目次

2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 8
2.6.6.4 遺伝毒性試験 21
2.6.6.5 がん原性試験 23
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 23
2.6.6.7 局所刺激性試験 27
2.6.6.8 その他の毒性試験 27
2.6.6.9 考察及び結論 48
2.6.6.10 参考文献 51

表

表 1. 毒性プログラム 7
表 2. 反復投与毒性試験 9
表 3. 試験デザイン ラット 26 週試験 13
表 4. パチロマーカルシウム暴露 - 実投与量 14
表 5. 試験デザイン-39 週間イヌ試験 19
表 6. 遺伝毒性試験 21
表 7. 生殖発生毒性試験 24
表 8. 試験デザイン-ラット受胎能及び着床までの初期胚発生への影響に関する試験 25
表 9. [redacted]不純物の毒性評価概要 30
表 10. パチロマーカルシウムの投与量に基づいたヒトでの暴露に対する安全域 50

図

図 1. 平均摂餌量 15
図 [redacted] 34
図 [redacted] 36
図 [redacted] 37
図 [redacted] 39
図 [redacted] 40

2.6.6 毒性試験の概要文

[redacted] 41
[redacted] 42
[redacted] 43
[redacted] 44
[redacted] 45
[redacted] 46
[redacted] 47

略語表

ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノ基転移酵素
BW	Body weight：体重
CAS	Chemical Abstract Services
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
CMC	Carboxymethylcellulose：カルボキシメチルセルロース
CrCL	Creatinine clearance：クレアチニンクリアランス
[redacted]	[redacted]
DL	Detection limit：検出限界
DNA	Deoxyribonucleic acid
[redacted]	[redacted]
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EPA	Environmental Protection Agency：アメリカ合衆国環境保護庁
[redacted]	[redacted]
FDA	Food and Drug Administration：アメリカ食品医薬品局
GLP	Good laboratory practice
GSH	グルタチオン
HEAA	2-Hydroxyethoxyacetic acid:（2-ヒドロキシエトキシ）酢酸
IARC	International Agency for Research on Cancer：国際がん研究機関
ICH	International Conference on Harmonization：医薬品規制調和国際会議
kg	Kilogram：キログラム
LD_{50}	Amount required to kill half of the sample population：　半数致死量
LOEL	Lowest observed effect level：最小作用量
LSMA	Leadscope® FDA Model Applier
[redacted]	[redacted]
MRHD	Maximum recommended human dose：最大推奨臨床投与量
NA	Not applicable：該当なし
NCE	Normochromatic erythrocytes：正染性赤血球
NDA	New drug application：新薬承認申請

NOAEL	No observed adverse effect level: 無毒性量
NOEL	No observed effect level: 無作用量
NTP	National Toxicology Program: 米国国家毒性プログラム
PDE	Permitted daily exposure: 1 日許容暴露量
PCE	Polychromatic erythrocytes: 多染性赤血球
QL	Quantitation limit: 定量限界
ppm	Parts per million: 百万分率
SGAE	Secretariat General des Affaires Europeennes：フランス外務省
TDI	Tolerable daily intake: 耐用 1 日摂取量
TRV	Toxic reference value: 毒性基準値
WHO	World Health Organization: 世界保健機関

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ビルタサ懸濁用散分包 8.4 g (以下、本剤) は、高カリウム血症治療のために開発された粉末剤である。パチロマーソルビテクスカルシウム (以下本薬) は、本剤の製造に用いられる原薬であり、[redacted]%の本薬と [redacted]%のキサンタンガムから構成されている。本薬は、小粒 (平均約 100 μm) で膨らみの少ない球状のビーズからなる流動性のある粉末である。原薬は、アニオンポリマー (活性部位) とカルシウム-ソルビトール対イオン複合体から構成されている。活性部位は、非吸収性のカチオン交換ポリマーで、大腸の内腔でカリウムと結合し、便中のカリウム排泄量を増加させることにより、カリウムを体外に排出し、血清カリウム濃度を低下させる。

開発初期に実施したいくつかの毒性試験では、アニオンポリマーがカルシウムと複合化した形態 (ソルビトールを含まない) の原薬が使用された。この形態は、「パチロマーカルシウム」と命名された。これら初期の研究は、本薬とパチロマーカルシウムの活性部位が同じ (すなわち、パチロマーカルシウムアニオンポリマー) であることから、本薬の安全性を裏付けている。本薬を投与した試験では、パチロマーカルシウムを投与した試験と比較できるように、投与量はパチロマーカルシウムとして表されている (すなわち、水とソルビトールの含有量を調整している) 。

2.6.6.1.1 非臨床毒性プログラム

本薬の非臨床試験プログラムは、反復投与毒性試験 (ラット及びイヌにおける短期及び慢性試験) 、遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験を含む包括的な毒性試験から構成された (第 2.6.7.1 項) 。非臨床毒性試験は、必要に応じて、ICH (International Council on Harmonization) 及び GLP (Good Laboratory Practice) のガイドラインに準拠して実施された。非臨床毒性試験の期間は、ICH S4 ガイドラインで推奨されている臨床投与の裏付けとなる期間を満たしていた。毒性試験では、予定臨床投与経路である経口投与が用いられた。最高用量は、体重 (kg) あたりの投与可能な用量として設定した。

ラット及びイヌを対象とした 4 週間試験及び慢性 (26 週及び 39 週) 毒性試験では、いずれの種においても、最高用量で有害作用や異常な病理学的所見 (肉眼又は組織学) は認められなかった。無毒性量 (NOAEL) は、4 週間試験では、ラットで 15 g/kg/日を超える量、イヌで 7 g/kg/日を超える量、慢性毒性試験では、ラットで 5 g/kg/日を超える量、イヌで 3.75 g/kg/日であった。安全域を FDA ガイダンスを参考に mg/kg 換算で算出すると (FDA, 2005、Mordenti, 1986) 、ラット及びイヌを用いた慢性反復投与毒性試験における NOAEL は、アニオンポリマーとしての最大推奨臨床投与量 (MRHD) である 25.2 g/日をそれぞれ約 10 倍及び 7.5 倍上回る。

パチロマーカルシウムの遺伝毒性を評価するために、細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames) 、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) を用いた染色体異常試験、及び *in*

vivo ラット小核試験を実施した。パチロマーカルシウムは、Ames 試験では 5,000 µg/plate まで変異原性陰性であり、染色体異常試験及びラット小核試験では染色体異常誘発性陰性であった。そのため、遺伝毒性に関する全体的な可能性は無視できると考えられる。更に、パチロマーカルシウムは、ウサギでは 3 g/kg/日、ラットでは 6 g/kg/日の投与可能な最大量の投与でも催奇形性はなく、ラットでは 5 g/kg/日で投与しても受胎能への影響は認められなかった。

パチロマーカルシウムのポリマーは非吸収性であり、局所的な消化管毒性がないため、発がん性試験及び出生前·出生後の発生に関する試験は実施しなかった。

本薬中の 14 種類の想定不純物について毒性評価を実施した。毒性評価は、文献情報の全般調査、*in silico* 計算解析、及び Ames 試験によって実施した。毒性評価の結果は、原薬中の不純物の同定、分類、管理するための詳細かつ体系的なアプローチの一部として使用された（第 3.2.S.3.2 項参照）。

本項で述べた毒性試験の概要を表 1（及び 2.6.7.1 項）に示す。本薬の毒性プログラムを構成する一連の試験は、米国、欧州及び日本の各規制当局に相談し、本剤の新薬承認申請（NDA）をサポートするのに十分であることを確認した

表 1.　毒性プログラム

試験の種類及び期間	GLP	投与経路	動物種
反復投与毒性試験			
漸増試験（1 日 2 回、各用量 1 日 ）	適	経口（ カプセル ）	イヌ
10 日間	適	経口（ カプセル ）	イヌ
2 週間	適	経口（ 混餌 ）	ラット
4 週間	適	経口（ ラット: 混餌、イヌ: カプセル ）	ラット、イヌ
26 週間	適	経口（ 混餌 ）	ラット
39 週間	適	経口（ カプセル ）	イヌ
遺伝毒性試験			
In vitro 復帰突然変異試験	適	*In vitro*	*S. typhimurium* *E. coli*
In vitro 染色体異常試験	適	*In vitro*	CHO 細胞
In vivo 小核試験	適	強制経口	ラット
生殖·発生毒性試験			
受胎能及び初期胚発生試験	適	経口（ 混餌 ）	ラット
胚·胎児発生試験	適	強制経口	ラット、ウサギ
その他の試験			
不純物-遺伝毒性試験（*in vitro* 復帰突然変異試験 ）	適	*In vitro*	*S. typhimurium* *E. coli*
不純物-毒性評価	非	非該当	非該当

CHO: チャイニーズハムスター卵巣、GLP＝Good Laboratory Practice

本項に記載されている試験のいくつかは[redacted]が実施あるいは試験委託者となっている。本化合物の開発権は 20[redacted]年[redacted]月に Relypsa 社に譲渡された。[redacted]が実施した試験報告書では、パチロマーカルシウムを[redacted]というコード番号で表記しているが、本化合物はパチロマーカルシウムと同一である。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

本薬は、消化管から吸収されない高分子医薬品である。他の高分子医薬品と同様に、毒性はほとんどないと予想されたため、単回投与（ 急性 ）毒性試験は実施しなかった。イヌを用いた用量漸増試験（ 第 2.6.6.3.5 項参照 ）を実施し、最大耐量又は投与可能な最大量を決定した（ 第 2.6.7.6 項も参照 ）。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

ラット及びイヌを用いた反復投与による毒性試験（第 2.6.7.6 項及び第 2.6.7.7 項参照）を実施した。これらは表 2 に要約されており、詳細は以下の通りである。

動物には、原薬を混餌、カルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁又はカプセルに入れて経口投与した。毒性試験の一環として、投与製剤中のポリマーの安定性を、製剤中の総カルシウム量の経時的な比較により評価した。また、餌、CMC 並びにゼラチンカプセル中のパチロマーカルシウム及び本薬の総合的評価のサポートとして、毒性試験で使用された保存条件下で、製剤の機能的活性（カリウム結合能）の維持に基づく安定性が実証された（RLY-TR-0134）。

原薬は全身性の吸収が認められないため、反復投与毒性試験においてトキシコキネティクス評価は実施しなかった（第 2.6.4.3 項参照）。

表 2.　反復投与毒性試験

報告書番号	投与経路	動物種	性: 例数/群	投与期間	目標用量 g/kg/日	無毒性量
TR 350-07-009	経口（ 混餌 ）	ラット	雄: 5、雌: 5	2 週間＋2 週間回復	0, 4, 8, 10, 15	17.6 g/kg/日を超える量
TR 350-07-010	経口（ 混餌 ）	ラット	0, 15 g/kg/日: 雄: 15, 雌: 15 4, 10 g/kg/日: 雄: 10, 雌: 10	4 週間＋2 週間回復	0, 4, 10, 15	未確定 [a]
TR 350-07-018	経口（ 混餌 ）	ラット	0, 15 g/kg/日: 雄: 15, 雌: 15 4, 10 g/kg/日: 雄: 10, 雌: 10	4 週間＋2 週間回復	0, 4, 10, 15	15 g/kg/日を超える量
TR 350-09-001	経口（ 混餌 ）	ラット	0, 5 g/kg/日: 雄: 20, 雌: 20 1, 2.5 g/kg/日: 雄: 15, 雌: 15	26 週間＋4 週間回復	0, 1.0, 2.5, 5.0	5 g/kg/日を超える量
TR 350-07-011	経口（ カプセル ）	イヌ	第 1 段階: 雄 1, 雌 1 第 2 段階: 雄 2, 雌 2	第 1 段階: 1 日 第 2 段階: 10 日間	第 1 段階: 2, 4, 7 第 2 段階: 7	7 g/kg/日を超える量 [b]
TR 350-07-015	経口（ カプセル ）	イヌ	対照及び高用量: 雄 5, 雌 5 低及び中間用量: 雄 3, 雌 3	4 週間＋2 週間回復	0, 1, 3, 7	無作用量 3 g/kg/日 [a]
TR 350-07-019	経口（ カプセル ）	イヌ	対照及び高用量: 雄 5, 雌 5 低及び中間用量: 雄 3, 雌 3	4 週間＋2 週間回復	0, 1, 3, 7	7 g/kg/日を超える量
TR 350-10-001	経口（ カプセル ）	イヌ	対照及び高用量: 雄 5, 雌 5 低及び中間用量: 雄 3, 雌 3	39 週間＋4 週間回復	0, 1, 2, 3.75	3.75 g/kg/日

a: この試験で使用した原薬のロットには、[redacted]トルエンが高濃度に残留していた。[redacted]

b: 最大耐量又は投与可能な最大量

2.6.6.3.1　ラット 2 週間用量設定反復投与毒性試験（TR 350-07-009）

当試験（TR 350-07-009、2-Week Dietary Dose Range-Finding Toxicity Study with RLY5016 in Rats with a 2-Week Recovery）では、パチロマーカルシウム（すなわち、カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー）を含む飼料をラットに 2 週間混餌投与した場合の嗜好性及び試験物質の潜在的な毒性を評価した。更に、2 週間の回復後、あらゆる影響の可逆性、持続性、遅発性を評価した。

Crl: CD（SD）ラットを用い 1 群雌雄各 5 匹に、パチロマーカルシウムを目標用量である 0、4、8、10 及び 15 g/kg/日で 14 日間混餌投与した。14 日間投与後、各群雌雄各 2 匹について 14 日間の観察期間を設けた。毒性評価は、死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量及び臨床検査の結果に基づいて行った。

摂餌量と体重データから算出した平均投与量は、雄が 0、4.3、8.8、11.3 及び 18.2 g/kg/日、雌が 0、4.1、8.4、11.0 及び 17.0 g/kg/日であった。

全ての動物は剖検予定日まで生存した。パチロマーカルシウムの目標用量である 10 及び 15 g/kg/日群の平均摂餌量が用量に伴って増加したことを除いて、検討したいずれのパラメーターにも被験物質に関連する影響は見られなかった。摂餌量の増加は、飼料中の被験物質が多いことによる飼料の単位重量あたりの栄養低下を反映しており、有害作用とは考えられなかった。被験物質に関連した臨床検査所見や解剖病理学的所見（肉眼所見、組織学的所見及び器官重量の変化）は、投与後あるいは回復期には観察されなかった。

結論として、パチロマーカルシウムを含む飼料は、目標用量である 15 g/kg/日まで嗜好性があった。当試験では、パチロマーカルシウムをラットに 2 週間混餌投与した場合の無毒性量は 17.6 g/kg/日を超える量であった。

2.6.6.3.2　ラット 4 週間反復投与毒性試験（TR 350-07-010）

当試験（TR 350-07-010、RLY5016: 4-Week Dietary Toxicity Study in Rats with a 2-Week Recovery）では、パチロマーカルシウム（すなわち、カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー）をラットに 4 週間混餌投与した場合の毒性を評価し、2 週間の回復後にあらゆる影響の可逆性、持続性あるいは遅発性を評価した。当試験は、[redacted]製造されたパチロマーカルシウムのロット（Lot No. [redacted]）を用いて実施された（TR 350 07-010、付録 3）。当試験の毒性所見発現に対してその[redacted]の関与が疑われたものの、使用したパチロマーカルシウムに残留していたトルエン量はわずかであり、当該試験の毒性発現の原因特定には至らなかった。4 週間反復投与毒性試験については、[redacted]ロットのパチロマーカルシウムを用いて再実施された。[redacted]

雌雄の Crl: CD（SD）ラットを 4 群に分けた（対照及び高用量群は 15 匹/性/群、低及び中間用量群は 10 匹/性/群）。対照群（Group 1）には、パチロマーカルシウムを含まない飼料のみを与えた。投与群（低（Group 2）、中間（Group 3）及び高（Group 4）用量群）には、パチ

ロマーカルシウムを目標用量である 4､10 又は 15 g/kg/日となるよう､それぞれ混餌投与した。4 週間投与後、各群雌雄各 10 匹を剖検し、更に Group 1 の雌雄各 5 匹及び Group 4 の雌雄各 4 匹を投与後 2 週間の回復期間をおいて剖検した。毒性評価は、死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学検査、臨床検査及び解剖病理学検査結果に基づいて行った。

