目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.2.1 ラットの単回経口投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.3.1 ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験 5
2.6.6.3.2 ラットの 26 週間反復経口投与毒性試験 5
2.6.6.3.3 イヌの 39 週間反復経口投与毒性試験 6
2.6.6.4 遺伝毒性試験 7
2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 7
2.6.6.4.2 ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験 7
2.6.6.4.3 マウスを用いた骨髄小核試験 7
2.6.6.5 がん原性試験 8
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 8
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 8
2.6.6.6.1.1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 8
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 8
2.6.6.6.2.1 ラットの胚・胎児発生に関する試験 8
2.6.6.6.2.2 ウサギの胚・胎児発生に関する試験 9
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 9
2.6.6.6.3.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 9
2.6.6.6.4 新生児を用いた試験 9
2.6.6.7 局所刺激性試験 10
2.6.6.8 その他の毒性試験 10
2.6.6.9 考察 10
2.6.6.10 図表 11
2.6.6.11 参考文献 11

略語・略号一覧

略語・略号	内容
AUC_{last}	投与後 0 時間から定量限界を超えた濃度が得られた最終時点までの血清中薬物濃度―時間曲線下面積
C_{max}	最高血清中濃度
DMSO	ジメチルスルホキシド
F_0	親世代
F_1	第一世代
F_2	第二世代
GLP	Good Laboratory Practice（非臨床試験の実施基準）
ICH	医薬品規制調和国際会議
NeuAc	N-アセチルノイラミン酸
NANA	N-アセチルノイラミン酸（未変化体）
NGNA	N-グリコリルノイラミン酸（代謝物）
PT	プロトロンビン時間
S9 mix	肝可溶性画分に NADPH などの補酵素類を加えたもの
SRL	株式会社エスアールエル(臨床検査機関)
TK	トキシコキネティクス
T_{max}	最高血中濃度到達時間

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

アセノイラミン酸の安全性を評価するため、ラットを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、細菌、ヒトリンパ球及びマウス骨髄小核を用いた遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。

いずれの試験も医薬品毒性試験法ガイドラインに準拠して実施した。投与経路は臨床適用経路である経口投与とし、本薬を 10 N NaOH を添加した注射用水に溶解して投与した。また、単回投与毒性試験、ラット 4 週間反復投与毒性試験及びウサギ胚・胎児発生試験の TK 測定を除くすべての試験は GLP に準拠して実施した。毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示した。

表 2.6.6-1 アセノイラミン酸の毒性試験一覧

試験の種類	動物種（試験系）	投与経路・期間	投与量 (mg/kg/day)	GLP 適用	添付資料番号
単回投与毒性	ラット	経口・単回	4000	非	4.2.3.1-1 参
反復投与毒性	ラット	経口・4 週	2000	非	4.2.3.2-1 参
		経口・26 週	200、600、2000	適	4.2.3.2-2
		同　血清中遊離体測定	2000	適	4.2.3.2-2-1 参
	イヌ	経口・39 週	200、600、2000	適	4.2.3.2-3
		同　血清中遊離体測定	2000	適	4.2.3.2-3-1 参
遺伝毒性	復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌、in vitro	50～5000 μg/plate	適	4.2.3.3.1-1
	染色体異常	ヒトリンパ球、in vitro	80～310μg /mL	適	4.2.3.3.1-2
	マウス小核	経口・2 回	500、1000、2000	適	4.2.3.3.2-1
がん原性	（実施せず）				
生殖発生毒性	ラット受胎能/初期胚発生	経口・雄：交配前 2 週～剖検前日、雌：交配前 2 週～妊娠 7 日	200、600、2000	適	4.2.3.5.1-1
	ラット胚・胎児発生	経口・妊娠 6～17 日	200、600、2000	適	4.2.3.5.2-1
	ウサギ胚・胎児発生			適	4.2.3.5.2-2
	同　骨格検査	経口・妊娠 6～18 日	600、2000	適	4.2.3.5.2-3
	同　TK 試験			非	4.2.3.5.2-4 参
	ラット出生前後の発生/母体の機能	経口・妊娠 6 日～分娩後 20 日	200、600、2000	適	4.2.3.5.3-1
局所刺激	（実施せず）				
その他	（実施せず）				

単回投与毒性

ラットにアセノイラミン酸及びそのナトリウム塩をそれぞれ 4000 mg/kg 単回経口投与した結果、いずれの投与群にも死亡はなく、最大非致死量はいずれも 4000 mg/kg 以上であった。両群に一過性の下痢便が認められたが、体重推移及び剖検では薬物投与に関連した異常はなかった。

反復投与毒性

ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験（0、2000 mg/kg/day）では、死亡はみられず、全身毒性を示唆する変化も認められなかった。無毒性量は、雌雄とも 2000 mg/kg/day であった。ラットの 26 週間反復経口投与毒性試験（0、200、600、2000 mg/kg/day）では死亡はみられず、2000 mg/kg/day で軟便が観察された以外に特記すべき変化は認められなかった。病理組織学的検査にも異常はみられなかった。アセノイラミン酸の曝露量は、雌雄とも用量依存的な増加はみられず、性差はなかった。初回投与と比べた最終投与時の曝露量にも差はなかった。なお、2000 mg/kg/day の最終投与時の血清中遊離アセノイラミン酸濃度（C_{max}）は、総アセノイラミン酸量の 1～2%程度であった。なお、未変化体及び代謝物の尿中排泄量は 2000 mg/kg/day で顕著に上昇しており、本薬は全身曝露されているものと推察された。無毒性量は、雌雄とも 2000 mg/kg/day であった。

イヌの 39 週間反復経口投与毒性試験（0、200、600、2000 mg/kg/day）では、200 mg/kg/day 以上で軟便あるいは水様便が認められた以外に特記すべき変化は認められなかった。軟便あるいは水様便は回復試験の休薬 2 日以降で消失した。アセノイラミン酸の曝露量は、雌雄とも用量依存的な増加はみられず、性差はなかった。初回投与と比べた投与 13 週時の曝露量にも差はなかった。なお、2000 mg/kg/day の投与 13 週時の血清中遊離アセノイラミン酸濃度（C_{max}）は、総アセノイラミン酸量の 7～11%程度であった。無毒性量は、雌雄とも 2000 mg/kg/day であった。

遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験では突然変異誘発性は認められなかった。また、ヒトリンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験及びマウスにおける骨髄小核試験のいずれにも染色体異常誘発性は認められなかった。

生殖発生毒性

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（0、200、600、2000 mg/kg/day）では、雌雄とも死亡はみられなかった。2000 mg/kg/day では雌雄で軟便が散見されたが、帝王切開時検査において特記すべき変化はなかった。無毒性量は、雌雄の親動物の一般毒性、生殖能及び初期胚発生に対しては 2000 mg/kg/day と判断した。

ラットの胚・胎児発生に関する試験（0、200、600、2000 mg/kg/day）では、試験期間を通して死亡はなく、着床後死亡率、生存胎児数、性比、胎児体重及び胎盤に薬物投与の影響は認められなかった。胎児の形態学的検査（外表、内臓及び骨格検査）及び骨化進行度にも薬物投与の影響は認められなかった。無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対しては 2000 mg/kg/day と判断した。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験（0、600、2000 mg/kg/day）では、母動物に異常はなかった。帝王切開時検査においても特記すべき変化はなかった。胎児の外表、内臓及び骨格検査（骨化進行度を含む）では、薬物投与の影響は認められなかった。アセノイラミン酸の曝露量に用量

