	2.6507	NA	NA	NA	NA	-45	-69
胸腺、相対重量（%体重）	0.0916	0.0852	NA	NA	NA	NA	-48	-68

2.6.7.7.F　反復投与毒性試験：サル 4 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号 : CR845-TOX045　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		1		4	
回復性評価（動物数）	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
病理組織学的検査								
胸腺、リンパ球枯渇（軽微/軽度～中等度）	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
脾臓、リンパ球枯渇（軽微～軽度/軽度）	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
坐骨神経[f]								
軸索変性（軽微）	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
炎症、慢性、限局性	0	1	NA	NA	NA	NA	0	0
十二指腸、色素沈着、粘膜固有層（軽微～軽度/軽度）	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1

－ ：特記すべき所見なし、* : p<0.05, ** : p<0.01 （Dunnett 検定又は Steel 検定）、NA : 該当せず、P : 有

a : 0（対照）及び 4mg/kg 群の雌雄各 2 匹の回復動物を含む動物数。

b : ジフェリケファリンに関連した一般症状は用量依存性が認められ、発現率、重症度及び持続期間（1 及び 4 mg/kg）が増加したが、投与 2 週目には症状は消失した。

c : 対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。
すべての%差の値は整数に四捨五入。

d : 投与前と投与 1 週の終了時の平均体重の差を示した。その後体重は正常に増加した。

e : 全く摂食しない動物には、別途餌を補給した。

f : 投与部位の反応は、1 及び 4 mg/kg で対照群よりも発現率及び重症度が高かった。坐骨神経の所見は、投与部位から筋膜面に沿って炎症が波及したことによる二次的なものと考えられた。

2.6.7.7.G　反復投与毒性試験：サル 13 週間反復静脈内投与

報告書の題名：A 13-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of CR845 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：カニクイザル　　投与期間：13 週間　　試験番号：[redacted]-076

試験開始週齢：3～6 齢　　休薬期間：4 週間　　CTD における記載箇所：4.2.3.2-8

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：免疫毒性評価項目：末梢血イムノフェノタイピング、免疫組織化学的検査（脾臓/胸腺）及び T 細胞依存性抗体産生能

無毒性量：雌雄 1 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.06**		**0.25**		**1**	
動物数 [a]	**雄：6**	**雌：6**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：6**	**雌：6**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	320	299	1287	1336	4928	4892
投与48日	-	-	304	287	1330	1193	4977	5023
投与90日	-	-	291	275	1150	1225	5118	5047
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	447	345	1862	1521	6809	5254
投与48日	-	-	416	369	1843	1260	7566	5575
投与90日	-	-	548	338	1768	1535	15290	10150
特記すべき所見:								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態[b]								
鎮静、傾眠、自発運動減少								
投与1週	-	-	-	-	P	P	P	P

2.6.7.7.G　反復投与毒性試験：サル 13 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：[redacted]-076　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.06		0.25		1	
動物数 [a]	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
投与2週	-	-	-	-	-	-	P	P
体重（%）[c]、投与3日	4.697 kg	3.242 kg	6	-2	-6	-2	-12	-7
体重増加量（g）[d]、投与0～3日	-21	-20	143	-18	-278	-105	-573	-350
摂餌量（%）[c]、投与1週	108g/日	100g/日	-2	-29*	-24**	-31*	-46**	-52**
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
末梢血イムノフェノタイピング	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査								
尿量（mL）、投与１日	289.3	145.3	127.5*	43.0*	86.5**	26.5*	76.3**	68.7
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査								
腎臓、近位尿細管直部 色素沈着（軽微）	0	0	1	0	2	2	4	4
免疫組織化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
T 細胞依存性抗体産生能	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.G　反復投与毒性試験：サル 13 週間反復静脈内投与（続き）

試験番号：[redacted]-076　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.06		0.25		1	
回復性評価（動物数）	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
病理組織学的検査								
腎臓、近位尿細管直部 色素沈着（軽微）	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0

－：特記すべき所見なし、*：p<0.05, **：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunnett 型検定）、NA：該当せず、P：有

a：0（対照）および 1 mg/kg 群の雌雄各 2 匹の回復動物を含む動物数。

b：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与 1 週目（0.25 mg/kg）又は 2 週目（1 mg/kg）に症状は消失した。

c：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。

すべての%差の値は、整数に四捨五入。

d：投与 0 日と投与 3 日の平均体重の差。その後、体重は正常に増加した。

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（国内実施）

報告書の題名：A 39-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of CR845 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：カニクイザル　　投与期間：39 週間　　試験番号：[redacted]-103

試験開始週齢：3～6 齢　　休薬期間：4 週間　　CTD における記載箇所：4.2.3.2-9

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：なし

無毒性量：雌雄 1 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.06**		**0.25**		**1**	
動物数 [a]	**雄：6**	**雌：6**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：4**	**雌：4**	**雄：6**	**雌：6**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	363	350	1698	1478	5278	5443
投与181日	-	-	311	410	1250	1826	6877	7616
投与272日	-	-	307	346	1029	1835	8893	10890
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与0日（投与初日）	-	-	426	405	2120	1838	7460	6813
投与181日	-	-	531	2071	2844	12470	62190	78480
投与272日	-	-	1472	2242	3205	15420	105500	134600
特記すべき所見:								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態[b]								
鎮静、傾眠、自発運動減少								
投与1週	-	-	-	-	P	P	P	P

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（国内実施）（続き）

試験番号：[redacted]-103　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.06		0.25		1	
動物数 [a]	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
投与2週（投与8日のみ）	-	-	-	-	-	-	P	P
体重（%）[c]、投与3日	4.442 kg	3.082 kg	10	4	5	-3	-11	-9
体重増加量（g）[d]、投与0～3日	-75	15	95	107	80	-67	-535	-338
摂餌量（%）[c]、投与1週	108 g	99 g	-9	-20	-10	-23*	-37**	-55**
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査								
尿量（mL）、投与1週	342.7	121.8	67.5*	62.5*	85.0*	26.5**	81.3*	45.3**
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査								
腎臓、近位尿細管の色素沈着								
直部（軽微）	0	0	0	0	1	1	4	2
曲部（軽微）	0	0	0	0	0	1	0	0
十二指腸 粘膜固有層の褐色色素沈着（軽微/軽度）	1	0	3	0	3	2	2	1

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（国内実施）（続き）

試験番号：[redacted]-103　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.06		0.25		1	
回復性評価（動物数）	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
病理組織学的検査								
腎臓、近位尿細管直部 色素沈着	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
十二指腸 粘膜固有層の褐色色素沈着 （軽微）	0	1	NA	NA	NA	NA	0	2

－：特記すべき所見なし、*：p<0.05, **：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunnett 型検定）、NA：該当せず、P：有

a：0（対照）および 1mg/kg 群の雌雄各 2 匹の回復動物を含む動物数。

b：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与 1 週目（0.25 mg/kg）又は 2 週目（1 mg/kg）に症状は消失した。

c：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。

すべての%差の値は、整数に四捨五入。

d：投与 0 日と投与 3 日の平均体重の差。その後、体重は正常に増加した。

2.6.7.7.I 反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（米国実施）

報告書の題名：A 39-Week Study of CR845 by intravenous bolus Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：カニクイザル　投与期間：39 週間　試験番号：CR845-TOX085

試験開始週齢：2.2～5.1 齢　休薬期間：4 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.2-10

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：静脈内　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：中間剖検第 26 週（雌雄各 3 例/群）、主剖検第 39 週（雌雄各 3 例/群）、回復（雌雄各 2 例/対照群及び高用量群）

無毒性量：雌雄 0.25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.06**		**0.25**		**1[a]**	
動物数[b]	**雄：8**	**雌：8**	**雄：6**	**雌：6**	**雄：6**	**雌：6**	**雄：8**	**雌：8**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	335	365	1710	1740	7520	6990
投与90日	-	-	406	342	1700	1770	7290	6840
投与181日	-	-	400	403	2240	2030	9620	9570
投与271日	-	-	400	500	2460	2670	15000	9040
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	311	350	1490	1570	7580	8740
投与90日	-	-	393	348	2810	1800	18200	20400
投与181日	-	-	440	744	15300	5580	83100	66200
投与271日	-	-	734	3000	21000	17200	169000	55100
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数[c]	-	-	-	-	1	-	-	1