摂餌量が減少したため (特に中間及び高用量) 、Group 2､3 及び 4 の実際の平均投与量は、雄では 4.0、7.5 及び 8.9 g/kg/日、雌では 4.1、8.0 及び 11.8 g/kg/日となった。

高用量のラット 2 匹は、投与 10 日目に雄 1 匹、投与 16 日目に雌 1 匹を切迫屠殺した。随伴する一般症状は、自発運動の抑制及び円背であった。投与に関連した一般症状は主に高用量のラットに見られ、削痩、被毛粗剛、目を細める等が見られた。雄では低用量 (88%) 、中間用量 (68%) 及び高用量 (51%) 、雌では中間用量 (97%) 及び高用量 (76%) で有意に低かったことから、用量に伴った摂餌量の減少は、飼料中被験物質量が嗜好性に悪影響を及ぼしたと推察された。摂餌量減少に伴い平均体重増加量も減少した。4 週間投与後、低、中間及び高用量のラットの平均体重は、それぞれ雄が対照群の 82%、66%及び 48%、雌が対照の 94%、84%及び 73%であった。2 週間の回復期間において、高用量群では投与期間中と比較して摂餌量及び体重増加量が顕著に増加した。

臨床検査データにおける投与に関連した変化は、主に中間及び高用量群で観察されたが、わずかな変化が低用量群の個体にも見られた。これらパラメーターの値は､2 週間の回復期間後、対照群と高用量群の間でほぼ同等であった。4 週間投与後、低又は高用量群の腎臓、大腿骨、胸骨、骨髄 (大腿骨及び胸骨) 、胃及び精巣に、飼料中パチロマーカルシウムに起因する病理組織学的所見が認められた。また、ストレスや体調悪化に起因すると思われる二次的な変化として、高用量群では前立腺、精嚢、子宮、唾液腺、膵臓の萎縮並びに脾臓や胸腺のリンパ球の減少又は壊死が見られた。2 週間の回復期間後、投与に関連した腎臓、胃、精巣、大腿骨、骨髄 (大腿骨及び胸骨) の変化が認められた。高用量回復群では、一般状態悪化やストレスに関連すると考えられる二次的な病理組織学的変化の全てが減少あるいは消失した。

結論として、パチロマーカルシウム (Lot No. [redacted]) の無毒性量は、パチロマーカルシウムを混餌投与したラットの腎臓及び胃の病理組織学的所見に基づいて、4 週間投与では設定できなかった。2.6.6.3.1 項で検討した 2 週間用量設定試験 (TR 350-07-009) で同様の所見が認められなかったことから、4 週間反復投与毒性試験については、[redacted] ロットのパチロマーカルシウムを用いて再実施された。

2.6.6.3.3　ラット 4 週間反復投与毒性試験 (TR 350-07-018)

最初の 4 週間ラット毒性試験 (TR 350-07-010) で予想外の結果が得られたため、[redacted] パチロマーカルシウムのロット (Lot No. [redacted]) で試験を再度実施した。当試験 (TR 350-07-018、RLY5016: 4-Week Dietary Toxicity Study in Rats with a 2-Week Recovery) では、パチロマーカルシウム (カルシウム対イオンと複合体したアニオンポリマー) をラットに 4 週

間混餌投与した場合の毒性を評価し、2 週間の回復後にあらゆる影響の可逆性、持続性又は遅延性を評価した。

雌雄の Crl: CD (SD) ラットを 4 群に分けた (対照及び高用量群は 15 匹/性/群、低及び中間用量群は 10 匹/性/群) 。対照群 (Group 1) には、パチロマーカルシウムを含まない飼料のみを与えた。投与群 (低 (Group 2) 、中間 (Group 3) 及び高 (Group 4) 用量群) には、パチロマーカルシウムを目標用量 4、10 又は 15 g/kg/日となるよう、それぞれ混餌投与した。4 週間投与後、各群雌雄各 10 匹を剖検し、更に対照群の雌雄各 5 匹及び高用量群の雌雄各 4 匹を投与後 2 週間の回復期間をおいて剖検した。毒性評価は、死亡率、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学検査、臨床検査及び解剖病理学的検査結果に基づいて行った。

当混餌投与試験では、摂餌量に対する影響は認められなかった。Group 2、3 及び 4 における 4 週間のパチロマーカルシウムの平均投与量は、雄では 3.4、8.6 及び 12.8 g/kg/日、雌では 3.7、9.0 及び 13.9 g/kg/日であった。

パチロマーカルシウムに関連した死亡例、一般状態あるいは眼科学観察所見、体重や体重増加に対する有害作用は、投与あるいは回復期間中に認められなかった。目標用量である 4、10 及び 15 g/kg/日のパチロマーカルシウムを投与したラットでは、平均摂餌量の用量に伴う有意な増加が認められた。これら結果は、2 週間用量設定試験 (TR 350-07-009) の 10 及び 15 g/kg/日投与群で認められた結果と同様であった。摂餌量の増加は、飼料中の被験物質が多いことによる飼料の単位重量あたりの栄養低下を反映しており、有害作用とは考えられなかった。高用量群の平均摂餌量は、回復期において対照群と有意な差はなかった。パチロマーカルシウムに関連した血液学的パラメーターへの影響はなかった。総タンパク質及びアルブミンは高用量群の雌で有意に低く、尿中カルシウム排泄量は高用量群の雌雄で高かった。カルシウムはパチロマーカルシウムのポリマーと結合する対イオンであるため、尿中カルシウム排泄量の上昇は想定内の変化であった。高用量群の雌の尿中カルシウム排泄量を除いて、総タンパク質、アルブミン及びカルシウム排泄量は、回復 15 日目には対照群と 15 g/kg/日群は同程度であった。これら実験値の違いに組織学的相関関係はなく、平均値は回復 15 日目には対照群の値と同様であったため、毒性とは判断しなかった。投与又は回復期間後に剖検したラットにおいて、パチロマーカルシウムに関連した器官重量、肉眼又は組織学的所見の変化はなかった。

要約すると、パチロマーカルシウム (目標用量 0、4、10 及び 15 g/kg/日) を 4 週間混餌投与したラットでは、死亡率や一般状態あるいは眼科学観察においてパチロマーカルシウムに関連した変化は見られず、体重、体重増加量、摂餌量、臨床検査値に有害作用を及ぼさず、肉眼又は組織学的変化も見られなかった。したがって、当試験におけるパチロマーカルシウムの無毒性量は 15 g/kg/日を超える量であった。

2.6.6.3.4　ラット 26 週間反復投与毒性試験 (TR 350-09-001)

当試験 (TR 350-09-001、26-Week Dietary Toxicity Study with RLY5016S in Rats with a 4-Week Recovery Period) では、本薬をラットに 26 週間混餌投与した場合の毒性を評価し、4 週間の回復期間後にあらゆる影響の可逆性、持続性又は遅延性を評価した。当試験で使用した被験物質

は本薬であり、これは申請する原薬（カルシウム-ソルビトール対イオン複合体と複合化したアニオンポリマー）である。

雌雄の Crl: CD（SD）ラットを体重により 4 群に無作為に割り付けた（対照及び高用量群は 20 匹/性/群、低及び中間用量群は 15 匹/性/群）。対照群（Group 1）には、本薬を含まない飼料のみを与えた。投与群（Group 2、Group 3 及び Group 4）には、本薬をそれぞれ目標用量 1.0、2.5 及び 5.0 g/kg/日のパチロマーカルシウム（カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー）として混餌投与した（表 3）。

表 3.　試験デザイン　ラット 26 週試験

Group	動物数[a]		目標用量	おおよその飼料中濃度（g/kg 飼料）[b]			
	雄	雌	g/kg/日	パチロマーカルシウム	%	本薬	%
1（対照）[c]	20	20	0	0	0	0	0
2（低用量）	15	15	1.0	20	2	36.4	3.6
3（中間用量）	15	15	2.5	50	5	91.0	9.1
4（高用量）	20	20	5.0	100	10	182.0	18.1

a 回復期剖検のために割り当てた動物（Group 1 及び Group 4 の最後の雌雄各 5 匹）は、投与後 4 週間の回復期間を設けた。

b 目標用量は、使用した被験物質のロットのソルビトールと水の含有量に応じて、1.82、1.75、1.72 の補正係数に基づき、パチロマーカルシウム及び本薬として示した。本薬の目標用量は、試験の中間点（~13 週目）のラットの体重と摂餌量に基づいて設定した。

c Group 1 は、本薬を含まない飼料のみ与えた。

当試験で使用した高用量は、前回の 4 週間試験で使用した高用量の 1/3 量であった。本用量は、飼料中被験物質濃度が比較的高いことによる栄養摂取量の低下を懸念して選択した。4 週間試験では、目標用量の 15 g/kg/日群の 4 週目の被験物質濃度は、飼料の約 20%であった。26 週間試験の途中で予想される体重と摂餌量の値から、目標用量である 5 g/kg/日の飼料中被験物質濃度は、飼料の約 10~12%になると考えられた。目標用量である 5 g/kg/日に達するために必要な比較的高濃度の被験物質による栄養損失（飼料 1 g あたり）を補うために、高用量群のラットは 26 週間試験でより多くの飼料を摂餌することが 4 週間試験結果から予想された。当試験では、目標用量の 5 g/kg/日は、25.2 g/日のアニオンポリマーに相当するパチロマーカルシウムの最大推奨臨床投与量（MRHD）30 g/日（60kg のヒトを想定、0.5 g/kg/日）と比較して、約 10 倍の安全域を確保した。

パチロマーカルシウム（カルシウムを対イオンとするアニオンポリマー）で示された飼料濃度は、第 1 週と第 2 週では体重と摂餌量の予測値に基づいて、雌雄別に計算され、その後の飼料濃度は、過去のデータ収集で得られた 1 群（雌雄別）の体重と摂餌量の実データを用

いて算出した。毒性評価は、死亡率、一般症状、体重、摂餌量、眼科学検査、臨床検査及び解剖病理学的検査に基づいて実施した。

平均実投与量は、体重と摂餌量の測定値に基づいて推定した（ 表 4）。

表 4.　パチロマーカルシウム暴露 - 実投与量

Dose Group	目標用量（g/kg/日）[a]	平均実投与量（g/kg/日）	範囲（g/kg/日）
Group 2　雄	1.0	1.010	0.842 - 1.103
Group 3　雄	2.5	2.523	2.065 - 2.807
Group 4　雄	5.0	5.072	4.457 - 5.632
Group 2　雌	1.0	1.002	0.882 - 1.116
Group 3　雌	2.5	2.517	2.248 - 2.832
Group 4　雌	5.0	5.026	4.524 - 5.804

a ラットには本薬を投与したが、目標投与量はパチロマーカルシウム（ カルシウムを対イオンとするアニオンポリマー ）に基づいて計算した。

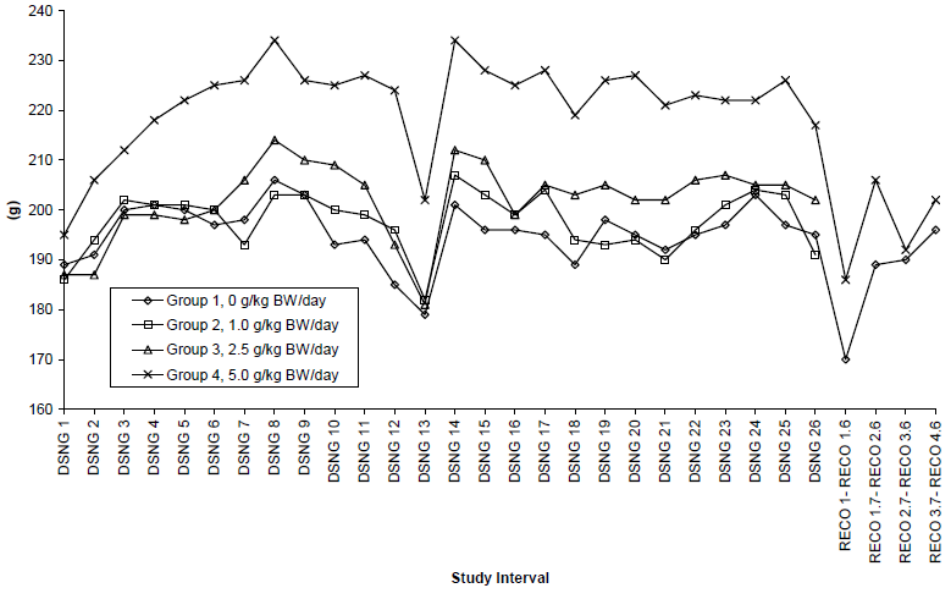
本薬に関連した死亡例は認められなかった。2.5 g/kg/日群の瀕死動物（ 雄 ）は、投与 122 日目にケージによる傷害に起因した頭蓋骨骨折のため安楽死させた。臨床検査所見では、好中球数及びグルコースがわずかに高く、ストレス反応を反映していると考えられた。対照群の雄動物 1 匹が回復 29 日目に死亡した。この動物の死因は特定できなかった。その他の動物はすべて計画剖検日まで生存した。

投与あるいは回復期間中に、用量に伴う一般症状変化は見られなかった。

雄では、2.5 及び 5.0 g/kg/日投与群で、投与 24 週目の平均体重増加量がわずかに減少したことを除いては、投与期間あるいは回復期間のいずれにおいても、本薬に関連した平均体重又は体重変化の平均値に変化は認められなかった。雌では、体重変化の平均値が、対照群と比較して、投与 10 週目で有意に減少し、投与 11 週目で有意に増加した。この変化は、その方向と期間が一貫していなかったため生物学的意義のある変化とは判断しなかった。

2.5 及び 5.0 g/kg/日投与群では、対照群と比較して、本薬に関連した摂餌量の増加が認められた（ 図 1）。摂餌量の増加について、投与期間中、5.0 g/kg/日群の雌雄で概ね統計学的に有意に増加し、2.5 g/kg/日群（ 主に雌 ）では散発的ではあるが有意な増加が認められた。回復期間の前半の 2 週間は、5.0 g/kg/日群雄の摂餌量が有意に増加したが、回復期間の後半の 2 週間は対照群と同様の値まで減少した。5.0 g/kg/日群雌の平均摂餌量は、回復全期間において対照群と同程度であった。投与期間中の摂餌量増加は、飼料中の被験物質濃度が高いことによる栄養面の低下（ 重量ベース ）を反映していると考えられ、これら投与量で平均体重又は体重増加量に影響がないことは予想通りであった。対照群を含む全ての群で、投与 13 週目と回復第 1 週目に認められた摂餌量の減少は、予定していた臨床検査のために絶食した結果、試験期間中に動物が摂餌可能な日数が短くなったことによるものであった（ 摂餌量は 7 日間ではなく 6 日間で測定した ）。

雄



雌

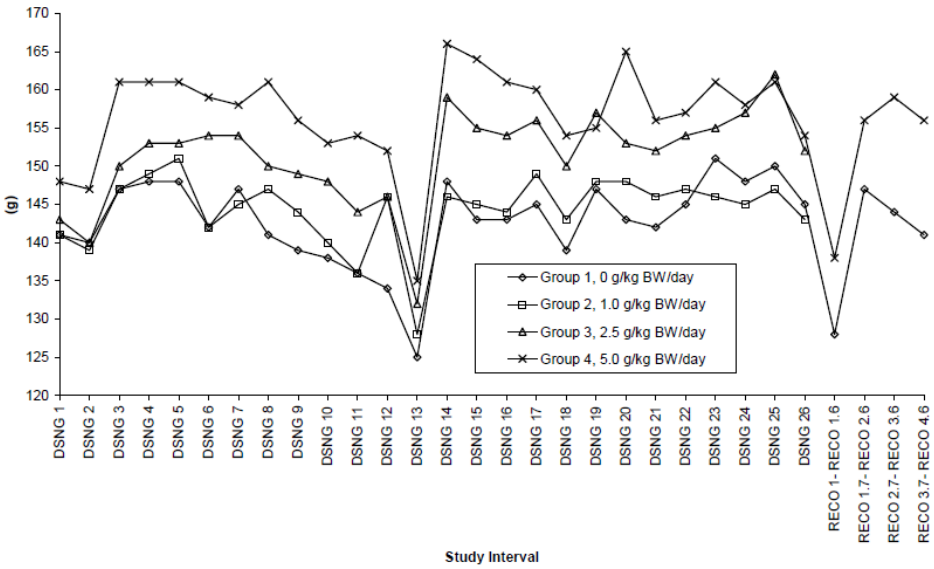


図 1.　　平均摂餌量

BW: 体重

注釈: 投与 13 週目及び 27 週目には、動物を一晩絶食させ、予定していた評価を行った。

出典: TR 350-09-001、Figure 3 及び Figure 4

眼科学検査では、対照群の雄 1 匹及び各投与量における雌 1 匹に淡い線状の筋が認められたが、投与前の眼科学検査では所見がなかった。回復期間に、対照群の雄 1 匹に淡い線状の筋が認められたが、対照及び 5.0 g/kg/日群の雌には認められなかった。本薬投与群の眼科学的所見