依存的な増加はみられず、初回投与日（妊娠 6 日）及び妊娠 18 日の曝露量に差はなかった。無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対していずれも 2000 mg/kg/day と判断した。

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験（0、200、600、2000 mg/kg/day）では、母動物に死亡はなく、一般状態、体重、摂餌量、出産率、分娩及び哺育状態などに異常はみられなかった。F_1出生児においても異常はなく、離乳後の発達、学習・行動及び生殖能に及ぼす薬物投与の影響は認められなかった。さらにF_1親動物の体重及び帝王切開時検査にも異常はみられなかった。無毒性量は、母動物、出生児及び出生児の生殖機能に対してはいずれも 2000 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットの単回経口投与毒性試験

＜添付資料：4.2.3.1-1 参＞

ラット（BrlHan:WIST@Jcl 系、雌雄各 5 匹／群、6 週齢）に、アセノイラミン酸(N-アセチルノイラミン酸)及びそのナトリウム塩の 0（溶媒）及び 4000 mg/kg/day を注射用水に溶解して単回経口投与し、その毒性について検討した。

アセノイラミン酸及びそのナトリウム塩ともに一過性の下痢便が認められたが、死亡はみられなかった。体重推移及び剖検に薬物投与に関連した異常はなかった。

ラットでの最大非致死量は 4000 mg/kg/day 以上と判断した。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験

＜添付資料：4.2.3.2-1 参＞

アセノイラミン酸を 10 N NaOH を添加した注射用水に溶解して、ラット（Crl:CD(SD)系、雌雄各 6 匹／群、6 週齢）に 0（溶媒）及び 2000 mg/kg/day を 4 週間反復経口投与し、その毒性について検討した。

薬物投与群において死亡は認められず、全身毒性を示唆する変化も認められなかった。

本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、雌雄とも 2000 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.3.2 ラットの 26 週間反復経口投与毒性試験

＜添付資料：4.2.3.2-2、4.2.3.2-2-1＞

ラット（Crl:CD(SD)系、雌雄各 10 匹／群、6 週齢）にアセノイラミン酸の 0（溶媒）、200、600、2000 mg/kg/day を 26 週間反復経口投与し、その毒性及び回復性並びに全身曝露について検討した。

いずれの投与量においても死亡は認められなかった。2000 mg/kg/day では軟便が観察されたほか、尿検査でナトリウムの高値傾向がみられた以外に、いずれの検査においても特記すべき所見はみられなかった。尿検査におけるナトリウムの高値傾向は、投与液の pH 調整に使用した水

酸化ナトリウムの添加量を反映したものと推察され、血清中のナトリウム に変化は認められないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。回復期間中の変化もなかった。

アセノイラミン酸の曝露量（C_{max}及びAUC_{last}）は、雌雄とも用量依存的な増加はみられなかった。また、初回投与と比べた最終投与時の曝露量にも各薬物投与群で差はなく、曝露量に性差は認められなかった。代謝物であるN-グリコリルノイラミン酸についても同様の傾向がみられた。なお、2000 mg/kg/dayにおける最終投与時の血清中遊離アセノイラミン酸量（C_{max}）は、雄で19.9 μg/mL、雌で6.9μg/mL（総アセノイラミン酸の曝露量の1～2%）で、初回投与時と差はなかった。投与期間中の尿中排泄量は、雌雄とも600 mg/kg/day以下では明確な差はみられなかったが、2000 mg/kg/dayでは顕著な増加がみられた。回復7日では、すべての群で投与期間中よりも排泄量が低下した。N-グリコリルノイラミン酸についても2000 mg/kg/dayで排泄量が増加する傾向がみられたが、その差は未変化体ほど顕著でなかった。

以上の結果より、本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、雌雄とも2000 mg/kg/dayと判断した。

2.6.6.3.3 イヌの39週間反復経口投与毒性試験

＜添付資料：4.2.3.2-3、4.2.3.2-3-1＞

イヌ（ビーグル、雌雄各4～6匹／群）にアセノイラミン酸の0（溶媒）、200、600、2000 mg/kg/dayを39週間経口投与し、その毒性及び回復性並びに全身曝露について検討した。

いずれの投与量においても死亡は認められなかった。200 mg/kg/dayで散発的な異常便、600 mg/kg/day以上では軟便あるいは水様便が観察されたほか、2000 mg/kg/dayの尿検査でナトリウムの高値傾向がみられた。本変化はラットと同様、投与液のpH調整に使用した水酸化ナトリウム量を反映したものと推察され、血清中のナトリウム に変化は認められないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。回復期間中の変化もなかった。他の検査においては特記すべき所見はみられなかった。

アセノイラミン酸の曝露量（C_{max}及びAUC_{last}）は、雌雄とも用量依存的な増加はみられなかった。2000 mg/kg/dayのC_{max}が600mg/kg/day以下と比較しわずかに高値であったが、AUC_{last}では明らかな群間差は認められなかった。また、初回投与と比べた投与13週及び39週時の曝露量にも各薬物投与群で差はなかった。代謝物であるN-グリコリルノイラミン酸についても同様の傾向がみられた。2000 mg/kg/dayにおける投与13週の血清中遊離アセノイラミン酸量（C_{max}）は、雄で45.2 μg/mL、雌で69.1 μg/mL（総アセノイラミン酸の曝露量の7～11%）で、初回投与時と差はなかった。

以上の結果より、本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、雌雄とも2000 mg/kg/dayであると判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

＜添付資料：4.2.3.3.1-1＞

ネズミチフス菌株(TA100、TA1535、TA98、TA1537)及び大腸菌株(WP2 uvrA)の5菌株を用いた復帰突然変異試験でアセノイラミン酸の変異原性を検討した。試験はS9 mix非存在下及び存在下でプレインキュベーション法により実施した。

その結果、S9 mixの有無にかかわらず、いずれの試験菌株においてもアセノイラミン酸処理群における復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照群値の2倍未満であった。また、アセノイラミン酸処理群において菌の生育阻害及びプレート上に沈殿は認められなかった。

以上の結果より、アセノイラミン酸はネズミチフス菌株及び大腸菌株に対して変異原性を有さないと判断した。

2.6.6.4.2 ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

＜添付資料：4.2.3.3.1-2＞

ヒトリンパ球にアセノイラミン酸をS9 mixの非共存下及び共存下で曝露した。最高曝露濃度は310μg/mLとし、処理時間はS9 mix非共存下で4及び21時間、S9 mix共存下で4時間とした。それぞれの試験系、処理濃度について200個の分裂中期細胞について、染色体の数的及び構造的異常の有無を検査した。

