ネフィー点鼻液 1 mg
ネフィー点鼻液 2 mg

（アドレナリン）

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

アルフレッサ ファーマ株式会社

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 9
2.6.6.3　反復投与毒性試験 13
2.6.6.4　遺伝毒性試験 14
2.6.6.5　がん原性試験 15
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 16
2.6.6.7　局所刺激性試験 16
2.6.6.8　その他の毒性試験 17
2.6.6.9　考察及び結論 30
2.6.6.10　参考文献 32

表目次

表 2.6.6-1　ARS-1 の毒性試験一覧 7
表 2.6.6-2　DDM（ドデシルマルトシド、Intravail A3）の毒性試験一覧 8
表 2.6.6-3　2555-002 試験の試験デザイン 10
表 2.6.6-4　ARS-1（アドレナリン製剤）を 0（第 7 群、製剤用媒体）、0.2、0.4 及び 0.8 mg の用量でラットに単回鼻腔内投与したときのアドレナリンの TK パラメータ（雌雄併合データ） 12
表 2.6.6-5　2555-004 試験の試験デザイン 16
表 2.6.6-6　ARS-1 の添加物 18
表 2.6.6-7　0437RA33.001 試験の群構成及び投与デザイン 18
表 2.6.6-8　504091 試験の群構成及び投与デザイン 19
表 2.6.6-9　504092 試験の群構成及び投与デザイン 20
表 2.6.6-10　504393 試験の群構成及び投与デザイン 21
表 2.6.6-11　8322452 試験の群構成及び投与デザイン 24
表 2.6.6-12　AA99567 試験の群構成及び試験デザイン 26
表 2.6.6-13　35837 試験の群構成 29

図目次

図 2.6.6-1　DDM の構造 6

略語・略号一覧表

略語・略号	英名	和名
ARS-1	Adrenaline nasal spray	アドレナリン点鼻液
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the concentration-time curve from 0 to t	投与後 0 時間から t 時間までの濃度－時間曲線下面積
BLC	Baseline corrected	－
BZK	Benzalkonium chloride	ベンザルコニウム塩化物
CAS	Chemistry abstract services	化合物抄録サービス
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	欧州医薬品委員会
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DDM	Dodecylmaltoside, n-dodecyl-β-D-maltoside, 1-O-n-dodecyl-β-D-maltopyranoside	ドデシルマルトシド
EPA	Environmental Protection Agency	米国環境保護庁
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IM	Intramuscular	筋肉内
IN	Intranasal	鼻腔内
Intravail A3	Dodecylmaltoside, n-dodecyl-β-D-maltoside, 1-O-n-dodecyl-β-D-maltopyranoside, DDM	ドデシルマルトシド
IV	Intravenous	静脈内
LD_{50}	Lethal dose in 50% of the population	50%致死量
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐量
Na_2EDTA	Ethylenedinitrilotetraacetic acid disodium salt dihydrate	エデト酸ナトリウム水和物
NIH	National Institutes of Health	米国国立衛生研究所
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
NTP	National Toxicology Program	国立毒性プログラム
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
RMI	Relative mitotic index	相対分裂指数
SC	Subcutaneous	皮下
SD	Sprague Dawley	－
SOI	Start of infusion	投与開始
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	Time to achieve peak plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間

略語・略号	英名	和名
USP	United States Pharmacopeia	米国薬局方

2.6.6　毒性試験の概要文

本製造販売承認申請の毒性試験の概要文は、アナフィラキシーなどのI型アレルギー反応を適応症とするARS-1（アドレナリン点鼻液）の試験成績を要約したものである。ARS-1は、臨床では1 mgと2 mgのいずれかで使用され、それぞれ製剤が異なっているが、非臨床毒性試験ではすべて1 mg用の製剤を用いて検討した。

アドレナリンは100年以上にわたって使用されており、アナフィラキシー、喘息、敗血症性ショックなどの重度のアレルギー反応の治療に使用されてきた豊富な臨床経験がある。アナフィラキシーに対するアドレナリンの使用は、動物を用いた多くの薬理学試験及び生理学的試験、並びに臨床使用経験に関する報告によって裏付けられており、アナフィラキシーの標準的な第一選択治療として採用されている（Lieberman-2015、Simons-2011）。アドレナリンは、アナフィラキシーなどの重度アレルギー反応の緊急治療薬として静脈内（IV）、筋肉内（IM）、皮下（SC）及び吸入など複数の投与経路で使用されている。アドレナリンは一般に最高1 mg（すなわち、表示用量の0.5 mg筋肉内注射を2回まで）の投与量で良好な安全性プロファイルが確認されており、ヒトで慢性的又は重篤な副作用との関連は認められていない。

2.6.6.1　まとめ

2.6.6.1.1　ARS-1（アドレナリン点鼻液）

ARS社は、アナフィラキシーなど（I型）アレルギー反応の緊急治療を適用として、注射針を使用しない救急治療の代替薬としてARS-1を開発した。現行の標準的治療法であるアドレナリンの自己注射製剤比べて、ARS-1は迅速な投与が可能であり、持ち運びが容易で利便性が高い。また、投与時に針を使用しないため患者や介護者の不安が減少し、より迅速な投与が期待できる。ARS-1は機能性添加剤であるIntravail® A3［ドデシルマルトシド（DDM）］を含む新規の水溶性アドレナリン製剤で、鼻腔内（IN）投与時に薬物のバイオアベイラビリティを向上させる（2.6.6.1.2項参照）。DDMは、日本では医薬品添加剤として使用実績はないが、欧州及び米国において医薬品添加剤として使用されている。

ARS-1は単位用量（ユニットドーズ）でタイプ[redacted]ガラスバイアルに充填され、灰色の[redacted]ゴム製ストッパーで閉栓されており、単位用量のスプレーデバイスに装着して使用する。このデバイスは単位用量の有効成分を噴霧するための非加圧式ディスペンサーである。1回の作動あたりの投与量は100 µLである。

2.6.6.1.2　ドデシルマルトシド（DDM）

米国では、ARS-1（アドレナリン）の他に、TOSYMRA®（スマトリプタン）、VALTOCO®（ジアゼパム）、OPVEE®（ナルメフェン）の3製品が、DDMを添加剤として使用している鼻腔内投与用製剤としてFDAに承認されている。DDMの技術は刺激が少ない界面活性剤の分子構造に基づいており、細胞間及び経細胞経路による経粘膜輸送を促進するために極めて低濃度で使用される。DDMはアルキルグリコシドとして知られる非イオン性界面活性剤に分類される。アルキルグリコシドは多様な長さのアルキル鎖が糖成分に結合して構成されており、経鼻、経口及び点眼投与における薬物のバイオアベイラビリティ向上を目的として広く研究されている。

DDM はマルトースと長鎖アルコールであるドデカノールの配糖体である。DDM の化学名は 1-O-n-ドデシル-β-D-マルトピラノシド［化合物抄録サービス（CAS）番号 69227-93-6］であり、別名はドデシル-4-O-α-D-グルコピラノシル-β-D-グルコピラノシド、ドデシルマルトシド及び *n*-ドデシル-β-D-マルトシドである。DDM の分子式は $C_{24}H_{46}O_{11}$ で分子量は 510.62 である。構造式を以下に示す（図 2.6.6-1）。

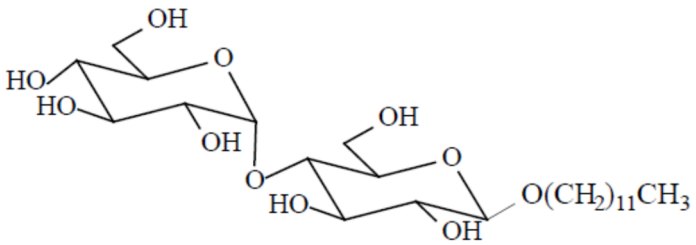


図 2.6.6-1　DDM の構造

DDM はアルキルグリコシド類に分類され、経口及び経鼻投与された場合はグルコース及び対応する長鎖アルコールに加水分解され、代謝の過程で有毒な中間体が生成されることはないと考えられる。

2.6.6.1.3　非臨床毒性試験プログラム

2.6.6.1.3.1　毒性試験 - ARS-1

アドレナリンは全ての高等動物にみられる内因性化合物であり、ヒトにおける ARS-1 由来の曝露量は身体運動や恐怖から生じる正常な生理的範囲内にある。アドレナリンは副腎から分泌される。安静時の成人の内因性血漿中濃度は通常 30 pg/mL 未満であるが、運動中の血漿中アドレナリン濃度は 653 pg/mL に達し、ストレス時には 10,000 pg/mL 以上に著しく増加する可能性がある（Stratton-1982、Wortsman-2002）。

自己注射器による筋肉内投与など、アナフィラキシー治療によるアドレナリンの急性曝露量（0.3 mg 筋肉内投与での C_{max} 最大値は約 600 pg/mL）は、自然に経験する内因性アドレナリンの濃度と比べて十分に範囲内である。ARS-1 の鼻腔内への単回投与後に予想される曝露量は 300～600 pg/mL であり、十分に内因性曝露濃度の範囲内である。

ARS-1 の毒性評価は、ICH M3［医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（2010 年 2 月 19 日）］に従って実施した。アドレナリンは広範な臨床使用実績を有することから、公表文献、これまでの臨床成績及び ARS-1 の非臨床試験成績を基に毒性データを得ることができた。ARS 社では、CHMP の Guideline on Non-clinical Local Tolerance Testing of Medicinal Products（EMA/CHMP/SWP/2145/2000）に準拠して、経鼻投与の安全性を担保するため局所の刺激性を確認した。ARS-1 の毒性を明らかにするため、以下について毒性学的に検討した。

- ラットを用いた単回投与毒性試験
- 反復投与毒性の文献データ
- 遺伝毒性の文献データ
- 生殖発生毒性の文献データ

- ウサギを用いた眼刺激性試験

追加の反復投与毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験は次の理由により実施しなかった。

- 日本ではアドレナリンを成分とする製剤が承認されており、アドレナリンの非臨床毒性は十分に評価されている。
- アドレナリンは内因性物質であり、本剤による曝露はヒトの運動中や恐怖から生じる正常な生理的範囲内である。
- 本剤は重篤なアレルギー反応の緊急治療のために急性使用される製品である。
- 新規の慢性毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験を実施することにより、アドレナリンの毒性プロファイルに関してこれ以上の科学的知見が得られる可能性は低い。

豊富な臨床データ及び非臨床の文献に加えて、アドレナリン製剤に関する情報を提供するために追加の毒性試験を実施した。実施した ARS-1 の毒性試験を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1　ARS-1 の毒性試験一覧

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	GLP Compliance	Study Number
Single-Dose Toxicity					
Dose range-finding and toxicokinetic study	Rat / Sprague Dawley	Intranasal	1 day	Yes	2555-002
Local Tolerance					
Ocular tolerability	Rabbit / New Zealand White	Topical/ocular	1 day	No	2555-004

ARS-1 に関する非臨床試験は、OECD 加盟国である米国で実施した。

2.6.6.1.3.2　毒性試験 - DDM

新規添加剤 DDM の安全性を担保するため、ICH M3 ガイドライン及び CHMP と FDA のガイドラインに従って DDM の毒性を評価した。DDM の毒性プロファイルを判断するための非臨床試験として、以下の試験を実施した。

- ラット及びイヌを用いる最長 12 週間までの反復投与毒性試験
- *In vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験
- ラットを用いるがん原性試験
- ラットを用いる胚・胎児発生毒性試験
- モルモット、ウサギ及びイヌを用いる局所刺激性試験

これらの試験に加えて、米国環境保護庁（EPA）（Federal Register-2005）及び Spack ら（Spack-1998）の公開毒性データも要約した。さらに、Spack らが評価したバルビツール睡眠誘発作用及び利尿作用についても記載した。DDM で実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2　DDM（ドデシルマルトシド、Intravail A3）の毒性試験一覧

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	GLP Compliance	Study Number
Repeat-Dose Toxicity					
Subacute toxicity	Rat / [redacted]	Intranasal	2 weeks	Yes	0437RA33.001
Dose Range Finding	Rat / [redacted]	Intravenous Infusion	8 days	No	504091
Dose Range Finding	Dog / [redacted]	Intravenous Infusion	[redacted] days	No	504092
Dose Range Finding	Dog / [redacted]	Intravenous Infusion	12 weeks	No	504393
Genotoxicity					
Mutagenicity	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Yes	963114
Chromosomal aberration	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Yes	963115
In vivo mammalian micronucleus	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Yes	963116
Carcinogenicity					
Long-term toxicity	Rat / [redacted]	Intranasal	104 weeks	Yes	8322452
Reproductive and Developmental Toxicity					
Impairment of fertility	Rat / [redacted]	Intravenous	D6-D17	Yes	AA99567
Local Tolerance					
Contact hypersensitivity	Guinea Pig / [redacted]	Intradermal	[redacted]	Yes	C78787
Dermal Irritation	Rabbit / [redacted]	Subcutaneous	D1, D8	Yes	503595
Local tolerance	Dog / [redacted]	Intranasal	13 weeks	Yes	35837