は、用量に伴う反応が認められなかったため、投与とは無関係と判断した。

本薬の投与は、投与期間又は回復期間いずれにおいても臨床検査結果に顕著な影響を及ぼさなかった。対照及び投与群間で、臨床検査パラメーターにいくつかの統計学的有意差が認められたが、それらの重要度は小さく、多くの場合一過性であり、雌雄間で一貫性がなく、用量依存的な反応を示さなかったため、本薬の影響とは判断しなかった。

また、投与又は回復期間終了時において、投与に関連した器官重量の変化は認められなかった。統計学的に有意な器官重量の変化がわずかにみられたが、肉眼及び/又は組織学的相関性を持たず、生理学的変動の範囲内の変化であった。本薬に関連した肉眼的又は組織学的所見はなかった。

試験データに有害な被験物質に関連する所見がないことから、本薬をラットに 26 週間混餌投与した場合の無毒性量は、5.0 g/kg/日 (パチロマーカルシウムとして) を超える量と判断した。

2.6.6.3.5　イヌ漸増用量設定試験 (TR 350-07-011)

当試験 (TR 350-07-011、Escalating Oral Capsule Dose Range-Finding Toxicity Study with RLY5016 in Dogs) は、雌雄ビーグル犬にパチロマーカルシウム (カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー) を漸増投与 (第 1 段階) 及び 10 日間反復投与 (第 2 段階) したときの毒性、最大耐量又は投与可能な最大量を評価した。

第 1 段階では、雄 1 匹及び雌 1 匹にパチロマーカルシウムを 1 日 2 回 (約 4 時間間隔) カプセル投与し、1 日目 (2 g/kg/日) 、4 日目 (4 g/kg/日) 及び 7 日目 (7 g/kg/日) と漸増投与した。第 2 段階では、雌雄各 2 匹に 1 日 2 回 (約 4 時間間隔) 、7 g/kg/日のパチロマーカルシウムを 10 日間カプセル投与した。両段階において、死亡率、一般症状、体重、摂餌量、臨床検査及び解剖病理学的評価 (第 2 段階のみ) を行った。

第 1 段階では、2 匹は予定した 9 日目まで生存した。雄では、各漸増投与後 (2 日目、6 日目及び 8 日目) に不整形の便が観察された。体重及び摂餌量に影響はなかったが、8 日目には 2 匹共に摂餌量がわずかに減少した。パチロマーカルシウムに関連した臨床検査パラメーターの変化はなかった。

第 2 段階では、全ての動物が剖検予定の 11 日目まで生存した。試験終了近くに雄 1 匹と雌 2 匹で乾燥した粒状便が認められた。また、9 日目に雌 1 匹で液状及び粘液状便が観察された。これらの一般症状は投与に関連したものと考えられたが、毒性とは判断しなかった。雌 1 匹の体重が 9%減少し、1 日目から 11 日目までの平均摂餌量が有意に減少した。第 2 段階における他の個体では、個々の体重及び摂餌量に顕著な変化は見られなかった。被験物質に関連した臨床検査、肉眼又は組織学的所見は認められなかった。

7 g/kg/日を 10 日間投与した動物には、1 カプセルあたり 4.2~5.5 g のパチロマーカルシウムを充填できるゼラチンカプセルを 4~6 個 (サイズ 12) を 1 日 2 回投与した。このカプセル数がイヌに投与可能な限界であることがわかった。したがって、当試験では、投与可能な最大量

である 7 g/kg/日に達した。ビーグル犬におけるパチロマーカルシウムの最大耐量は、7 g/kg/日を超える量と判断した。

2.6.6.3.6　イヌ 4 週間反復投与毒性試験（TR 350-07-015）

当試験（TR 350-07-015、4-Week Oral Capsule Toxicity Study with RLY5016 in Dogs with a 2-Week Recovery）は、雌雄ビーグル犬にパチロマーカルシウムの 1、3 及び 7 g/kg/日を 1 日 1 回、ゼラチンカプセル（サイズ 12）を用いて 4 週間経口投与したときの毒性を評価し、2 週間の回復期間後にあらゆる影響の可逆性、持続性又は遅延性を評価した。当試験は、[redacted]製造されたパチロマーカルシウムのロット（Lot No. [redacted] 及び Lot No. [redacted]）を用いて実施した（TR 350-07-015、付録 3）。当試験の毒性所見発現に対して[redacted]の関与が疑われたものの、使用したパチロマーカルシウムに残留していたトルエン量はわずかであり、当該試験の毒性発現の原因特定には至らなかった。4 週間反復投与毒性試験については、[redacted]ロットのパチロマーカルシウムを用いて再実施された[redacted]

イヌ（N=32）を 4 つの Group のいずれかに割り当てた（Group 1 及び Group 4 では雌雄各 5 匹、Group 2 及び Group 3 では雌雄各 3 匹）。Group 1（対照群）には空カプセルを、Group 2、Group 3 及び Group 4 には、それぞれ 1、3 及び 7 g/kg/日のパチロマーカルシウムを含むカプセルを経口投与した。全ての動物は 1 日 2 回（約 4 時間間隔）、4 週間以上投与された（投与期間）。回復群に割り当てられた動物は、投与後 2 週間の回復期を経て剖検した。毒性評価は、死亡率、症状観察、体重、摂餌量、眼科学的所見、心電図所見、臨床検査及び解剖病理学的所見に基づいて行った。

全ての動物は予定終了日まで生存した。低用量（1 g/kg/日）及び中間用量（3 g/kg/日）の動物には顕著な一般症状は見られなかった。高用量（7 g/kg/日）では、投与 8 日後に大部分の動物に脱水、削痩、自発運動の抑制、顆粒状及び/又は乾燥便など顕著な一般症状が見られた。これら一般症状に加え、9 日目に体重が有意に減少したことから、高用量群の投与を中止し、15 日目に 5 g/kg/日で投与を再開した。高用量群では、高い頻度で嘔吐、顆粒状及び/又は乾燥便が観察され、高用量群の雌 2 匹では脱水及び削痩が認められた。これら一般症状は回復期間には顕著ではなかった。

3 g/kg/日まで投与した動物では、体重、体重変化又は摂餌量にパチロマーカルシウムに関連する影響はなかった。パチロマーカルシウムを 7 g/kg/日で投与した動物では、投与 8 日目に体重減少及び体重増加量の有意な減少が認められた。休薬期間中、高用量群では体重が増加し、回復性がみられた。投与を再開（5 g/kg/日）し、体重は増加するかあるいは変化しなかった（雌 2 匹を除く）。高用量群の平均体重は回復期間に増加し、摂餌量への影響は体重の変化と相関していた。

パチロマーカルシウムに関連した眼科学的所見や心電図所見はなかった。

投与 30 日目及び/又は 43 日目の臨床検査データにおいて、パチロマーカルシウムに関連した可逆的な影響が認められた。これらには、高用量群の数例に認められた赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値及び網赤血球数のわずかな低下、高用量群の雌 2 匹で認められたリンパ球数のわずかな低下が含まれる。血漿を用いた生化学データの可逆的変化としては、高用量群の数例で ALT がわずかに上昇し、当群の数例の雄とほとんどの雌で総タンパク質、アルブミン及びカルシウムの値がわずかに低下した。また、高用量群の数例では、投与に関連する無機リンの減少が認められた。

パチロマーカルシウムに関連する肉眼的所見は認められず、組織学的変化は、高用量群における肝臓及び胸腺に限られた。これら変化は、肝細胞の軽微~軽度な空胞化及び胸腺の軽微~中等度の退縮であり、いずれも雌にやや多く見られたが、回復期間終了時には認められなかった。

要約すると、ビーグル犬にパチロマーカルシウムを経口カプセルで 1 日 2 回、0、1、3 及び 7 g/kg/日（5 g/kg/日に減量）で 4 週間投与した。パチロマーカルシウムに関連した一般症状、体重及び摂餌量の減少、臨床検査及び病理組織学的変化が高用量群で認められた。当試験におけるパチロマーカルシウムの無作用量は 3 g/kg/日であった。

この試験で使用されたパチロマーカルシウムのロットを分析したところ、トルエンの残留が確認されたため、2 回目のイヌの 4 週間反復投与毒性試験を実施した（TR 350-07-019）。

2.6.6.3.7　イヌ 4 週間反復投与毒性試験（TR350-07-019）

前回のイヌの 4 週間反復投与毒性試験が、残留トルエンを含むパチロマーカルシウムを用いて実施されたことが判明した後、この追加試験（TR 350-07-019、4-Week Oral Capsule Toxicity Study with RLY5016 in Dogs with a 2-Week Recovery）が実施された。目的及びデザインは前回のイヌの 4 週間試験と同様であったが、当試験では[redacted]製造された原薬ロット（Lot No. [redacted]）を使用した。

雌雄ビーグル犬に、パチロマーカルシウムを 0、1、3 又は 7 g/kg/日で 4 週間投与した。計 32 匹の動物に 1 日 2 回カプセルを経口投与した。低及び中間用量群（パチロマーカルシウムの 1 及び 3 g/kg/日）は、各群雌雄各 3 匹で構成し、対照群（パチロマーカルシウムなし）及び高用量群（パチロマーカルシウムの 7 g/kg/日）は、各群雌雄各 5 匹で構成した。4 週間投与後、各群雌雄各 3 匹を剖検した。対照及び高用量群の残りの雌雄各 2 匹は、2 週間の回復後に剖検した。毒性評価は、死亡率、一般症状、体重、摂餌量、眼科学所見、心電図所見、臨床及び解剖病理学的検査に基づいて行った。

パチロマーカルシウムに関連した死亡例、眼科学、心電図、臨床検査パラメーター、器官重量、肉眼又は病理組織学的所見に影響はなかった。

高用量群の雌 1 匹を除いて、パチロマーカルシウムに関連した体重や摂餌量への影響は認められなかった。高用量群の雌 1 匹は、試験の第 1 週目に摂餌量が減少したことによる体重減少を示したため、投与は 8 日目に中止し、11 日目に再開した。体重減少は速やかに回復し、病

理学的所見も認められなかったことから、この動物の体重減少及び摂餌量減少は投与に関連したものであるが、毒性とは判断しなかった。

一般症状は、中間及び高用量群に顆粒状及び乾燥便が数回認められただけで、これら所見は投与に関連していると考えられたが、毒性とは判断しなかった。当試験条件下での無毒性量は7 g/kg/日を超える量であった。

2.6.6.3.8　イヌ 39 週間反復投与毒性試験（TR 350-10-001）

当試験（TR 350-10-001、39-Week Oral (Capsule) Toxicity Study with RLY5016S in Dogs with a 4-Week Recovery Period）は、イヌに本薬を 1 日 2 回、ゼラチンカプセル（サイズ 11 及び 12）を用いて 39 週間経口投与したときの毒性を評価し、4 週間の回復後にあらゆる影響の可逆性、持続性又は遅延性を評価した。当試験で使用した被験物質は、申請する原薬（カルシウム-ソルビトール対イオン複合体と複合化したアニオンポリマー）であるパチロマーソルビテクスカルシウム（本薬）である。

雌雄ビーグル犬に、1 日当たりの目標投与量が 0、1、2 又は 3.75 g/kg/日となるように適切な量の本薬（カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー）を 39 週間投与した（表 5）。計 32 匹の動物に、1 日 2 回、4 時間以上の投与間隔をおいてカプセルを経口投与した。低及び中間用量群（それぞれパチロマーカルシウムの 1 及び 2 g/kg/日）は各群雌雄各 3 匹で構成され、対照群（パチロマーカルシウムなし）及び高用量群（パチロマーカルシウムの 3.75 g/kg/日）は各群雌雄各 5 匹で構成された。当試験で使用した高用量は、投与可能な最大用量（パチロマーカルシウムを約 30 g/日、8 kg のイヌであれば 3.75 g/kg/日のパチロマーカルシウムを大型カプセル（サイズ 11）6 個で投与）であった。

39 週間の投与後、275 日目に、1 群雌雄各 3 匹を剖検し、4 週間の回復期間を経て、303 日目（回復 29 日目）に残り全ての動物を剖検した。毒性評価は、死亡率、一般症状、体重、摂餌量、眼科学、心電図、臨床及び解剖病理学的検査に基づいて行われた。

表 5.　試験デザイン-39 週間イヌ試験

Group	動物数[a]		投与量[b]（g/kg/日）	
	雄	雌	パチロマーカルシウム	本薬
1（対照）[c]	5	5	0	0
2（低用量）	3	3	1.00	1.710
3（中間用量）	3	3	2.00	3.420
4（高用量）	5	5	3.75[d]	6.413[d]

a 回復期解剖に指定された動物（Group 1 の最後の雄 1 匹と最後の雌 2 匹及び Group 4 の最後の雌雄各 2 匹）は、投与後 4 週間の回復期間を設けた。

b 動物には 1 日 2 回投与した（投与間隔は 4 時間）。目標投与量は、使用した各ロットの補正係数に基づいて、パチロマーカルシウム及び本薬として示した。

c Group 1 には、投与 1 日目からサイズ 11 の空のカプセルを 6 個投与した。

d 高用量群には、投与 1 日目から投与可能な最大用量（パチロマーカルシウム約 30 g/日を大型カプセル（サイズ 11）6 個で投与）が投与された。

試験期間中、投与に関連した死亡例は認められなかった。対照群の雄 1 匹は、273 日目（39 週目）に処置困難な発作が突然発生したため、人道的理由で安楽死させた。このため、4 週間の回復対照群は 4 匹ではなく 3 匹（雄 1 匹、雌 2 匹）となった。それ以外の動物は、計画剖検日まで生存した。

本薬に関連した一般症状として、乾燥した橙色あるいは黄色便があり、これら所見は用量に関連していた。便性状の変化は、4 週間の回復期間には観察されず、イヌの健康状態に影響を及ぼさないことから、毒性とは判断しなかった。その他の一般状態所見は発生率や頻度が低く、用量に関連した反応は見られなかった。

平均体重、体重変化又は平均摂餌量において、本薬に関連する影響は認められなかった。但し、高用量群の雌において、平均体重及び体重変化に影響を及ぼさない程度の平均摂餌量の有意な減少が 2、4、14、15、19 及び 22 週目において認められた。投与カプセルの吐き出しがまれに認められたが、本薬の投与自体に影響することはなかった。

本薬に関連した眼科学及び心電図パラメーターの変化はなかった。

3.75 g/kg/日を投与したところ、雄では、275 日目に尿中ナトリウム排泄量の有意な減少がわずかに認められた。同じ投与量の雌でも同様の傾向が見られたが、有意ではなかった。これら変化は回復 29 日目までに概ね消失し、毒性とは判断しなかった。血液、血液凝固、血液生化学及び尿検査における他の有意な変化は、軽微な程度、散発的、一過性、用量相関性がない反応、又は投与前にも発生したため、毒性学的に重要ではないと考えられた。