2.6.7.7.I 反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（米国実施）（続き）

試験番号 : CR845-TOX085　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.06		0.25		1[a]	
動物数[b]	雄：8	雌：8	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：8	雌：8
一般状態[d]								
活性低下、猫背姿勢、非協調性行動及び/又は半眼/眼のくぼみ（投与1、2週）	P	-	P	P	P	P	P	P
瞳孔散大、投与1～10日	-	-	P	P	P	P	P	P
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
体重増加量	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量[e]								
食欲減退、投与1～10日	-	-	-	-	-	-	P	P
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査								
白血球数（$10^3/\mu L$）、投与前値	14.65	13.59	17.57	11.36	14.88	13.22	19.18	14.66
投与 87 日	14.46	13.88	16.11	11.43	10.18	10.99	11.35	12.80
投与 181 日	16.55	13.04	15.22	11.10	12.79	14.13	10.79*	11.52
投与 272 日	11.05	12.59	13.07	7.64	10.39	11.70	8.61	10.72
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.I 反復投与毒性試験：サル 39 週間反復静脈内投与（米国実施）（続き）

試験番号 : CR845-TOX085　　被験物質 : ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.06		0.25		1[a]	
動物数[b]	雄：8	雌：8	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：8	雌：8
病理組織学的検査（26週）								
脾臓、赤脾髄、色素沈着マクロファージ（軽微）	0	0	1	0	2	0	1	0
肝臓、類洞、色素沈着マクロファージ								
軽微	0	0	0	0	0	0	1	0
軽度	0	0	1	0	2	0	1	0
病理組織学的検査（39週）								
脾臓、赤脾髄、色素沈着マクロファージ（軽微）	1	0	1	0	0	0	0	0
肝臓、類洞、色素沈着マクロファージ								
軽微	1	0	1	0	1	0	0	0
軽度	0	0	0	0	1	0	1	0
回復性評価（動物数）	雄：2	雌：2	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：2	雌：2
病理組織学的検査								
肝臓、類洞、色素沈着マクロファージ（軽微）	1	0	NA	NA	NA	NA	0	0

- ：特記すべき所見なし、*：p<0.05（Dunnett 検定又は Dunn 検定）、NA：該当せず、P：有

a：1mg/kg 群の中間屠殺動物、主試験・回復動物について、それぞれ Day 6 または Day 5 に重度の一般状態（中等度から重度の鎮静状態）のため投与しなかった。

b：中間屠殺動物（雌雄各 3 匹/群）、主試験屠殺動物（雌雄各 3 匹/群）及び 0（対照）及び 1 mg/kg 群の雌雄各 2 匹の回復動物を含む。

c：0.25mg/kg の雄は後肢の廃用のため 9 日目に安楽死させた。これは投与前からの既往と考えられ、被験物質に関連しない。1 mg/kg の雌は、体重減少

及び中等度の腹部腫大の既往があったため、253 日目に安楽死させた。

d : ジフェリケファリンに関連する一般状態は、発現率、重症度、持続期間に関して用量依存的であり、投与 10 日（0.25 mg/kg/day）又は 17 日（1 mg/kg/day）までに消失した。

e : 摂餌量の定量的減少は、食欲減退として一般的には 10 日目まで認められ、1 匹の雄では 19 日目まで認められた。

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.A *In vitro* 遺伝毒性試験：細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay

被験物質：ジフェリケファリン

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：3　　試験番号：CR845-TOX029

菌株：S. typhimuriumTA98, TA100, TA1535, TA1537及びE. coli. WP2 *uvr*A　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.1-1

代謝活性化系：Aroclor 1254 により誘導したラット肝 S9 10%　　GLP 適用：適

媒体：被験物質：生理食塩液、陽性対照：ジメチルスルホキシド（DMSO）　　プレート数：用量設定試験は 2、本試験は 3

処理：プレート法で 48～72 時間（37±2℃）　　処理年月：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日、[redacted] 月[redacted] 日、[redacted] 月[redacted] 日

細胞毒性：なし、最大濃度使用

遺伝毒性：なし

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	復帰コロニー数の平均値（標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
用量設定試験							
代謝活性化なし	媒体（生理食塩液）	0	19（0）	144（15）	24（5）	14（1）	35（1）
	ジフェリケファリン	5.0	24（10）	158（14）	17（2）	10（1）	41（4）
		15	20（9）	151（9）	26（10）	12（1）	28（1）
		50	23（4）	161（22）	19（0）	16（1）	39（0）
		150	23（8）	171（36）	18（2）	14（6）	33（10）
		500	23（2）	156（25）	23（6）	10（4）	39（5）
		1500	17（3）	158（5）	18（8）	10（1）	36（1）
		2500	16（1）	146（3）	18（0）	8（1）	40（3）
		5000	19（2）	159（6）	20（3）	7（2）	34（13）
	2-ニトロフルオレン	1.0	259（57）	-	-	-	-
	アジ化ナトリウム	1.0	-	526（25）	452（11）	-	-

2.6.7.8.A In vitro 遺伝毒性試験：細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

試験番号：CR845-TOX029　　被験物質：ジフェリケファリン

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	復帰コロニー数の平均値（標準偏差）				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
代謝活性化なし	9-アミノアクリジン	75	-	-	-	1134（134）	-
	メタンスルホン酸メチル	1000	-	-	-	-	147（13）
代謝活性化あり	溶媒（生理食塩液）	0	26（8）	158（32）	23（8）	13（4）	36（13）
	ジフェリケファリン	5.0	29（9）	184（14）	24（7）	12（2）	36（4）
		15	33（1）	133（26）	17（1）	14（2）	42（5）
		50	30（5）	176（4）	17（1）	11（1）	32（7）
		150	31（6）	137（20）	20（4）	8（3）	36（1）
		500	25（5）	140（24）	21（6）	12（1）	33（6）
		1500	31（1）	185（3）	18（4）	11（0）	38（5）
		2500	24（1）	165（4）	16（5）	9（6）	30（2）
		5000	32（8）	165（16）	18（3）	8（6）	41（2）
	2-アミノアントラセン	1.0	333（61）	505（8）	78（25）	80（5）	-
		10	-	-	-	-	235（22）
本試験							
代謝活性化なし	溶媒（生理食塩水）	0	24（4）	178（9）	27（9）	8（2）	27（2）
	ジフェリケファリン	150	21（5）	178（20）	30（8）	8（1）	27（2）
		500	21（3）	187（17）	28（10）	9（4）	32（6）
		1500	20（4）	187（11）	25（7）	5（2）	27（4）
		2500	18（4）	184（12）	24（2）	10（3）	33（7）
		5000	22（9）	178（12）	22（9）	11（2）	27（2）
	2-ニトロフルオレン	1.0	243（9）	-	-	-	-
	アジ化ナトリウム	1.0	-	577（15）	582（76）	-	-

2.6.7.8.A In vitro 遺伝毒性試験：細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

試験番号：CR845-TOX029　　被験物質：ジフェリケファリン

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	復帰コロニー数の平均値（標準偏差）				
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2*uvr*A**
代謝活性化なし	9-アミノアクリジン	75	-	-	-	1285（152）	-
	メタンスルホン酸メチル	1000	-	-	-	-	165（3）
代謝活性化あり	溶媒（生理食塩水）	0	33（12）	184（11）	14（3）	10（3）	36（3）
	ジフェリケファリン	150	32（6）	162（19）	18（5）	6（3）	28（3）
		500	35（4）	188（10）	20（3）	8（4）	28（8）
		1500	31（6）	192（22）	14（3）	9（4）	31（4）
		2500	26（6）	179（40）	17（1）	12（5）	37（9）
		5000	30（6）	173（31）	17（5）	13（2）	33（6）
	2-アミノアントラセン	1.0	766（259）	639（139）	92（4）	72（2）	-
		10	-	-	-	-	424（54）

- ：実施せず

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

報告書の題名：*In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test

被験物質：ジフェリケファリン

試験の種類：染色体異常試験　　独立して実施した試験数：2　　試験番号：CR845-TOX031

試験系：ヒト末梢血リンパ球　　スライド数：2　　CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-2

代謝活性化系：Aroclor 1254 により誘導したラット肝 S9　　観察細胞数/培養：100　　GLP 適用：適

媒体：被験物質：生理食塩液、陽性対照：蒸留水

処理：短時間処理法；S9 mix 非添加あるいは S9 mix 添加で 4 時間処理後、さらに S9 mix 非添加で 16 時間回復

連続処理法；S9 非添加で 20 時間処理　　処理年月：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted]、[redacted] 日

細胞毒性：なし（最大推奨濃度で分裂指数の 50%以上の減少がみられない） [a]