DDM の非臨床毒性試験（GLP 適用）は全て、OECD 加盟国である英国、フランス、スイス、米国及びカナダで実施した。

非臨床試験の試験報告書では、Intravail A3、Dodecylmaltoside、n-dodecyl-β-D-maltoside、1-O-n-dodecyl-β-D-maltopyranoside あるいは DDM の用語を同義的に使用している。毒性試験の概要表をモジュール 2 の 2.6.7 項に示し、試験報告書をモジュール 4 に掲載した。

本剤には、外用剤としての前例を超える濃度のエデト酸ナトリウム水和物（Na_2EDTA）が含まれているが、臨床における単回投与時の適用量は 0.2 mg であり、全身曝露を考慮した場合の毒性は懸念されない。また、当該濃度の製剤で実施したラットを用いた拡張急性鼻腔内投与毒性試験（試験番号 2555-002）（資料番号：4.2.3.1-1）では媒体対照群においても投与局所に著しい変化がみられていないことから、臨床において Na_2EDTA が影響を及ぼす可能性は低いと判断した。ちなみに、ヒトにおける臨床試験の各成績では鼻粘膜障害を示唆する所見は得られていない。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

2.6.6.2.1　ARS-1 のラットを用いた拡張急性鼻腔内投与毒性試験（試験番号 2555-002）（資料番号：4.2.3.1-1）

モデル動物のラットに ARS-1（1 mg 製剤）を鼻腔内投与したときの毒性及びトキシコキネティクス（TK）を評価する目的で、GLP 適用の単回投与毒性試験を実施した（試験番号 2555-002）。

主試験では Sprague Dawley（SD）ラットの 1 群あたり雌雄各 15 匹の 5 群を設定した。投薬群 3 群には ARS-1 を投与した。対照群の 2 群には溶媒対照（生理食塩液）（第 1 群）又は製剤用媒体［生理食塩液、[redacted]%Na_2EDTA、[redacted]%ベンザルコニウム塩化物（BZK）、[redacted]%DDM］（第 2 群）を投与した。被験物質及び対照物質を総投与容量 20、40 又は 80 μL で 1 日目に 1 回鼻腔内投与した。左右それぞれの鼻孔に 1 日投与容量の半量を 10 μL ずつ徐々に投与した。主試験の動物は 2 又は 15 日目の剖検日まで飼育した。

さらに、1 群あたり雌雄各 3～6 匹の 5 群を TK 動物として設定した。投薬群の 3 群に被験物質の ARS-1（アドレナリン製剤）を投与した。対照群の 2 群には溶媒対照（第 6 群）及び製剤用媒体（第 7 群）を投与した。被験物質及び対照物質を総投与容量 20、40 又は 80 μL で 1 日目に 1 回鼻腔内に投与した。左右それぞれの鼻孔に 1 日投与容量の半量を 10 μL ずつ徐々に投与した。試験デザインの概要を表 2.6.6-3 に示す。

全動物について生死、瀕死状態及び外傷の有無の観察、並びに摂餌量及び摂水量の測定を 1 日 2 回実施した。一般状態の観察を全例について投与前日、1 日目に 3 回（投与前、投与後約 1 時間及び 4 時間）、その後 1 日 1 回実施した。体重は全例について投与前日及びその後 1 日 1 回測定した。主試験の動物全例について摂餌量を毎日測定した。投与前に全例の眼科学的検査を実施し、主試験の動物については予定剖検日の前にも眼科学的検査を実施した。

主試験の動物全例から、臨床病理検査用の血液及び尿試料を投与期間終了時及び回復期間終了時の剖検前に採取した。TK 試験動物から、1 日目の測定時点で被験物質の血漿中濃度測定及び TK 評価用の血液試料を採取した。

試験終了時に剖検、器官重量の測定及び病理組織学的検査を実施した。

表 2.6.6-3　2555-002 試験の試験デザイン

Group No.	Treatment	Dose Level (mg)	Dose Volume [b] (µL)	No. of Animals [c]	
				Males	Females
Main Study					
1	0.9% Sterile Saline	0	80	15	15
2	Formulation Buffer (Saline, Na_2EDTA, BZK, DDM)	0	80	15	15
3	ARS-1[a] with DDM	0.2	20	15	15
4	ARS-1[a] with DDM	0.4	40	15	15
5	ARS-1[a] with DDM	0.8	80	15	15
Toxicokinetic Study					
6	0.9% Sterile Saline	0	80	3	3
7	Formulation Buffer (Saline, Na_2EDTA, BZK, DDM)	0	80	6	6
8	ARS-1[a] with DDM	0.2	20	6	6
9	ARS-1[a] with DDM	0.4	40	6	6
10	ARS-1[a] with DDM	0.8	80	6	6

a) ARS-1 formulation of adrenaline.

b) Half of the total daily dose volume was administered in each naris in increments of 10 µL at a time.

c) For Groups 1 through 5, 10 animals/sex/group were maintained until Day 2 and 5 animals/sex/group were maintained until Day 15. For Groups 6 through 10, all animals were maintained until the final blood collection on Day 1.

毒性試験成績

すべての動物が試験終了まで生存した。被験物質 ARS-1 を最高 0.8 mg の用量で単回鼻腔内投与したとき、動物の生死、一般状態、体重及び摂餌量、眼科学的検査、血液学的又は臨床生化学的パラメータ、肉眼的所見及び器官重量に被験物質に関連した変化は認められなかった。

被験物質を 0.8 mg の用量で投与したとき、2 日目に平均フィブリノゲン濃度の軽微な増加（1.11 倍）が認められ、典型的な免疫反応あるいは炎症刺激が示唆された。これらの動物では病理組織学的検査において鼻及び鼻腔の急性炎症が観察されたため、このフィブリノゲン濃度の増加は被験物質に関連すると考えられた。さらに、0.4 又は 0.8 mg の用量で被験物質を投与した第 4 群の雌（10 例中 1 例）及び第 5 群の雌雄（各 10 例中 1 例）で 2 日目に、曝露された粘膜の軽微な潰瘍が稀に認められた。第 5 群の雄 1 例では鼻の皮膚に限局性の急性潰瘍がみられたが、軽度の外傷による可能性が高く被験物質とは関連がないと考えられた。鼻腔では、鼻甲介及び吻側の頭頂壁の大部分に軽微～軽度の壊死がみられた（通常は背側に分布）。この壊死は軽微～軽度の急性炎症（好中球性）及び重症度の低い局所的な粘膜出血と関連していた。尾側の部位、すなわち嗅粘膜では投与に関連した変化は観察されなかった。雄で認められた急性炎症を除き、これらの変化は雌雄の全用量で観察された頻度が低く、投与との明確な関連性はなかった。すべての臨床病理学的及び病理組織学的変化は 15 日目までに回復した。

本試験の結果、被験物質 ARS-1 を最高 0.8 mg の用量で単回鼻腔内投与したとき、関連する毒性所見は認められなかった。鼻腔で認められた病理組織学的変化は被験物質による軽度の刺激性を示しており、15 日目には完全に回復して明らかな後遺症は認められなかった。これらの変化は重症度が低く、分布が限定的であり、可逆的であるため毒性所見とは考えられなかった。本試験の結果に基づき、ラットに被験物質を単回鼻腔内投与したときの無毒性量（NOAEL）は 0.8 mg と判断した。

トキシコキネティクス試験成績

TK 試験成績の要約を表 2.6.6-4 に示す。測定した内因性アドレナリンの血漿中濃度に基づき第 7 群（製剤用媒体）についてパラメータを算出した。ARS-1 溶液を投与したアドレナリン投与動物（第 8、9 及び 10 群）の $AUC_{0\text{-}240\ min}$ 値を得るために、第 7 群で算出したアドレナリンの 0～240 分までの曲線下面積（$AUC_{0\text{-}240\ min}$）値（251 ng•min/mL）でベースラインを補正した。

投与前に採取したすべての血漿試料、並びに生理食塩液及び製剤用媒体を含む全群から採取した試料で内因性レベルのアドレナリンが検出された。ARS-1 の全身曝露量に性差はなかった。個体別の血漿中濃度、C_{max} 及び AUC の値に一貫した雌雄差はみられなかった（$AUC_{0\text{-}240\ min}$ の雌雄比は、第 7 群から第 10 群で 0.648～1.24 の範囲であった）。したがって、以降は雌雄併合したデータに基づいて考察する。変動係数から算定した平均血漿中濃度の変動は、第 6 群（生理食塩液）で 40.3%、第 7 群（製剤用媒体）で 32.0%～57.6%であり、アドレナリン（ARS-1 製剤）投与群（第 8 群～第 10 群）で 32.7%～133%であった。第 7 群（製剤用媒体）及びアドレナリン（ARS-1 製剤）投与群（第 8 群～第 10 群）において、投与後 240 分までアドレナリンが定量可能であった。アドレナリンの最高血漿中濃度は、第 7 群（製剤用媒体）で投与後 15 分に観察され、0.2、0.4 及び 0.8 mg（第 8、9 及び 10 群）ではそれぞれ投与後 15、15 及び 30 分に観察された。

対照とする内因性アドレナリンの濃度が十分に低いラットのブランク血漿の入手が困難であったが、試料の保存期間はアドレナリンの長期安定性が確認されている-70°C で 30 日間を超過していた。-70°C で 330 日間の長期安定性は、QC 濃度からの乖離が低値及び高値のそれぞれ-44.3%及び-40.0%であり、QC 濃度の条件を満たさなかった。30 日を超える長期安定性が追加で確認されていないことは、アドレナリンの 267 日間の試料保存期間をカバーする長期安定性が不十分であることを示している。

長期安定性の検討により保存期間中のアドレナリンの分解が認められたが、高用量群でベースラインからの増加がみられたこと、及び QC 濃度からの乖離が非常に大きな場合の測定値を基に報告された曝露量であることから、用量に関連した明らかな曝露が認められた。保存中の分解を考慮すると、実際の曝露量は観察された値よりもはるかに高かった可能性があり、用量に比例したアドレナリンの顕著な全身吸収が観察されたことを裏付けている。

表 2.6.6-4 ARS-1（アドレナリン製剤）を 0（第 7 群、製剤用媒体）、0.2、0.4 及び 0.8 mg の用量でラットに単回鼻腔内投与したときのアドレナリンの TK パラメータ（雌雄併合データ）

Group	Dose (mg)	Day	C_{max} (ng/mL)	C_{max}/Dose (ng/mL/mg)	T_{max} (min)	T_{last} (min)	$AUC_{0\text{-}240\ min}$ (ng•min/mL)	$AUC_{0\text{-}240\ min}$/Dose (ng•min/mL/mg)	BLC $AUC_{0\text{-}240\ min}$ (ng•min/mL)	BLC $AUC_{0\text{-}240\ min}$/Dose (ng•min/mL/mg)
7	0	1	1.35	NA	15	240	251	NA	NA	NA
8	0.2	1	104	521	15	240	2830	14200	2580	12900
9	0.4	1	164	409	15	240	6440	16100	6190	15500
10	0.8	1	433	541	30	240	21900	21700	21700	27100

BLC: Baseline corrected, NA: Not applicable, T_{last}: Time of final quantifiable sample, T_{max}: Time to achieve peak plasma concentration.