統計学的に有意な器官重量の変化は、低及び高用量群の雌における唾液腺の相対重量の増加のみであった。用量相関性がなく、関連する組織学的所見もないことから、毒性学的に重要ではないと考えられた。本薬に関連する肉眼的所見はなかった。

本薬を投与した動物にのみ、毒性ではない病理組織学的所見がいくつか認められた。これら組織学的所見は高用量群で認められ、雌 1 匹の盲腸における中等度の好中球浸潤、雄 1 匹の回腸及び結腸のパイエル板における可染体マクロファージ（tingible body macrophage）の増加、雄 2 匹の膵臓における単細胞壊死の増加などが見られた。これら所見は散発的に発生し、例数も少なかったため、投与との関連性は不明であった。高用量群の雄 2 匹及び中間用量群の雄 1 匹に、精細管の軽度な分節性萎縮が認められた。当所見は、この月齢の無処置雄ビーグル犬で一般的に報告されている所見であり、本薬とは無関係と考えられた（Sato, 2012）。高用量群の雌 1 匹に、心臓の冠動脈に軽度の慢性炎症が見られた。当所見もビーグル犬によく見られる自然発生的な所見であり、同様に本薬とは無関係であると考えられた（Sato, 2012）。回復期剖検において、本薬との関連性を示唆する組織学的所見はなかった。

要約すると、イヌに、パチロマーカルシウムの目標用量 0、1、2 及び 3.75 g/kg/日となるように本薬を経口カプセルで 39 週間反復投与した。被験物質に関連した所見はなく、当試験の無毒性量はパチロマーカルシウムとして 3.75 g/kg/日と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

パチロマーカルシウムの遺伝毒性を総合的に評価するために、表 6 に示すように、*in vitro* 及び *in vivo* の標準的な試験を実施した（ 第 2.6.7.8 項及び第 2.6.7.9 項も参照 ）。

表 6. 遺伝毒性試験

報告書番号	試験の種類	種	投与経路	用量	結果
TR 350-07-012	復帰突然変異（Ames）	*Salmonella typhimurium*、*Escherichia coli*	*In vitro*	用量設定試験: 6.67~5000 µg/plate 代謝活性化有り及び無し 本試験: 33.3~5000 µg/plate 代謝活性化有り及び無し	変異原性なし
TR 350-07-013	染色体異常	チャイニーズハムスター細胞（卵巣）	*In vitro*	用量設定試験: 15.6~500 µg/plate 代謝活性化有り及び無し 本試験: 15.6~500 µg/plate 代謝活性化無し 31.3~500 µg/plate 代謝活性化有り	変異原性なし
TR 350-07-014	骨髄小核試験	ラット	単回経口投与	0、1、3 及び 6 g/kg	変異原性なし

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（AMES 試験）(TR 350-07-012)

細菌を用いる復帰突然変異試験は、用量設定試験及び本試験（ TR 350-07-012、*Salmonella-Escherichia coli*/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with RLY5016 ）の 2 段階で実施した。用量は、試験菌株である *Salmonella typhimurium* TA100 及び *Escherichia coli* WP2*uvr*A を用いた用量設定試験の結果に基づいて選択した。パチロマーカルシウムの 6.67~5,000 µg/plate の 10 用量を、アロクロール誘発ラット肝（ S9 ）ミッ

クス由来のミクロソーム酵素の有無の各条件下で、試験株を用いて評価した。本試験では、*Salmonella typhimurium* strains TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 と *Escherichia coli* strain WP2*uvr*A を試験菌株として使用し、パチロマーカルシウムの用量は 33.3~5,000 µg/plate の範囲で行い、S9 ミックスの有無の各条件下で行った。結果に基づいて、パチロマーカルシウムは細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.2 In vitro 哺乳類染色体異常試験（TR 350-07-013）

パチロマーカルシウムの染色体異常誘発能を、培養したチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO 細胞）を用いて評価した。当試験は、用量設定試験及び本試験の 2 段階で行った（TR 350-07-013、Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells with RLY5016）。

用量設定試験では、処理期間は 3 時間で、処理開始から約 20 時間後に培養液を回収した。15.6、31.3、62.5、125、250 及び 500 µg/mL の濃度で、代謝活性化有無の各条件下で試験を実施した。62.5 µg/mL 以上の濃度で処理した培養液について、染色体異常を解析した。代謝活性化の有無にかかわらず、用量設定試験では染色体異常、倍数性又は核内倍加を有する細胞の有意な増加は認められなかった。

用量設定試験の結果に基づいて、本試験のパチロマーカルシウム用量は、代謝活性化無し 15.6、31.3、62.5、125、250 及び 500 µg/mL、代謝活性化有り 31.3、62.5、125、250 及び 500 µg/mL で実施した。62.5 µg/mL 以上の濃度で処理した培養液について、染色体異常を解析した。処理期間は、代謝活性化無しの場合は約 18 時間、代謝活性化有りの場合は約 3 時間とし、処理開始から約 20 時間後に培養液を回収した。析出は、全ての用量での処置時、代謝活性化有りでは全ての用量での洗浄時、代謝活性化無しでは 62.5 µg/mL 以上の用量での洗浄時及び 125 µg/mL 以上の用量での回収時に観察された。本試験において、代謝活性化の有無にかかわらず、染色体異常、倍数性又は核内倍加を有する細胞の有意な増加は認められなかった。

当試験の結論として、パチロマーカルシウムは、代謝活性化の有無にかかわらず、CHO 細胞に対する染色体の構造異常誘発性は陰性と判断した。

2.6.6.4.3 In vivo 小核試験（TR 350-07-014）

当試験（TR 350-07-014、*In Vivo* Rat Bone Marrow Micronucleus Assay with RLY5016）では、ラット骨髄中の多染性赤血球（PCEs）の小核を検出することにより、パチロマーカルシウムの染色体異常誘発活性及び/又は有糸分裂装置の障害作用を評価した。雄の CD（SD）IGS BR ラットに、パチロマーカルシウムを 0、1、3 及び 6 g/kg の用量で単回経口投与した（5 匹/群）。これら用量は、2-Week Dietary Dose Range-Finding Toxicity Study with RLY5016 in Rats with a 2-Week Recovery（TR 350-07-009）のデータ及び 1%CMC 中で実施可能な被験物質濃度に基づいて選択した。ラット骨髄における小核を有する PCEs の出現頻度を、投与後 24 時間（全用量群）及び 48 時間（高用量群）で評価した。細胞毒性は、各動物の少なくとも最初の 500 個の全赤血球中の PCEs 及び正染性赤血球（NCEs）の数をスコア化することにより評価した。

6 g/kg の投与直後、2 匹の動物に明らかな口腔内分泌物が観察されたが、投与後 1 時間までには消失した。パチロマーカルシウム投与群の残りの全ての動物では、投与直後から適切な採材時点まで異常所見はなかった。

パチロマーカルシウムは、6 g/kg まで投与されたが、骨髄に対して細胞毒性はなく（ PCE : NCE 比の統計学的に有意な減少はなかった ）、小核を有する PCEs は統計的に有意な増加を誘発しなかった。溶媒対照（ 1%CMC ）群では、小核を有する PCEs が約 0.15%未満であり、群平均は背景データ値の範囲内であった。陽性対照であるシクロホスファミドは、溶媒対照と比較して、統計学的に有意な小核を有する PCEs の増加を誘発し、平均値±標準誤差は 3.15±0.23%であった。

結論として、パチロマーカルシウムは、ラット骨髄における小核を有する多染性赤血球の増加は認められなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

本薬は非吸収性であり、39 週間までの反復投与毒性試験においても過形成性変化は認められず、遺伝毒性も認められなかったことから、がん原性試験は実施しなかった。本薬の動物を用いた毒性試験では消化管における組織学的変化は認められず、臨床試験においても本薬の投与に関連した消化管の腫瘍性病変の徴候は認められていない。これまでに実施された試験においてリスク要因も認められていないことから、本薬のがん原性試験の実施は不要と判断した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

本薬の生殖· 発生毒性試験は、ラットにおける受胎能試験、ラット及びウサギにおける催奇形性試験を実施し、投与可能な最大量の投与を行うことによって評価した（ 表 7 ; 第 2.6.7.11 項~第 2.6.7.13 項も参照 ）。いずれの投与量においても影響は認められず、無毒性量はそれぞれの試験で用いた最高用量であった（ 以下に要約 ）。これらの試験結果と、本剤が非吸収性であることから、本薬の出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかった。

表 7.　生殖発生毒性試験

報告書番号	投与経路	種	性: 例数/群	投与期間	パチロマーカルシウム投与量 g/kg/日	無毒性量 g/kg/日
RLY-TR-0006	経口 (混餌)	ラット	雄: 22 雌: 22	雄: 交配前 35 日以上、21 日間の交配期間中及び交配終了日の前日まで(10 週間以上) 雌: 交配前 21 日間以上、21 日間の交配期間中及び妊娠 7 日	0, 1.0, 2.5, 5.0	5.0
TR 350-08-001	強制経口	ラット	雄: 0 雌: 25	妊娠 6-17 日	0, 1, 3, 6	6 を超える量
TR 350-11-001	強制経口	ウサギ	雄: 0 雌: 5	妊娠 7-20 日	0, 1, 3	NA
RLY-TR-0005	強制経口	ウサギ	雄: 0 雌: 20	妊娠 7-20 日	0, 0.5, 1, 3	3[a]

NA: 非該当 (用量設定予備試験)

注釈: パチロマーカルシウムの最大推奨臨床投与量 (MRHD) は、0.5 g/kg/日である。

a 当試験では、無作用量を示した。

2.6.6.6.1　ラット受胎能試験 (RLY-TR-0006)

当試験 (RLY-TR-0006、Dietary Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation with RLY5016S in Rats) では、本薬を雌雄ラットに交配前から交配終了まで (雄は計 70 日間) 、又は妊娠初期まで (雌は 29~50 日) 混餌投与した場合の受胎能及び初期胚発生に対する影響を評価した。雌雄 Crl: CD (SD) ラット (22 匹/群) にパチロマーカルシウムを 0、1.0、2.5 及び 5.0 g/kg/日の目標用量で投与した (表 8) 。

ラット 26 週間反復投与毒性試験 (第 2.6.6.3.4 項) 及びイヌ 39 週間反復投与毒性試験 (第 2.6.6.3.8 項) と同様に、当試験では、カルシウム-ソルビトール対イオン複合体と複合化したアニオンポリマーである本薬を用いた。パチロマーカルシウムの目標摂餌濃度に 1.82 の補正係数を適用して、餌に添加する本薬の実際の量を確認した (表 8) 。本薬は、0、20、50 又

は 100 g/kg/日のパチロマーカルシウム (カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー) の目標投与量となるように適切に添加した。

表 8.　試験デザイン-ラット受胎能及び着床までの初期胚発生への影響に関する試験

Group	動物数		目標投与量 [a]	おおよその摂餌濃度 (g/kg 餌)[b]			
	雄	雌	g/kg/日	パチロマーカルシウム	%	本薬	%
1 (対照)[c]	22	22	0	0	0	0	0
2 (低用量)	22	22	1.0	20	2	36.4	3.6
3 (中間用量)	22	22	2.5	50	5	91.0	9.1
4 (高用量)	22	22	5.0	100	10	182.0	18.1

a 目標投与量はパチロマーカルシウムで示され、試験の中間点 (~6 週目) のラットの体重及び摂餌量に基づいている。

b 正味の 本薬 (ソルビトールと水を含む) の濃度は、1.82 の補正係数に基づいて、あるいは本薬の分析証明書の「原薬含有量」から別の方法で決定した。

c Group 1 には基礎飼料のみ与えた。

一般症状、体重及び摂餌量を評価した。雄及び雌にそれぞれ 5 週間及び 3 週間投与後、交配期間に同じ投与量 Group (対照、低用量、中間用量及び高用量) の雄と雌をペアにした。性周期は、交配前に確認した。交尾を確認した生存雌は、妊娠 13 日目に剖検した。雌動物の子宮は、着床部位の数及び位置、早期及び後期吸収胚数に加え、生存及び死亡胎児数を検査し、卵巣は、黄体数を検査した。被験物質を投与して少なくとも 10 週間後にすべての雄動物を剖検し、生殖器の重量を測定し、Group ごとに生存している最初の 10 匹の雄について精子検査を行った。

本薬の死亡率と投与に関連した一般症状は認められなかった。5 g/kg/日群の雄の平均体重及び体重増加量は、試験期間中に対照群と比較してわずかに減少し、その結果、71 日目に 5 g/kg/日の雄の平均最終体重が有意に減少した。雌の平均体重及び体重増加量は、すべての投与群において、交配前及び妊娠期間を通じて対照群とほぼ同様であった。雄の摂餌量に有意な影響はなかった。5 g/kg/日投与群の雌は、試験 7~14 日と試験 0~21 日及び妊娠 0~7 日と妊娠 0~13 日の間に、平均摂餌量が統計学的に有意に増加したが、この増加は平均体重及び体重増加量には影響しなかった。5 g/kg/日投与群の雄の体重減少と雌の摂餌量増加は、いずれも飼料中の高濃度の本薬に起因する飼料の栄養的側面 (重量ベース) の減少を反映していると考えられた。交尾や妊娠した雌の割合、黄体数、着床部位、胎児の生存率等の帝王切開パラメーターにも影響はなかった。絶対及び相対器官重量に、投与に関連した差はなかった。精子数や運動性パラメーターには、毒性学的に有意な影響はなかった。5 g/kg/日では、対照群と比較して直進速度の有意な減少が観察されたが、投与に関連した精子の運動性や精子数のデータに対する影響は

なく、この用量での妊娠率は背景データの範囲内であった。また、本薬による性周期や受胎能パラメーターへの影響は認められなかった。

結論として、パチロマーカルシウムの受胎能及び初期胚発生に関する無毒性量は、当試験の最高用量である 5 g/kg/日と判断した。

2.6.6.6.2　ラット胚･胎児発生に関する試験（TR 350-08-001）

本試験（TR 350-08-001、Oral Gavage Study for Effects on Embryo-Fetal Development with RLY5016 in Rats）では、胎児器官形成期の妊娠ラットにパチロマーカルシウムを反復経口投与し、母動物及び胚･胎児の発生への毒性及び催奇形性を評価した。雌の Crl: CD（SD）ラットを 4 群（25 匹/群）に割付け、妊娠 6~17 日まで、各群に 1%CMC に懸濁したパチロマーカルシウムを 1、3、6 g/kg/日又は溶媒のみ（1%CMC）を経口投与した。

全ての動物は剖検予定日まで生存し、一般症状、体重、体重増加量並びに摂餌量に対するパチロマーカルシウムに関連した影響はなかった。また、剖検所見、妊娠子宮重量、補正後体重（最終体重から妊娠子宮重量を差し引いた値）並びに妊娠 4~17 日までの体重変化においてもパチロマーカルシウムに関連した影響はなかった。

帝王切開では、すべての雌動物が生存可能な胎児を妊娠していることを確認した。黄体数、着床痕数、着床前･着床後胚損失率、生存胎児数、胎児の性比及び平均胎児体重において特筆すべき所見はなかった。

認められた外表、内臓及び骨格の変異並びに奇形は、本系統のラットにおいては、散発的（研究所における背景データの範囲内）あるいは供給元（[redacted]）においても一般的に認められる所見であると考えられた。

本試験におけるパチロマーカルシウムの母体及び胚･胎児に対する無毒性量は、6 g/kg/日を超える量と判断した。

2.6.6.6.3　ウサギ胚･胎児発生に関する試験（TR 350-11-001 及び RLY-TR-0005）

本試験の用量設定を目的とし、胎児器官形成期（妊娠 7~20 日）の妊娠ウサギに本薬を反復経口投与し、母動物及び胎児の発生への毒性について、探索的試験（TR 350-11-001、Oral Gavage Dose Range-Finding Developmental Toxicity Study with RLY5016S in Rabbits）を実施した。ウサギ（5 匹/群）に、本薬を 0、1 及び 3 g/kg/日の用量（パチロマーカルシウム（カルシウム対イオンと複合化したアニオンポリマー）に換算）で投与した。対照群には溶媒（1%CMC）を投与した。