その結果、いずれの処理条件においてもアセノイラミン酸処理群における染色体の数的及び構造的異常細胞の出現頻度は5%未満であった。

以上の結果より、アセノイラミン酸はヒトリンパ球に対して染色体異常誘発性を有さないと判断した。

2.6.6.4.3 マウスを用いた骨髄小核試験

＜添付資料：4.2.3.3.2-1＞

マウス（CD-1系、雌雄5匹／群）にアセノイラミン酸の0（溶媒）、500、1000、2000 mg/kgを24時間間隔で2回強制経口投与、陽性対照としてマイトマイシンC 8 mg/kgを1回強制経口投与した。最終投与後24時間に骨髄細胞を採取した。幼若赤血球の割合及び小核を有する幼若赤血球の出現数を計測し（2000個×5匹／群）、小核誘発を指標とする染色体異常誘発作用を検討した。

その結果、マウスの一般状態に異常はなく、死亡もみられなかった。小核を有する幼若赤血球出現数及び幼若赤血球の割合は陰性対照群と比較して有意な差はみられなかった。

以上の結果より、アセノイラミン酸の小核誘発性は陰性と判定され、マウス骨髄細胞に対し染色体異常誘発性を有さないと判断した。

2.6.6.5 がん原性試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラットの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＞

ラット（Crl:CD(SD) 系、雌雄各 20 匹／群）にアセノイラミン酸 の 0（溶媒）、200、600、2000 mg/kg/day を雄では交配前 2 週間及び交配期間中（最長 2 週間）並びに剖検前日まで（42 日間）、雌では交配前 2 週間及び交配期間中（最長 2 週間）並びに妊娠 7 日まで経口投与し、雌を妊娠 13 日に帝王切開し、受胎能及び着床までの初期胚発生に及ぼす影響について検討した。

雌雄とも試験期間を通して死亡例は認められなかった。2000 mg/kg/day の雌雄で軟便が散見された。帝王切開時検査において、黄体数、着床数、着床前死亡率及び生存胚数に薬物投与の影響は認められなかった。着床後死亡率の増加が 600 mg/kg/day 以上にみられたが、本変化は対照群の値が背景データ(2.41～13.25%)の下限以下であったことから生じた見かけ上の変化と考えられ、薬物投与との関連はないと判断した。

以上の結果より、本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、雌雄の親動物の一般毒性、生殖能及び初期胚発生に対しては 2000 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットの胚・胎児発生に関する試験

＜添付資料：4.2.3.5.2-1＞

ラット（Crl:CD(SD) 系、雌 20 匹／群）にアセノイラミン酸 の 0（溶媒）、200、600、2000 mg/kg/day を妊娠 6～17 日に経口投与し、母動物及び胚･胎児の発生に及ぼす影響について検討した。

試験期間を通して死亡例は認められなかった。母動物の一般状態、体重、摂餌量及び剖検に異常はなく、帝王切開時検査では、黄体数、着床数、着床前及び着床後死亡率、生存胎児数、性比、生存胎児体重に薬物投与の影響は認められなかった。胎児の形態学的検査（外表、内臓及び骨格検査）及び骨化進行度にも薬物投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対しては 2000 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.2.2 ウサギの胚・胎児発生に関する試験

＜添付資料：4.2.3.5.2-2、4.2.3.5.2-3、4.2.3.5.2-4 参＞

ウサギ（Kbl:NZW 系、雌 6～8 匹／群）にアセノイラミン酸 の 0（溶媒）、600、2000 mg/kg/day を妊娠 6～18 日に経口投与し、母動物及び胚･胎児の発生に及ぼす影響について検討した。

薬物投与に起因した死亡は認められず、母動物の一般状態、体重、摂餌量及び剖検に異常は認められなかった。帝王切開時検査では、黄体数、着床数、着床前及び着床後死亡率、生存胎児数、性比、生存胎児体重に薬物投与の影響は認められなかった。胎児の外表及び内臓検査に異常はなかったが、骨格検査においてノブ状肋骨、胸骨分節癒合、8 腰椎が 2000 mg/kg/day で増加した。ノブ状肋骨、胸骨分節癒合、完全過剰肋骨については背景データの範囲内の変化で、8 腰椎については背景データからのわずかな逸脱であり、いずれも自然発生的にみられる変化であることから、本薬投与との関連はないと考えられた。骨化進行度に薬物投与の影響は認められなかった。アセノイラミン酸の曝露量（C_{max} 及び AUC_{last}）は、初回投与後（妊娠 6 日）及び最終投与後（妊娠 18 日）とも用量増加に伴う増加は認められず、また、反復投与後の曝露量にも大差はなかった。代謝物である N-グリコリルノイラミン酸についても同様の傾向がみられた。

以上の結果より、本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対していずれも 2000 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

＜添付資料：4.2.3.5.3-1＞

ラット（Crl:CD(SD) 系、雌 20 匹／群）にアセノイラミン酸 の 0（溶媒）、200、600、2000 mg/kg/day を妊娠 6 日から分娩後 20 日に経口投与し、母体の機能、胚及び出生児の発生、成長、行動、学習並びに生殖機能に及ぼす影響について検討した。

試験期間を通して死亡は認められなかった。母動物では投与初期から妊娠期間及び哺育期間を通して体重及び摂餌量に変化はみられず、妊娠期間・着床痕数・出産率・分娩・哺育及び剖検にも異常はなかった。出生児では、分娩時検査、一般状態、体重、発育分化などに異常はなく、機能検査、剖検、運動協調性、学習能力、情動性及び生殖能に及ぼす薬物投与の影響は認められなかった。F_1 母動物では、体重、剖検、帝王切開時検査に異常はなかった。

以上の結果より、本試験におけるアセノイラミン酸の無毒性量は、母動物、出生児及び出生児の生殖機能に対しては 2000 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.4 新生児を用いた試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当する試験を実施していない。

2.6.6.9 考察

1）ラット及びイヌの反復投与毒性について

アセノイラミン酸のラット 26 週反復経口投与試験及びイヌ 39 週反復経口投与試験では、高用量投与群での軟便を除き特記すべき変化は認められなかった。軟便はアセノイラミン酸の大量投与により、浸透圧性下痢と同様な機序で発症したものと考えられ毒性学的意義は乏しいと判断された。無毒性量はいずれも最高投与量である 2000 mg/kg/day であった。両試験の総アセノイラミン酸の曝露量は、雌雄とも投与量の増加に伴う明らかな変化はみられず、初回投与後と最終投与後の曝露量にも差はなかった。一方、血清中の遊離型アセノイラミン酸濃度を両試験の 2000 mg/kg/day で測定したが、ラット及びイヌでそれぞれ総アセノイラミン酸濃度の 1～2%及び 7～11%と僅かであった。しかし、ラットの 2000 mg/kg/day では未変化体及び代謝物の尿中排泄量が顕著に上昇しており、本薬は全身曝露されているものと推察された。

アセノイラミン酸の毒性が極めて弱いのは、本剤が生体内成分であり糖タンパク質や糖脂質の一部として結合し存在していること、経口投与された大部分は腸内細菌により分解され、腸管吸収率が投与量の 6%と低いこと[1)]、静脈内投与での半減期がα相 1.5 分、β 相 22.4 分と短く、血中からの消失が速やかであること[2), 3)]などが関係していると考えられる。