要約すると、ARS-1 の単回鼻腔内投与後に血漿中のアドレナリンの C_{max}、$AUC_{0\text{-}240\ min}$ 及びベースライン補正 $AUC_{0\text{-}240\ min}$ の値は、ほぼ用量に比例して増加した。用量が 1、2 及び 4 倍に増加すると、C_{max} は約 1、1.6 及び 4.2 倍、$AUC_{0\text{-}240\ min}$ は約 1、2.3 及び 7.7 倍、またベースライン補正 $AUC_{0\text{-}240\ min}$ は約 1、2.4 及び 8.4 倍にそれぞれ増加した。最終報告書をモジュール 4、試験番号 2555-002 に示す。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

アドレナリンは、本邦では静脈内投与、筋肉内投与、あるいは点眼等の経路により臨床使用が認められ、非臨床毒性が評価されているから、新たな反復投与毒性試験を実施することによりアドレナリンの毒性プロファイルの科学的知見がさらに深まる可能性はないと判断し、反復投与毒性試験を実施しないことは妥当と判断した。得られている文献情報を以下に要約した。

米国国立衛生研究所（NIH）の National Toxicology Program（NTP）により、雌雄の F344/N ラット及び $B6C3F_1$ マウスの群にアドレナリンを含むエアロゾルを 14 日間、13 週間及び 15 ヵ月間曝露するアドレナリンの毒性試験を実施した（Dietz-1990）。対照群の動物には、14 日間及び 13 週間投与試験では希釈した塩酸（pH 2.8）のエアロゾルを曝露し、15 ヵ月間投与試験では水のエアロゾルを曝露した。

14 日間投与試験: ラット及びマウスにアドレナリンを 0 又は 12.5～200 mg/m^3 の濃度で曝露した。ラットでは 12.5 mg/m^3 以上の濃度に曝露した雄及び 25 mg/m^3 以上の濃度に曝露した雌で死亡がみられた。マウスでは 50 mg/m^3 以上の濃度で死亡がみられた。被験物質に関連した一般状態の変化として、アドレナリンを曝露したラット及びマウスの全群で呼吸数の増加がみられた。高濃度（100 及び 200 mg/m^3）では、ラットで過度の流涙及び呼吸困難、マウスで過剰な視覚及び聴覚反射が観察された。

13 週間投与試験: ラット及びマウスにアドレナリンを 0 又は 2.5～40 mg/m^3 の濃度で曝露した。ラット及びマウスで濃度に関連した死亡はみられなかった。被験物質に曝露したラット及びマウス、並びに塩酸エアロゾルに曝露した対照群の動物の最終平均体重は概ね類似していた。
40 mg/m^3 の濃度で曝露したラット及びマウスで呼吸数が増加した。40 mg/m^3 の濃度で曝露したラット及びマウスの心臓及び副腎重量、並びにマウスの肝臓重量は塩酸エアロゾルを曝露した対照群よりも高値であった。40 mg/m^3 の濃度で曝露したラット及びマウスの鼻粘膜の呼吸上皮に扁平上皮化生がみられた。20 及び 40 mg/m^3 の濃度で曝露したラットでは喉頭筋の変性病変がみられた。10、20 及び 40 mg/m^3 の濃度で曝露したマウスでは腺胃の炎症がみられ、40 mg/m^3 の濃度で曝露した雌マウスの 10 例中 7 例では子宮の萎縮がみられた。

15 ヵ月間投与試験: アドレナリンをラットに 0、1.5 及び 5 mg/m^3、マウスに 0、1.5 及び 3 mg/m^3 の濃度で週 5 日、15 ヵ月間曝露した。血液学的検査において被験物質に関連した変化はみられなかった。3 mg/m^3 の濃度で曝露したマウス及び 5 mg/m^3 の濃度で曝露したラットの肝臓の絶対重量、3 mg/m^3 の濃度で曝露したマウスの肝臓の相対重量、並びに 3 mg/m^3 の濃度で曝露した雄

マウスの腎臓の体重比重量は、対照群と比較して有意に低かった。ラット及びマウスでは、被験物質に関連した病変はみられなかった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

NIH の National Toxicology Program により、ネズミチフス菌及びチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いたアドレナリンの遺伝毒性試験を実施した（Dietz-1990）。ネズミチフス菌を用いたアドレナリンの遺伝子変異試験では、代謝活性化系（S9）存在下の TA100 菌株では陰性であり、S9 の非存在下では疑陽性の結果が得られた。TA98、TA1535 及び TA1537 菌株では、S9 の有無に関わらず変異原性は観察されなかった。CHO 細胞を用いた試験で観察された姉妹染色分体交換の誘導に対する反応は、S9 代謝活性化系の存在下及び非存在下でそれぞれ陰性及び疑陽性と判断された。アドレナリンは、S9 の有無に関わらず CHO 細胞で染色体異常を誘発しなかった。

National Toxicology Program によりアドレナリンの遺伝毒性情報に関する文献調査も実施されており（Dietz-1990）、以下に要約した。

アドレナリン自体の変異原性に関する情報はないが、アドレナリンとその 2 代謝物に関する限定的な情報が得られている。アドレナリンは、バクテリオファージから抽出した DNA 鎖の切断、枯草菌における DNA 損傷による生育阻害、ネズミチフス菌における遺伝子突然変異、並びに *in vitro* 哺乳類細胞における遺伝子突然変異及び DNA 鎖切断を引き起こすと報告されているが、この情報は強い変異原性を示すものではない。これらの所見は、National Toxicology Program で実施したアドレナリンの遺伝毒性試験結果と一致しており、ネズミチフス菌を用いた遺伝子変異試験及び CHO 細胞を用いた姉妹染色分体交換試験では疑陽性反応がみられ、CHO 細胞を用いた染色体異常の誘発については陰性の結果が得られた。アドレナリンを投与したマウスにおける *in vivo* 小核試験及び精子異常誘発試験は陰性であった。アドレナリンの代謝物である 3-メトキシエピネフリンは、大腸菌において DNA 鎖切断を誘発すると報告された。別の代謝物である 4-ヒドロキシ-3-メトキシマンデル酸は、*in vitro* で処理したヒトリンパ球において DNA 合成を阻害しなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

NIH の National Toxicology Program により、雌雄の F344/N ラット及び B6C3F$_1$ マウスにアドレナリンを含むエアロゾルを曝露するがん原性試験を実施した（Dietz-1990）。対照群には水のエアロゾルを曝露した。

雌雄ラット各 60 匹に 0、1.5 及び 5 mg/m^3 のアドレナリンを週 5 日、103 週間曝露し、雌雄マウス各 60 匹に 0、1.5 及び 3 mg/m^3 のアドレナリンを週 5 日、104 週間曝露する 2 年間の試験を実施した。これらの曝露濃度は、通常の 2 年間がん原性試験に使用する最大耐量（MTD）とその半量に相当する用量から逸脱している。このため、投与量はヒトの最高治療用量（体重及び体表面積で補正）を超えていたが、MTD の半量未満であった。

曝露したラット及びマウスと対照群の平均体重及び生存率は類似していた。生存率データは以下の通りであった。

- ラット
  - 雄　対照: 50 例中 33 例、1.5 mg/m^3: 50 例中 27 例、5 mg/m^3: 50 例中 32 例
  - 雌　対照: 50 例中 32 例、1.5 mg/m^3: 50 例中 29 例、5 mg/m^3: 50 例中 30 例

- マウス
  - 雄　対照: 50 例中 33 例、1.5 mg/m^3: 50 例中 34 例、3 mg/m^3: 50 例中 36 例
  - 雌　対照: 50 例中 32 例、1.5 mg/m^3: 50 例中 35 例、3 mg/m^3: 50 例中 34 例

非腫瘍性及び腫瘍性の変化として、鼻粘膜の化膿性炎症、鼻腺（ボーマン腺及び鼻腺）の拡張及び呼吸上皮の過形成がみられ、5 mg/m^3 を曝露した雄ラット並びに 1.5 及び 5 mg/m^3 を曝露した雌ラットで発現頻度が増加した。

雄マウスでみられた嗅上皮のヒアリン変性、並びに雌マウスでみられた鼻腔の化膿性炎症及び呼吸上皮のヒアリン変性は、1.5 及び 3 mg/m^3 群で対照群と比較して増加した。これらの試験では、被験物質への曝露と関連する腫瘍はみられなかった。医薬品のがん原性試験に関するガイドライン（ICH S1B(R1)、2023 年 3 月 10 日）に従い、発がん性の疑いがないことを考慮すると追加のがん原性試験を実施する必要はないと判断した。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

アドレナリンは天然の内因性物質であり、本剤は正常な生理的濃度の範囲内で投与されるため、CHMP の Guideline on Non-Clinical Documentation for Mixed Marketing Authorisation Applications (CPMP/SWP/799/95)に従い、新たな生殖発生毒性試験を実施しないことは妥当と判断した。得られている文献情報を以下に要約した。

妊娠 18～22 日のウサギの胎児に 5～50 μg のアドレナリンを直接注射した結果、四肢の末梢に出血、浮腫及び壊死が観察された（Shepard-1986）。

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　ARS-1 を New Zealand White ウサギに単回局所投与したときの眼刺激性試験（試験番号 2555-004）（資料番号：4.2.3.6-1（参））

ARS-1 を未処置の New Zealand White ウサギに単回局所投与したときの眼刺激性を評価するために、GLP 非適用の試験を実施した（試験番号 2555-004）。この試験は、ARS-1 が誤って眼に噴射された場合の影響を評価するために実施した。1 日目に溶媒対照又は ARS-1（1 mg）をそれぞれ右眼又は左眼に単回投与した。試験デザインの概要を表 2.6.6-5 に示す。投与媒体は、生理食塩液に[redacted]%Na_2EDTA、[redacted]%BZK 及び[redacted]%DDM を加えたアドレナリンを含まない ARS-1 製剤（Formulation Buffer）を使用した。

表 2.6.6-5　2555-004 試験の試験デザイン

Group No.	Treatment Right Eye	Treatment Left Eye	Dose Level (mg/eye)	Dose Volume (μL/eye)	Dose Concentration (mg/mL)	Main Study	
						No. of Males	No. of Females
1	Vehicle Control	ARS-1	1	100	10	3	3

本試験では、以下のパラメータ及び評価項目を検討した: 動物の生死、一般状態、体重、眼科学的検査、眼所見のスコアリング及び剖検所見。

間接検眼鏡検査、細隙灯顕微鏡検査及び改変 Hackett-McDonald スコアリング法による検査の結果、ARS-1 の忍容性は良好であった。一般状態の異常や体重への影響は認められず、剖検時に肉眼的病変は観察されなかった。眼に対する曝露による毒性の徴候がないこと、臨床的にアドレナリンが点眼及び注射により眼に適用されていることを考慮に入れると、追加の試験は必要ないと考えられた。試験報告書をモジュール 4、試験番号 2555-004 に示す。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　不純物／分解生成物

申請を予定する薬剤／製品の規格に安全性上の懸念はなく、構造未知の揮発性抽出物や溶出物は報告されていない（モジュール 3 の 3.2.P.2.6 項）。したがって、不純物／分解生成物の安全性評価は必要ないと考えられた。

2.6.6.8.2　添加物

ARS-1 の添加物を表 2.6.6-6 に示す。DDM は現在本邦で承認されている医薬品に含まれていないが、米国においては FDA が承認した 2 製品で使用されている。また、Na_2EDTA は国内で使用されている医薬品での使用濃度を超えていることから、その安全性を考察した。これら以外の添加物は様々な既承認薬剤に使用され、安全性上の懸念はない。DDM の非臨床試験プログラムを以下に要約し、試験報告書をモジュール 4 に示す。

本剤に含まれる Na_2EDTA は単回投与時の適用量として[redacted]mg であり、全身曝露を考慮した場合の毒性は懸念されない。また、当該濃度の製剤で実施したラットを用いた拡張急性鼻腔内投与毒性試験（試験番号 2555-002）（資料番号：4.2.3.1-1）では媒体対照群においても投与局所に著しい変化がみられていないことから、臨床において Na_2EDTA が影響を及ぼす可能性は低いと判断した。ちなみに、ヒトにおける臨床試験の各成績では鼻粘膜障害を示唆する所見は得られていない。

表 2.6.6-6　ARS-1 の添加物

Component	Function
Dodecyl maltoside (DDM)	Permeation Enhancer
Benzalkonium Chloride	Preservative
Sodium Chloride	Tonicity Agent
Disodium Edetate	Chelating Agent
Sodium Metabisulfite	Antioxidant
Water for Injection (WFI)	Solvent
Hydrochloric Acid	pH Adjustment
Sodium Hydroxide	pH Adjustment

2.6.6.8.2.1　DDM の単回投与毒性試験

初期の GLP 非適用の単回投与毒性試験は、マウス及びモルモットを用いて実施した。DDM の 10,000 μg/kg をマウス 2 匹及びモルモット 2 匹に急速腹腔内投与したところ、有害な影響は認められなかった。3 番目の試験でマウス（雌雄各 10 匹）に 400 μg/kg を急速静脈内投与したところ、腎尿細管の変化を示唆する所見が観察された（Spack-1998）。

EPA は C_{12-14} のアルキルグリコシドのラットの 50%致死量（LD_{50}）を 2000 mg/kg 超又は 5000 mg/kg 超と報告している（Federal Register-2005）。

2.6.6.8.2.2　DDM の反復投与毒性試験

2.6.6.8.2.2.1　DDM のラットにおける 2 週間反復鼻腔内投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（試験番号 0437RA33.001）（資料番号：4.2.3.7.7-1）

DDM の毒性を評価するため GLP 適用の亜急性毒性試験を実施した。[redacted]ラット（1 群雌雄各[redacted]匹）に DDM の 0、80、200 及び 400 μg/animal/dose（それぞれ[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]μg/cm²/dose に相当）を隔日で 2 週間、合計 7 回投与して毒性を評価した（試験番号 0437RA33.001）。対照群には、[redacted] mM[redacted]に[redacted]%[redacted]及び[redacted]%EDTA を加え pH[redacted]に調整した投与液媒体を投与した。[redacted][redacted]μL の液量で DDM を投与した。試験の群構成と投与デザインを表 2.6.6-7 に示す。14 日間の休薬期間終了後に影響の回復性についても評価した。観察及び測定項目として、一般状態観察、体重・摂餌量測定、眼科学的検査、血液生化学的検査、血液学的検査、凝固検査、剖検所見、特定の器官の重量測定、並びに病理組織学的検査を実施した。

表 2.6.6-7　0437RA33.001 試験の群構成及び投与デザイン

Group	Treatment	Formulation Conc. (%)	Dose Level (μg/animal/dose)	Nasal dose/day[a] (mg/cm²/dose)	Number of animals	
					M	F
1	Control	0	0	0	[redacted]	[redacted]
2	Low-dose	[redacted]	80	[redacted]	[redacted]	[redacted]
3	Mid-dose	[redacted]	200	[redacted]	[redacted]	[redacted]
4	High-dose	[redacted]	400	[redacted]	[redacted]	[redacted]

a) [redacted]cm² (Gross and Morgan-1992).