遺伝毒性：なし

被験物質	用量（μg/mL）	観察細胞数	分裂指数（%）（媒体群との割合の%） [b]	細胞あたりの異常	異常細胞（%）	
				平均値（標準偏差）	数的	構造
短時間処理法：代謝活性化なし4時間処理						
溶媒（生理食塩液）	0	200	12.2（100）	0.000（0.000）	0.0	0.0
ジフェリケファリン	1250	200	11.5（94）	0.000（0.000）	0.0	0.0
	2500	200	11.3（93）	0.000（0.000）	0.0	0.0
	5000	200	11.2（92）	0.000（0.000）	0.0	0.0
マイトマイシンC	0.6	200	8.6（70）	0.190（0.443）	0.0	17.0**
短時間処理法：代謝活性化あり4時間処理						
溶媒（生理食塩液）	0	200	11.5（100）	0.000（0.000）	0.0	0.0
ジフェリケファリン	1250	200	10.9（95）	0.000（0.000）	0.0	0.0
	2500	200	10.8（94）	0.000（0.000）	0.0	0.0
	5000	200	11.1（97）	0.000（0.000）	0.0	0.0
シクロホスファミド	20	200	8.2（71）	0.200（0.449）	0.0	18.0**

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

試験番号：CR845-TOX031　　被験物質：ジフェリケファリン

被験物質	用量（μg/mL）	観察細胞数	分裂指数（%）（媒体群との割合の%）[b]	細胞あたりの異常	異常細胞（%）	
				平均値（標準偏差）	数値	構造
連続処理法：代謝活性化なし20時間処理						
溶媒（生理食塩液）	0	200	12.4（100）	0.000（0.000）	0.0	0.0
ジフェリケファリン	1250	200	11.9（96）	0.000（0.000）	0.0	0.0
	2500	200	11.6（94）	0.000（0.000）	0.0	0.0
	5000	200	12.6（102）	0.000（0.000）	0.0	0.0
マイトマイシンC	0.3	200	9.3（75）	0.210（0.478）	0.0	18.0**

a：代謝活性化（アロクロール 1254 誘発ラット肝 S9）の有無にかかわらず、0.5～5000 μg/mL の範囲の濃度で実施された予備毒性試験が実施され、実質的な細胞毒性（すべての用量で溶媒対照と比較して有糸分裂指数の 50%以下の減少）を示した濃度はなかった。

b：細胞毒性は、分裂指数を用いて対照の%として計算した。

**：$p \leq 0.01$（Fisher’s Exact 検定）

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験：マウスを用いた小核試験

報告書の題名：Mouse Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test Following Intravenous Administration of CR845

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

試験の種類：骨髄細胞の小核試験　処理計画：単回投与　試験番号：CR845-TOX054

動物種/系統/性：マウス/ICR/雌雄　試料採取時間：投与後 24 及び 48 時間　CTD における記載箇所：4.2.3.1-1

週齢：6～8 週齢　投与方法：静脈内　GLP 適用：適

評価した細胞：多染性赤血球　媒体/投与形態：生理食塩液　投与年月：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

分析細胞数/動物：2000

特記事項：用量設定試験により、ジフェリケファリンの最大耐量は 100 mg/kg であった

毒性/細胞毒性：なし

遺伝毒性：なし

曝露証明：嗜眠、立毛、運動失調および/または虚脱の一般状態観察から証明した。

被験物質	投与量（mg/kg）	動物数（雄/雌）	試料採取時間（時間）	PCE/全赤血球数 平均値（標準偏差）		MPCE/1000PCE 平均値（標準偏差）	
				雄	雌	雄	雌
溶媒（生理食塩液）	0	5/5	24	0.470（0.04）	0.438（0.08）	0.0（0.00）	0.5（0.00）
CR845	25	5/5	24	0.491（0.05）	0.456（0.05）	0.2（0.27）	0.2（0.27）
	50	5/5	24	0.470（0.05）	0.380（0.03）	0.3（0.27）	0.1（0.22）
	100	5/5	24	0.446（0.08）	0.407（0.04）	0.2（0.27）	0.3（0.27）
シクロフォスファミド	50	5/5	24	0.372（0.02）	0.355（0.06）	12.1（1.78）*	11.8（2.02）*
溶媒（生理食塩液）	0	5/5	48	0.435（0.07）	0.441（0.03）	0.1（0.22）	0.2（0.27）
CR845	100	5/5	48	0.417（0.04）	0.440（0.05）	0.1（0.22）	0.1（0.22）

PCE：多染性赤血球、MPCE：小核を有する PCE、*：$p \leq 0.05$（Kastenbaum-Bowman の表よる検定）

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.A がん原性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	無毒性量（mg/kg/day）	特記すべき所見	試験番号
ラット/Crl:CD（SD）	皮下 （生理食塩液）	7日間	1 10 100	雌 各3例	NA	死亡例なし 一般状態：1mg/kg/day以上で前肢の外転及び自発運動減少 体重：初回投与後の減少 病理組織学的検査：100mg/kg/dayで投与部位の真皮への軽微なびまん性炎症細胞浸潤、真皮の筋層の軽微から中等度のびまん性変性/壊死、表皮の軽微なびまん性過形成が認められた。	[redacted]-067
ラット/Crl:CD（SD）	皮下 （生理食塩液）	10日間	10 50	雌雄 各5例	50	死亡例なし 一般状態：10mg/kg/day以上で2日目まで観察された活性低下、猫背姿勢、半眼、異常歩行。 体重：10mg/kg/dayの雄、50mg/kg/dayの雌雄で投与4日まで減少が認められた。 病理組織学的検査：10mg/kg/day以上で軽微～軽度の単核細胞浸潤が、皮下脂肪組織及び皮下筋に認められた。10mg/kg/day以上でごく軽度～軽度の筋線維の変性/再生が認められた。	CR845-TOX082

2.6.7.10.A　がん原性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	無毒性量（mg/kg/day）	特記すべき所見	試験番号
マウス/CByB6F1	皮下 （生理食塩液）	5日間	0, 1, 3, 10, 33, 100	雌雄 各5例	NA	雄の100mg/kg/day1匹を2日目に瀕死状態で安楽死させた。 一般状態：1mg/kg/day以上で自発運動量減少、3mg/kg/day以上で腹臥位、33mg/kg/day以上でよろめき歩行及び100mg/kg/dayで呼吸困難が認められた。 体重：平均体重に被験物質に関連した変化はなかった。しかし、対照群と比較した場合、群平均体重増加量が3mg/kg/dayの雌で1～5日目に増加、100mg/kg/dayの雄で統計学的に有意に減少した。 最大耐量は33mg/kg/dayであった。	CR845-TOX083

NA：該当せず

2.6.7.10.B　がん原性試験：ラット 26 週間反復皮下投与用量設定試験

報告書の題名：A 26-week Study of CR845 by Subcutaneous Injection in Rats with a 14-day Recovery Period

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：26 週間　試験番号：CR845-TOX084

試験開始週齢：8 週齢　休薬期間：2 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.4.1-2

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　投与方法：皮下　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：なし

無毒性量：雄雌 25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**1**		**5**		**25**	
動物数	**雄：15**	**雌：15**	**雄：15**	**雌：15**	**雄：15**	**雌：15**	**雄：15**	**雌：15**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	1770	1560	7180	5860	22500	16500
投与90日	-	-	4550	7580	17100	14100	18200	22300
投与182日	-	-	7560	16900	21400	18600	18100	19100
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	2800	2490	14700	14200	72100	59600
投与90日	-	-	14700	58800	115000	131000	124000	149000
投与182日	-	-	36700	177000	172000	212000	127000	122000
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態[a]（投与1週）								
活性低下	-	-	P	P	P	P	P	P

2.6.7.10.B　がん原性試験：ラット 26 週間反復皮下投与用量設定試験（続き）

試験番号：CR845-TOX084　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
半眼	-	-	P	P	P	P	P	P
猫背姿勢	-	-	-	-	-	P	P	P
歩行異常	-	-	-	-	-	-	P	-
体重（%、投与 182 日）[b]	696 g	388 g	-1	-3	-5	-6	-1	-1
投与 8 日	311 g	225 g	-5*	-3	-9***	-5*	-8***	-5*
投与 15 日	358 g	248 g	-5	-6*	-7**	-7**	-6*	-6**
投与 22 日	397 g	262 g	-4	-5	-7*	-6	-4	-3
体重増加量（g）								
投与1～8日	53.8	21.5	37.5***	14.7*	27.3***	14.5*	28.2***	14.6*
投与8～15日	47.1	23.3	44.8	17.4*	48.3	16.1*	49.7	19.9
摂餌量（%、投与176～182日）[b]	33.2g/day	23.7g/day	2	-5	-6	-5*	0	6
投与 1～8 日	29.3g/day	20.2g/day	-10***	-7*	-17***	-8**	-16***	-4
投与 8～15 日	30.4g/day	22.9g/day	-9***	-18***	-11***	-13***	-6*	-9***
投与 15～22 日	32.4g/day	23.7g/day	-3	-11***	-9**	-11***	-4	-8**
眼検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%）[b]								
腎臓、絶対重量（g）	3.510	2.260	2	-1	1	0	14**	7
腎臓、相対重量（%体重）	0.5332	0.6273	1	0	9	6	15**	6