2）ラット・イヌの反復投与毒性試験における血清中の総及び遊離型アセノイラミン酸の暴露量からみた臨床用量の安全域について

ラット及びイヌの反復投与毒性試験の無毒性量における血清中の総及び遊離型アセノイラミン酸の暴露量を表 2.6.6-2 に示した。

ラット及びイヌにおける血清総アセノイラミン酸濃度は、高用量投与においても増加傾向はみられず、両種ともにほぼ一定の濃度範囲にあった。ヒトにおける血清総アセノイラミン酸濃度は 440～710μg/mL（SRL の基準値）で、国内第Ⅰ相試験（1）における患者投与（2400 mg/日×5 日間）での血清総アセノイラミン酸の濃度の上昇は認められなかった（CTD 2.7.2.2.1）。

一方、血清遊離アセノイラミン酸濃度は海外第Ⅰ相試験の患者で 0.15μg/mL、健康成人で 0.2μg/mL 程度であった（CTD 2.7.2.2.3）。患者にアセノイラミン酸を 6 g/日、48 週間経口投与した場合、血清遊離アセノイラミン酸濃度は 0.39μg/mL 程度上昇した（表 2.7.6.1.2-6）。ラット及びイヌの反復投与毒性試験の血清遊離アセノイラミン酸濃度（C_{max}）は、2000 mg/kg 群のラットで 6.9～19.9μg/mL、イヌで 45.2～69.1μg/mL であった。.ヒトの血清遊離アセノイラミン酸濃度の上昇（0.39μg/mL）と比較すると、ヒト臨床用量の安全域は 17～170 倍あると考えられる（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2 反復経口投与毒性試験（無毒性量）における血清中総及び遊離型 N-アセチルノイラミン酸の暴露量からみた臨床用量の安全域

試験		無毒性量 (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL) 総 NeuAc 濃度 a	臨床量との比	遊離 NeuAc 濃度 a	臨床量との比
ラット 26 週試験	雄	2000	836	1.18	19.9	51.0
	雌	2000	691	0.97	6.9	17.7
イヌ 39 週試験	雄	2000	584	0.82	45.2	115.9
	雌	2000	677	0.95	69.1	177.2
ヒト			総 NeuAc 濃度(μg/mL)		遊離 NeuAc 濃度(μg/mL)	
			710[b]		0.39[c]	

NeuAc：N-アセチルノイラミン酸、a：最終投与時の値、b：SRL の基準値、c：国内第Ⅱ/Ⅲ相試験（6 g/日 48 週間投与）

3）がん原性について

アセノイラミン酸は構造的に内因性 N-アセチルノイラミン酸と同一であり、生理的にはほとんどが糖蛋白等の構成成分として存在する。その作用機序は不足した基質を正常な生理的レベルまで補充することにある。臨床用量で増加する遊離 N-アセチルノイラミン酸濃度は通常の全身濃度を大幅に超えるものでないことが明らかにされている。非臨床毒性試験では、2000mg/kg/day、6 ヵ月（ラット）又は 9 ヵ月（イヌ）までの反復投与毒性試験で増殖性病変を認めず、遺伝毒性も認められていない。また、ICH S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」において、内因性物質の補充療法には一般的にがん原性試験は必要でないとされていることから、本薬のがん原性試験を実施しなかった。

2.6.6.10 図表

本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1）佐藤雅樹、矢野三郎、小笠原定則,新規去痰薬 Sodium 5-(acetylamino) -3,5 -dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulosonate (KI-111) の体内動態（第 4 報）経口投与による吸収、排泄および腸内細菌による分解.薬物動態 1991；6：103-108

2）[^{14}C]N-アセノイラミン酸のラットにおける単回静脈内投与後の血中濃度推移，組織分布，代謝及び排泄（試験番号：[redacted]）[redacted]

3）佐藤雅樹、矢野三郎、小笠原定則　新規去痰薬,Sodium 5-(acetylamino)-3,5-dideoxy -D-glycero-D-galacto-2-nonulosonate (KI-111) の体内動態（第 1 報）　ラットにおける吸収、分布、代謝および排泄.薬物動態 1991；6：75-83

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験の一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 3
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表 4
2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質の一覧表 6
2.6.7.5 単回投与毒性試験 7
2.6.7.5.1 ラットの単回投与毒性試験 7
2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 8
2.6.7.6.1 ラットの 4 週間経口投与毒性試験 8
2.6.7.7 反復投与毒性試験（重要な試験） 9
2.6.7.7.1 ラットの 26 週間経口投与毒性試験 9
2.6.7.7.2 イヌの 39 週間経口投与毒性試験 11
2.6.7.8 in vitro 遺伝毒性試験 13
2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 13
2.6.7.8.2 哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験 14
2.6.7.9 in vivo 遺伝毒性試験 16
2.6.7.9.1 マウスの小核試験 16
2.6.7.10 がん原性試験 17
2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験） 17
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 18
2.6.7.12.1 生殖発生毒性試験 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 18
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験 19
2.6.7.13.1 生殖発生毒性試験 ラットの胚・胎児発生に関する試験 19
2.6.7.13.2 生殖発生毒性試験 ウサギの胚・胎児発生に関する試験 20
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動物の機能に関する試験 22
2.6.7.14.1 生殖発生毒性試験 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 22
2.6.7.15 新生児を用いた試験 24
2.6.7.16 局所刺激性試験 24
2.6.7.17 その他の試験 24

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験の一覧表

被験物質：アセノイラミン酸

試験の種類	動物種	投与経路・期間	投与量(mg/kg/day)	GLP	試験施設	試験番号	添付資料番号
単回投与毒性	ラット	経口　単回	0、4000	非	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-1 参
反復投与毒性	ラット	経口　4週	0、2000	非	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-1 参
	ラット	経口　26週/4週回復(TK)	0、200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-2
		同　血清中遊離体の測定	2000	適	[redacted][1]	[redacted]	4.2.3.2-2-1 参
	イヌ	経口　39週/4週回復(TK)	0、200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-3
		同　血清中遊離体の測定	2000	適	[redacted][1]	[redacted]	4.2.3.2-3-1 参
遺伝毒性	復帰突然変異（細菌）	in vitro	50～5000 μg/plate	適	[redacted][2]	[redacted]	4.2.3.3.1-1
	染色体異常（ヒトリンパ球）	in vitro	80～310μg/mL	適	[redacted][2]	[redacted]	4.2.3.3.1-2
	マウス小核	経口　2回	0、500、1000、2000	適	[redacted][2]	[redacted]	4.2.3.3.2-1
がん原性	（実施せず）						
生殖発生毒性	ラット受胎能・初期胚発生	経口　♂：交配前2週～交配期間～剖検前日（42日間） ♀：交配前2週～妊娠7日	0、200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.1-1
	ラット胚・胎児発生	経口　妊娠6～17日	0、200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-1
	ウサギ胚・胎児発生	経口　妊娠6～18日	0、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-2
	同　骨格検査			適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-3
	同　TK試験			非	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-4 参
	ラット出生前後の発生・母体機能	経口　妊娠6日～分娩後20日	0、200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.3-1
局所刺激性	（実施せず）						
その他	（実施せず）						

[redacted]：[redacted]、[redacted]：[redacted]、[redacted]：[redacted]又は[redacted]、
[redacted][1]：[redacted]、[redacted][2]：[redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：アセノイラミン酸