2 週間の投与期間及び回復期間を通して、DDM に関連した死亡及び一般状態の変化は観察されなかった。体重、摂餌量、血液生化学的検査、血液学的検査、眼科学的検査、剖検所見及び器官重量に DDM の影響は認められなかった。200 及び 400 μg/animal 群の雌雄で、DDM の鼻腔内

投与と関連した鼻腔の炎症がみられた。炎症は鼻腔内の液体貯留及び好中球集積を特徴とし、雄で軽微～中等度、雌で軽微であった。高用量群の雄[redacted]例中[redacted]例で炎症の拡大と考えられる上皮過形成及び壊死がみられた。高用量群の雄[redacted]例中[redacted]例及び雌[redacted]例中[redacted]例では限局的な上皮変性巣が認められた。2週間の回復期間後、いずれの動物にも鼻腔への影響は認められなかった。[redacted]がみられた。

本亜急性毒性試験ではラットにDDMを隔日で2週間、合計7回鼻腔内投与した結果、無影響量（NOEL）は80 μg/animal/dose（[redacted] μg/cm^2/doseに相当）と推定された。[redacted]と考えられた。

2.6.6.8.2.2.2　DDMの[redacted]ラットにおける8日間静脈内持続投与（週1回、24時間持続注入）用量設定試験（試験番号504091）（資料番号：4.2.3.7.7-2（参））

DDMの急性毒性を評価するためGLP非適用の毒性試験を実施した。[redacted]ラットを用いて1及び8日目にDDMを静脈内に24時間持続投与し、急性毒性を検討した（試験番号504091）。試験デザインを表2.6.6-8に示す。媒体対照群には0.9%注射用塩化ナトリウムを投与した。

表2.6.6-8　504091試験の群構成及び投与デザイン

Group No.	Nominal Dose Level (mg/kg/dose)	Nominal Dose Concentration (mg/mL)	Dose Rate (mL/kg/h)	No. of Animals	
				Males	Females
1/ Vehicle Control	0	0	[redacted]	[redacted]	[redacted]
2/ DDM	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
3/ DDM	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
4/ DDM	10	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[redacted]

標準的な無菌操作でラット[redacted]を行った。[redacted]させた。1及び8日目に[redacted]μmの[redacted]を使用して、DDM及び対照物質を24時間の静脈内持続注入により投与した。各投与間は[redacted]投与した。投与速度は[redacted] mL/kg/時間とし、実際の投与量は各動物の直近の実体重に基づいて算出した。各投与時には、[redacted]を投与した。測定パラメータ及び評価項目として、投与液分析、一般状態観察、体重・摂餌量測定、臨床検査（血液学的検査、凝固検査及び血液生化学的検査）、曝露量評価及び肉眼的剖検を実施した。

DDMを目標投与量[redacted]、[redacted]及び10 mg/kg/doseで週1回8日間、合計2回投与したところ、試験中に死亡、投与に関連した一般状態の変化及び評価指標に対する影響は認められなかった。剖検時にDDMと関連する肉眼的病理変化も観察されなかった。

[redacted]日目の投与終了前のDDMの平均血漿中濃度は、[redacted]、[redacted]及び[redacted] mg/kg群でそれぞれ[redacted]、[redacted]及び[redacted] ng/mLであった。[redacted]の血漿中濃度は、[redacted] mg/kg

群の[redacted]であった。[redacted] mg/kg 群の[redacted]の平均血漿中濃度は[redacted] ng/mL であった。

ラットに DDM の[redacted]、[redacted]及び 10 mg/kg/dose を週 1 回、合計 2 回静脈内持続投与したところ、忍容性が良好であった。一般状態、体重、臨床検査及び肉眼的病理検査で変化は認められなかったことから、予定する[redacted]日間反復投与試験において最高 10 mg/kg/dose（[redacted] mg/mL）までの投与量は適切であると考えられた。

2.6.6.8.2.2.3　DDM の[redacted]犬における静脈内持続投与（週 1 回、24 時間持続注入）用量設定試験（試験番号 504092）（資料番号：4.2.3.7.7-3（参））

予定する反復投与試験に適切な高用量を設定するため、GLP 非適用の用量設定試験を実施した。イヌに週 1 回 DDM を静脈内に 24 時間持続投与し（1、8、15 及び 21 日目に漸増投与）、毒性を評価した（試験番号 504092）。試験デザインを表 2.6.6-9 に示す。媒体対照群には 0.9%注射用塩化ナトリウムを投与した。

表 2.6.6-9　504092 試験の群構成及び投与デザイン

Group No.	Day	Dose Level (mg/kg/dose)	Dose Concentration (mg/mL)	Dose Rate (mL/kg/h)	Animal Nos.	
					Males	Females
1/ DDM	1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
	8	[redacted]				
	15					
	21	10				

[redacted]

標準的な無菌操作でイヌ[redacted]を行った。[redacted]

[redacted]させた。

1、8、15 及び 21 日目に[redacted] μm の[redacted]を使用して、DDM（1、[redacted]又は 10 mg/kg）を 24 時間の静脈内持続注入により投与した。各投与間は[redacted]を投与した。投与速度は[redacted] mL/kg/時間とし、実際の投与量は各動物の直近の実体重に基づいて算出した。各投与時には、[redacted]を投与した（[redacted]）。[redacted]と考えられる。

測定パラメータ及び評価項目として、投与液分析、一般状態観察、体重・体重変化量及び摂餌量測定、臨床検査（血液学的検査、凝固検査及び血液生化学的検査）、曝露量評価、並びに肉眼的剖検を実施した。

[redacted]

投与終了前の DDM の血漿中濃度は、投与量に比例して増加し、性差は認められなかった。平均血漿中濃度は[redacted]及び[redacted]mg/kg 群でそれぞれ[redacted]及び[redacted]ng/mL であった。代謝物[redacted]の血漿中濃度は、[redacted]た。これ以外の[redacted]及び[redacted]群の動物では、代謝物の平均血漿中濃度はそれぞれ[redacted]及び[redacted]ng/mL であった。

DDM を 1、[redacted]及び 10 mg/kg の漸増用量で週 1 回静脈内持続（24 時間）投与した結果、試験を通して死亡、投与に関連した一般状態、摂餌量及び体重への影響は認められなかった。血液生化学的検査あるいは凝固検査で有意な影響はみられず、肉眼的病理変化も認められなかった。[redacted] mg/kg/dose を投与した雄[redacted]例及び雌[redacted]例で、軽度～中等度の血小板数減少がみられた。これらの変化は投与に関連すると考えられたが、他に血液学的変化が認められないことから有害所見とは判断しなかった。

イヌに DDM を 1、[redacted]及び 10 mg/kg の漸増用量で週 1 回静脈内持続（24 時間）投与したときの忍容性は良好であった。一般状態、体重、臨床検査及び肉眼的病理所見に毒性学的変化はなかった。10 mg/kg を投与後に非有害所見の血小板数減少が認められた。

2.6.6.8.2.2.4　DDM の[redacted]犬における静脈内持続投与（週 1 回、24 時間持続注入）用量設定／MTD 試験（試験番号 504393）（資料番号：4.2.3.7.7-4（参））

予定する反復投与試験の投与量を設定するため、[redacted]犬を用いた GLP 非適用の用量設定試験を実施した。DDM を 1 週間間隔で 7 回静脈内持続（24 時間）投与して毒性を評価した。12 週間の投与期間のうち[redacted]日目に投与した（試験番号 504393）。試験デザインを表 2.6.6-10 に示す。媒体対照群には 0.9%注射用塩化ナトリウムを投与した。

表 2.6.6-10　504393 試験の群構成及び投与デザイン

Group No.	Day	Dose Level (mg/kg/dose)[a]	Dose Concentration (mg/mL)	Dose Rate (mL/kg/h)	Animal Nos.	
					Males	Females
1/ DDM	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
	[redacted]	400	[redacted]	[redacted]		
	[redacted]	10	[redacted]	[redacted]		
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		

[redacted] 400 mg/kg [redacted] 10 mg/kg [redacted]

標準的な無菌操作でイヌへの[redacted]

[redacted]

[redacted]させた。

[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]日目に[redacted]μmの[redacted]を使用して、DDMを24時間の静脈内持続注入により投与した。各投与間は投与速度[redacted]mL/時間で[redacted]を投与した。DDMの投与速度を[redacted]mL/kg/時間とし、実際の投与量は各動物の直近の実体重に基づいて算出した。最終投与終了後、[redacted]試験期間中、全動物が設定した[redacted]日の目標容量の[redacted]%～[redacted]%の範囲で投与された。

測定パラメータ及び評価項目として、投与液分析、一般状態観察、体重・摂餌量測定、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、TK測定、肉眼的剖検及び病理組織学的検査を実施した。

[redacted]DDM及びその代謝物[redacted]は、全用量群の雌雄で投与開始（SOI）後それぞれ最長[redacted]時間及び[redacted]時間まで検出された。DDM及び[redacted]は、SOI後それぞれ[redacted]時間及び[redacted]時間でT_{max}に達した。DDM及び代謝物のC_{max}と$AUC_{(0\text{-}48\ h)}$は雌雄ともに投与量に比例して増加した。DDMの平均$AUC_{(0\text{-}48\ h)}$は10、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び400 mg/kgの用量でそれぞれ[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]ng•h/mLであり、明らかな性差はなかった。代謝物の$AUC_{(0\text{-}48\ h)}$の性比は用量群間で[redacted]であり、雄の曝露量がやや高いことが示された。[redacted]の曝露量はDDMと比較して低く、親化合物に対する代謝物の平均$AUC_{(0\text{-}48\ h)}$比は[redacted]%であった。

試験期間中に死亡はなかった。DDMの投与に関連する体重、摂餌量、肉眼的所見及び病理組織学的所見の変化はみられなかった。DDMの投与に関連する一般状態の変化は最高用量の400 mg/kg群に限定され、[redacted]日目に[redacted]例中[redacted]例で赤色／褐色尿（ケージトレイ内の液体）が認められた。

200 mg/kg以上の群で、投与前値と比較して赤血球パラメータの減少と総ビリルビンの軽微な増加が認められた。100 mg/kg以上の群で網状赤血球絶対数の増加がみられた。50 mg/kg以上の群の全例でハプトグロビンが減少し、3例は休薬期間開始後数週間にわたって持続し、1例は全時点で減少した。これらの変化並びに400 mg/kgの投与後に認められた尿と考えられる赤色液体の存在から、軽度の溶血が示唆された。

結論として、イヌにDDMを10～400 mg/kgの範囲の用量で[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]日目に24時間静脈内持続投与すると、最高200 mg/kgまでの用量でおおむね忍容性が良好であった。血液学的変化として200 mg/kg以上で赤血球容積の減少、100 mg/kg以上で網状赤血球数の増加がみられた。血液生化学的変化として200 mg/kg以上で総ビリルビンの増加、50 mg/kg以上でハプトグロビンの減少がみられた。400 mg/kgの投与で尿と考えられる赤色液体が観察された。赤血球容積及びハプトグロビンの減少、総ビリルビンの増加、並びに赤色尿などの変化から軽度の溶血が示唆された。病理組織学的検査では、DDMと関連する変化はみられなかった。

これらの結果に基づき、赤色／褐色尿が観察されたことから、静脈内持続投与による最大耐量は400 mg/kgと推定された。

2.6.6.8.2.2.5　公表されている反復投与試験

以上の試験の他に、マウス及びサルを用いたDDMの反復投与試験成績が報告されている（Spack-1998）。SJLマウス（雌雄各10匹）に4、40及び400 μg/kgの用量で連日、14日間静脈内投与したところ、有害な影響は認められなかった。カニクイザル（雌雄各2匹）に500 μg/kgの用量を隔日で13日間静脈内投与した。また、1群にはさらに4週間、週1回皮下投与した結果、有害な影響は認められなかった。

2.6.6.8.2.3　DDMの遺伝毒性試験

以下に要約した遺伝毒性試験に加え、EPA及びSpackらはDDMの変異原性試験及び染色体異常試験で遺伝毒性は認められなかったと報告している（Federal Register-2005、Spack-1998）。

2.6.6.8.2.3.1　*In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.8.2.3.1.1　DDMの細菌を用いる復帰突然変異試験（試験番号963114）（資料番号：4.2.3.7.7-5）