2.6.7.10.B　がん原性試験：ラット 26 週間反復皮下投与用量設定試験（続き）

試験番号：CR845-TOX084　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
動物数	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
剖検所見								
精巣上体、矮小	1	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
精巣、矮小	1	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
病理組織学的検査								
投与部位[c]、変性/再生、皮筋層（軽微～軽度）	-	-	NA	NA	NA	NA	P	P
腎臓、慢性進行性腎症								
軽微	8	2	NA	NA	NA	NA	0	9
軽度	1	0	NA	NA	NA	NA	5	0
著明	0	0	NA	NA	NA	NA	7	0
重度	0	0	NA	NA	NA	NA	3	0
精巣上体、萎縮/精子減少	1	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
精巣								
萎縮	1	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
精細管の細胞数減少	1	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA

2.6.7.10.B　がん原性試験：ラット 26 週間反復皮下投与用量設定試験（続き）

試験番号：CR845-TOX084　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		5		25	
回復性評価（動物数）	雄：5	雌：5	雄：0	雌：0	雄：0	雌：0	雄：5	雌：5
器官重量（%）[b]								
腎臓、絶対重量（g）	3.748	2.257	NA	NA	NA	NA	20	5
腎臓、相対重量（%体重）	0.5548	0.6126	NA	NA	NA	NA	20*	14
病理組織学的検査								
腎臓、慢性進行性腎症								
軽微	2	0	NA	NA	NA	NA	0	3
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	2	1
著明	0	0	NA	NA	NA	NA	3	0

－：特記すべき所見なし、*：p<0.05, **：p<0.01, ***：p<0.001（Dunnett 検定又は Dunnett 型検定）、NA：該当せず、P：有

a：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、用量相関性があり、投与開始から 3 日間に限られていた。

b：投与期間終了時。対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。すべての%差の値は、整数に四捨五入。

c：投与部位の皮膚横紋筋における被験物質を複数回投与したことによる刺激作用。

2.6.7.10.C　がん原性試験：ラット 2 年間反復皮下投与がん原性試験

報告書の題名：A 2-year Carcinogenicity Study of CR845 by Subcutaneous Injection in Rats

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　投与期間：雄 104 週間、雌 93 週間　試験番号：CR845-CARC088

試験開始週齢：8 週齢　投与方法：皮下　CTD における記載箇所：4.2.3.4.1-3

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　溶媒/投与形態：生理食塩液　GLP 適用：適

対照群の処理：溶媒投与

高用量の設定根拠：ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験（試験番号：[redacted]-078）、ラット 7 日間反復皮下投与用量設定試験（試験番号：[redacted]-067）、10 日間反復皮下投与用量設定試験（試験番号：CR845-TOX082）及び 26 週間反復皮下投与用量設定試験（試験番号：CR845-TOX084）での毒性評価項目及び TK 分析から得られた結果

特記事項：なし

結論：がん原性なし

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.25**		**0.5**		**1**	
動物数	**雄：60**	**雌：60**	**雄：60**	**雌：60**	**雄：60**	**雌：60**	**雄：60**	**雌：60**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）								
投与1日	-	-	404	320	818	667	1520	1500
投与183日	-	-	372	4890	2350	7460	5080	15300
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	696	602	1380	1410	2730	2900
投与183日	-	-	763	59000	18500	88100	46900	161000
動物数　投与開始時	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡/瀕死切迫屠殺	40	40	38	39	41	38	38	35
最終屠殺	20	20	22	21	19	22	22	25

2.6.7.10.C　がん原性試験：ラット 2 年間反復皮下投与がん原性試験（続き）

試験番号：CR845-CARC088　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		0.5		1	
動物数	雄：60	雌：60	雄：60	雌：60	雄：60	雌：60	雄：60	雌：60
生存率（%）[a]	33.3	33.3	36.7	35.0	31.7	36.7	36.7	41.7
一般状態[b]（投与1週）								
活性低下	P	P	P	P	P	P	P	P
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
腫瘍性病変が認められた動物数[C]	-	-	-	-	-	-	-	-
特記すべき所見:	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 非腫瘍性病変[d]	-	-	-	-	-	-	-	-

- ：特記すべき所見なし、P：有

a：雌の対照群では、投与 640 日（92 週）の早期終了時に生存数（N = 20、33 %）に達した。FDA（2018 年 4 月 20 日[投与 642 日]）との合意により、早期中止が適切と判断された。雌全例の剖検は投与 645 日（93 週）に行い、雄は 104 週目に安楽死させた。

b：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、投与開始後最初の 4 日間に限定されていた。

c：対照群とジフェリケファリン群間で、腫瘍発生率に統計学的有意差は認められなかった。

d：毛刈り及び/又は皮下投与に関連した投与部位の皮膚に非腫瘍性変化が観察され、その発生率及び重症度は対照群を含む全群で同等であった。

2.6.7.10.D　がん原性試験：マウス 4 週間反復皮下投与用量設定試験

報告書の題名：CR845: 28-Day Repeated Dose Subcutaneous Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice with a Preliminary 5-Day Range-finding Toxicity Study

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：Mouse/CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic （-/- homozygous c-Ha-ras）　試験番号：CR845-TOX083

投与期間：Phase 1：5 日間、Phase 2：4 週間　休薬期間：なし　CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-1

試験開始週齢：7 週齢　投与方法：皮下　GLP 適用：適

初回投与年月日：Phase 1：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日、Phase 2：雄 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日、雌 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

溶媒/投与形態：生理食塩液

特記事項：5 日試験（Phase 1）[a]は、**2.6.7.10.A　がん原性試験：重要な試験以外の試験（続き）**を参照

最大耐量：33 mg/kg/day（Phase 2：4 週間試験）[b]

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**3**		**10**		**33**	
動物数	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**	**雄：10**	**雌：10**
トキシコキネティクス：C_{max}（ng/mL）[c]								
投与1日	-	-	4310	4550	12600	9810	22700	25800
投与25日	-	-	3320	3530	16100	14500	32900	27700
トキシコキネティクス：AUC_{last}（ng·hr/mL）								
投与1日	-	-	3300	3340	12900	10500	44000	38400
投与25日	-	-	3620	2540	16400	13800	35200	31100
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態[d]（投与 1 週）								
自発運動減少	-	-	P	P	P	P	P	P
よろめき歩行	-	-	-	-	P	P	P	-
腹臥位及び浅速呼吸	-	-	-	-	-	P	-	P

2.6.7.10.D　がん原性試験：マウス 4 週間反復皮下投与用量設定試験（続き）

試験番号：CR845-TOX083　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		3		10		33	
動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
体重増加量	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-

- ：特記すべき所見なし

a：5 日間試験（Phase 1）では、5 日間試験では TK は実施しなかった。

b：以下の情報は、4 週間試験（Phase 2）についてのみ提示する。

c：投与 1 日及び 25 日の投与 0.5 時間後に対照群の雌雄各 3 匹から、投与 1 日及び 25 日の投与 0.25、0.5、1、3、6 及び 24 時間後に雌雄各 3 匹/群から、TK 検体（血液検体 1 例/匹）が採取された。

d：ジフェリケファリンに関連した一般症状は投与 1 週に限定され、投与 5 日以降観察されなくなった。

2.6.7.10.E　がん原性試験：マウス 26 週間反復皮下投与がん原性試験

報告書の題名：CR845: 26-Week Repeated Dose Subcutaneous Carcinogenicity Study in Tg.rasH2 Mice

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

動物種/系統：マウス/Hemizygous Tg.rasH2（本試験）、Wild-type CByB6F1（TK 試験）　試験番号：CR845-CARC086

投与期間：26 週間（本試験：182 又は 183 日、TK 試験：170 又は 171 日）　CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-2

試験開始週齢：8 週齢　投与方法：皮下　GLP 適用：適

初回投与年月日：雄 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日、雌 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　溶媒/投与形態：生理食塩液