試験の種類	動物種	投与経路・期間	投与量 (mg/kg/day)	GLP	実施場所（報告年）	試験番号	添付資料
反復投与毒性	ラット	経口・26 週間	200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-2
		同　血清中遊離体	2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-2-1 参
	イヌ	経口・39 週間	200、600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-3
		同　血清中遊離体	2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-3-1 参
生殖発生毒性	ウサギ胚・胎児発生	経口・妊娠 6-18 日	600、2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-4 参 [a]

[redacted]：[redacted]、[redacted]：[redacted]、a：動物試験([redacted])で得られた血清を用いた TK 試験(非 GLP 試験)

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表

被験物質：アセノイラミン酸

投与量 (mg/kg/day)		曝露量 (AUC_{last}：μg・h/mL)									
		ラット 経口・26 週間[a]				イヌ 経口・39 週間[b]				ウサギ 経口・胚/胎児発生[c]	
		NANA		NGNA		NANA		NGNA		NANA	NGNA
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	雌
初回投与	200	12900	13600	426	429	12200	11600	598	641	--	—
	600	13200	12700	420	395	12000	12200	608	556	6310	620
	2000	12400	12200	415	413	11800	12000	683	618	6130	641
投与13週	200	—	--	--	--	13100	12100	578	633	--	—
	600	—	--	--	--	13200	11400	682	511	--	—
	2000	—	--	--	--	12700	12500	683	643	--	—
最終投与	200	18800	16300	612	602	11400	10800	571	659	--	—
	600	17000	13900	635	547	11000	11300	653	618	7850	600
	2000	18200	15000	671	603	12000	12100	736	628	8340	595

a：ラットの 26 週間経口投与毒性試験（[redacted]）、b：イヌの 39 週間経口投与毒性試験（[redacted]）、c：ウサギの胚・胎児発生に関する試験（妊娠 6～18 日投与）（[redacted]）、NANA:N-アセチルノイラミン酸（アセノイラミン酸、未変化体）、NGNA:N-グリコリルノイラミン酸（代謝物）、—：該当なし

（続く）

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表　（続き）

被験物質：アセノイラミン酸

投与量 (mg/kg/day)		曝露量（C_{max}：μg/mL）													
		ラット 経口・26 週間[a]						イヌ 経口・39 週間[b]						ウサギ 経口・胚/胎児発生[c]	
		NANA		NGNA		遊離体		NANA		NGNA		遊離体		NANA	NGNA
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	雌
初回投与	0	--	—	--	—	—	--	(455)[d]	(483)	(27.2)	(27.7)	—	—	(353)	(33.1)
	200	565	611	18.9	20.4	—	--	525	496	26.0	28.4	—	--	--	--
	600	588	586	19.0	19.2	—	--	517	521	26.9	24.9	—	--	277	26.8
	2000	572	565	19.4	19.5	7.9	10.6	569	591	30.8	28.7	49.0	65.3	292	28.7
投与 13 週	0	--	—	--	—	—	--	(511)	(480)	(29.0)	(26.0)	—	--	--	--
	200	--	—	--	—	—	--	562	520	25.0	27.7	—	--	--	--
	600	--	—	--	—	—	--	578	500	30.0	22.5	—	--	--	--
	2000	--	—	--	—	—	--	608	623	30.5	28.5	45.2	69.1	--	--
最終投与	0	--	—	--	—	—	--	(450)	(433)	(30.0)	(25.8)	—	--	(430)	(32.5)
	200	849	740	29.4	29.0	—	--	490	474	24.9	29.2	—	—	--	--
	600	779	646	30.4	26.6	—	--	477	493	28.6	27.4	—	--	335	26.1
	2000	836	691	32.3	29.4	19.9	6.9	584	677	33.1	29.4	—	--	383	26.6

a：ラットの 26 週間経口投与毒性試験（[redacted]）、b：イヌの 39 週間経口投与毒性試験（[redacted]）、c：ウサギの胚・胎児発生に関する試験（妊娠 6～18 日投与）（[redacted]）、d：対照群の（）内は各採血時点の平均血中濃度、NANA:N-アセチルノイラミン酸（アセノイラミン酸、未変化体）、NGNA:N-グリコリルノイラミン酸（代謝物）、遊離体：遊離型アセノイラミン酸、—：該当なし

2.6.7.4　毒性試験に用いた被験物質の一覧表

被験物質：アセノイラミン酸

ロット番号	純度(%)	水分(%)	規格設定された不純物(%)					試験番号	試験の種類
			N-アセチルグルコサミン	ピルビン酸	RRT=0.83	RRT=0.93	RRT=1.08		
[redacted]	99.0							[redacted]	ラットの単回投与毒性試験
[redacted]	99.8							[redacted]	ラットの4週間経口投与毒性試験
[redacted]（再解析）	99.1	0.6	0.06	0.05以下	0.07		0.01	[redacted]	ラット26週間経口投与毒性試験
								[redacted]	イヌ39週間経口投与毒性試験
								[redacted]	ラットの胚・胎児発生に関する試験
[redacted]	99.0	0.4							
[redacted]	99.3	0.6							
[redacted]（再解析）	98.7	0.6		0.05以下	0.10	0.05	0.03		
[redacted]（再分析）	99.1	0.6		0.05以下	0.05		0.16	[redacted]	イヌ39週間経口投与毒性試験
[redacted]	100.0	0.7							
[redacted]	99.2	0.5	0.05	0.05以下[a]					
[redacted]（再解析）	99.7	0.3	0.09	0.05以下	0.08		0.09	[redacted]	復帰突然変異試験（細菌）
								[redacted]	染色体異常試験（ヒトリンパ球）
								[redacted]	マウス小核試験
[redacted]	100.8	0.2						[redacted]	ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
								[redacted]	ラットの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
[redacted]	98.7	0.9						[redacted]	ウサギの胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験

2.6.7.5.1 ラットの単回投与毒性試験

報告書の題名：MSA-110a 及び MSN-230b のラットにおける単回経口投与毒性試験（限界試験）　　被験物質：アセノイラミン酸

動物種/系統	投与方法 (溶媒・投与形態)	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数/群	最大非致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
ラット BrlHan:WIST@Jcl	経口投与 (注射用水)	0、4000	雌雄各 5 匹	>4000	MSA-110 及び MSN-230 各群の雌雄に死亡はみられなかった。同群に一過性の下痢便が認められた。体重推移及び剖検では各被験物質の投与に関連した異常はなかった。	非	[redacted] 4.2.3.1-1 参

a: アセノイラミン酸(MSA-110)、b：アセノイラミン酸ナトリウム塩(MSN-230)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

2.6.7.6.1 ラットの 4 週間経口投与毒性試験

報告書の題名：N-アセチルノイラミン酸のラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験					被験物質：アセノイラミン酸	
動物種/ 系統	投与方法 （媒体/投与形態）	投与期間 投与量	性別及び 動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
ラット Crl:CD(SD)	経口投与 （注射用水に 10 N NaOH を添加し溶解）	4 週間 0、2000 mg/kg/day	雌雄 各 6 匹	死亡動物はみられなかった。一般状態、体重、摂餌量及び眼科学的検査に異常はなかった。 尿検査、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に被験物質投与の影響は認められなかった。 無毒性量は、雌雄とも 2000 mg/kg/day と判断した。	非	[redacted] 4.2.3.2-1 参