GLP適用下で細菌を用いる復帰突然変異試験を実施して、DDMの遺伝毒性を評価した（試験番号963114）。[redacted]株TA98、TA100、TA1535及びTA1537、並びに[redacted]株WP2 *uvrA* を用いて、補酵素添加肝画分（S9 mix）の存在下及び非存在下でプレート法及びプレインキュベーション法により、DDMを最高[redacted]μg/plateまでの濃度で試験した。試験菌株を標準的な陽性対照物質と共にインキュベートし、陽性対照物質に対する試験菌株の反応を基に試験系の感度及びS9 mixの活性を確認した。S9 mixの有無に関わらず、プレート法及びプレインキュベーション法でDDMに曝露したいずれの試験菌株においても、変異コロニー数の大幅な増加は観察されなかった。DDMはガイドラインに従って実施したこの *in vitro* 変異原性試験で遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.8.2.3.1.2　DDMの哺乳類培養細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験（試験番号963115）（資料番号：4.2.3.7.7-6）

GLP適用下で *in vitro* 染色体異常試験を実施して、DDMの遺伝毒性を評価した（試験番号963115）。[redacted]を培養中に刺激して分裂させた後、DDMを最高[redacted]μg/mLまでの濃度でラットS9 mixの存在下及び非存在下で4時間、非存在下で21時間処理した。各処理では適切な同時対照溶媒及び陽性対照を加えた。[redacted]染色体異常の有無を詳細に観察した。[redacted]細胞毒性を評価した。

生育阻害が現れる用量のDDMで処理した細胞では、分裂中期像で染色体異常の出現頻度に統計学的に有意な増加を示さなかった。陽性対照群では染色体損傷を示す細胞の割合が著しく有意に増加し、試験系の感度及びS9 mixの有効性が確認された。DDMはガイドラインに従って実施した *in vitro* 染色体異常試験で遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.8.2.3.2　*In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.8.2.3.2.1　DDM の *in vivo* 小核試験（試験番号 963116）（資料番号：4.2.3.7.7-7）

GLP 適用下で[redacted]を用いる小核試験を実施して、DDM の遺伝毒性を評価した（試験番号 963116）。予備的な用量設定試験を実施して投与量を設定した。DDM を[redacted]mg/kg（[redacted] mg/mL）又は[redacted] mg/kg（[redacted] mg/mL）の用量で[redacted]投与（[redacted]時間[redacted]）したとき、[redacted]骨髄毒性の指標として総赤血球に占める幼若赤血球の割合を動物ごとに算出した。[redacted]

DDM を投与した動物は、統計学的に有意な小核を有する幼若赤血球の発現頻度の増加、あるいは総赤血球に占める幼若赤血球の割合の有意な減少を示さなかった。したがって、ガイドラインに従って実施した[redacted]において、DDM は遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.8.2.4　DDM のがん原性試験

2.6.6.8.2.4.1　DDM: ラットを用いる 104 週間鼻腔内投与がん原性試験（試験番号 8322452）（資料番号：4.2.3.7.7-8）

GLP 適用下でラットに DDM を 104 週間連日、鼻腔内投与してがん原性を評価した（試験番号 8322452）。

雌雄[redacted]ラットを[redacted]群に割り付け、表 2.6.6-11 に示す用量を投与した。各動物に 1 日 1 回、[redacted] μL（[redacted]μL）の容量で鼻腔内投与した。対照物質（溶媒）は[redacted]とした。

表 2.6.6-11　8322452 試験の群構成及び投与デザイン

Group Number	Group Description	Dose Level (mg/animal/day)	Male, n=[redacted]	Females, n=[redacted]
1	[redacted]	0	[redacted]	[redacted]
2	[redacted]	0.1	[redacted]	[redacted]
3	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

4	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
5	[redacted]	3.0	[redacted]	[redacted]

n: Number of animals

定期的な健康状態の確認，生死／瀕死状態、一般状態観察（組織塊の触診を含む）、体重・摂餌量測定、眼科学的検査及び血液検査を行った。全動物について剖検により全身の肉眼的異常を記録し、広範な病理組織学的検査を実施した。

DDM は生存率に影響を及ぼさなかった。[redacted]

DDM が関連した死因による死亡動物はなかった。[redacted]

一般状態観察で認められた所見の範囲と発生頻度は本系統／週齢のラットで典型的な所見と考えられ、DDM の影響を示す明らかな傾向や差異は認められなかった。

本試験は鼻腔内投与で実施したため、主に頭部（顔面、鼻、口吻及び頸部）における被毛の汚れの発生頻度を検討した結果、対照群と DDM 投与群間で顕著な差異はみられなかった。

組織塊所見の全体的な発生数と頻度について、対照群と DDM 投与群の間に顕著な差は認められなかった。

摂餌量、体重及び眼科学的検査に DDM の影響はみられなかった。投与終了時剖検で採取した血液試料では、血液学的パラメータの群平均値に DDM に関連した変化は認められなかった。

剖検時の肉眼的検査で DDM に関連した所見は観察されなかった。

病理組織学的検査では、死亡動物及び剖検日まで生存した動物で鼻腔、鼻咽頭及び鼻／鼻孔に DDM に関連する非腫瘍性所見が認められた。DDM による腫瘍性病変の誘発は認められなかった。

0.1、[redacted]、[redacted]及び 3.0 mg/animal/日を投与した動物の鼻腔前部の移行上皮／呼吸上皮において、用量依存的な軽微～軽度の扁平上皮化生の増加がみられた。この変化は雌の程度がわずかに高かった。

[redacted]鼻腔内滲出液を伴う鼻上皮の炎症が対照群と比較してやや増加した。

鼻咽頭では、[redacted]mg/animal/日群の[redacted]例並びに[redacted]、[redacted]及び[redacted] mg/animal/日群の[redacted]例の[redacted]で呼吸上皮の扁平上皮化生が観察された。

鼻／鼻孔では、DDM 投与群の雌雄で[redacted]の扁平上皮過形成の発現頻度が増加し、雌は雄と比較して頻度／程度がやや増加した。

結論として、[redacted]ラットに DDM を 0.1（[redacted]%）、[redacted]（[redacted]%）、[redacted]（[redacted]%）及び 3.0（[redacted]%）mg/animal/日の用量で連日、最長 102 週間鼻腔内投与した結果、忍容性が良好であった。動物の生存期間中に有害所見はみられず、DDM 投与群の生存率は同時対照群と比較して同程度又は高かった。病理組織学的検査では、DDM の投与により[redacted]呼吸上皮に扁平上皮化生、[redacted]が認められた。一般にこれらの変化は軽微～軽度であり、軽い局所刺激性に対する適応性変化と考えられた。DDM 投与に起因する局所的又は全身的な腫瘍所見は認められなかった。したがって、DDM の長期鼻腔内投与によるがん原性は確認されなかった。

2.6.6.8.2.5　DDM の生殖発生毒性試験

2.6.6.8.2.5.1　DDM の妊娠[redacted]ラットを用いる静脈内持続投与（1 日あたり 24 時間）探索的忍容性試験（試験番号 AA99567）（資料番号：4.2.3.7.7-9）

GLP 適用下で妊娠[redacted]ラットに DDM を投与して影響を評価した（試験番号 AA99567）。交配後の雌（1 群[redacted]匹）に DDM の 30 mg/kg/日を妊娠 6～17 日まで 24 時間静脈内持続投与した。対照群には同容量（[redacted]mL/kg/日）の溶媒（生理食塩液）を投与した（表 2.6.6-12）。

表 2.6.6-12　AA99567 試験の群構成及び試験デザイン

Group/Treatment	Dose level (mg/kg/day)	Dose volume (mL/kg/day)	Dose concentration (mg/mL)	Number of females
1. Control	0	[redacted]	[redacted]	[redacted]
2. DDM	30	[redacted]	[redacted]	[redacted]

試験期間を通して一般状態、体重及び摂餌量を観察した。妊娠 20 日に母動物を帝王切開して胎児パラメータを記録した。剖検時に母動物を肉眼的に検査し、全胎児の体重、性別及び外表異常を検査した。胎児の半数は骨格検査を実施する前に肉眼的検査を行った。残りの半数は Wilson-Barrow 変法による内臓検査のため固定して保存した。

試験期間中に母動物の死亡はなかった。DDM に関連する一般状態の変化はみられず、体重、体重増加量及び摂餌量に明らかな変化は認められなかった。いずれの群においても母動物の剖検時に肉眼的変化は観察されなかった。

[redacted]

DDM 投与群で外表異常、内臓異常又は骨格異常を有する胎児はなかった。本試験において、妊娠ラットの器官形成期（妊娠 6～17 日）に DDM の 30 mg/kg/日を 24 時間静脈内持続投与した結果、忍容性が良好であった。母動物への影響はみられず、胚・胎児毒性は認められなかった。無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.8.2.6 DDM の局所刺激性試験

EPA は、C_{12-14} のアルキルグリコシドのウサギにおける皮膚毒性の LD_{50} を 2000 mg/kg 超と確認しており、眼刺激性を有すると判断している。DDM の濃度 30%までは皮膚に対する刺激性は認められなかったが、30～100%の濃度で皮膚刺激性がみられている（Federal Register-2005）。

EPA はまた、モルモットを用いた試験に基づいて DDM は皮膚感作性物質ではないと分類している（Federal Register-2005）。

2.6.6.8.2.6.1 [redacted]モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）（試験番号 C78787）（資料番号：4.2.3.7.7-10）

DDM の皮膚アレルギー誘発性を評価するために、雄性[redacted]モルモット[redacted]匹（被験物質群[redacted]匹、対照群[redacted]匹）を用いて GLP 適用の皮膚感作性試験（Maximization 法）を実施した（試験番号 C78787）。被験物質群には[redacted]

閉塞パッチの除去後 24 時間及び 48 時間に一般状態の観察を行い、皮膚反応を評価した。対照群及び被験物質群のいずれにおいても毒性徴候又は死亡例はみられなかった。対照群及び被験物質群のモルモットで皮膚に局所的な有害作用は観察されなかった。OECD ガイドラインに従って実施した本試験の結果に基づき、DDM は皮膚感作性物質とは判断しなかった。

2.6.6.8.2.6.2 DDM のウサギを用いた 1 週間 2 回皮下投与による皮膚刺激性試験（試験番号 503595）（資料番号：4.2.3.7.7-11）

GLP 適用下で雄[redacted]ウサギ[redacted]匹に DDM を[redacted]週間に 2 回（1 及び 8 日目）皮下投与して皮膚刺激性を評価した（試験番号 503595）。[redacted]例には DDM（[redacted]mg/mL）を[redacted]mL の容量で[redacted]1 及び 8 日目に投与を実施し、それぞれの投与で別の部位を使用した。[redacted]評価項目として一般状態観察、体重測定、投与部位観察、血液学的検査（剖検時）、剖検時の肉眼的観察及び病理組織学的検査（投与部位の皮膚及びその下層組織）を実施した。

一般状態、体重、投与部位、血液学的検査及び剖検所見に DDM と関連する変化はみられなかった。病理組織学的検査では、DDM を 1 週間に 2 回（1 及び 8 日目）皮下投与したウサギの投与部位で、刺激性を示唆する軽微～重度の亜急性炎症が観察された。

DDM を[redacted]mg/mL（約[redacted]mg/kg）の用量でウサギの腰部に 7 日間隔で 2 回皮下投与したとき忍容性は概ね良好であり、病理組織学的に DDM の刺激性を示唆する軽微～重度の亜急性炎症が認められた。

2.6.6.8.2.6.3 [redacted]犬を用いた13週間鼻腔内投与毒性試験及び4週間回復性試験（試験番号35837）（資料番号：4.2.3.7.7-12（参））

GLP適用下で雄[redacted]犬にDDMを[redacted]を用いて13週間連日鼻腔内投与して局所刺激性を評価した（試験番号35837）。DDMの投与量は[redacted]、[redacted]及び330 µg/鼻孔/日とし、それぞれ[redacted]、[redacted]及び[redacted] µg/cm^2/animalに相当する（表2.6.6-13参照）。[redacted]に所定の濃度のDDMを溶解して作製した。1日の投与容量は[redacted]で、[redacted]に投与した。13週間の投与期間終了後、[redacted]を検討するため[redacted]例の動物を4週間の回復性試験に供した。評価項目として一般状態観察、体重及び摂餌量測定、週[redacted]を実施した。

表 2.6.6-13　35837 試験の群構成

Group	Number of Animals	Dose-level (μg/cm²/animal)	Concentration (mg/mL)	Dose-level (μg/nostril)	Dose-volume of spray (μL/nostril)
1	[redacted]	0 (vehicle)	0	0	[redacted]
2	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
3	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
4	[redacted]	[redacted]	[redacted]	330	[redacted]
5	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[redacted]

全例が予定剖検日まで生存した。試験に用いたいずれの投与量でも、生存中又は死後の検査で有害所見は認められなかった。鼻腔、食道、気管及び肺に DDM に関連する病理組織学的変化は観察されなかった。イヌに DDM を 13 週間連日鼻腔内投与したときの無影響量は 330 μg/日（[redacted]μg/cm²/animal に相当）と判断された。

2.6.6.8.2.7　バルビツール睡眠誘発作用

CD-1 マウス（雌雄各 10 匹）に DDM を 10 及び 100 μg/kg の用量で急速静脈内投与して、バルビツール睡眠誘発作用を評価した（Spack-1998）。DDM にバルビツール睡眠誘発作用は認められなかった。