対照群の処理：溶媒投与　陽性対照：ウレタン（溶媒：生理食塩液）

高用量の設定根拠：マウスにおける 5 日間試験 100 mg/kg/day で死亡がみられ、4 週間試験では野生型 CByB6F1 マウスにおける最大耐量が 33 mg/kg/day であった。

特記事項：なし

結論：がん原性なし

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**3[a]**		**10**		**30**		**1000（ウレタン）**	
動物数	**雄：25**	**雌：25**	**雄：25**	**雌：25**	**雄：25**	**雌：25**	**雄：25**	**雌：25**	**雄：10**	**雌：10**
トキシコキネティクス[b]：投与25週										
C_{max}（ng/mL）	-	-	4140	4260	10500	12700	41700	33300	NA	NA
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·hr/mL）	-	-	4200	3810	12300	11300	42800	34700	NA	NA
動物数（本試験）、投与開始時	25	25	25	25	25	25	25	25	10	10
死亡/瀕死切迫屠殺[c]	2	0	3	1	0	1	0	1	2	0
最終屠殺	23	25	22	24	25	24	25	24	8	10
生存率（%）	92	100	88	96	100	96	100	96	80	100
一般状態[d]（投与1週）										
自発運動減少	-	-	P	P	P	P	P	P	P	P
よろめき歩行	-	-	P	P	P	P	P	P	P	P

2.6.7.10.E　がん原性試験：マウス 26 週間反復皮下投与がん原性試験（続き）

試験番号：CR845-CARC086　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		3		10		30		1000（ウレタン）	
動物数	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：10	雌：10
腹臥位	-	-	-	-	P	-	P	-	P	P
呼吸困難	-	-	-	-	P	-	P	-	-	-
浅速呼吸	-	-	P	-	P	P	P	-	P	P
体重（%、投与183日）[e,f]	30.8	24.3	15.3*	11.2*	8.1*	6.4*	8.9*	4.7*	-	-
体重増加量										
絶対量（g）、投与1～183日	8.16	6.34	13.73*	9.24*	11.07*	8.02*	11.44*	8.08*	-	-
相対量（%）、投与1～183日	36.09	35.51	63.74	52.05	49.55	45.04	51.81	46.52	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-	NA	NA
腫瘍病変が認められた動物数[g]										
肺腺腫、多発性	0	0	0	0	0	0	0	0	10*	10*
特記すべき所見										
剖検所見										
肺、結節性病変	0	0	0	0	0	0	0	0	8	10
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 非腫瘍性病変										
投与部位皮膚[h]　病変及び炎症	17	24	13	22	20	22	21	18	NA	NA
腎臓　梗塞巣	0	2	7	4	7	4	4	5	NA	NA

- ：特記すべき所見なし、NA：該当せず、P：有、*：p≤0.05（Dunnett 検定）

a：TK 試験において、3 mg/kg/day 群の雌 1 例で投与 56 日に死亡が認められた。

b：TK 試験は対照群で雌雄各 5 匹、被験物質投与群で雌雄各 20 匹とし、各群に 25 週の TK 採血に十分な動物が得られるように雌雄各 2 匹を追加した。

c：剖検及び病理組織学的検査に基づき、これらの死亡例のいずれもジフェリケファリンに関連しないと考えられた。

d：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、投与 1 週に限定された。腹臥位及び呼吸困難は発生頻度に用量相関性があった。陽性対照群で観察された症状は、ウレタンの毒性に基づいていた。

e：投与期間終了時。対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。

f：陽性対照群の雌雄では、試験開始から 1 週間で体重減少が認められ、その後、試験期間を通じてウレタンの毒性から予測される体重増加が認められた。

g：溶媒対照群及び被験物質群における雌雄の腫瘍の発生率は、施設の背景データ範囲内であった。

h：被験物質に関連するものではなく、投与操作によって誘発されたものである。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/Crl:CD（SD）	静脈内（生理食塩液）	妊娠7～17日	0, 0.2, 1, 5, 25	雌各8例（妊娠）	一般状態：妊娠7～13日において1mg/kg/day以上で、運動失調、猫背姿勢、活性低下、皮膚緊張に基づく軽度の脱水、痩身、流涙、眼瞼下垂、5mg/kg/day以上では、接触による発声、中等度の脱水、色素涙、腹部被毛に尿汚れ、無身づくろい、わずかな糞便、25mg/kg/dayでは過呼吸が認められた。 体重・摂餌量：0.2mg/kg/day以上で、摂餌量減少に伴う体重増加量減少及び/又は体重減少（妊娠7～10日）。 卵巣及び子宮のパラメータ並びに胚・胎児：胎児生存率、胎児体重及び胎児の外表形態への影響はいずれの用量においても認められなかった。	CR845-TOX074
ウサギ/ New Zealand White	静脈内（生理食塩液）	10日間	0, 0.2, 1, 5, 25	雌各3例（非妊娠）	5mg/kg/dayで投与2日に3例中1例が死亡したため25mg/kg/dayは投与しなかった。 一般状態：生存例では、0.2mg/kg/day以上で少量糞便、縮瞳、無身づくろい、0.2及び1mg/kg/dayで接触あるいはケージに近づくことによる反応性亢進、1mg/kg/dayで自発運動減少、1mg/kg/day以上で過呼吸、無便、運動失調、体位屈曲、糞便汚れ、5mg/kg/dayで自発運動亢進、前肢及び後肢の使用制限、後肢の不使用、前肢開脚幅増加、耳の蒼白、痩身、粘性糞便、軟便・液性糞便が認められた。 体重・摂餌量：0.2mg/kg/day以上で投与1～11日に減少。	CR845-TOX072

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ/ New Zealand White	静脈内（生理食塩液）	妊娠 7～19 日	0, 0.02, 0.1, 0.5, 2.5	雌各 5 例（妊娠）	2.5mg/kg/dayで重度の頻呼吸、縮瞳、自発運動減少などの症状、体重減少、摂餌量減少がみられたため、妊娠9日に全動物を安楽死させた。 一般状態：0.1及び0.5mg/kg/dayで便排出量の異常、運動失調、頻呼吸、縮瞳、音に対する反応性亢進、無身づくろい、自発運動の増加/減少がみられた。0.02mg/kg/dayではCR845に関連した症状はみられなかった。 体重：0.1mg/kg/dayで体重増加量の減少、0.5mg/kg/dayで体重減少が認められた。 摂餌量：0.02mg/kg/day以上で摂餌量の減少。 胚・胎児：0.5mg/kgでは子宮重量減少、着床後胚死亡率増加、生存児数減少及び胎児体重減少がみられた。いずれの用量においても、外表異常や奇形は認められなかった。	CR845-TOX072

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

報告書の題名：Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of CR845 Administered by Intravenous Injection in Rats

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

試験計画：ICH 4.1.1 に準拠　　試験番号：CR845-TOX073

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　　投与期間　雄：交配前 28 日から交配期間を通じて剖検前日（77～80 日間）まで

雌：交配前 15 日前から妊娠 7 日まで

試験開始週齢：雄 71 日齢、雌 66 日齢　　交尾成立日：妊娠 0 日　　CTD における記載箇所：4.2.3.5.1-1

帝王切開日：妊娠 13 日　　GLP 適用：適

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：静脈内

特記事項：なし　　溶媒/投与形態：生理食塩液

無毒性量：雄親動物：25 mg/kg/day（一般毒性、生殖機能）

雌親動物：25 mg/kg/day（一般毒性）、0.25 mg/kg/day（生殖機能）

初期胚発生：25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**		**0.25**		**2.5**		**25**	
動物数	**雄：25**	**雌：25**	**雄：25**	**雌：25**	**雄：25**	**雌：25**	**雄：25**	**雌：25**
トキシコキネティクス 投与1日[a]								
C_{max}（ng/mL）	-	-	953	803	10400	7370	105000	84400
AUC_{last}（ng·hr/mL）	-	-	483	401	5950	4410	76300	49900
死亡/瀕死切迫屠殺	-	-	-	-	-	-	-	-
雄親動物								
一般状態[b]								
猫背姿勢、活動低下、運動失調、挙尾、眼瞼下垂、軽度の脱水、及び/又は接触による過敏/発声	-		P		P		P	