2.6.7.7 反復投与毒性試験（重要な試験）

2.6.7.7.1 ラットの 26 週間経口投与毒性試験

報告書の題名：N-アセチルノイラミン酸のラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験　　被験物質：アセノイラミン酸
動物種/系統/性：ラット/ Crl:CD(SD)/雌雄　　投与期間：26 週間　　試験番号：[redacted]
試験開始週齢：6 週齢　　休薬期間：4 週間（TK サテライト群を兼用）　　添付資料：4.2.3.2-2
初回投与年月：20[redacted]年[redacted]月　　投与方法：経口投与　　GLP 適用：適
特記事項：なし　　溶媒/投与形態：注射用水に 10 mol/L NaOH(4%)を加えて溶解
無毒性量：2000 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		対照		200		600		2000	
動物数		雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
TK C_{max}（μg/mL）	初回投与	--	--	565(18.9)[a]	611(20.4)	588(19.0)	586(19.2)	572(19.4)	565(19.5)
	最終投与	--	--	849(29.4)	740(29.0)	779(30.4)	646(26.6)	836(32.3)	691(29.4)
AUC_{last}（μg・h/mL）	初回投与	--	--	12900(426)	13600(429)	13200(420)	12700(395)	12400(415)	12200(413)
	最終投与	--	--	18800(612)	16300(602)	17000(635)	13900(547)	18200(671)	15000(603)
T_{max}(h)	初回投与	--	--	9.9(0.5)	10(0.5)	15(0.8)	5.2(0.6)	5.3(0.5)	10(0.6)
	最終投与	--	--	5.2(0.6)	4.9(0.5)	15(1.4)	0.1(0.5)	10(0.8)	0.7(0.6)
遊離体 C_{max}（μg/mL）	初回投与	--	--	—	—	--	—	7.9	10.6
	最終投与	--	--	—	—	--	—	19.9	6.9
尿中排泄量(μg/24 h)	投与 13 週	--	--	2340(886)[a]	1020(120)	2860(862)	1220(113)	17200(958)	5560(144)
	投与 26 週	--	--	2260(732)	1680(170)	2780(713)	1420(149)	12900(795)	7110(202)
	回復 1 週	--	--	1610(573)	1410(156)	1500(734)	993(150)	1530(490)	799(165)
動物数		雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
特記すべき所見									
死亡及び瀕死屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—	—	—	軟便	軟便
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—

－：特記すべき所見なし、a：アセノイラミン酸（N-グリコリルノイラミン酸）、—：該当なし

（続く）

2.6.7.7.1 ラットの 26 週間経口投与毒性試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量(mg/kg/day)		対照		200		600		2000	
動物数		雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
眼科学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査	Na (mEq/24 h)	1.299	1.055	1.095	1.167	1.665	1.236	3.095**	2.159**
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		－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし、**：P<0.01(Dunnet 検定)

【回復期間終了時】

投与量(mg/kg/day)	対照		200		600		2000	
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								
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－
体重	－	－	－	－	－	－	－	－
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	－	－	－	－	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

2.6.7.7.2 イヌの 39 週間経口投与毒性試験

報告書の題名：N-アセチルノイラミン酸のイヌを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験および 4 週間回復試験　　被験物質：アセノイラミン酸
動物種/系統/性：イヌ/ ビーグル/雌雄　　投与期間：39 週間　　試験番号：[redacted]
試験開始週齢：7～8 ヵ月齢　　休薬期間：4 週間　　添付資料：4.2.3.2-3
初回投与年月：20[redacted]年[redacted]月　　投与方法：経口投与　　GLP 適用：適
特記事項：なし　　溶媒/投与形態：注射用水に 10 mol/L NaOH(4%)を加えて溶解
無毒性量：2000 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		対照[a]		200		600		2000	
動物数		雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
TK C_{max}（μg/mL）	初回投与	455(27.2)[b]	483(27.7)	525(26.0)	496(28.4)	517(26.9)	521(24.9)	569(30.8)	591(28.7)
	投与 13 週	511(29.0)	480(26.0)	562(25.0)	520(27.7)	578(30.0)	500(22.5)	608(30.5)	623(28.5)
	最終投与	450(30.0)	433(25.8)	490(24.9)	474(29.2)	477(28.6)	493(27.4)	584(33.1)	677(29.4)
AUC_{last}（μg・h/mL）	初回投与	—	—	12200(598)	11600(641)	12000(608)	12200(556)	11800(683)	12000(618)
	投与 13 週	—	—	13100(578)	12100(633)	13200(682)	11400(511)	12700(683)	12500(643)
	最終投与	—	—	11400(571)	10800(659)	11000(635)	11300(618)	12000(736)	12100(628)
T_{max}(h)	初回投与	—	—	8.0(7.0)	9.0(8.3)	3.0(2.4)	2.6(4.3)	1.2(2.2)	0.92(0.61)
	投与 13 週	—	—	4.5(5.0)	2.1(2.1)	1.3(4.2)	1.2(5.0)	0.83(0.67)	0.83 (1.7)
	最終投与	—	—	8.0(8.0)	5.0(2.3)	2.7(7.0)	4.1(4.6)	0.8(3.1)	0.83(0.67)
遊離体 C_{max}（μg/mL）	初回投与	—	—	--	--	—	--	49.0	65.3
	投与 13 週	—	—	--	--	—	--	45.2	69.1
動物数		雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
特記すべき所見									
死亡及び瀕死屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態　軟便または水様便		0	0	0	1	4	4	6	6
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—

－：特記すべき所見なし、a：対照群の C_{max} 値は各採血時点の平均血中濃度、b：アセノイラミン酸（N-グリコリルノイラミン酸）、—：該当なし

（続く）

2.6.7.7.2 イヌの 39 週間経口投与毒性試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量(mg/kg/day)	対照		200		600		2000	
動物数	雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
心電図検査	—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査　Na (mEq/24 h)	9.847	16.306	15.686	17.566	15.016	12.335	11.787	26.181
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	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

【回復期間終了時】

投与量(mg/kg/day)	対照		2000	
動物数	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2
特記すべき所見				
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態　軟便または水様便	0	0	0	0[a]
体重	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—
心電図検査	—	—	—	—
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	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、a：回復 2 日以降では消失

2.6.7.8 in vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の題名：Bacterial reverse mutation test in Salmonella typhimurium and Escherichia coli　　被験物質：アセノイラミン酸

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験　　独立して実施した試験数：1　　試験番号：[redacted]

菌株：S.typhimurium(TA100,TA1535,TA98,TA1537)、E.coli WP2 uvrA　　プレート数：3　　添付資料：4.2.3.3.1-1