2.6.6.8.2.8　利尿作用

Sprague Dawley ラット（雌雄各 10 匹）に DDM を 10 及び 100 μg/kg の用量で急速静脈内投与して、利尿作用を評価した（Spack-1998）。DDM に利尿作用は認められなかった。

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1　ARS-1（アドレナリン点鼻液）

アドレナリンは世界中で承認されている薬剤であり、その毒性は文献的に十分に評価されている。0.275%の DDM で調製した ARS-1 は鼻腔内投与によりラットで最高 0.8 mg、イヌで最高 1.5 mg の用量で、また、点眼投与はウサギを用いて 1 mg の用量で評価されている。

ARS-1 を最高 0.8 mg の用量で単回鼻腔内投与したとき、関連する毒性所見は認められなかった。鼻腔で認められた病理組織学的変化は被験物質による軽度の刺激性を示しており、15 日目には完全に回復して明らかな後遺症は認められなかった。これらの変化は重症度が低く、分布が限定的であり、可逆的であるため毒性所見とは考えられなかった。本試験の結果に基づき、ラットに単回鼻腔内投与したときの無毒性量は 0.8 mg と判断した。

投与前に採取した全ての血漿試料、並びに生理食塩液及び製剤用媒体を含む全群から採取した試料で内因性レベルのアドレナリンが検出され、全身曝露量に性差はなかった。血漿試料の保存期間は長期安定性が確認されている-70°C で 30 日間を超過したが、高用量でベースラインからの増加がみられたこと、及び QC 濃度からの乖離が非常に大きな場合の測定値を基に報告された曝露量であることから、用量に関連した明らかな曝露が認められた。

当該試験では、ARS-1 の単回鼻腔内投与後に C_{max}、$AUC_{0\text{-}240\ min}$ 及びベースライン補正 $AUC_{0\text{-}240\ min}$ の値が概ね用量に比例して増加した。対照群（製剤用媒体、第 7 群）及びアドレナリン（ARS-1 製剤）投与群において、投与後 240 分までアドレナリンが定量可能であった。アドレナリンの最高血漿中濃度は対照群（製剤用媒体）で投与後 15 分に観察され、0.2、0.4 及び 0.8 mg（第 8、9 及び 10 群）ではそれぞれ投与後 15、15 及び 30 分に観察された。

がん原性試験では、雌雄 F344/N ラットにアドレナリンのエアロゾルを 1.5 及び 5 mg/m^3 の用量で 2 年間曝露、又は $B6C3F_1$ マウスに 1.5 及び 3 mg/m^3 の用量で 2 年間曝露した結果、ヒトの治療量よりも高い用量で発がん作用は認められなかった（Dietz-1990）。

ARS-1 が投与中に誤って眼に噴射された場合の安全性リスクを評価するために、1 mg の ARS-1 をウサギの眼に投与した。点眼投与時の忍容性は良好であり、一般状態の異常及び眼病変は観察されなかった。したがって、市販後に ARS-1 が偶発的に眼に曝露された場合でも安全性のリスクはないと考えられる。

2.6.6.9.2　DDM

DDM は現在本邦で承認されているいずれの医薬品にも含まれていないが、米国では ARS-1 の他に、FDA が承認した 3 製品で使用されている。これらの製品では、DDM の安全性プロファイルを明らかにするため、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ及びサルを用いて GLP 適用の毒性試験が実施されている。ARS-1 の承認申請資料としては DDM を単独で評価した試験のみを要約した。

全体として、ラットにおける LD_{50} は 5000 μg/mL 超、ラットに 2 週間（隔日、合計 7 回投与）鼻腔内投与したときの無影響量は 80 μg/dose（[redacted] μg/cm^2/dose に相当）、イヌに 13 週間連日鼻腔内投与したときの無影響量は 330 μg/日（[redacted] μg/cm^2/animal に相当）であった。

ラット及びイヌでは静脈内投与試験も実施した。ラットに DDM の [redacted]、[redacted] 及び 10 mg/kg/dose を週 1 回（合計 2 回）、24 時間静脈内持続投与したところ忍容性が良好であった。イヌに DDM

の 10～400 mg/kg/dose を 1 週間間隔で 7 回、合計 12 週間の 24 時間静脈内持続投与を実施した（[redacted]及び[redacted]日目に投与し、[redacted]）結果、良好な忍容性が得られた。イヌの静脈内持続投与による最大耐量は、赤色／褐色尿が観察された 400 mg/kg と推定された。

DDM はガイドラインに従って実施した遺伝毒性試験において遺伝毒性を示さなかった。妊娠ラットの器官形成期（妊娠 6～17 日）に DDM の 30 mg/kg/日を 24 時間静脈内持続投与した試験において、忍容性が良好であった。母動物への影響及び胚・胎児毒性は認められず、無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

[redacted]ラットに DDM を 0.1 ([redacted]%)、[redacted] ([redacted]%)、[redacted] ([redacted]%) 及び 3.0 ([redacted]%) mg/animal/日の用量で連日、最長 102 週間鼻腔内投与したがん原性試験において、忍容性が良好であった。[redacted] したがって、DDM の長期鼻腔内投与により発がん性は確認されなかった。

DDM はモルモットを用いた試験で皮膚感作性を示さなかった。また、DDM をウサギの[redacted]に[redacted]mg/mL（約[redacted]mg/kg）の用量で皮下投与したところ忍容性は概ね良好であったが、病理組織学的検査で投与部位に軽微～重度の亜急性炎症が認められた。

DDM は粘膜表面の浸透促進剤として有効であることが明らかにされていることから、その毒性プロファイルは医薬品製剤の吸収促進剤として DDM の使用は妥当と考えられる。

2.6.6.9.3 結論

アドレナリンは全ての高等動物に存在する内因性化合物であり、ヒトにおける ARS-1 由来の曝露量は身体運動や恐怖時に生じる正常な生理的範囲内にある。アドレナリンは副腎から分泌される。成人の安静時における内因性アドレナリンの血漿中濃度は通常 30 pg/mL 未満であるが、運動中の血漿中濃度は 653 pg/mL に達し、ストレス時には 10,000 pg/mL 以上に著しく増加する可能性がある（Stratton-1982、Wortsman-2002）。自己注射デバイスによる筋肉内投与など、アナフィラキシーの治療によるアドレナリンの急性曝露量（0.3 mg 筋肉内投与での C_{max} 最大値は約 600 pg/mL）は、生理的な内因性アドレナリンの濃度と比べて十分にその範囲内である。ARS-1 の鼻腔内への単回投与後に予想される曝露量は 300～600 pg/mL であり、十分に内因性曝露濃度の範囲内である。

ヒトへの ARS-1 の投与では、体内のアドレナリン濃度は正常な生理的濃度の範囲内にあると予想できるため、ヒトでの毒性リスクは想定されない。また、アドレナリンの薬理、薬物動態及び毒性プロファイルは今までに静脈内、筋肉内、皮下及び吸入の投与経路で評価されており、文献的に多数報告され、各国の承認申請資料としても使用されている。このため、これ以上のアドレナリンの毒性評価は必要ないと判断した。

ヒトのバイオアベイラビリティに関する情報の他、1939 年にアドレナリンが承認されて以降の非臨床試験に関する公表論文、並びにアドレナリン製剤の開発者が実施した追加の毒性試験及び眼毒性試験から、アドレナリンの安全性、有効性及び添付文書情報に関して新たな重要情報はなく、偶発的に眼に曝露された場合でも安全性のリスクはないと判断した。

2.6.6.10 参考文献

Dietz D. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of l-epinephrine hydrochloride in F344/N Rats and B6C3F$_1$ Mice. National Toxicology Program, HHS. March 1990;1-205.

Federal Register. Alkyl (C10-C16) Polyglycosides; Exemptions from the Requirement of a Tolerance. In: Agency EP, editor. Federal Register 2005: 54281-6.

Gross, EA, Morgan, KT. Architecture of nasal passages and larynx. In: Parent, RA., ed. Comparative biology of the normal lung: v. I, treatise on pulmonary toxicology. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. 1992: pp. 7-25.

Lieberman P, Nicklas RA, Randolph C, et al. Anaphylaxis--a practice parameter update 2015. Ann Allergy Asthma Immunol. 2015;115(5):341-384.

Shepard, TH. Catalog of Teratogenic Agents, 5th ed. Baltimore, MD: The Johns Hopkins University Press; 1986.

Simons FE, Ardusso LR, Bilò MB, et al. World allergy organization guidelines for the assessment and management of anaphylaxis. World Allergy Organ J. 2011;4(2):13-37.

Spack EG WN, Winkelhake JL. Preclinical and Pharmacological Studies of AG284, a Soluble HLA-DR2:Myelin Basic Protein Peptide Complex for the Treatment of Multiple Sclerosis. CNS Drug Reviews. 1998;4(3):225-46.

Stratton JR, Malpass TW, Ritchie JL, Pfeifer MA, Harker LA. Studies of platelet factor 4 and beta thromboglobulin release during exercise: lack of relationship to myocardial ischemia. Circulation. 1982 Jul;66(1):33-43.

Wortsman J. Role of epinephrine in acute stress. Endocrinol Metab Clin North Am. 2002 Mar;31(1):79-106.

ネフィー点鼻液 1 mg
ネフィー点鼻液 2 mg

（アドレナリン）

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.7　毒性試験概要表

アルフレッサ ファーマ株式会社

目 次

2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
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 5
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 5
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 5
2.6.7.5 単回投与毒性試験 6
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 7
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 7
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 7
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 7
2.6.7.10 がん原性試験 7
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 7
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 7
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 7
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 7
2.6.7.15 新生児を用いた試験 7
2.6.7.16 局所刺激性試験 8
2.6.7.17 その他の毒性試験 9

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

2.6.7.1.1 毒性試験：ARS-1 の毒性試験一覧

Overview					Test Article: ARS-1			
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses(mg)	Testing Facility	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity								
Acute Intranasal Toxicity	Rat / Sprague-Dawley	Intranasal	1 Day	0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8	[redacted]	Yes	2555-002	4.2.3.1-1 (Evaluation material)
Local Tolerance								
Ocular Tolerability	Rabbit / New Zealand white	Topical/ocular	1 Day	1	[redacted]	No	2555-004	4.2.3.6-1 (Reference material)

2.6.7.1.2 毒性試験：ドデシルマルトシド（DDM）の毒性試験一覧

Overview					Test Article: DDM			
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity								
Subacute toxicity	Rat / [redacted]	Intranasal	2 weeks	0, 80, 200 or 400 µg	Yes	[redacted]	0437RA33.001	4.2.3.7.7-1 (Evaluation material)
Dose Range Finding	Rat / [redacted]	Intravenous Infusion	8 days	[redacted], [redacted], 10 mg/kg	No	[redacted] (Canada)	504091	4.2.3.7.7-2 (Reference material)
Dose Range Finding	Dog / [redacted]	Intravenous Infusion	[redacted] days	1, [redacted], [redacted], 10 mg/kg	No	[redacted] (Canada)	504092	4.2.3.7.7-3 (Reference material)
Dose Range Finding	Dog / [redacted]	Intravenous Infusion	12 weeks	10, [redacted], [redacted], [redacted], [redacted], 400 mg/kg	No	[redacted] (Canada)	504393	4.2.3.7.7-4 (Reference material)

Overview					Test Article: DDM			
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Genotoxicity								
Mutagenicity	[redacted]	[redacted]	[redacted]	up to [redacted] µg/plate	Yes	[redacted] (Canada)	963114	4.2.3.7.7-5 (Evaluation material)
Chromosomal aberration	[redacted]	[redacted]	[redacted]	up to [redacted] µg/mL	Yes	[redacted] (Canada)	963115	4.2.3.7.7-6 (Evaluation material)
In vivo mammalian micronucleus	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted], [redacted] mg/kg	Yes	[redacted] (Canada)	963116	4.2.3.7.7-7 (Evaluation material)
Carcinogenicity								
Long-term toxicity	Rat / [redacted]	Intranasal	104 weeks	0, 0.1, [redacted], [redacted], 3 mg/day	Yes	[redacted] (England)	8322452	4.2.3.7.7-8 (Evaluation material)
Reproductive and Developmental Toxicity								
Impairment of fertility	Rat / [redacted]	Intravenous	D6-D17	0, 30	Yes	[redacted] (France)	AA99567	4.2.3.7.7-9 (Evaluation material)
Local Tolerance								
Contact hypersensitivity	Guinea Pig / [redacted]	Intradermal	[redacted] day	[redacted]%, [redacted]%	Yes	[redacted] (Switzerland)	C78787	4.2.3.7.7-10 (Evaluation material)
Dermal Irritation	Rabbit / [redacted]	Subcutaneous	D1, D8	15 mg/[redacted] mL[1]	Yes	[redacted] (Canada)	503595	4.2.3.7.7-11 (Evaluation material)
Local tolerance	Dog / [redacted]	Intranasal	13 weeks	[redacted], [redacted], [redacted], or 330 µg	Yes	[redacted] (France)	35837	4.2.3.7.7-12 (Evaluation material)

[1] 新薬承認情報提供時に置き換えた.