全ての動物は妊娠 29 日目の剖検予定日まで生存し、本薬に関連した一般症状や母動物の体重、体重増加量、摂餌量並びに肉眼所見について用量に伴う影響はなかった。対照群と比較して、妊娠子宮重量や補正後体重（最終体重から妊娠子宮重量を差し引いた値）について本薬に関連した影響はなかった。また、流産、早産、死亡胎児はいずれも認められず、黄体数や着床痕数、平均吸収胚数あるいは着床後胚損失率に対し本薬に関連する影響はなかった。パチロ

マーカルシウムの 1 及び 3 g/kg/日で、用量依存的な胎児体重の減少が認められ、それぞれ対照群より 7.0%及び 9.2%減少した。胎児の外表異常や奇形は認められなかった。

探索的試験結果に基づき、胎児器官形成期（妊娠 7~20 日）の妊娠ウサギに本薬を 1 日 2 回反復経口投与し、母動物及び胚･胎児への毒性を評価するため本試験（RLY-TR-0005、Oral Gavage Study Effects on Embryo-Fetal Development with RLY5016S in Rabbits）を実施した。ウサギ（20 匹/群）には、本薬を 0、0.5、1 及び 3 g/kg/日の用量（パチロマーカルシウムに換算）で投与した。対照群には溶媒（1%CMC）を投与した。

本薬を投与した全ての動物は、妊娠 29 日目の剖検予定日まで生存した。対照群の 1 例は一般症状の変化なく妊娠 14 日目に死亡し、対照群の 2 例目は努力性呼吸/不整呼吸の一般症状が見られた後、妊娠 12 日目に切迫屠殺した。

本薬に関連する一般症状、母動物の体重及び摂餌量への影響は認められなかった。妊娠 7~9 日に 3 g/kg/日投与群で体重増加量の有意な増加が認められたが、この増加は一過性であり、生物学的意義は不明であった。投与又は妊娠期間終了時の体重変化に有意な差はなかった。妊娠子宮重量に対し被験物質に関連する影響はなく、肉眼所見も認められなかった。

各被験物質投与群に 1 匹の非妊娠ウサギが発生したため、妊娠率は 95%となり、対照群の妊娠率は 100%であった。この妊娠率は、背景データの妊娠率 94%と同等であった。いずれの投与群においても、黄体数、着床痕数、平均吸収胚数、着床後胚損失率や平均胎児体重に対する本薬に関連した影響はなかった。また、投与に関連した胎児の外表、内臓及び骨格の変異並びに奇形は認められなかった。

結論として、ウサギの胚･胎児発生に対する無作用量は、最高用量である 3 g/kg/日と判断した。

2.6.6.7　局所刺激性試験

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において消化管の所見が認められなかったため、本薬の局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　不純物の毒性試験

2.6.6.8.1.1　緒言

原薬である本薬の製造工程中に混入又は生成する可能性のある不純物を特定するために包括的な評価を行った。この評価から、検出される可能性のある不純物のリストを作成した。これらの不純物には、[redacted]である（第 3.2.S.3.2.2 項参照）。各不純物について、それぞれの起源及び毒性評価に基づいた本薬中の最大許容レベルを評価した。各不純物の包括的

な管理戦略を開発するために、必要に応じて挙動や除去効果の研究を含む化学的分析からデータを取得した (第 3.2.S.3.2.3 項、図 3 参照) 。

包括的な管理戦略評価により、不純物は以下 3 つのカテゴリーに分類した。

- 原薬中に実際に検出された不純物 - [redacted]中で管理する
- 原薬中に存在する可能性のある不純物 - [redacted]で管理する
- 理論上原薬中に含まれる不純物-[redacted]では管理しない

包括的な評価及び管理戦略の結果、本薬の不純物プロファイルは十分理解され、管理されている。

2.6.6.8.1.2 毒性評価の概要

本薬原薬中の不純物の毒性評価を実施した (第 2.6.7.17 項も参照) 。毒性評価の目的は、本薬中の不純物について許容可能な上限値を設定し、各不純物について許容一日暴露量 (PDE) を設定することであった。

[redacted]

不純物 PDE は、ICH Q3C (R8) ガイドラインの付録 3 に概説されているように、最も関連性の高い動物試験の無作用量 (NOEL) / 無毒性量 (NOAEL) 又は最小作用量 (LOEL) を使用して、次のように算出した。

$$PDE = \frac{NO\ [A]\ EL \times \text{体重補正}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

F1~F5 は、ガイドラインに記載されている種々の修正安全係数。

- F1 = 種間の外挿を考慮した係数
- F2 = 個体間のばらつきを考慮した係数 10
- F3 = 短期間暴露の毒性試験を考慮した変数
- F4 = 重篤な毒性の場合に適用される可能性する係数
- F5 = NO (A) EL が得られていない場合に適用される変数

すべての PDE 算出ではヒトの体重を 50 kg として体重補正を行った。

各不純物の毒性評価の構成要素及び評価結果の概要を表 9 に示す。表 9 に続く項では、各不純物の毒性評価の要約を示す。詳細は、各不純物の個々の報告書、i*n silico* 評価報告書及び Ames 試験報告書に記載されており、表 9 には、これら報告書番号が記載されている。原薬中の不純物限度値の正当性は第 3.2.S.3.2 に記載されている。

表 9. [redacted]不純物の毒性評価概要

[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]				
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[redacted]

[redacted]

2.6.6.8.1.3　毒性試験に使用した本薬原薬ロットの不純物プロファイル

[redacted]

[redacted]

[redacted]



[redacted]

その他

[redacted]

2.6.6.8.1.5 [redacted]

[redacted]

2.6.6.8.1.6

[redacted]







[redacted]

2.6.6.8.1.7　結論

[redacted]

2.6.6.9　考察及び結論

非臨床試験では、本薬の潜在的な毒性を調べるために、*in vitro* 及びラット並びにイヌを用いた *in vivo* 試験を実施した。本薬の臨床試験における投与経路が経口であるため、非臨床試験における反復投与試験の投与経路は経口（混餌又はカプセル）で実施した。

パチロマーカルシウムのラット（混餌投与）又はイヌ（カプセル）における 4 週間投与毒性試験を実施したが、本剤の忍容性は良好であった。最高用量は、体重（kg）あたりの投与可能な用量として設定した。本剤の投与に関連した変化は、ラットでは摂餌量の増加が、イヌでは便性状の変化の他に体重及び摂餌量の変化が認められたのみであり、他の有害作用は認められなかった。4 週間反復投与毒性試験におけるパチロマーカルシウムの無毒性量は、ラッ

トでは 15 g/kg/日を超える量であり、イヌでは 7 g/kg/日を超える量であった。標的となる臓器毒性は認められなかった。

反復投与毒性試験として、ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験、及びイヌにおける 39 週間反復経口投与毒性試験を実施したが、本剤の忍容性は良好であり、最高用量が無毒性量に相当した。無毒性量は、パチロマーカルシウムとしてラットでは 5.0 g/kg/日を超える量であり、イヌでは 3.75 g/kg/日であった。

パチロマーカルシウムは、細菌を用いる復帰突然変異試験、染色体異常試験及びラットにおける小核試験のいずれにおいても陰性を示したことから、遺伝毒性を有さないと考えられた。

パチロマーカルシウム（ 又はウサギの試験においては本薬 ）を、妊娠ラットでは 6 g/kg/日まで、妊娠ウサギでは 3 g/kg/日までの用量で器官形成期に経口投与した結果、催奇形性は認められなかった。また、本薬を 5 g/kg/日までの用量で投与した結果、雌雄いずれのラットの受胎能にも影響を及ぼさず、初期胚発生に対する影響も認められなかった。

パチロマーカルシウムポリマーは非吸収性で胃腸管毒性がないため、発がん性試験及び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は実施しなかった。尚、本薬の毒性プログラムを構成する一連の試験は、米国、欧州及び日本の各規制当局に相談し、本剤の新薬承認申請をサポートするのに十分であることを確認した。

本薬中の 14 種類の不純物の毒性評価を実施した。毒性評価は、文献情報の全般調査、*in silico* 計算解析及び Ames 試験によって実施した。評価結果に基づいて、原薬中不純物の同定、分類及び管理のための系統的で徹底したアプローチをとった（ 第 3.2.S.3.2 項参照 ）。包括的な評価及び管理戦略に基づき、本薬の不純物プロファイルは十分理解され、管理されている。

本薬の非臨床安全性プロファイルは、安全性薬理試験（ 第 2.6.2.4 項 ）、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験及び生殖· 発生毒性試験の実施により十分に特徴づけられている。パチロマーカルシウムの最大推奨臨床用量は 30 g/日（ 体重 60 kg のヒトで 0.5 g/kg/日に相当 ）（ アニオンポリマーとして 25.2 g/日 ）であるが、安全域を FDA ガイダンスを参考に mg/kg 換算で算出すると（ FDA, 2005、Mordenti, 1986 ）、最長投与期間の反復投与毒性試験における無毒性量との間にラットでは約 10 倍、イヌでは約 7.5 倍の安全域が認められる（ 表 10 ）。さらに、4 週間反復投与毒性試験では、最大推奨臨床用量に対してラットでは 30 倍、イヌでは 14 倍までの投与用量を設定して検討したが、結果として有害作用は認められなかった。なお、臨床試験におけるパチロマーカルシウムの 30 g/日（ アニオンポリマーとして 25.2 g/日 ）までの投与では、投与期間 1 年までの安全性及び有効性が示されている（ 第 2.5.4.6 項、第 2.5.5.6 項 ）。

表 10.　パチロマーカルシウムの投与量に基づいたヒトでの暴露に対する安全域

動物種	投与期間	無毒性量 (g/kg/日)[a]	最大推奨臨床用量[b]に対する安全域
ラット	4 週間	15 を超える量	30 倍
ラット	26 週間	5 を超える量	10 倍
イヌ	4 週間	7 を超える量	14 倍
イヌ	39 週間	3.75	7.5 倍

[a] 無毒性量は、体重 (kg) あたりの投与可能な用量 (g) としての上限。

[b] 最大推奨臨床用量は、体重 60 kg のヒトで 0.5 g/kg/日に相当する量 (FDA Guidance July 2005) 。

2.6.6.10 参考文献

1) Bryan NS. Nitrite in Nitric Oxide Biology: Cause or Consequence? A Systems- Based Review. Free Radical Biology & Medicine, 41, 691-701, 2006.
2) DePass L, Garman R, Woodside M, et al. Chronic toxicity and oncogenicity studies of ethylene glycol in rats and mice. Fundam Appl Toxicol, 7: 547-565, 1986.
3) Devogelaer JP, Nagant de DC. Fluoride Therapy of Type I Osteoporosis. Clin Rheumatol, 14 Suppl 3, 26-31, 1995.
4) DRIC. Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington D.C., 308–311, 1997.
5) European Food Safety Authority. Scientific opinion on dietary reference values for fluoride. EFSA Journal 2013; 11[8]: 3332.
6) Gaunt I, Lloyd A, Carpanini F, et al. Studies of the toxicity of diethylene glycol in rats. BIBRA Research Report No. 5., BIBRA lnf. Bull 15: 217-218, 1976.
7) Gerber B, Guggenberger R, Fasler D, et al. Reversible Skeletal Disease and High Fluoride Serum Levels in Hematologic Patients Receiving Voriconazole. Blood, 120[12], 2390-2394, 2012.
8) Hallanger Johnson JE, Kearns AE, Doran PM, Khoo TK, Wermers RA. Fluoride- Related Bone Disease Associated With Habitual Tea Consumption. Mayo Clin Proc, 82[6], 719-724, 2007.
9) Hasling C, Nielsen HE, Melsen F, Mosekilde L. Safety of Osteoporosis Treatment With Sodium Fluoride, Calcium Phosphate and Vitamin D. Mineral Electrolyte Metab, 13[2], 96-103, 1987.
10) IARC (1985) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 36, 19-26 June 1984. Allyl Compounds, Aldehydes, Epoxides and Peroxides, Lyon, pp. 315-321.
11) Itai K, Onoda T, Nohara M, Ohsawa M, et al. Serum ionic fluoride concentrations are related to renal function and menopause status but not to age in a Japanese general population. Clin Chim Acta. 411:263-6, 2010.
12) Izuora K, Twombly JG, Whitford GM, et al. Skeletal Fluorosis From Brewed Tea. J Clin Endocrinol Metab, 96[8], 2318-2324, 2011.
13) Jackson R, Kelly S, Noblitt T, et al. The Effect of Fluoride Therapy on Blood Chemistry Parameters in Osteoporotic Females. Bone Miner, 27[1], 13-23, 1994.
14) Joshi S, Hlaing T, Whitford GM, Compston JE. Skeletal Fluorosis Due to Excessive Tea and Toothpaste Consumption. Osteoporos Int, 22[9], 2557-2560, 2011.
15) Kakumanu N, Rao SD. Images in Clinical Medicine. Skeletal Fluorosis Due to Excessive Tea Drinking. N Engl J Med, 368[12], 1140, 2013.
16) Mordenti J. Man versus Beast: Pharmacokinetic Scaling in Mammals. J Pharm Sci, 75[11]:1028-1040, 1986

17) National Toxicology Program (NTP). 2001. Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of sodium nitrite (CAS NO. 7632-00-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (drinking water studies). Report No.: NTP TR 495, NIH Publication No. 01-3954.
18) Patel S, Chan JK, Hosking DJ. Fluoride Pharmacokinetics and Changes in Lumbar Spine and Hip Bone Mineral Density. Bone, 19[6], 651-655, 1996.
19) Riggs BL, Seeman E, Hodgson SF, Taves DR, O'Fallon WM. Effect of the Fluoride/Calcium Regimen on Vertebral Fracture Occurrence in Postmenopausal Osteoporosis. Comparison With Conventional Therapy. N Engl J Med, 306[8], 446- 450, 1982.
20) Sato J, Doi T, Wako Y, et al. Histopathology of Incidental Findings in Beagles Used in Toxicity Studies. J Toxicol Pathol, 25[1], 103-134, 2012.
21) Schiffl HH, Binswanger U. Human Urinary Fluoride Excretion As Influenced by Renal Functional Impairment. Nephron, 26[2], 69-72, 1980.
22) Scientific Committee on Consumer Products (SCCP). Opinion on Diethylene glycol. Adopted 24 June 2008
23) Smyth HF, Jr., Carpenter CP, WEIL CS, et al. Range-Finding Toxicity Data: List VII. Am Ind Hyg Assoc J, 30[5], 470-476, 1969.
24) Soejima T. A study of fluoride contents in foods. Journal of dental health 44:342-353, 1994.
25) Sowers M, Whitford GM, Clark MK, Jannausch ML. Elevated Serum Fluoride Concentrations in Women Are Not Related to Fractures and Bone Mineral Density. J Nutr, 135[9], 2247-2252, 2005.
26) Stevenson CA, Watson R. Fluoride Osteosclerosis. The American Journal of Roentgenology, Radium Therapy, and Nuclear Medicine, 78[1], 13-18, 1957.
27) Trautner K, Einwag J. Factors influencing the bioavailability of fluoride from calcium-rich, health-food products and CaF2 in man. Arch Oral Biol. 32:401-6, 1987.
28) Van Kesteren RG, Duursma SA, Visser WJ, van dS, V, Backer DO. Fluoride in Serum and Bone During Treatment of Osteoporosis With Sodium Fluoride, Calcium and Vitamin D. Metab Bone Dis Relat Res, 4[1], 31-37, 1982.
29) Waterhouse C, Taves D, Munzer A. Serum Inorganic Fluoride: Changes Related to Previous Fluoride Intake, Renal Function and Bone Resorption. Clin Sci (Lond), 58[2], 145-152, 1980.
30) WHO. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks in Humans. Vol. 94. Ingested Nitrate and Nitrite, and Cyanobacterial Peptide Toxins. 2010 [Accessed on: 11-22-2013]; Available from: URL: http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol94/mono94.pdf.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験: 一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表 6
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 12
2.6.7.6 反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験 13
2.6.7.7 反復投与毒性試験 16
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 26
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 34
2.6.7.10 がん原性試験 35
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 36
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 37
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚･胎児発生に関する試験 40
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 44
2.6.7.15 新生児を用いた試験 44
2.6.7.16 局所刺激性試験 44
2.6.7.17 その他の毒性試験 45