代謝活性化系：Aroclor 1254 で誘導したラット肝臓より調製　　生菌数：1000×10^6/mL 以上　　GLP 適用：適

溶媒：被験物質；注射用蒸留水、陽性対照；蒸留水又は DMSO

処理：S9 添加及び非添加とも約 67 時間　　処理年月：20[redacted]年[redacted]月

細胞毒性：なし、遺伝毒性：なし

代謝活性化の有無	被験物質	用量（μg/プレート）	復帰変異コロニー数				
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2 uvrA
S9 mix(−)	注射用蒸留水	0	14	12	35	137	48
	アセノイラミン酸	50	14	14	27	111	50
		158	13	15	36	138	51
		500	15	12	37	133	52
		1581	15	7	34	130	55
		5000	19	16	29	116	53
S9 mix(+)	注射用蒸留水	0	12	17	53	157	61
	アセノイラミン酸	50	13	19	39	120	48
		158	12	15	47	145	53
		500	10	18	41	147	64
		1581	16	9	44	134	67
		5000	14	15	38	152	47
陽性対照 S9 mix(−)	NaAz	0.5(TA1535,TA100)	376	−	−	476	−
	9AC	50(TA1537)	−	580	−	−	−
	2NF	1(TA98)	−	−	145	−	−
	NQO	0.5(WP2 uvrA)	−	−	−	−	199
陽性対照 S9 mix(+)	2AA	5(TA1535)、20(WP2 uvrA)	264	−	−	−	208
	BaP	5(TA1537,TA98,TA100)	−	134	583	1180	−

NaAz：アジ化ナトリウム、9AC：9-アミノアクリジン水和物、2NF：2-ニトロフルオレン、NQO：4-ニトロキノリン N-オキシド、2AA：2-アミノアントラセン、BaP：ベンゾピレン、−：該当なし

2.6.7.8.2 哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験

報告書の題名：in vitro mammalian chromosome aberration test in human peripheral blood lymphocytes		被験物質：アセノイラミン酸
試験の種類：哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験 細胞株：ヒトリンパ球	独立して実施した試験数：1 プレート数：2	試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.3.3.1-2
代謝活性化系：phenobarbital と 5,6-benzoflavone で誘導したラット肝臓より調製	分析細胞数/培養：200	GLP 適用：適
溶媒：被験物質；注射用蒸留水、陽性対照；蒸留水	処理：4 時間（+S9 及び-S9）、21 時間（-S9）	処理年月：20[redacted]年[redacted]月
細胞増殖率：最高用量 310 μg/mL(1 mM)で細胞毒性は認められなかった。 細胞毒性：なし、遺伝毒性：なし		

【短時間処理法（4 時間処理；－S9 mix)】

被験物質	用量 (μg/mL)	観察細胞数	有糸分裂指数	有糸分裂指数(%)	構造異常細胞数(%)	構造異常細胞数				
						染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他
注射用蒸留水		200	12.2	100	0.5	1	0	0	0	0
アセノイラミン酸	80	200	9.5	78	0.0	0	0	0	0	0
	160	200	12.0	99	1.5	3	0	0	0	0
	310[a]	200	16.3	134	0.0	0	0	0	0	0
MMC	0.1	200	9.6	79	7.5	12	4	1	0	0

MMC:マイトマイシン C、a：ICH S2(R1) ガイドラインで推奨されている最高用量 1 mM を使用した。

（続く）

2.6.7.8.2 哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験　　試験番号：[redacted]（続き）

【短時間処理法（4時間処理；+S9 mix)】

被験物質	用量（μg/mL）	観察細胞数	有糸分裂指数	有糸分裂指数(%)	構造異常細胞数(%)	構造異常細胞数				
						染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他
注射用蒸留水		200	14.1	100	0.5	1	0	0	0	0
アセノイラミン酸	80	200	13.8	98	1.0	2	0	0	0	0
	160	200	15.6	111	0.0	0	0	0	0	0
	310	200	12.6	90	0.5	0	1	0	0	0
CP	4.0	200	8.8	63	17.5	32	6	7	0	0

CP: シクロホスファミド

【長時間処理法（21時間処理；-S9 mix)】

被験物質	用量（μg /mL）	観察細胞数	有糸分裂指数	有糸分裂指数(%)	構造異常細胞数(%)	構造異常細胞数				
						染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他
注射用蒸留水		200	9.5	100	0.5	1	0	0	0	0
アセノイラミン酸	80	200	9.2	96	0.5	1	0	0	0	0
	160	200	7.7	81	0.0	0	0	0	0	0
	310	200	9.2	97	1.0	2	0	0	0	0
MMC	0.05	200	5.1	53	9.5	13	5	1	0	0

MMC:マイトマイシンC

2.6.7.9 in vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 マウスの小核試験

報告書の題名：Mammalian erythrocyte micronucleus test of aceneuramic acid in mouse bone marrow		被験物質：アセノイラミン酸
試験の種類：骨髄細胞を用いた小核試験	処理計画：2回投与	試験番号：[redacted]
動物種/系統/性：マウス/CD-1/雌雄	骨髄採取時間：投与後24時間	添付資料：4.2.3.3.2-1
週齢：7週齢	投与方法：経口投与	GLP適用：適
分析対象細胞：幼若赤血球	溶媒：注射用蒸留水	処理年月：20[redacted]年[redacted]月
分析細胞数/動物：2000		特記事項：なし
細胞毒性：幼若赤血球の割合は対照群と比較して差はなく、骨髄抑制はなかった。		
毒性兆候：なし、遺伝毒性：なし		

被験物質	投与量 (mg/kg/kg)	動物数		全赤血球中の幼若赤血球の割合(%)		小核を有する幼若赤血球数[a]		小核を有する成熟赤血球数[b]
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄＋雌
注射用蒸留水	0	5	5	48.7	49.9	0.8	2.6	0.3
アセノイラミン酸	500	5	5	46.1	50.6	2.8	2.4	0.3
	1000	5	5	47.4	50.3	1.4	2.6	2.2
	2000	5	5	43.9	49.1	1.2	2.0	0.0
MMC[c]	8	5	5	44.1	48.8	19.0	13.2	1.0

a：幼若赤血球2000に対する小核を有する細胞数、b：成熟赤血球2000に対する小核を有する細胞数、c：MMC：マイトマイシンC（1回経口投与）

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

該当する試験は実施していない。

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

2.6.7.12.1 生殖発生毒性試験 ラットの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：N-アセチルノイラミン酸のラットを用いた経口投与による受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験		被験物質：アセノイラミン酸
動物種/系統/性：ラット/ Crl:CD(SD)/雌雄 試験開始時週齢：10 週齢 初回投与年月：20[redacted]年[redacted]月 特記事項：なし 無毒性量：親動物；2000 mg/kg/day、 生殖能及び初期胚発生；2000 mg/kg/day	投与期間：　雄)交配前 2 週間～剖検前日 (42 日間) 雌)交配前 2 週間～妊娠 7 日 交尾成立日：　妊娠 0 日 帝王切開日：　妊娠 13 日 投与方法：　経口投与 溶媒/投与形態：注射用水に 10 mol/L NaOH(4%)を加えて溶解	試験番号：[redacted] 添付資料：4.2.3.5.1-1 GLP 適用：適