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

			Test Article: ARS-1			
Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Acute Intranasal Toxicity	Rat	Intranasal	0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8	Yes	2555-002	4.2.3.1-1 (Evaluation material)

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

Study Number: 2555-002							Test Article: ARS-1			
							Location in CTD: 4.2.3.1-# (Evaluation material)			
Group	Dose (mg)	Day	C_{max} (ng/mL)	C_{max}/Dose (ng/mL/mg)	T_{max} (min)	T_{last} (min)	$AUC_{0\text{-}240\ min}$ (ng•min/mL)	$AUC_{0\text{-}240\ min}$/Dose (ng•min/mL/mg)	BLC $AUC_{0\text{-}240\ min}$ (ng•min/mL)	BLC $AUC_{0\text{-}240\ min}$/Dose (ng•min/mL/mg)
7	0	1	1.35	NA	15	240	251	NA	NA	NA
8	0.2	1	104	521	15	240	2830	14200	2580	12900
9	0.4	1	164	409	15	240	6440	16100	6190	15500
10	0.8	1	433	541	30	240	21900	27400	21700	27100

BLC: base line corrected, NA: not applicable

2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧

					Test Article: ARS-1	
Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (units)			Study Number	Type of Study
PROPOSED SPECIFICATION:	Assay	[redacted] (Impurity [redacted])	[redacted] (Impurity [redacted])	[redacted] (Impurity [redacted])		
	[redacted] – [redacted] % (of Label Claim) [target [redacted] %]	NMT [redacted] %	NMT [redacted] %	NMT [redacted] %		
0120-19	[redacted] %	[redacted]	[redacted]	[redacted]	2555-002	single-dose toxicity

[redacted]

2.6.7.5　単回投与毒性試験

Study Number: 2555-002					Test Article: ARS-1
					Location in CTD: 4.2.3.1-1 (Evaluation material)
Species/ Strain	Group No.	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Doses (mg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings
Rat/SD	1	Intranasal 0.9% Sterile Saline	0	15M/15F	Administration of the test article at a dose of 0.8 mg (Group 5) was associated with a minimal increase in mean fibrinogen concentration (1.11×) on Day 2, typically indicative of an immune or inflammatory stimulus. Microscopic changes ascribable to treatment were observed on Day 2 in the nose and the nasal passages. The nose showed rare instances of minimal ulceration of the exposed mucosa, often associated with minimal neutrophilic inflammation. Ulceration was observed in Group 4 females (1 of 10) and in Group 5 males and females (1 of 10, each). At Day 2, the nasal passages showed minimal to mild necrosis in the nasal turbinates and parietal wall in the rostral most level, typically distributed dorsally. This necrosis was associated with minimal to mild acute inflammation (neutrophilic) and low levels of localized mucosal hemorrhage. Minimal focal hemorrhage was also observed in a single female treated with formulation buffer (Group 2). At Day 15, the nose and nasal passages were fully healed and showed no microscopic abnormalities. The no observable adverse effect level (NOAEL) was established as 0.8 mg.
Rat/SD	2	Intranasal Formulation Buffer (Saline, [redacted]%Na_2EDTA, [redacted]%BZK, [redacted]%DDM)	0	15M/15F	
Rat/SD	3	Intranasal Epinephrine with DDM (ARS-1)	0.2	15M/15F	
Rat/SD	4	Intranasal Adrenaline with DDM (ARS-1)	0.4	15M/15F	
Rat/SD	5	Intranasal Adrenaline with DDM (ARS-1)	0.8	15M/15F	

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

該当なし

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当なし

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

該当なし

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

該当なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当なし

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

Study Number: 2555-004					Test Article: ARS-1
					Location in CTD: 4.2.3.6-1 (Reference material)
Species/Strain	Group No.	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings
Rabbit/ New Zealand white	1	Topical/ocular (ARS-1 formulation)	1**	3M/3F	ARS-1 (1 mg) was well tolerated based on indirect ophthalmoscopy, slit-lamp biomicroscopy and Modified Hackett-McDonald Scoring. There were no abnormal clinical observations or effects on body weights and no macroscopic lesions were observed at necropsy.

*: Vehicle (Placebo, ARS-1; Saline, [redacted]%Na_2EDTA, [redacted]%BZK, [redacted]%DDM)

**: Vehicle instilled in left eye, test article instilled in right eye

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 添加物

2.6.7.17.1.1 反復投与毒性試験: DDM の重要な試験以外の試験

					Test Article: DDM			
Species/ Strain	Dosing Duration	Doses (mg/dose)	Route of Admin.	Gender/No Per Group	NOAEL/ NOEL	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Sprague [redacted]	2 weeks	0*, 80, 200, or 400 µg	Intranasal	[redacted]M/[redacted]F	80 µg	200 and 400 µg: Nasal cavity inflammation in both genders. All evidence of inflammation resolved during the 2-week recovery period.	0437RA33.001	4.2.3.7.7-1 (Evaluation material)
[redacted] Rat	8 days	0**, [redacted], [redacted], 10 mg/kg	Intravenous Infusion	[redacted]M/[redacted]F	> 10 mg/kg	No DDM related adverse effects.	504091	4.2.3.7.7-2 (Reference material)
[redacted] Dog	[redacted] days	1**, [redacted], [redacted], 10 mg/kg	Intravenous Infusion	[redacted]M/[redacted]F	10 mg/kg	No DDM related adverse effects on clinical signs, body weights, food consumption, blood chemistries, coagulation, or macroscopic changes. Hematology: Slight to moderate ↓ platelet count at 10 mg/kg (M and F).	504092	4.2.3.7.7-3 (Reference material)
[redacted] Dog	12 weeks	10**, [redacted], [redacted], [redacted], [redacted], 400 mg/kg	Intravenous Infusion	[redacted]M/[redacted]F	< 400 mg/kg	No DDM related adverse effects on body weights, food consumption, gross or macroscopic changes. Clinical signs: red/brown urine [redacted] at 400 mg/kg Hematology: ↓ red blood cell mass at ≥ 200 mg/kg ↑ reticulocyte count at ≥ 100 mg/kg Clinical biochemistry: ↑ in total bilirubin at ≥ 200 mg/kg ↓ in haptoglobin at ≥ 50 mg/kg	504393	4.2.3.7.7-4 (Reference material)

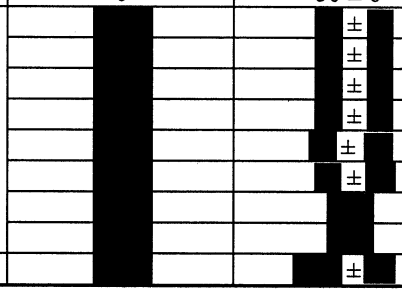
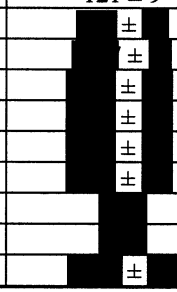
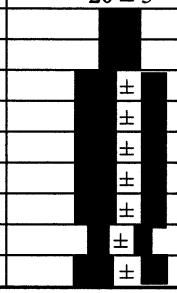
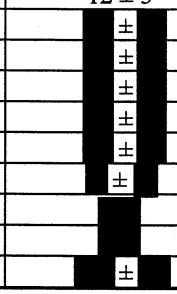
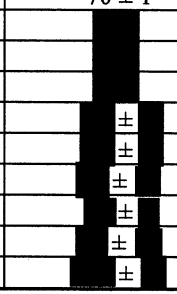
*: Vehicle ([redacted] [redacted] mM, [redacted]% [redacted], [redacted]%EDTA)

**: Vehicle (0.9% Sodium Chloride for Injection)

2.6.7.17.1.2　DDM の *in vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.17.1.2.1　細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: Dodecyl Maltoside/A3: Bacterial Mutation Test				Test Article: DDM			
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells			No. of Independent Assays: 2			Study No. 963114	
Strains: [redacted]			No. of Replicate Cultures: 3			Location in CTD: 4.2.3.7.7-5 (Evaluation material)	
Metabolizing System: Cofactor-supplemented post-mitochondrial fraction (S9)			No. of Cells Analyzed/Culture: -				
Vehicles:	For Test Article: 0.9% Sodium Chloride for Injection (USP)		For Positive Controls: Sterile water (USP) and DMSO			GLP Compliance: Yes	
Treatment: Plate incubation for 48 to 72 hours						Date of Treatment: [redacted]20[redacted]	
Cytotoxic Effects: None				Genotoxic Effects: None			
			The number of revertant colony				
Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
Without S9* Activation	Saline	0	26 ± 2	127 ± 12	23 ± 4	14 ± 6	51 ± 8
	DDM	[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] ±
	Positive control	[redacted]	[redacted] ±	[redacted] ±	[redacted] ±	[redacted] ±	[redacted] ±

Report Title: Dodecyl Maltoside/A3: Bacterial Mutation Test								Test Article: DDM
With S9** Activation	Saline	0	50 ± 6	121 ± 9	20 ± 3	12 ± 3	70 ± 1	
	DDM							
	Positive control							

IL: incomplete lawn, NL: no lawn

*: TA98: 2-Nitrofluorene (1 µg/plate), TA100 & TA1535: Sodium azide (0.5 µg/plate), TA1537: 9-Aminoacridine (50 µg/plate), WP2*uvrA*: 2-Aminoanthracene (15 µg/plate)

**: TA1535: 2-Aminoanthracene (5 µg/plate), WP2*uvrA*: 2-Aminoanthracene (15 µg/plate), TA98, TA100, TA1537: Benzo[a]pyrene (5 µg/plate)

Source: Study 963114, Table 1, Table 2, and Table 3

2.6.7.17.1.2.2　哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

Report Title: Dodecyl maltoside/A3: Chromosome Aberration Test		Test Article: DDM	
Test for Induction of: Chromosome aberration		No. of Independent Assays: 2	Study No. 963115
Strains: [redacted]		No. of Replicate Cultures: 2	Location in CTD: 4.2.3.7.7-6 (Evaluation material)
Metabolizing System: Cofactor-supplemented post-mitochondrial fraction (S9)		No. of Cells Analyzed/Culture: 200 cells	GLP Compliance: Yes
Vehicles:	For Test Article: 0.9% Sodium Chloride for Injection (USP)	For Positive Controls: Purified water (USP)	Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Treatment: Plate incubation for 4 and 21 hours			
Cytotoxic Effects: None		Genotoxic Effects: None	

MAIN STUDY

Metabolic Activation	Test Article	Conc. (μg/mL)	MI	RMI (%)	% Aberrant	Number of aberrations					Incidental observations†			
						b	e	B	E	other	g	G	P	C
4 hours Without S9 Activation	Saline	0	6.8	100	0.0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	DDM	[redacted]												
	MMC													
4 hours With S9 Activation 3 hours	Saline	0	8.4	100	1.5	2	1	0	0	0	4	0	2	0
	DDM	[redacted]												
	CP													
21 hours Without S9 Activation	Saline	0	9.5	100	1.0	1	0	1	0	0	4	0	0	0
	DDM	[redacted]												
	MMC													

Report Title: Dodecyl maltoside/A3: Chromosome Aberration Test						Test Article: DDM								
SUPPLEMENTAL STUDY														
Metabolic Activation	Test Article	Conc. (μg/mL)	MI	RMI (%)	% Aberrant	Number of aberrations					Incidental observations†			
						b	e	B	E	other	g	G	P	C
4 hours Without S9 Activation	Saline	0	13.8	100	1.0	1	1	0	0	0	2	1	0	0
	DDM													
	MMC													
21 hours Without S9 Activation	Saline	0	8.6	100	1.0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	DDM													
	MMC													

Structural aberration type: b, e, g - Chromatid break, exchange, gap; B, E, G - chromosome break, exchange, gap; P - Polyploidy and endoreduplication; C - Centromeric disruption; other - Includes pulverized chromosomes and cells with > 8 aberrations; N/A - Not assessable (Not enough cells available due to toxicity)

Positive controls: CP: cyclophosphamide, MMC: Mitomycin C

*: $p \leq 0.001$ (highly significant), †: g, G, P and C are excluded from the calculation of % aberrant cells

Source: Study 963115, Table 1 and Table 2

2.6.7.17.1.3　DDM の *in vivo* 遺伝毒性試験

Report Title: Dodecyl Maltoside [redacted] Test					Test Article: DDM				
Test for Induction of: [redacted]			Treatment Schedule: [redacted]				Study No. 963116		
Species/Strain: [redacted]			Sampling Time: [redacted]				Location in CTD: 4.2.3.7.7-7 (Evaluation material)		
Age: [redacted] weeks			Method of Administration: [redacted]						
Cells Evaluated: immature erythrocyte			Vehicle/Formulation: 0.9% Sodium Chloride for Injection (USP)				GLP Compliance: Yes		
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000							Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]		
Special Features: None									
Toxic/Cytotoxic Effects: [redacted]									
Genotoxic Effects: None									
Evidence of Exposure: Intravenous administration									
Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	% IE/(IE+ME) Males	% IE/(IE+ME) Females	% IE/(IE+ME) Males & Females	Incidence MIE Males	Incidence MIE Females	Incidence MIE Males & Females	Incidence MME Males & Females
Vehicle control	0	5M/5F	39.3	42.0	40.7	2.8	4.2	3.5	0.0
DDM	[redacted]	[redacted]M/[redacted]F	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Cyclophosphamide	[redacted]	[redacted]M/[redacted]F	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