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

試験番号：CR845-TOX073　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		2.5		25	
動物数	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25
体重（%）[c]								
投与28日（交配前）	470.2 g		-6**		-5**		-6**	
投与78日（剖検前）	576.5 g		-7**		-3		-5*	
体重増加量（g） 投与1～8日	27.7		8.4**		3.6**		0.8**	
摂餌量（g）[c] 投与1～28日	25.8g/日		-8**		-6*		-7**	
平均交配所要日数	3.6		3.0		2.3		3.0	
交尾雄動物数	25		25		25		25	
授胎雄動物数（授胎率）	25 （100）		23 （92）		23 （92）		25 （100）	
器官重量	-		-		-		-	
病理組織学的検査	-		-		-		-	
精子検査	-		-		-		-	
雌親動物								
一般状態[b]								
活性低下、軽度の脱水	-		P		P		P	
猫背姿勢、眼瞼下垂、及び/又は接触による過敏/発声	-		-		P		P	
運動失調	-		-		-		P	
交配前体重増加量（g）								
投与1～8日	6.6		-7.8**		-7.6**		-1.2**	
投与1～15日	15.6		2.1**		2.4**		10*	
交配前体重（%）[c] 投与15日	271.7 g		-5		-4		-2	
妊娠体重（%）[c] 妊娠13日	331.8 g		-6**		-4		0	

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

試験番号：CR845-TOX073　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		0.25		2.5		25	
動物数	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25	雄：25	雌：25
交配前摂餌量（%）[c] 投与 1～15 日	17.2g/日		-16**		-13**		-9*	
妊娠時摂餌量（%）[c]								
妊娠 0～8 日	20.0g/日		-10**		-11**		-3	
妊娠 8～13 日	21.8g/日		-10*		-13**		-4	
性周期回数/14日間	3.3		2.6**		1.8**		1.3**	
発情休止期延長動物数	0		3		12**		17**	
平均交配所要日数	2.4		2.7		3.4		3.0	
交尾動物数	25		25		25		25	
受胎動物数（受胎率）	25 （100）		24 （96）		24 （96）		23 （92）	
流産又は全胚吸収母体数	0		0		0		0	
平均黄体数	16.1		15.4		16.8		16.5	
平均着床数	15.0		14.2		16.1		15.5	
平均着床前死亡率	7.0		9.2		4.0		7.1	
平均生存胚数	14.6		13.2		15.4		15.0	
平均死亡胚数	0.4		1.0		0.6		0.6	
平均着床後死亡率	3.0		7.7		3.8		3.7	

－ ：特記すべき所見なし、P：有、*：p<0.05、 **：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunn 検定）

a：トキシコキネティクスは、対照群では雌雄各 3 匹、被験物質投与群では雌雄各 6 匹とした。

b：ジフェリケファリンに関連した一般症状は、主に投与開始後 1～2 週目に観察され、発現率及び/又は重症度に関して概ね用量依存的であった。

c：投与期間終了時。対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。すべての%差の値は、整数に四捨五入。

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A　ラット胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：An Embryo-Fetal Development Study of CR845 by Intravenous Injection in Rats

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

試験計画：ICH 4.1.3 に準拠　　試験番号：CR845-TOX075

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　　投与期間：妊娠 7～17 日　　CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-2

試験開始週齢：66 日齢　　交尾成立日：妊娠 0 日　　GLP 適用：適

帝王切開日：妊娠 21 日

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内

特記事項：なし　　溶媒/投与形態：生理食塩液

無毒性量：母動物：0.25 mg/kg/day 未満（一般毒性）

母動物：25 mg/kg/day（生殖機能）

胚・胎児：25 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.25	2.5	25
トキシコキネティクス C_{max}（ng/mL）				
妊娠7日	-	926	7530	109000
妊娠17日	-	891	9560	90400
トキシコキネティクス AUC_{0-24}（ng·hr/mL）				
妊娠7日	-	493	4930	70400
妊娠17日	-	508	5080	55900
母動物				
妊娠動物数	25	25	23	25
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0
流産又は全胚吸収母体数	0	0	0	0

2.6.7.13.A　ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）

試験番号：CR845-TOX075　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.25	2.5	25
一般状態[a]				
自発運動減少、猫背姿勢、脱水	-	P	P**	P**
眼瞼下垂	-	P	P	P
色素涙/鼻漏、つま先歩行	-	-	P**	P**
痩身、無身づくろい	-	-	-	P**
体重（%）[b]				
妊娠8日	272.5g	-5**	-12**	-16**
妊娠21日	414.2 g	-6**	-6**	-6**
体重増加量（g）				
妊娠7～10日	15.1	4.7**	-4.0**	-8.0**
妊娠7～18日	85.8	77.2*	67.5**	65.4**
妊娠7～21日	145.5	124.8**	120.7**	121.1**
摂餌量（%）[b]				
妊娠7～18日	23.2g/日	-5*	-11**	-13**
妊娠0～21日	22.4g/日	-8**	-11**	-10**
剖検所見	-	-	-	-
平均黄体数	15.8	15.8	15.0	15.3
平均着床数	15.1	14.8	14.4	14.6
平均着床前死亡率（%）	3.8	6.4	3.7	4.2
胎児				
母体数	25	25	23	25
生存胎児数	366	352	315	350

2.6.7.13.A　ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）

試験番号：CR845-TOX075　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.25	2.5	25
平均生存胎児数	14.6	14.1	13.7	14.0
平均吸収胚数	0.4	0.7	0.7	0.6
死亡胎児を有する母体数	0	0	0	0
平均着床後死亡率	3.0	4.8	4.9	4.0
平均胎児体重（g）	5.64	5.56	5.53	5.46
胎児の性比（%雄）	50.6	48.7	50.0	47.0
胎児の異常				
外表検査	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-
骨格異常、胎児（同腹児）				
波状肋骨	0	1 （1）	2 （2）	4 （4）
不完全骨化肋骨	1 （1）	1 （1）	2 （2）	5 （4）
異常のみられた全胎児（同腹児）	7 （6）	11 （10）	17** （9）	19** （15）

- ：特記すべき所見なし、P：有、*：p<0.05、 **：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunn 検定）

a：ジフェリケファリンに関連する一般症状は概して投与初期に発現し、投与期間の終了時（妊娠 15 日）までに消失した。一部の一般症状（活性低下、猫背姿勢、脱水、眼瞼下垂）では用量依存的な発現率の増加が認められ、発現率は 25 mg/kg で対照群と比較して統計学的に有意であった。

b：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。すべての%差の値は、整数に四捨五入。

2.6.7.13.B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：An Embryo-Fetal Development Study of CR845 by Intravenous Injection in Rabbits

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

試験計画：ICH 4.1.3 に準拠　　試験番号：CR845-TOX076

動物種/系統：ウサギ/New Zealand White Hra:（NZW）SPF　　投与期間：妊娠 7～19 日　　CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-4

試験開始週齢：5.5～6.5 ヵ月齢　　交尾成立日：妊娠 0 日　　GLP 適用：適

帝王切開日：妊娠 29 日

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内

特記事項：なし　　溶媒/投与形態：生理食塩液

無毒性量：母動物：0.025 mg/kg/day 未満（一般毒性）

母動物：0.05 mg/kg/day（生殖機能）

胚・胎児：0.1 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	**0（対照）**	**0.025**	**0.05**	**0.1**
トキシコキネティクス C_{max}（ng/mL）				
妊娠7日	-	178	372	772
妊娠19日	-	178	390	906
トキシコキネティクス $AUC_{0\text{-}tau}$（ng·hr/mL）				
妊娠7日	-	130	332	671
妊娠19日	-	143	354	787
母動物				
妊娠動物数	20	18	19	14
死亡及び屠殺動物数[a]	0	0	0	1
流産又は全胚吸収母体数[a]	0	0	0	1

2.6.7.13.B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

試験番号：CR845-TOX076　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.025	0.05	0.1
一般状態[b]				
軽度な脱水、痩身	-	-	P	P
少量糞便、頻呼吸、赤色物付着（ケージ受け皿）	-	-	-	P
体重（%）[c]、妊娠29日	3.81 kg	-2	-2	-3
体重増加量（kg）				
妊娠7～10日	0.07	0.03	0.03	-0.03**
妊娠10～13日	0.05	0.04	-0.02*	-0.05**
妊娠7～20日	0.23	0.14	0.11	0.01**
摂餌量（%）[c]				
妊娠7～10日	176.9g/日	-25**	-28**	-45**
妊娠10～13日	165.0g/日	-12	-20*	-36**
妊娠7～20日	162.1g/日	-15	-17	-33**
剖検所見	-	-	-	-
妊娠子宮重量（g）	537.6	504.9	519.5	479.5
平均黄体数	10.0	9.7	9.8	9.2
平均着床数	9.5	9.2	9.4	8.9
平均着床前死亡率（%）	4.7	4.2	3.4	6.6
胎児				
母体数	20	18	19	12
生存胎児数	184	156	172	99
平均生存胎児数	9.2	8.7	9.0	8.2