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験: 一覧表

毒性試験: 一覧表 (1/3)　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

試験	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 [a] g/kg/日	GLP[b] 適用	実施施設 (試験番号)	Relypsa 社 試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験	実施していない							
反復投与毒性試験	ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	2 週間	0、4、8、10、15[c]	適	[redacted] (7578-116)	TR350-07-009	4.2.3.2
	ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	4 週間	0、4、10、15[d]	適	[redacted] (7578-117)	TR350-07-010	4.2.3.2
	ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	4 週間	0、4、10、15	適	[redacted] (7578-135)	TR350-07-018	4.2.3.2
	ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	26 週間	0、1、2.5、5[e]	適	[redacted] (8057-100)	TR350-09-001	4.2.3.2
	イヌ/ Beagle	経口 (カプセル)	1 回目: 1 回/日 7 日以上 2 回目: 10 日間	1 回目: 2、4、7 2 回目: 7	適	[redacted] (7578-118)	TR350-07-011	4.2.3.2
	イヌ/ Beagle	経口 (カプセル)	4 週間	0、1、3[f]、7[g]	適	[redacted] (7578-123)	TR350-07-015	4.2.3.2
	イヌ/ Beagle	経口 (カプセル)	4 週間	0、1、3、7	適	[redacted] (7578-136)	TR350-07-019	4.2.3.2
	イヌ/ Beagle	経口 (カプセル)	39 週間	0、1、2、3.75[e]	適	[redacted] (8057-101)	TR350-10-001	4.2.3.2

2.6.7 毒性試験の概要表

毒性試験: 一覧表 (2/3)　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

試験の種類	動物種/ 系統	投与方法	投与期間	投与量 [a]	GLP[b] 適用	実施施設 (試験番号)	Relypsa 社 試験番号	記載箇所
遺伝毒性試験	ネズミチフス菌· 大腸菌	*In vitro*	NA	0, 33.3, 100, 333, 1000, 3330,5000 µg/plate0, 62.5, 125,	適	[redacted] (7578-120)	TR350-07-012	4.2.3.3.1
	CHO 細胞	*In vitro*	NA	250, 500 µg/mL	適	[redacted] (7578-121)	TR350-07-013	4.2.3.3.1
	ラット/ CD (SD) IGS BR	強制経口	単回	0, 1, 3, 6 g/kg	適	[redacted] (7578-122)	TR350-07-014	4.2.3.3.2
がん原性試験	実施していない (本薬の非臨床安全性試験の充足性については、米国、欧州及び日本の各規制当局に相談し、本剤の新薬承認申請をサポートするのに十分であることを確認した)							
生殖発生毒性試験	ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	少なくとも 4 週間 (雌) 、 10 週間 (雄)	0, 1, 2.5, 5[e] g/kg/日	適	[redacted] (8234031)	RLY-TR-0006	4.2.3.5.1
	ラット/ Crl: CD (SD)	強制経口	12 日間 (GD6~GD17)	0, 1, 3, 6 g/kg/日	適	[redacted] (8057-104)	TR350-08-001	4.2.3.5.2
	ウサギ/Hra: (NZW) SPF	強制経口	14 日間 (GD7~GD20)	0, 1, 3[e] g/kg/日	非	[redacted] (8234029)	TR350-11-001	4.2.3.5.2
	ウサギ/Hra: (NZW) SPF	強制経口	14 日間 (GD7~GD20)	0, 0.5, 1, 3[e] g/kg/日	適	[redacted] (8234030)	RLY-TR-0005	4.2.3.5.2
局所刺激性試験	実施していない							

2.6.7 毒性試験の概要表

毒性試験: 一覧表 (3/3)　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

試験の種類	動物種/ 系統	投与 方法	投与 期間	投与量	GLP 適用	実施施設 (試験番号)	Relypsa 試験番号	記載箇所
その他の 毒性試験 : 不純物 [h]	*In Silico*/ 不純物	NA	NA	NA	非	[redacted]	TSI-14-007	4.2.3.7.6
	In Silico/ 不純物	NA	NA	NA	非	[redacted]	RLY-TR-0084	4.2.3.7.6
	In Silico/ 不純物	NA	NA	NA	非	[redacted]	RLY-TR-0178	4.2.3.7.6
	In Silico/ 不純物	NA	NA	NA	非	[redacted]	RLY-TR-0180	4.2.3.7.6
	In Silico/ 不純物	NA	NA	NA	非	[redacted]	RLY-TR-0181	4.2.3.7.6
	Ames /ネズミチフス菌 及び大腸菌 Methyl 2-fluoroacrylate	*In vitro*	NA	50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate	適	[redacted]	RLY-TR-0148	4.2.3.7.6

2.6.7 毒性試験の概要表

GLP=Good Laboratory Practice、[redacted]、NA: 非該当、CHL: Chinese hamster ovary、 GD=妊娠日数

a: 反復投与毒性試験については、無毒性量（NOAEL）の最高用量に下線を付した。

b: 「適」は、試験報告書に GLP 陳述書が含まれる。

c: 実際の NOAEL は>17.6 g/kg/日（パチロマーカルシウムの目標用量である 15 g/kg/日の平均達成用量）。

d: NOAEL は決定できなかった。投与に関連した毒性は、この試験で使用したパチロマーカルシウムのロットに含まれる残留トルエンに起因するものであった。

e: ロットごとにパチロマーカルシウムの含有量（ソルビトールと水分量）に補正した用量でパチロマーソルビテクスカルシウムとして投与した。

f: NOAEL の 3 g/kg/日は、この試験で使用したパチロマーカルシウムのロットに含まれる残留トルエンに起因した。

g: 高用量は、1 週間の投与及び 1 週間の休薬後、7 から 5 g/kg/日に減量した。

h: 本一覧表には、詳細な文献検索と公開情報から入手できるデータの評価において、遺伝毒性に関する情報が入手できなかった場合に *In silico* や Ames 試験を実施した不純物について記載した。文献調査により十分な情報が得られ、PDE について算出可能であった不純物については省略した。

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

該当なし

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

該当なし

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

毒性試験: 被験物質（バッチ毎）一覧（1/4）　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

ロット番号	種類	ポリマー含有量[a]（%）	[redacted]									試験番号	試験の種類
[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	-	-
[redacted]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-07-011	イヌ漸増用量反応設定試験
												TR350-07-009	ラット漸増用量反応設定試験
[redacted]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-07-011	イヌ漸増用量反応設定試験

2.6.7 毒性試験の概要表

毒性試験: 被験物質 (バッチ毎) 一覧 (2/4)　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

ロット番号	種類	ポリマー含有量[a] (%)	[redacted]									試験番号	試験の種類
[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	-	-
[redacted][e]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-07-012	*In vitro* 復帰突然変異試験(Ames)
												TR350-07-013	*In vitro* ほ乳類培養細胞染色体異常試験
												TR350-07-014	ラット小核試験
												TR350-07-015	イヌ 4 週間反復経口投与試験
[redacted][e]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-07-015	イヌ 4 週間反復経口投与試験
[redacted][e]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-07-010	ラット 4 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-07-018	ラット 4 週間反復経口投与試験
												TR350-07-019	イヌ 4 週間反復経口投与試験

2.6.7 毒性試験の概要表

毒性試験: 被験物質 (バッチ毎) 一覧 (3/4)　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

ロット番号	種類	ポリマー含有量[a] (%)	[redacted]									試験番号	試験の種類
[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	-	-
[redacted]	パチロマーカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-08-001	ラット胚･胎児発生試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-09-001	ラット 26 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-10-001	イヌ 39 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-09-001	ラット 26 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-10-001	イヌ 39 週間反復経口投与試験

2.6.7 毒性試験の概要表

毒性試験: 被験物質 (バッチ毎) 一覧 (4/4)　　被験物質: パチロマーカルシウム / パチロマーソルビテクスカルシウム

ロット番号	RLY5016 種類	ポリマー含有量[a] (%)	[redacted]									試験番号	試験の種類
[redacted]		[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	-	-
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-10-001	イヌ 39 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-10-001	イヌ 39 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-09-001	ラット 26 週間反復経口投与試験
												TR350-10-001	イヌ 39 週間反復経口投与試験
[redacted]	パチロマーソルビテクスカルシウム	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TR350-11-001	ウサギ用量設定試験
												RLY-TR-0005	ウサギ胚･胎児試験
												RLY-TR-0006	ラット受胎能試験

2.6.7 毒性試験の概要表

[redacted]NA: 非該当、ND: 未検出、NM: 測定不能、NMT: 最大、[redacted]a 分析証明書に記載された原薬中の RLY5016 含有量。括弧内にはパチロマーアニオン含有量（計算による）が記載されており、商用規格の根拠となっている。

b [redacted]は市販薬の規格に含まれているが、非臨床毒性試験に使用されたロットでは測定しなかった。

c [redacted]は RLY5016S の製造に使用されないため、現行のロットではモニターしていない。

d 記載したロットの出荷時点では、[redacted]。

e RLY5016 の本ロットには、[redacted]トルエンが高濃度に残留していた。[redacted]

f [redacted]の分析証明書に記載されているフッ化物は、「そのまま」の重量ベース（水の重量を含む）で計算されている。他の全てのロットに記載されている製品規格及びフッ化物の値は乾燥重量に基づいている。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験

反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験 (1/3)　　被験物質: パチロマーカルシウム

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (g/kg/日)	性別及び一群の動物数	無毒性量 (g/kg/日)	特記すべき所見	試験番号
ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	2 週間	0, 4, 8, 10, 15	雄 5、雌 5	>17.6[a]	死亡例はなく、パチロマーカルシウムに関連する一般症状、体重変化、臨床及び解剖病理学的所見は認められなかった。 無毒性量は 17.6 g/kg/日を超える量。	TR350-07-009
ラット/ Crl: CD (SD)	経口 (混餌)	4 週間	0, 4, 10, 15	0 及び 15 g/kg/日群 雄 15、雌 15 4 及び 10 g/kg/日群 雄 10、雌 10	ND[b]	高用量の 2 例が死亡した。主に高用量の動物で見られた一般症状は、痩せ、被毛粗剛、目を細める等であった。パチロマーカルシウムに関連した体重又は摂餌量の減少、臨床及び解剖病理学的変化が認められた。無毒性量は確定できなかった。2 週間反復試験で同様の所見が得られなかったことから、当試験で得られた所見は、使用したパチロマーカルシウムのロットに含まれる高濃度の残留トルエンに関連していると考えられた。 注: 当試験は、[redacted]ロットで実施した繰り返し試験である (TR 350-07-018) 。	TR350-07-010

2.6.7 毒性試験の概要表

反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験 (2/3)　　被験物質: パチロマーカルシウム

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/ 投与形態)	投与期間	投与量 (g/kg/日)	性別及び 一群の動物数	無毒性量 (g/kg/日)	特記すべき所見	試験番号
イヌ/ ビーグル	経口 (カプセル)	1 回目: 7 日間の内 1 日 2 回 投与を 3 日実施 2 回目: 10 日間	1 回目: 2, 4, 7 2 回目: 7	1 回目: 雄 1、雌 1 2 回目: 雄 2、雌 2	ND	死亡例はなく、一般症状としては嘔吐と便の変化（乾燥した粒状便）が見られたが、臨床及び解剖病理学的所見は認められなかった (1 例の胃で病理組織学的検査を実施した) 。 最大許容量は 7 g/kg/日と確定したが、これはイヌが許容できるカプセル数の制限によるものであり、パチロマーカルシウムとの関連性はない。 イヌにおけるパチロマーカルシウムの最大許容量は、7g/kg/日を超える量。	TR350-07-011

2.6.7 毒性試験の概要表

反復投与毒性試験: 重要な試験以外の試験 (3/3)　　被験物質: パチロマーカルシウム

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/ 投与形態)	投与期間	投与量 (g/kg/日)	性別及び 一群の動物数	無毒性量 (g/kg/日)	特記すべき所見	試験番号
イヌ/ ビーグル	経口 (カプセル)	4 週間	0, 1, 3, 7[c]	0 及び 7 g/kg/日群 雄 5、雌 5 1 及び 3 g/kg/日群 雄 3、雌 3	3[b]	死亡例はなく、臨床症状として乾燥した粒状便が見られた。7 g/kg/日では 8 日目までに体重が有意に減少したため、1 週間の休薬期間を設けた後、5 g/kg/日に減量した。眼科学及び心電図所見に影響はなかった。可逆的な臨床病理学的変化が認められた: 病理組織学的に、可逆的なごく軽度から軽度の肝細胞の空胞化、軽度から中等度の胸腺の退縮を含む。無影響量は 3g/kg/日。 注: 当試験は、[redacted]ロットを用いて実施した繰り返し試験である (TR 350-07-019) 。	TR350-07-015

ND: 未確定

a 17.6 g/kg/日は、15 g/kg/日群における実投与用量である。

b これら試験で使用したパチロマーカルシウムのロットには、[redacted]高濃度のトルエンが含まれていた。[redacted]

c 7 g/kg/日の投与は、高用量群の一般状態悪化により、1 週間の投与と 1 週間の休薬後 5g/kg/日に減量した。

2.6.7.7　反復投与毒性試験

2.6.7.7.1　ラット 4 週間投与毒性試験

報告書の題名: RLY5016: 4-Week Dietary Toxicity Study in Rats with a 2-Week Recovery
被験物質: パチロマーカルシウム
動物種/系統: ラット/ Crl: CD (SD)
投与期間: 4 週間
試験番号: TR350-07-018
試験開始週齢: 7 週と 5 日齢
休薬期間: 2 週間
CTD における記載箇所: 4.2.3.2
初回投与年月日:20[redacted] 年 [redacted]月 [redacted] 日
投与方法: 経口 (混餌)
GLP 適用: 適
溶媒/投与形態: Harlan Teklad Certified Rodent Diet, Meal #8728CM
特記事項: 無
無毒性量: 15 g/kg/日を超える量

ラット 4 週間経口投与毒性試験 (1/3)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		4		10		15	
性: 動物数	雄: 15	雌: 15	雄: 10	雌: 10	雄: 10	雌: 10	雄: 15	雌: 15
トキシコキネティクス	パチロマーカルシウムは経口投与では吸収されないため該当なし							
特記すべき所見								
死亡及び切迫屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量 (%)[a]								
投与 1 週目	177 g	118 g	+6	+10*	+11*	+17*	+15*	+20*
投与 2 週目	189 g	128 g	+4	+6	+7*	+12*	+12*	+18*
投与 3 週目	178 g	126 g	+10*	+7	+16*	+14*	+24*	+22*
投与 4 週目	182 g	122 g	+6	+16*	+15*	+17*	+24*	+27*

ラット 4 週間経口投与毒性試験 (2/3)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		4		10		15	
性: 動物数	雄: 15	雌: 15	雄: 10	雌: 10	雄: 10	雌: 10	雄: 15	雌: 15
一般状態観察	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査　投与 30 日目								
総蛋白 (g/dL)	-	6.9	-	6.5	-	6.6	-	6.3*
アルブミン (g/dL)	-	5.4	-	5.0	-	5.1	-	4.8*
尿検査　投与 30 日目								
カルシウム排泄量 (mg)	0.56	0.48	0.63	0.49	0.78	0.71	0.82	1.08*
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-

ラット 4 週間経口投与毒性試験 (3/3)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		4		10		15	
性: 動物数	雄: 20	雌: 20	雄: 15	雌: 15	雄: 15	雄: 15	雄: 20	雌: 20
回復性の評価								
動物数	5	5	0	0	0	0	5	5
特記すべき所見								
死亡及び切迫屠殺動物数	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
体重	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
摂餌量	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
一般状態観察	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
眼科学的検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
血液学検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
血液生化学検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
尿検査								
カルシウム排泄量 (mg)	-	0.32	NA	NA	NA	NA	-	0.78*
器官重量	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
剖検所見	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
病理組織学的検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