% IE/(IE+ME): Proportion of immature erythrocytes, MIE: Number of micronucleated cells observed per 2000 immature erythrocytes examined, MME: micronucleated mature erythrocytes

*: $p \leq 0.001$ compared to vehicle control

Source: Study 963116, Table 2

2.6.7.17.1.4 DDM のがん原性試験

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat		Test Article: DDM
Species/Strain: [redacted] Rat	Duration of Dosing: 104 weeks	Study No. 8322452
Initial Age: ≤ [redacted] weeks	Method of Administration: Intranasal	Location in CTD: 4.2.3.7.7-8 (Evaluation material)
Date of First Does: [redacted], 20[redacted]	Vehicle/Formulation: [redacted] (pH [redacted])	
	Treatment of Controls: Stored in a sealed container, at 15 to 30°C, in the dark.	GLP Compliance: Yes
Basis for High-Dose Section: Toxicity-based endpoint		
Special Features: There was no evidence of carcinogenicity associated with prolonged intranasal administration of DDM. No macroscopic findings suggestive of any local or systemic DDM-related effects were observed. Upon microscopic examination, DDM-related findings were noted in the nasal cavity, nasopharynx, and nose/nares of all groups administered DDM and were similar in nature and incidence in decedents and terminal sacrifice animals.		
Gender	Males	Females
Daily Dose (mg/animal/day)	[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	[redacted]
Clinical Observations [b]		
Appearance		
[redacted]	[redacted]	[redacted]

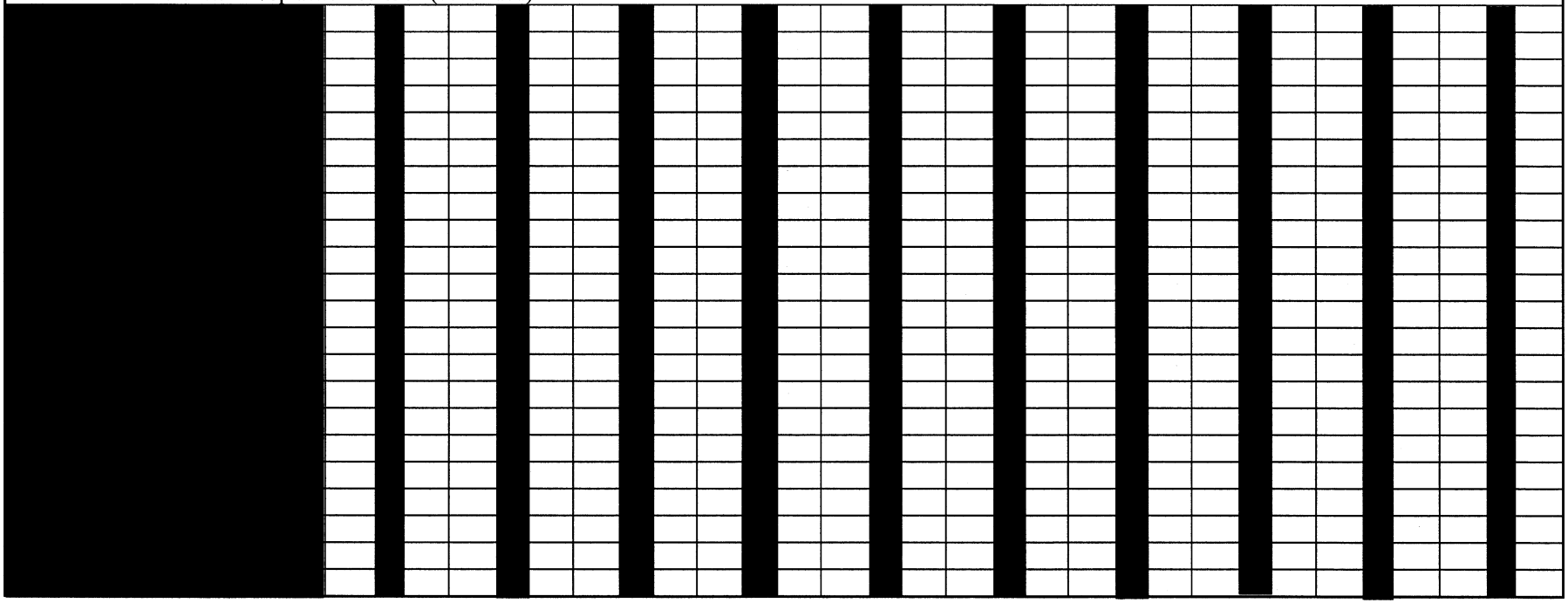
Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Clinical Observations [b] (continued)	
Appearance (continued)	
[redacted]	
Behavior	
[redacted]	
Excretion	
[redacted]	
Eyes	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Respiration	
[redacted]	
Skin and Fur	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Skin and Fur (continued)	
[redacted]	
Mass Observations [c]	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM

Number of Animals with Neoplastic Lesions [c] (continued)



Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Histopathology (all animals)	
Number of Animals with Non-Neoplastic Observations [d]	
Nasal cavity	
Number of animals examined	
Squamous cell metaplasia, transitional epithelium	
Squamous cell metaplasia, respiratory epithelium	
Degeneration, respiratory epithelium	
Inflammation	
Exudate, lumen	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Non-Neoplastic Observations [d] (continued)	
Nasopharynx	
Number of animals examined	
Squamous cell metaplasia	
Nose/Nares	
Number of animals examined	
Squamous cell hyperplasia	
Liver	
Number of animals examined	
Hyperplasia, bile duct	
Focus of cellular alteration, clear cell	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Non-Neoplastic Observations [d] (continued)	
Liver (continued)	
Angiectasis	
[redacted]	
Testis	
Number of animals examined	
Atrophy, tubule	
[redacted]	
Uterus	
Number of animals examined	
Hyperplasia, squamous cell	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e]	
Eye	
Number of animals examined	
[redacted]	
Nerve, Optic	
Number of animals examined	
[redacted]	
Skin/Subcutis	
Number of animals examined	
[redacted]	
Mammary Gland [f]	
Number of animals examined	
[redacted]	
Muscle, Quadriceps, Right	
Number of animals examined	
[redacted]	

(M): Male, *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Log-Rank Trend test), ##: $p \leq 0.01$, ###: $p \leq 0.001$ (Wilcoxon Trend test)

+: $p \leq 0.05$ (Log-Rank test), $: $p \leq 0.05$ (Wilcoxon test)

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Femur + Marrow	
Number of animals examined	
[redacted]	
Sternum + Marrow	
Number of animals examined	
[redacted]	
Nerve, Sciatic	
Number of animals examined	
[redacted]	
Liver	
Number of animals examined	
[redacted]	
Spleen	
Number of animals examined	
[redacted]	
Pancreas	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node, Mesenteric	
Number of animals examined	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Stomach	
Number of animals examined	
[redacted]	
Duodenum	
Number of animals examined	
[redacted]	
Jejunum	
Number of animals examined	
[redacted]	
Ileum	
Number of animals examined	
[redacted]	
Caecum	
Number of animals examined	
[redacted]	
Colon	
Number of animals examined	
[redacted]	
Rectum	
Number of animals examined	
[redacted]	
Adrenal [g]	
Number of animals examined	
[redacted]	

&: $p \leq 0.05$ (Peto test)

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Kidney	
Number of animals examined	
[redacted]	
Testis	
Number of animals examined	
[redacted]	
Ovary	
Number of animals examined	
[redacted]	
Epididymis	
Number of animals examined	
[redacted]	
Seminal Vesicle	
Number of animals examined	
[redacted]	
Urinary Bladder	
Number of animals examined	
[redacted]	
Prostate	
Number of animals examined	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Uterus	
Number of animals examined	
[redacted]	
Mandibular Salivary Gland	
Number of animals examined	
[redacted]	
Sublingual Salivary Gland	
Number of animals examined	
[redacted]	
Parotid Salivary Gland	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node, Mandibular	
Number of animals examined	
[redacted]	
Thymus	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lung	
Number of animals examined	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Heart	
Number of animals examined	
[redacted]	
Aorta	
Number of animals examined	
[redacted]	
Trachea	
Number of animals examined	
[redacted]	
Tongue	
Number of animals examined	
[redacted]	
Thyroid	
Number of animals examined	
[redacted]	
Parathyroid	
Number of animals examined	
[redacted]	
Larynx	
Number of animals examined	
[redacted]	

(F): Female, §: $p \leq 0.05$ (Peto Trend test)

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Pituitary	
Number of animals examined	
[redacted]	
Brain	
Number of animals examined	
[redacted]	
Spinal Cord, Cervical	
Number of animals examined	
[redacted]	
Nasal Cavity	
Number of animals examined	
[redacted]	
Nasopharynx	
Number of animals examined	
[redacted]	
Nose/Nares	
Number of animals examined	
[redacted]	
Preputial/ Clitoral Gland	
Number of animals examined	
[redacted]	

(F): Female, §: $p \leq 0.05$ (Peto Trend test)

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Tail	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node, Mediastinal	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node	
Number of animals examined	
[redacted]	
Foot	
Number of animals examined	
[redacted]	
Haemolympho-reticular System	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node, Inguinal	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node, Axillary	
Number of animals examined	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Abdominal Cavity	
Number of animals examined	
[redacted]	
Nerve, Other	
Number of animals examined	
[redacted]	
Connective Tissue	
Number of animals examined	
[redacted]	
Ear	
Number of animals examined	
[redacted]	
Muscle, Other	
Number of animals examined	
[redacted]	
Meninges	
Number of animals examined	
[redacted]	
Ureter	
Number of animals examined	
[redacted]	
Lymph Node, Iliac	
Number of animals examined	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Oral Cavity	
Number of animals examined	
[redacted]	
Blood	
Number of animals examined	
[redacted]	
Head	
Number of animals examined	
[redacted]	

Report Title: 1-O-n-Dodecyl-β-D Maltopyranoside (Dodecylmaltoside/DDM): 104 Week Intranasal Administration Carcinogenicity Study in the Rat	Test Article: DDM
Number of Animals with Neoplastic Observations [e] (continued)	
Cause of Demise	
Number of animals examined	

a) Final survival numbers taken from Day [redacted] (1st day of Week [redacted]) for males and Day [redacted] (6th day of Week [redacted]) for females

Source: Study 8322452, b) Table 9.3 and c) Table 9.4 in the study report, d) Table 6.10 in Anatomic Pathology Report, and e) Section 4.4.3 Tumor Statistics in the study report and Table 6.7 in Anatomic Pathology Report

f) In the female mammary glands, the total incidences of B-Adenoma, B-Fibroadenoma, M-Adenocarcinoma, and M-Sarcoma NOS were significantly higher in the 0.1 mg/animal/day group (Log-Rank test)

g) In the male adrenals, the total incidences of B-Cortical adenoma/M-Cortical carcinoma and B-Benign phaeochromocytoma/M-Malignant phaeochromocytoma were significantly higher in the [redacted] mg/animal/day group and the 0.1, [redacted], and 3.0 mg/animal/day groups, respectively (Peto test).

F: [redacted]

B: [redacted]

M: [redacted]

N: [redacted]

I: [redacted]

2.6.7.17.1.5　DDM の生殖発生毒性試験

				Test Article: DDM			
Species/ Strain	Method of Administration	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
[redacted] Rats	Intravenous	D6-D17	0, 30	[redacted]/group	No difference in percentage pre- and post-implantation loss or mean live litter sizes. No difference in mean fetal weight and fetal sex ratio. No external, visceral or skeletal malformations. NOAEL = > 30 mg/kg/day	AA99567	4.2.3.7.7-9 (Evaluation material)

2.6.7.17.1.6　DDM の局所刺激性試験

					Test Article: DDM		
Type of Study	Species/Strain	Doses (mg/day)	Gender/No. Per Group	NOAEL/ NOEL	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Contact hypersensitivity	[redacted] Guinea Pigs	[redacted]% [redacted]%	[redacted]M [redacted]M	NA	No toxic signs or mortality. No local adverse skin effects.	C78787	4.2.3.7.7-10 (Evaluation material)
Dermal irritation	[redacted] Rabbits	15 mg/[redacted] mL[2]	[redacted]M	NA	Microscopically, minimal to marked subacute inflammation	503595	4.2.3.7.7-11 (Evaluation material)
Local tolerance	[redacted] Dogs	[redacted] µg [redacted] µg [redacted] µg 330 µg	[redacted]M [redacted]M [redacted]M [redacted]M	330 µg	No adverse ante-mortem or post-mortem. No test article related histopathologic changes in the nasal cavities, esophagus, trachea, or lungs.	35837	4.2.3.7.7-12 (Evaluation material)

[2] 新薬承認情報提供時に置き換えた.