投与量(mg/kg/day)	対照	200	600	2000
雄動物への影響　動物数	雄 20	雄 20	雄 20	雄 20
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態　軟便	0	0	0	9
体重	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－
雌動物への影響　動物数	雌 20	雌 20	雌 20	雌 20
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態　軟便	0	0	0	3
体重	－	－	－	－
摂餌量	－	－	－	－
剖検	－	－	－	－
性周期検査	－	－	－	－
生殖能力検査	－	－	－	－
帝王切開時検査　黄体数	－	－	－	－
着床前死亡率	－	－	－	－
着床後死亡率	1.86	5.31	9.18*	5.33*
生存胚数	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし、＊：P＜0.05(Wilcoxon 法)

2.6.7.13 生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 生殖発生毒性試験 ラットの胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：N-アセチルノイラミン酸のラットを用いた経口投与による胚・胎児発生に関する試験		被験物質：アセノイラミン酸
動物種/系統/性：ラット/ Crl:CD(SD)/雌	投与期間：妊娠 6～17 日	試験番号：[redacted]
試験開始時週齢：12 週齢	交尾成立日：妊娠 0 日	添付資料：4.2.3.5.2-1
	帝王切開日：妊娠 20 日	
初回投与年月：20[redacted]年[redacted]月	投与方法：経口投与	GLP 適用：適
特記事項：なし	溶媒/投与形態：注射用水に 10 mol/L NaOH(4%)を加えて溶解	
無毒性量：母動物及び胎児発生に対し 2000 mg/kg/day		

投与量(mg/kg/day)		対照	200	600	2000
妊娠動物数		雌 20	雌 20	雌 20	雌 20
死亡及び瀕死屠殺動物数		0	0	0	0
一般状態		－	－	－	－
体重		－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
帝王切開時検査	黄体数	－	－	－	－
	着床数	－	－	－	－
	着床前死亡率	－	－	－	－
	着床後死亡率	－	－	－	－
	生存胎児数	－	－	－	－
	性比	－	－	－	－
	生存胎児体重	－	－	－	－
胎児の形態学的検査	外表、内臓、骨格検査	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

2.6.7.13.2 生殖発生毒性試験 ウサギの胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：N-アセチルノイラミン酸のウサギを用いた経口投与による胚・胎児発生に関する試験　　被験物質：アセノイラミン酸

動物種/系統/性：ウサギ/ Kbl:NZW/雌
試験開始時週齢：19 週齢
初回投与年月：20[redacted]年[redacted]月
特記事項：なし
無毒性量：母動物及び胎児発生に対し 2000 mg/kg/day

投与期間：妊娠 6～18 日
交尾成立日：妊娠 0 日
帝王切開日：妊娠 28 日
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：注射用水に 10 mol/L NaOH(4%)を加えて溶解

試験番号：[redacted]
添付資料：4.2.3.5.2-2
試験番号：[redacted]
添付資料：4.2.3.5.2-3
試験番号：[redacted]
添付資料：4.2.3.5.2-4 参
GLP 適用：適([redacted]及び[redacted])、非([redacted])

投与量(mg/kg/day)			対照	600	2000
		妊娠動物数	雌 8	雌 6	雌 6
TK	C_{max} (μg/mL) [a]	妊娠 6 日	353(33.1)[b]	277(26.8)	292(28.7)
		妊娠 18 日	430(32.5)	335(26.1)	383(26.6)
	AUC_{last} (μg・h/mL)	妊娠 6 日	8180(769)	6310(620)	6130(641)
		妊娠 18 日	9940(720)	7850(600)	8340(595)
	T_{max}(h)	妊娠 6 日	10.7(0.5)	16.2(3.3)	1.0(0.5)
		妊娠 18 日	9.3(2.0)	10.8(4.0)	0.5(0.7)
	死亡及び瀕死屠殺動物数		0	0	0
	一般状態		－	－	－
	体重		－	－	－
	摂餌量		－	－	－
	剖検		－	－	－
	帝王切開時検査	黄体数	－	－	－
		着床数	－	－	－
		着床前死亡率	－	－	－
		着床後死亡率	－	－	－
		生存胎児数	－	－	－
		性比	－	－	－
		生存胎児体重	－	－	－

－：特記すべき所見なし、a：対照群の Cmax 値は各採血時点の平均血中濃度、b：N-アセチルノイラミン酸 (N-グリコリルノイラミン酸)

(続く)

2.6.7.13.2 ウサギの胚・胎児発生に関する試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量(mg/kg/day)			対照	600	2000
評価母体数			雌 8	雌 6	雌 6
胎児形態検査		胎児数	65	47	52
外表検査			－	－	－
内臓検査			－	N/E	－
骨格検査					
骨格異常	ノブ状肋骨		0	N/E	1
	胸骨分節癒合		0	N/E	2
骨格変異	8 腰椎		0	N/E	2
	完全過剰肋骨		46	N/E	40
骨化進行度	仙尾椎体数		19.5	N/E	19.6
	胸骨数		5.7	N/E	5.8

－：特記すべき所見なし、N/E；実施せず

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動物の機能に関する試験

2.6.7.14.1 生殖発生毒性試験 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

報告書の題名：N-アセチルノイラミン酸のラットを用いた経口投与による出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験

被験物質：アセノイラミン酸

動物種/系統/性：ラット/ Crl:CD(SD)/雌
試験開始時週齢：12 週齢
初回投与年月：20[redacted]年[redacted]月
特記事項：なし
無毒性量：母動物及び出生児に対し 2000 mg/kg/day

投与期間：妊娠 6 日～分娩後 20 日
交尾成立日：妊娠 0 日
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：注射用水に 10 mol/L NaOH(4%)を加えて溶解

試験番号：[redacted]
添付資料：4.2.3.5.3-1
GLP 適用：適

投与量(mg/kg/day)		対照	200	600	2000
交尾確認動物数 妊娠動物数		雌 20 19	雌 20 18	雌 20 18	雌 20 20
F_0 母動物					
死亡及び瀕死屠殺動物数		0	0	0	0
一般状態	分娩・哺育状態含む	－	－	－	－
体重		－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－
妊娠期間		－	－	－	－
着床痕数		－	－	－	－
出産率		－	－	－	－
分娩及び哺育		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
F_1 出生児					
分娩時検査	生存出産児数	－	－	－	－
	死亡出産児数	－	－	－	－
	出生率、性比、死産率、出生児体重、外表異常	－	－	－	－
一般状態	4 日生存率、離乳率	－	－	－	－
体重		－	－	－	－
発育分化	耳介展開、毛生、切歯萌出、眼瞼開裂、包皮分離、膣開口	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

（続く）

2.6.7.14.1 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験　　試験番号：[redacted]（続き）

投与量(mg/kg/day)		対照	200	600	2000
離乳後の評価動物数		雌 20	雌 20	雌 20	雌 20
F_1出生児					
機能検査	正向反射、同側屈筋反射、視覚性踏み直り反射、耳介反射	－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
運動協調性	Rotarod performance	－	－	－	－
学習能力	水迷路	－	－	－	－
情動性	Open field	－	－	－	－
生殖能力	交尾率、授(受)胎率、交尾所要日数	－	－	－	－
F_1母動物		－	－	－	－
体重		－	－	－	－
剖検		－	－	－	－
帝王切開時検査					
	黄体数、着床数、着床前死亡率、着床後死亡率、生存胎児数	－	－	－	－

－：特記すべき所見なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.17 その他の試験

該当する試験は実施していない。