NA: 非該当、”-“: 特筆すべき所見なし、*p≤0.05 (t-test)

a: 投与期間の終了時。対照群については、群の平均値を示す。被験物質群については、対照群との差をパーセントで示した。統計的有意性は実際のデータに基づいている (差の割合ではない) 。この増加は、飼料中の被験物質の濃度が高いために、飼料の栄養面が低下していることを反映していると考えられる。

2.6.7.7.2　ラット 26 週間経口投与毒性試験

報告書の題名: 26-Week Dietary Toxicity Study with RLY5016S in Rats with a 4-Week Recovery Period　被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム動物種/系統: ラット/ Crl: CD (SD)

投与期間: 26 週間　試験番号: TR350-09-001

試験開始週齢: 7 週齢　休薬期間: 4 週間　CTD における記載箇所: 4.2.3.2

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

溶媒/投与形態: Harlan Teklad Certified Rodent Diet, Meal #8728CM

特記事項: 無

無毒性量: 5 g/kg/日を超える量

ラット 26 週間経口投与毒性試験 (1/2)

投与量 (g/kg/日)[a]	0 (対照)		1		2.5		5	
性: 動物数	雄: 20	雌: 20	雄: 15	雌: 15	雄: 15	雌: 15	雄: 20	雌: 20
トキシコキネティクス	パチロマーカルシウムは経口投与では吸収されないため該当なし							
特記すべき所見								
死亡及び切迫屠殺動物数	1[b]	0	0	0	1[b]	0	0	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量 (%) [c,d]								
投与 2 週目	191 g	140 g	+1.6	-0.7	-2.1	0	+7.9*	+5.0
投与 6 週目	197 g	142 g	+1.5	0	+1.5	+8.5	+14.2*	+12.0*
投与 26 週目	195 g	145 g	-2.1	-1.4	+3.6	+4.8	+11.3*	+6.2
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学検査	-	-	-	-	-	-	-	-

ラット 26 週間経口投与毒性試験 (2/2)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		1		2.5		5	
性: 動物数	雄: 20	雌: 20	雄: 15	雌: 15	雄: 20	雌: 20	雄: 15	雌: 15
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価:								
評価動物数	5	5	0	0	0	0	5	5
摂餌量 (%)[c]								
投与 1 週目	170 g	128 g	NA	NA	NA	NA	+9.4*	+7.8
投与 2 週目	189 g	147 g	NA	NA	NA	NA	+9.0*	+6.1

ANOVA: 一元配置分散分析、NA: 非該当、”-“: 特筆すべき所見なし

*: p≤0.05 (ANOVA 及び必要に応じて Dunnett の検定を実施)

a: パチロマーカルシウムの含有量に合わせて投与量を調整したパチロマーソルビテクスカルシウムとして投与した (ソルビトールと水分を補正した) 。

b: 2.5 g/kg/日の雄ラットが投与 122 日目にケージが原因と考えられる顔面骨付近の頭蓋骨骨折のために切迫と殺した。対照群の雄ラットは、回復期間の 29 日目に死亡したが、死因は特定されなかった。

c: 対照群については、群の平均値を示した。被験物質群については、対照群との差をパーセントで示した。統計的有意性は実際のデータに基づいている (差の割合ではない) 。

d: 投与期間中、2.5 及び 5 g/kg/日群では対照群と比較して、平均摂餌量の増加が一般的に、統計的に有意な増加が散発的に認められた。

2.6.7.7.3　イヌ 4 週間経口投与毒性試験

報告書の題名: 4-Week Oral Capsule Toxicity Study with RLY5016 in Dogs with a 2-Week Recovery

被験物質: パチロマーカルシウム

動物種/系統: イヌ/ ビーグル

投与期間: 4 週間

試験番号: TR350-07-019

試験開始週齢: 5~6 か月齢

休薬期間: 2 週間

CTD における記載箇所: 4.2.3.2

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

投与方法: 経口 (カプセル)

GLP 適用: 適

溶媒/投与形態: ゼラチンカプセル

特記事項: 無

無毒性量: 7 g/kg/日を超える量

イヌ 4 週間経口投与毒性試験 (1/3)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		1		3		7	
性: 動物数	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5
トキシコキネティクス	パチロマーカルシウムは経口投与では吸収されないため該当なし							
特記すべき所見								
死亡及び切迫屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
体重増加 (kg)								
投与 1-4 日 [a]	-	0	-	0.2	-	0.1	-	-0.3
摂餌量 (%) [b]								
Day 1-3[a]	-	601 g	-	-	-	-	-	-32
Day 4-7[a]	-	1214 g	-	-	-	-	-	-32

イヌ 4 週間経口投与毒性試験 (2/3)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		1		3		7	
性: 動物数	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雌: 5	雄: 5
一般状態観察								
乾燥便	0	0	0	0	1	3	5	5
顆粒状便	0	0	0	0	2	3	5	5
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-

イヌ 4 週間経口投与毒性試験 (3/3)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		1		3		7	
性: 動物数	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雌: 5	雄: 5
回復性の評価								
評価動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
特記すべき所見								
死亡又は切迫と殺	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
体重	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
摂餌量	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
一般状態観察	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
眼科学的検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
心電図	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
血液学検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
血液生化学検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
尿検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
器官重量	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
肉眼検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
病理組織学的検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

NA: 非該当、”-“: 特筆すべき所見なし

a 体重増加及び摂餌量に対する影響の大きさは、雌 1 例での所見によるところが大きい。

b 対照群については、群の平均値を示した。被験物質群については、対照群との差をパーセントで示した。統計的有意性は実際のデータに基づいている (差の割合ではない) 。

2.6.7.7.4　イヌ 39 週間経口投与毒性試験

報告書の題名: 39-Week Oral (Capsule) Toxicity Study with RLY5016S in Dogs with a 4-Week Recovery Period

被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

動物種/系統: イヌ/ ビーグル

投与期間: 39 週間

試験番号: TR350-10-001

試験開始週齢: 5~6 か月齢

休薬期間: 4 週間

CTD における記載箇所: 4.2.3.2

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

投与方法: 経口 (カプセル)

GLP 適用: 適

溶媒/投与形態: ゼラチンカプセル

特記事項: 無

無毒性量: 3.75 g/kg/日

イヌ 39 週間経口投与毒性試験 (1/2)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		1		2		3.75	
性: 動物数	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5
トキシコキネティクス	パチロマーソルビテクスカルシウムは経口投与では吸収されないため該当なし							
特記すべき所見								
死亡及び切迫屠殺動物数	1[b]	0	0	0	0	0	0	0
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態観察:								
橙色便	0	0	0	1	3	1	5	4
黄色便	1	1	2	3	3	3	5	5
乾燥便	0	0	1	1	3	3	5	5
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-

イヌ 39 週間経口投与毒性試験 (2/2)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)		1		2		3.75	
性: 動物数	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5
血液学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿化学的検査								
ナトリウム排泄量 (mmol)	6.43	6.38	3.46[c]	10.84	4.92	5.22	1.84*	2.27
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査:								
評価動物数	3	3	3	3	3	3	3	3
パイエル板: 可染小体マクロファージ増加	0	0	0	0	0	0	1	0
膵臓: 単細胞壊死増加	0	0	0	0	0	0	2	0
盲腸: 炎症性細胞 (好中球) 浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
回復性の評価:								
評価動物数	1	2	0	0	0	0	2	2
病理組織学的検査	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

ANOVA: 一元配置分散分析、NA: 非該当、"-": 特筆すべき所見なし、*p≤0.05 (ANOVA 及び必要に応じて Dunnett の検定を実施)

a パチロマーカルシウムの含有量に合わせて投与量を調整したパチロマーソルビテクスカルシウムとして投与した (ソルビトールと水分を補正した) 。

b 対照群の雄 1 例は、39 週目に突然発作が発生したため、人道的に安楽殺した。c 分析から除外された群。群内の 3 匹中 2 匹のみの値が有効。

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）

報告書の題名: Salmonella-Escherichia coli/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay with a Confirmatory Assay with RLY5016

被験物質: パチロマーカルシウム

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: 2

試験番号: TR350-07-012

菌株: ネズミチフス菌-TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌-WP2*uvr*A

プレート数: 3

CTD における記載箇所: 4.2.3.3.1

代謝活性化系: Aroclor 誘発ラット肝臓 S9

分析細胞数/培養: なし

GLP 適用: 適

溶媒: 0.9%生理食塩液

陽性対照の溶媒: 0.9%生理食塩液

処理年月: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日

処理: 52 時間プレート法

細胞毒性: なし

遺伝毒性: なし

Ames 試験（1/5）

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/plate)	用量設定試験の復帰コロニー数（平均±標準偏差）(試験番号 B1)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
代謝活性化無し	0.9%生理食塩液	1 mL	15 ± 0	90 ± 5	10 ± 5	4 ± 3	11 ± 6
	パチロマーカルシウム	33.3	11 ± 5	88 ± 3	12 ± 7	6 ± 3	12 ± 5
		100	12 ± 6	90 ± 9	15 ± 4	4 ± 2	13 ± 4
		333[a]	10 ± 2	81 ± 11	6 ± 1	6 ± 4	15 ± 5
		1000[a]	13 ± 2	76 ± 16	8 ± 3	4 ± 3	18 ± 4
		3330[a]	8 ± 3	87 ± 16	8 ± 1	6 ± 4	7 ± 2
		5000[a]	14 ± 8	90 ± 4	9 ± 3	6 ± 3	14 ± 9
	2-Nitrofluoreneb	1	148 ± 25	NA	NA	NA	NA

Ames 試験 (2/5)

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/plate)	用量設定試験の復帰コロニー数 (平均±標準偏差) (試験番号 B1)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
代謝活性化無し	Sodium azide[b]	2	NA	1125 ± 120	752 ± 117	NA	NA
	Acridine mutagen ICR-191[b]	2	NA	NA	NA	205 ± 57	NA
	4-Nitroquinoline -N-oxide[b]	1	NA	NA	NA	NA	132 ± 6
代謝活性化有り	0.9%生理食塩液	1 mL	16 ± 2	99 ± 2	11 ± 5	6 ± 2	19 ± 2
	パチロマーカルシウム	33.3	17 ± 4	90 ± 6	11 ± 2	7 ± 1	16 ± 2
		100	20 ± 6	96 ± 12	9 ± 3	5 ± 5	19 ± 6
		333[a]	16 ± 3	89 ± 11	11 ± 1	10 ± 2	16 ± 5
		1000[a]	28 ± 6	94 ± 11	10 ± 1	7 ± 2	20 ± 3
		3330[a]	22 ± 7	91 ± 10	10 ± 4	5 ± 2	21 ± 5
		5000[a]	20 ± 5	98 ± 5	12 ± 4	4 ± 3	21 ± 6
	Benzo[a] pyrene[b]	2.5	170 ± 11	NA	NA	NA	NA
	2-Aminoanthracine[b]	2.5	NA	258 ± 38[c]	54 ± 9[c]	67 ± 48[c]	NA
	2-Aminoanthracine[b]	25	NA	NA	NA	NA	366 ± 25

NA: 非該当

a: バックグランドローンに析出物が認められた。パチロマーカルシウムは生理食塩液に不溶性のビーズを懸濁したもので、沈殿物である可能性が高い。

b: 陽性対照

c: 陽性対照である 2-aminoanthracine の 2.5 μg/plate では、予想よりも復帰コロニー数が少なかった。TA100、TA1535、TA1537 の各菌株で S9 活性化による繰り返し試験を実施した (試験番号 D1 の結果を参照) 。

Ames 試験 (3/5)

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/plate)	本試験の復帰コロニー数 (平均±標準偏差) (試験番号 C1)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
代謝活性化無し	0.9%生理食塩液	1 mL	11 ± 4	89 ± 11	10 ± 2	6 ± 3	16 ± 5
	パチロマーカルシウム	33.3	14 ± 2	85 ± 9	9 ± 1	7 ± 2	17 ± 5
		100	13 ± 2	90 ± 12	10 ± 6	5 ± 3	20 ± 2
		333[a]	14 ± 3	101 ± 16	9 ± 2	8 ± 1	17 ± 2
		1000[a]	13 ± 7	83 ± 7	9 ± 3	7 ± 5	16 ± 2
		3330[a]	11 ± 2	90 ± 8	9 ± 1	5 ± 2	13 ± 4
		5000[a]	11 ± 1	97 ± 16	11 ± 2	3 ± 2	17 ± 1
	2-Nitrofluorene[b]	1	316 ± 23	NA	NA	NA	NA
	Sodium azide[b]	2	NA	1255 ± 130	870 ± 33	NA	NA
	Acridine mutagen ICR-191[b]	2	NA	NA	NA	312 ± 35	NA
	4-Nitroquinoline-N-oxide[b]	1	NA	NA	NA	NA	182 ± 10

NA: 非該当

a: バックグランドローンに析出物が認められた。パチロマーカルシウムは生理食塩液に不溶性のビーズを懸濁したもので、沈殿物である可能性が高い。

b: 陽性対照

Ames 試験 (4/5)

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/plate)	本試験の復帰コロニー数 (平均±標準偏差) (試験番号 C1)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
代謝活性化有り	0.9%生理食塩液	1 mL	15 ± 4	97 ± 11	14 ± 10	4 ± 2	20 ± 6
	パチロマーカルシウム	33.3	11 ± 5	93 ± 4	9 ± 3	7 ± 2	13 ± 3
		100	15 ± 3	115 ± 16	10 ± 1	7 ± 3	16 ± 6
		333[a]	17 ± 3	115 ± 3	13 ± 5	10 ± 4	15 ± 4
		1000[a]	19 ± 3	106 ± 5	7 ± 2	5 ± 2	15 ± 3
		3330[a]	11 ± 2	106 ± 8	10 ± 2	3 ± 2	19 ± 5
		5000[a]	12 ± 8	113 ± 6	8 ± 2	2 ± 1	21 ± 3
	Benzo[a] pyrene[b]	2.5	454 ± 11	NA	NA	NA	NA
	2-Aminoanthracine[b]	2.5	NA	1035 ± 267	149 ± 19	117 ± 10	NA
	2-Aminoanthracine[b]	25	NA	NA	NA	NA	302 ± 77

NA: 非該当

a: バックグランドローンに析出物が認められた。パチロマーカルシウムは生理食塩液に不溶性のビーズを懸濁したもので、沈殿物である可能性が高い。

b: 陽性対照

2.6.7 毒性試験の概要表

Ames 試験 (5/5)

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/plate)	再試験[a]の復帰コロニー数 (平均±標準偏差) (試験番号 D1)		
			TA100	TA1535	TA1537
代謝活性化 有り	0.9%生理食塩液	1 mL	102 ± 12	12 ± 3	7 ± 4
	パチロマーカルシウム	33.3	116 ± 11	14 ± 1	7 ± 4
		100[b]	102 ± 12	10 ± 2	7 ± 4
		333[b]	114 ± 9	11 ± 2	4 ± 2
		1000[b]	117 ± 5	12 ± 3	7 ± 4
		3330[b]	102 ± 16	13 ± 2	10 ± 3
		5000[b]	125 ± 9	10 ± 2	7 ± 2
	2-Aminoanthracine[c]	2.5	651 ± 96	120 ± 7	111 ± 11

a: 試験番号 D1 は、試験番号 B1 において、陽性対照 (2-Aminoanthracine、2.5 μg/plate) が 3 菌株共に通常よりも復帰コロニーが少なく、TA100 菌株では溶媒対照と比較し復帰コロニー数として必要な 3 倍以上の増加を満たさなかったため、S9 活性化による TA100、TA1535 及び TA1537 の繰り返し試験である。

b: バックグランドローンに析出物が認められた。パチロマーカルシウムは生理食塩液に不溶性のビーズを懸濁したもので、沈殿物である可能性が高い。

c: 陽性対照

2.6.7.8.2　哺乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験

報告書の題名: Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells with RLY5016　　被験物質: パチロマーカルシウム