2.6.7.13.B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

試験番号：CR845-TOX076　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.025	0.05	0.1
平均吸収胚数	0.3	0.4	0.4	0.7
死亡胎児を有する母体数（死亡例数）	0	1（2）	0	0
平均着床後死亡率	2.8	4.6	3.3	7.7
平均胎児体重（g）	41.89	40.01	41.44	41.76
胎児の性比（%雄）	46.6	52.4	47.3	58.6
胎児の異常				
外表検査	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-
骨格異常	-	-	-	-
異常のみられた全胎児（同腹児）	17　（10）	12　（8）	10　（4）	6　（3）

－：特記すべき所見なし、P =有、*：p<0.05、**：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunn 検定）

a：妊娠 16 日に 1 例の死亡が発見され、妊娠 23 日に別の 1 例が流産したため安楽死させた。

b：対照群と比較して、ジフェリケファリンに関連した一般状態の症状発現が増加した。

c：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。全ての%差の値は、整数に四捨五入。

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

報告書の題名：A Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Study of CR845 by Intravenous Injection in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation

被験物質：ジフェリケファリン（CR845）

試験計画：ICH 4.1.2 に準拠　　試験番号：CR845-TOX077

動物種/系統：ラット/Crl:CD（SD）　　投与期間：妊娠 7～授乳 20 日　　CTD における記載箇所：4.2.3.5.3-1

試験開始週齢：不明　　交尾成立日：妊娠 0 日　　GLP 適用：適

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　投与方法：静脈内

溶媒/投与形態：生理食塩液　　同腹児数の調整：淘汰せず

特記事項：なし

無毒性量：母動物：0.6 mg/kg/day（一般毒性）

母動物：10 mg/kg/day（生殖機能）

出生児の発育・生殖機能：雌雄 10 mg/kg/day

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.6	2.5	10
血漿中・乳汁中薬物濃度測定				
妊娠 20 日、母動物血漿（ng/mL）	-	928	4353	14717
妊娠 20 日、胎児血漿（ng/mL）	-	23.4	116	369
妊娠 20 日、胎児/母動物 血漿比	-	0.025	0.027	0.025
授乳 14 日、母動物血漿（ng/mL）	-	590	1827	9420
授乳 14 日、母乳汁（ng/mL）	-	26.2	93.7	400
授乳 14 日、母乳汁/血漿比	-	0.044	0.051	0.042
授乳 14 日、出生児血漿（ng/mL）	-	0	0	0
妊娠動物数	24	25	24	23
死亡及び屠殺動物数	0	0	1[a]	0

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

試験番号：CR845-TOX077　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.6	2.5	10
流産数または総産児数	-	-	-	-
一般状態[b]				
自発運動減少、猫背姿勢、脱水、眼瞼下垂、運動失調、流涙、触れたときの発声、前肢制限	-	P	P	P
剖検所見				
脾臓肥大	0	0	1[a]	0
妊娠時体重増加量（g）				
妊娠 7～10 日	17.4	-2.5**	-8.8**	-6.9**
妊娠 7～20 日	114.8	100.1**	98.8**	91.6**
妊娠体重（%）[c] 妊娠 20 日	368.2 g	-4	-4*	-7**
授乳期体重（%）[c] 授乳 21 日	326.6 g	-3	-6**	-9**
妊娠中の摂餌量（%）[c]				
妊娠 7～10 日	24.3g/日	-7	-25**	-16*
妊娠 7～20 日	24.2g/日	-10*	-15**	-14**
授乳期の摂餌量（%）[c] 授乳 1～14 日	53.6g/日	-10**	-11**	-19**
平均妊娠期間（日）[d]	22.4	22.8**	22.9**	22.8*
異常分娩	-	-	-	-
F_1 出生児（離乳前）				
母体数	24	25	24	23
平均着床数/腹	12.8	13.5	12.9	13.2
平均出生児数/腹	12.3	12.3	12.3	11.5
平均生存出生児数/腹[d]	12.3	12.2	12.0**	11.2**

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

試験番号：CR845-TOX077　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.6	2.5	10
死亡児数[d]（母体数）	0（0）	2（2）	9*（2）	5*（3）
出生後 4 日生存率（%）	99.3	100	99.0	99.2
出生後 4 日～離乳までの生存率（%）	100	100	100	100
全同腹児死亡母体数	0	0	0	0
出生児の平均体重/同腹児（g）				
授乳 1 日	7.0	7.0	7.0	7.2
授乳 21 日	46.5	44.2	44.8	46.3
出生児の性比（%雄）				
授乳 1 日	54.5	52.2	49.7	55.4
授乳 21 日	54.8	52.3	48.2	55.8
出生児の一般状態	-	-	-	-
出生児の剖検所見				
死亡出生児の胃内に乳汁は認められなかった児数/死亡児数	0/1	0/0	0/3	2/2**
F_1 出生児の雄（離乳後）				
離乳後評価動物数	25	25	25	25
死亡及び屠殺動物数	1	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-
体重変化量（g、22～113 日）	525.1	551.3	558.4	527.8
摂餌量	-	-	-	-
包皮分離	-	-	-	-
感覚機能-受動的回避	-	-	-	-

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

試験番号：CR845-TOX077　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.6	2.5	10
自発運動量	-	-	-	-
学習と記憶-水迷路	-	-	-	-
平均交配所要日数	3.4	2.6	3.6	3.2
交尾動物数	24	25	24	24
授胎能のある雄の数	23	25	21	20
生殖器重量	-	-	-	-
F_1 出生児の雌（離乳後）				
離乳後評価動物数	25	25	25	25
死亡及び屠殺動物数	0[e]	0[f]	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-
交配前体重変化量（g、22～85 日）	241.8	240.6	256.2	230.2
妊娠時体重変化量（g、0～21 日）	185.4	189.5	188.5	182.5
交配前摂餌量	-	-	-	-
妊娠時摂餌量	-	-	-	-
腟開口までの平均日齢	-	-	-	-
感覚機能-受動的回避	-	-	-	-
自発運動量	-	-	-	-
学習と記憶-水迷路	-	-	-	-
平均交配所要日数	3.5	2.6	3.7	3.3
精子が確認された雌動物数	25	25	25	25
妊娠動物数	24	25	22	21
平均黄体数	16.6	17.5	17.8	16.1

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

試験番号：CR845-TOX077　　被験物質：ジフェリケファリン

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	0.6	2.5	10
平均着床数	15.8	16.9	16.0	15.8
平均着床前死亡率	4.3	2.8	10.2	1.6
F_2 胎児				
平均生存胚数/腹	14.9	16.1	15.6	14.6
平均吸収胚数	0.9	0.8	0.4	1.2
全胚死亡	0	0	0	0
平均着床後死亡率	5.8	4.6	6.9	8.4
胎児体重（g）	5.42	5.42	5.36	5.44
胎児の性比（%雄）	51.2	49.7	49.9	48.1
胎児異常	-	-	-	-
異常分娩	-	-	-	-

- ：特記すべき所見なし、P =有、*：p<0.05、**：p<0.01（Dunnett 検定又は Dunn 検定）

a：授乳 7 日に死亡した母動物の死因は不明。摂餌量は授乳 4 日まで減少し、剖検では脾臓肥大が認められた。

b：ジフェリケファリンに関連する一般症状は用量依存性が認められ、概して投与開始から 1 週間以内に発現し、妊娠期間終了時（妊娠 16 日）までには消失した。

c：対照群は平均値を示し、ジフェリケファリン群は対照群との差を%で示す。統計的有意性は、%差ではなく実際のデータに基づいている。全ての%差の値は、整数に四捨五入。

d：平均値は試験施設の背景値の範囲内であった。

e：雄 1 例が左後肢負傷のため分娩後 25 日に安楽死させた。

f：雌 1 例が予定安楽死日（GD21）に出産し、予定よりも早期に安楽死させた。その他の異常は観察されなかった。

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当する資料なし。

2.6.7.16 局所刺激性試験

報告書の題名：A Local Perivascular Irritation Study by Subcutaneous Injection of MR13A9 in Rabbits