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: TR350-07-013

菌株: チャイニーズハムスター卵巣由来 (CHO) 細胞　　プレート数: 2　　CTD における記載箇所: 4.2.3.3.1

代謝活性化系: Aroclor 誘発ラット肝臓 S9　　分析細胞数/培養:　100　　GLP 適用:　適

溶媒: 0.9%生理食塩液　　陽性対照の溶媒:　水　　処理年月: 20[redacted]年 [redacted]月 [redacted] 日

処理:　用量設定試験: S9 添加又は非添加で 3 時間処理、処理開始から 20 時間に採取、本試験: S9 非添加で 18 時間処理、処理開始から 20 時間培養、S9 添加で 3 時間処理、処理開始から 20 時間培養

細胞毒性:　なし　　遺伝毒性:　なし

染色体異常試験 (1/3)

代謝活性化	被験物質	濃度 [a] (μg/plate)	用量設定試験 (試験番号 B1) : 3 時間処理、20 時間後採取				
			細胞毒性 [b] (対照%)	異常細胞-g[c] (平均値%)	異常細胞+g[c] (平均値%)	倍数性細胞 (平均値%)	核内倍加細胞 (平均値%)
代謝活性化無し	0.9%生理食塩液	100 μLmL	100	0.5	0.5	2.0	0.0
	パチロマーカルシウム	15.6	84	NM	NM	NM	NM
		31.3	88	NM	NM	NM	NM
		62.5	100	0.5	1.0	1.5	0.0
		125	88	1.0	2.5	4.5	0.0
		250	87	0.0	1.5	2.0	0.0
		500	85	0.5	1.5	2.5	0.0
	Mitomycin C[d]	0.750	NM	37.0	37.0	4.0	0.0

染色体異常試験 (2/3)

代謝活性化	被験物質	濃度 [a] (μg/plate)	初回試験 (試験番号 B1) : 3 時間処理、20 時間後採取				
			細胞毒性 [b] (対照%)	異常細胞-g[c] (平均値%)	異常細胞+g[c] (平均値%)	倍数性細胞 (平均%)	核内倍加細胞 (平均%)
代謝活性化 有り	0.9%生理食塩液	100 μLmL	100	0.5	2.0	5.0	0.0
	パチロマー カルシウム	62.5	100	0	1.5	4.5	1.0
		125	100	0	0.5	5.0	0.5
		250	100	0.5	2.0	3.5	0.0
		500	100	1.0	1.5	6.0	0.0
	Cyclophosphamide[d]	12.5	NM	39.1	39.1	5.0	1.0

代謝活性化	被験物質	濃度 [a] (μg/plate)	本試験 (試験番号 C1) : 18 時間処理、20 時間後採取				
			細胞毒性 [b] (対照%)	異常細胞-g[c] (平均値%)	異常細胞+g[c] (平均値%)	倍数性細胞 (平均%)	核内倍加細胞 (平均%)
代謝活性化 無し	0.9%生理食塩液	100 μLmL	100	2.0	3.0	5.0	0.0
	パチロマー カルシウム	62.5	89	0.5	4.0	2.5	0.0
		125	100	4.0	6.5	5.0	0.0
		250	100	3.5	6.5	2.0	0.5
		500	100	0.5	3.0	2.5	0.0
	Mitomycin C[d]	0.200	NM	29.6	45.6	2.5	0.0

染色体異常試験 (3/3)

代謝活性化	被験物質	濃度 [a] (μg/plate)	確認試験 (試験番号 C1) : 3 時間処理、20 時間後採取				
			細胞毒性 [b] (対照%)	異常細胞-g[c] (平均値%)	異常細胞+g[c] (平均値%)	倍数性細胞 (平均%)	核内倍加細胞 (平均%)
代謝活性化 有り	0.9%生理食塩液	100 μLmL	100	0.5	2.5	2.5	0.0
	パチロマー カルシウム	62.5	100	3.5	5.0	3.5	0.0
		125	98	1.5	3.5	4.5	1.0
		250	100	2.0	3.0	5.5	0.5
		500	96	1.0	3.5	7.0	2.0
	Cyclophosphamide[d]	12.5	NM	50.0	65.0	5.5	0.0

NM: 未測定、

a: バックグランドローンに析出物が認められた。RLY5016 は生理食塩液に不溶性のビーズを懸濁したもので、沈殿物である可能性が高い。

b: 有糸分裂指数に基づく

c: 異常細胞, -g: 染色体異常を持つ細胞の割合、異常細胞, +g: 染色体異常及びギャップを持つ細胞の割合

d: 陽性対照

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 *In vivo* 小核試験

報告書の題名: In Vivo Rat Bone Marrow Micronucleus Assay with RLY5016　被験物質: パチロマーカルシウム

試験方法: 骨髄小核試験　処理計画: 単回投与　試験番号: TR350-07-014

動物種/系統: ラット/CD (SD) IGS BR　計測時間:24 時間 (全用量) 及び 48 時間 (6,000 mg/kg のみ) CTD における記載箇所: 4.2.3.3.2

週齢: 8 週齢　投与方法: 経口 (胃内)　GLP 適用: 適

分析細胞数/動物: 2,000　溶媒/投与形態: 1.0%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液

特記事項: なし　投与年月:20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

毒性/細胞毒性: なし　遺伝毒性: なし　暴露証明: なし

ラット小核試験

被験物質	投与量 (mg/kg)	採取時間 (時間)	動物数及び性	小核 PCEs 頻度% (平均値±標準誤差)	PCE:NCE 比 (平均値±標準誤差)
1% CMC (対照)	20 mL/kg	24	5 雄	0.06 ± 0.03	0.88 ± 0.09
		48	5 雄	0.06 ± 0.01	0.97 ± 0.07
パチロマー カルシウム	1000	24	5 雄	0.08 ± 0.03	0.80 ± 0.05
	3000	24	5 雄	0.08 ± 0.05	0.96 ± 0.08
	6000	24	5 雄	0.02 ± 0.01	0.79 ± 0.07
		48	5 雄	0.07 ± 0.03	0.82 ± 0.03
Cyclophosphamide[a]	60	24	5 雄	3.15 ± 0.23	0.75 ± 0.06

NCE: 正染性赤血球、PCE: 多染性赤血球

a: 陽性対照

2.6.7.10　がん原性試験

該当なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

生殖発生毒性試験: 重要な試験以外の試験　　被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

動物種 /系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量[a] (g/kg/日)	一群の動物数及び性	特記すべき所見	試験番号
ウサギ /Hra:(NZW) SPF	強制経口 （1%カルボキシメチルセルロース水溶液）	妊娠 7 日~ 妊娠 20 日	0、1、3	5 雌 （ 妊娠 ）	当試験は、ウサギにおける重要な胚·胎児発生毒性試験のための用量設定試験である 母体の死亡率、体重、体重増加量、摂餌量、肉眼所見においてパチロマーカルシウム投与に関連した影響は認められなかった。黄体数、着床痕、吸収頻度又は着床後損失率に影響はなかった。 平均胎児重量は、1 及び 3 g/kg/日でそれぞれ対照群より 7%及び 9%低かった。胎児の外見上の変化や奇形は認められなかった。	TR350-11-001

a: パチロマーカルシウムの含有量に合わせて投与量を調製 (ソルビトールと水分を補正) し、パチロマーソルビテクスカルシウムとして投与した。

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: Dietary Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation with RLY5016S in Rats　被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

試験計画: ICH 4.1.1 準拠　投与期間: 雄: 交配前少なくとも 35 日　試験番号:RLY-TR-0006

動物種/系統:ラット/ Crl: CD (SD)　交尾成立日: 妊娠 0 日　雌: 交配前少なくとも 21 日から妊娠 7 日目まで

試験開始週齢: 9 週齢　帝王切開日:妊娠 13 日　CTD における記載箇所: 4.2.3.5.1

初回投与年月日: 雄 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法: 経口 (混餌)　GLP 適用: 適

雌 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　溶媒/投与形態: Teklad Certified Rodent Diet, Meal #8728CM

特記事項: なし　無毒性量: F0 雄: 5 g/kg/日　F0 雌: 5 g/kg/日　受胎能及び初期胚発生: 5 g/kg/日

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 (1/3)

	投与量 (g/kg/日)[a]	0 (対照)	1.0	2.5	5.0
F0 雄	トキシコキネティクス	パチロマーソルビテクスカルシウムは吸収されないため非該当			
	評価動物数	22	22	22	22
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
	一般状態	-	-	-	-
	剖検	-	-	-	-
	器官重量	-	-	-	-
	体重 (%)[b] 71 日	527.3 g	-2.2	-2.8	-7.7*
	体重増加量 (%)[b] 0-71 日	232.9 g	-4.3	-4.6	-15.6**
	摂餌量	-	-	-	-
	交尾動物数	22	22	22	22
	授胎動物数	22	22	22	22
	精子運動性	-	-	-	-

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 (2/3)

投与量 (g/kg/日)[a]		0 (対照)	1.0	2.5	5.0
F0 雄	精子数	-	-	-	-
F0 雌	トキシコキネティクス	パチロマーソルビテクスカルシウムは吸収されないため非該当			
	評価動物数	22	22	22	22
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
	一般状態	-	-	-	-
	剖検	-	-	-	-
	交配前体重 (%)[b]	-	-	-	-
	妊娠時体重 (%)[b]	-	-	-	-
	交配前摂餌量 (%)[b]				
	7-14 日	19.4 g/日	-1.0	-0.5	+6.7*
	0-21 日	19.4 g/日	-0.5	-0.5	+6.2*
	妊娠時摂餌量 (%)[b]				
	0-7 日	23.7 g/日	+0.4	+0.4	+11.0**
	0-13 日	24.3 g/日	-0.4	+1.2	+6.2*
	性周期	-	-	-	-
	受胎率 (%)[c]	100	100	95	91
	妊娠動物数	21	22	21	20
	交配雌動物数	21	22	22	22
	雌受胎率 (%)[d]	95	100	95	91
	流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
	平均黄体数	16.3	16.2	16.0	16.4

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 (3/3)

投与量 (g/kg/日)[a]		0 (対照)	1.0	2.5	5.0
F0 雌	平均着床数	15.1	15.1	15.2	15.2
	平均着床前死亡率 (%)	7.4	5.9	4.6	6.9
	平均生存胚数	14.3	14.8	14.1	14.5
	平均吸収胚数	0.7	0.4	1.1	0.7
	死亡胚数	0	0	0	0
	平均着床後死亡率 (%)	9.2	2.6	7.4	4.6

ANOVA: 一元配置分散分析、”-“: 特記すべき所見なし

* p≤0.05 (ANOVA 及び必要に応じて Dunnett の検定を実施)

** p≤0.01 (ANOVA 及び必要に応じて Dunnett の検定を実施)

a パチロマーカルシウムの含有量に合わせて投与量を調製 (ソルビトールと水分を補正) し、パチロマーソルビテクスカルシウムとして投与した。

b 対照群については、群の平均値を示した。被験物質群については、対照群との差をパーセントで示した。統計学的有意性は実際のデータに基づいている (差の割合ではない) 。

c 受胎率= (妊娠雌動物数/交配雌動物数) × 100

d 雌受胎率= (妊娠雌動物数/ペアリングした雌動物数) ×100

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 ラット胚· 胎児発生に関する試験

報告書の題名:Oral Gavage Study for Effects on Embryo-Fetal Development with RLY5016 in Rats被験物質: パチロマーカルシウム

試験計画: ICH 4.1.3 に準拠　投与期間:妊娠 6 日~妊娠 17 日　試験番号: TR 350-08-001

動物種/系統: ラット/ Crl: CD (SD)　交尾成立日: 妊娠 0 日

試験開始週齢: 12 週齢　帝王切開日: 妊娠 21 日　CTD における記載箇所: 4.2.3.5.2

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

特記事項: なし　溶媒/投与形態:1% (w/v) カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液/懸濁無毒性量: F0

雌: 6 g/kg/日を超える量　F1 胎児: 6 g/kg/日を超える量生殖発生毒性試験: ラット胚· 胎児発生に関する試験 (1/2)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)	1	3	6
F_0 母動物				
トキシコキネティクス	パチロマーカルシウムは吸収されないため非該当			
妊娠動物数	25	25	25	25
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検	-	-	-	-
子宮重量	-	-	-	-
体重	-	-	-	-
体重増加量	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-

生殖発生毒性試験: ラット胚･胎児発生に関する試験 (2/2)

投与量 (g/kg/日)	0 (対照)	1	3	6
平均黄体数	14.0	13.8	13.8	14.1
平均着床数	13.2	13.0	13.2	13.4
平均着床前胚損失率 (%)	5.5	4.9	3.1	4.5
F_1 胎児				
評価母動物数	25	25	25	25
平均生存胎児数	13.0	12.5	13.0	13.1
平均吸収胚数	0.1	0.5	0.2	0.3
平均着床後胚損失率 (%)	0.9	3.6	1.4	2.7
平均胎児体重 (g)	5.30	5.50	5.37	5.34
胎児の性比 (雄:雌)	51:49	54:46	48:52	50:50
胎児の異常:				
外表異常	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-
骨格異常	-	-	-	-

-: 特筆すべき所見なし

2.6.7.13.2 ウサギ胚· 胎児発生に関する試験

報告書の題名:Oral Gavage Study for Effects on Embryo-Fetal Development with RLY5016S in Rabbits 被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

試験計画: ICH 4.1.3 に準拠　投与期間:妊娠 7 日~妊娠 20 日　試験番号: RLY-TR-0005

動物種/系統: ウサギ/ Hra: (NZW) SPF　交尾成立日: 妊娠 0 日

試験開始週齢: 4~5 か月齢　帝王切開日: 妊娠 29 日　CTD における記載箇所: 4.2.3.5.2

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

特記事項: なし　溶媒/投与形態:1% (w/v) カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液/懸濁無作用量: F0 雌: 3 g/kg/日　F1 胎児: 3 g/kg/日生殖発生毒性試験: ウサギ胚· 胎児発生に関する試験 (1/2)

投与量 (g/kg/日) [a]	0 (対照)	0.5	1	3
F0 母動物				
トキシコキネティクス	パチロマーソルビテクスカルシウムは吸収されないため非該当			
妊娠動物数	20	19	19	19
死亡及び瀕死屠殺動物数	2	0	0	0
流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検	-	-	-	-
体重	-	-	-	-
体重増加量 (g)　妊娠 7-9 日	4.2	4.8	17.4	39.5**
摂餌量	-	-	-	-
平均黄体数	9.7	9.1	9.4	9.4
平均着床数	9.1	8.1	9.1	7.9
平均着床前胚損失率 (%)	5.8	10.0	3.8	15.0

生殖発生毒性試験: ウサギ胚· 胎児発生に関する試験 (2/2)

投与量 (g/kg/日)[a]	0 (対照)	0.5	1	3
F1 胎児				
評価母動物数	18	19	19	19
平均生存胎児数	8.7	7.8	8.7	7.6
平均吸収胚数	0.4	0.3	0.3	0.4
平均着床後胚損失率 (%)	4.0	4.1	3.2	5.1
平均胎児体重 (g)	39.14	41.11	39.77	41.39
胎児の性比 (雄:雌)	52:48	52:48	46:54	44:56
胎児の異常:				
外表異常	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-
骨格異常	-	-	-	-

ANOVA: 一元配置分散分析、-: 特筆すべき所見なし

**p≤0.01 (ANOVA 及び必要に応じて Dunnett の検定を実施)

a パチロマーカルシウムの含有量に合わせて投与量を調製 (すなわちソルビトールと水分を補正) し、パチロマーソルビテクスカルシウムとして投与した。

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

該当なし

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

その他の毒性試験 (1/4)　　被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

試験種/不純物	投与方法	投与期間	投与量	特記すべき所見	試験番号
[redacted]不純物					
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

その他の毒性試験 (2/4) 被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

試験種/不純物	投与方法	投与期間	投与量	特記すべき所見	試験番号
[redacted]不純物					
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

2.6.7 毒性試験の概要表

その他の毒性試験 (3/4) 被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

試験種/不純物	投与方法	投与期間	投与量	特記すべき所見	試験番号
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

その他の毒性試験 (4/4)　　被験物質: パチロマーソルビテクスカルシウム

試験種/不純物	投与方法	投与期間	投与量	特記すべき所見	試験番号
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[redacted]