被験物質：MR13A9（ジフェリケファリン製剤）

動物種/系統：ウサギ/Kbl:JW　　投与期間：単回　　試験番号：[redacted]-105

試験開始週齢：14 週齢　　投与方法：皮下（耳介静脈周囲）　　CTD における記載箇所：4.2.3.6-1

投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　GLP 適用：適

陰性対照：生理食塩液　　媒体対照：プラセボ製剤

特記事項：なし

結論：0.1 mg/mL 及び 10 mg/mL の MR13A9 は軽度、プラセボはごく軽度の血管周囲刺激性が認められた。

被験物質（ジフェリケファリン濃度：mg/mL）	**0（陰性対照）**		**0（媒体対照）**		**0.1**		**10**	
動物数	**雄：6**		**雄：6**		**雄：6**		**雄：6**	
肉眼的検査	観察された例数／全例数							
紅斑	0／6		0／6		4*／6		5*／6	
痂皮	0／6		0／6		0／6		0／6	
浮腫	6*／6		6*／6		6*／6		6#／6	
病理組織学的検査	観察された例数／全例数							
	a	b	a	b	a	b	a	b
出血	0／3	0／3	0／3	1#／3	0／3	0／3	2#／3	0／3
浮腫	0／3	0／3	0／3	0／3	2*／3	0／3	3*／3	0／3
細胞浸潤	0／3	0／3	1*／3	0／3	2*／3	0／3	2*／3	0／3
変性	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	2*／3	0／3
壊死	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3
線維化	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3	0／3

a：投与後 2 日、b：投与後 14 日

*：ごく軽度、#：ごく軽度又は軽度

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.A　免疫毒性試験

ラット及びサルを用いた 13 週間反復静脈内投与毒性試験を参照（2.6.7.7.B　反復投与毒性試験：ラット 13 週間反復静脈内投与及び2.6.7.7.G　反復投与毒性試験：サル 13 週間反復静脈内投与参照）。

2.6.7.17.B　光毒性試験

該当資料なし。

2.6.7.17.C　依存性試験：ラット場所嗜好性／嫌悪性試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/SD	静脈内（生理食塩液）	0（対照）, 0.32, 1, 3.2、 モルヒネ（陽性嗜好対照） U50,488H（陽性嫌悪対照）	雄各 12 例 雄 14 例 雄 10 例	試験1：場所嗜好性について、対照群と他のすべての投与群との間に有意差は認められなかった。 試験2： ジフェリケファリン 3.2mg/kgの1回目の投与後2時間以内に有意な体重減少と、床に多量の排尿が観察された。 対照群と比較して、いずれの用量でも統計学的に有意な場所嗜好性または嫌悪性は認められなかったが、1mg/kg以上で嫌悪傾向が認められた。 モルヒネ 対照群と比較して有意な場所嗜好性が認められ、試験の妥当性が示された。 U50,488H 1回目の投与後2時間以内に有意な体重減少が認められ、床に多量の排尿が観察された。 対照群と比較して有意な場所嫌悪性が認められ、試験の妥当性が示された。 結論：ジフェリケファリンに場所嗜好性/嫌悪性は認められなかった。	CR845-SP036

2.6.7.17.C 依存性試験：ラット薬物自己投与試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/SD	静脈内（生理食塩液）	ジフェリケファリン 0.001, 0.005, 0.025, 0.125 ペンタゾシン 0.03, 0.1, 0.245	雄各 5〜8 例 雄各 8 例	ヘロインを自己投与するように訓練されたラットを用いて各薬物の自己投与回数（平均値±標準誤差）を測定した。 ジフェリケファリン 自己投与回数測定の結果、溶媒群は3.65±0.37で、ジフェリケファリン群の0.001、0.005、0.025及び0.125mg/kg では、それぞれ3.68±1.17、3.07±0.41、2.73±0.49及び2.51±0.50で、溶媒群と同等であった。 ペンタゾシン ペンタゾシン群の自己投与回数は、0.03、0.1及び0.245mg/kgではそれぞれ7.83±2.45、11.45±1.66及び12.48±1.79であり、溶媒群よりも有意に多かった。 トキシコキネティクス（ジフェリケファリンの3〜4回投与後）： ジフェリケファリンの累積量：C_{max}、AUC_{last} 0.004 mg/kg：15.1 ng/mL, 7.11 ng•h/mL 0.019 mg/kg：101.3 ng/mL, 44.9 ng•h/mL 0.089 mg/kg：375.0 ng/mL, 222 ng•h/mL 0.35 mg/kg：1345 ng/mL, 698 ng•h/mL 結論：ヘロイン維持ラットにおいてジフェリケファリンの強化効果は認められなかった。	CR845-TOX081

2.6.7.17.C　依存性試験：ラット薬物弁別試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/ Lister Hooded	静脈内	ジフェリケファリン 0（生理食塩液）, 0.05, 0.125, 0.25, 0.5 ペンタゾシン 0, 0.017, 0.05, 0.17, 0.5 ブトルファノール 0, 0.001, 0.01, 0.05, 0.25	雌各 6～15 例	ペンタゾシン（腹腔内投与、5mg/kg）とその溶媒を弁別できるようになった動物に、ペンタゾシン、ジフェリケファリン及びブトルファノールを尾静脈内投与し、投与15分後にオペラント実験箱に10分間入れ、ペンタゾシンあるいは溶媒に割り当てられた、それぞれのレバー押しの回数を測定し、ペンタゾシンへの般化を検討した。 結果：ペンタゾシン及びブトルファノールのペンタゾシンへの般化は用量依存的にみられ、本試験系の妥当性と感受性は確認された。ジフェリケファリンにおいては、ペンタゾシン（腹腔内投与）への部分般化はみられたが、ペンタゾシン及びブトルファノールとは比較にならない程度であり、用量相関は認められなかった。 トキシコキネティクス：投与量0.125, 0.25及び0.5mg/kgでそれぞれ以下の値であった。 C_{max}：1666、1127及び2487 ng/mL AUC_{last}：414、317、736 ng•h/mL 結論：ジフェリケファリンはペンタゾシンへの般化は低レベルで用量相関性は認められなかった。	CR845-TOX079

2.6.7.17.C　依存性試験：ラット身体依存性試験

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/SD	静脈内	ジフェリケファリン 0（生理食塩液），5 モルヒネ（2回/日投与） 0（脱イオン水），60（30mg/kgを2回） 投与期間 ジフェリケファリン及びモルヒネ：28日間 退薬期間 ジフェリケファリン及びモルヒネ：7日間	雄各10～15例	投与期間 ジフェリケファリン 一般状態：ほとんどの動物で軽度な症状で、よろめき歩行、猫背姿勢、不活発、頭振り、挙尾、体調改善、体調低下、自発運動亢進、自発運動減少、音への反応性増加、立毛、眼球突出、眼瞼下垂、不規則呼吸、呼吸増加、被毛の汚れなどが認められた。 体重：減少（投与9～23日） 摂餌量：減少（投与9～12日） 摂水量及び直腸温：変化なし モルヒネ 一般状態：猫背姿勢、不活発、頭振り、挙尾、立ち上がり、跳び上がり、ケージから逃避行動、体調改善、体調低下、自発運動亢進、自発運動減少、音への反応性増加、興奮増大、立毛、眼球突出、被毛の汚れ、鼻の汚れなどが認められた。 体重：減少（投与4～28日） 摂餌量：減少（投与1～28日） 摂水量：減少（投与2～28日） 直腸温：減少（投与5～28日）	CR845-TOX080

2.6.7.17.C 依存性試験：ラット身体依存性試験（続き）

被験物質：ジフェリケファリン

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与量（mg/kg/day）	性別・1群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/SD	静脈内	ジフェリケファリン 0（生理食塩液），5 モルヒネ（2回/日投与） 0（脱イオン水），60（30mg/kgを2回） 投与期間 ジフェリケファリン及びモルヒネ：28日間 退薬期間 ジフェリケファリン及びモルヒネ：7日間	雄各10～15例	退薬期間 ジフェリケファリン 一般状態の変化は頻度が減少し、新たな行動又は身体的徴候は認められず、ジフェリケファリンの投与中止が体重、摂餌量および摂水量、直腸温に及ぼす影響も認められなかった。 モルヒネ 一般状態ではライジングや尾振りなどの新たな行動及び身体徴候が認められ、体重、摂餌量、摂水量及び直腸温の変化が、休薬後1～2日以内から認められた。 トキシコキネティクス： C_{max}：22250 ng/mL（投与初日） 25550 ng/mL（投与28日） AUC_{last}：9987 ng· hr/mL（投与初日） 11310 ng· hr/mL（投与28日） 結論：ジフェリケファリンには耐性あるいは感作は認められず、退薬による行動症状と身体依存性も認められなかった。	CR845-TOX080

2.6.7.17.D　代謝物の毒性試験

該当資料なし。

2.6.7.17.E　不純物の毒性試験

該当資料なし。