アバレプト懸濁性点眼液 0.3%

CTD 第 2 部 CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

千寿製薬株式会社

目 次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験 6
2.6.6.1.2 反復投与毒性試験 6
2.6.6.1.3 遺伝毒性試験 7
2.6.6.1.4 がん原性試験 7
2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験 7
2.6.6.1.6 局所刺激性試験 8
2.6.6.1.7 その他の毒性試験 8
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1 マウスを用いた単回経口投与毒性試験 9
2.6.6.2.2 ラットを用いた単回経口投与毒性試験 9
2.6.6.2.3 非げっ歯類を用いた単回経口投与毒性試験 9
2.6.6.2.4 マウスを用いた単回静脈内投与毒性試験 9
2.6.6.2.5 ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1 ウサギを用いた 4 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 10
2.6.6.3.2 イヌを用いた 4 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 10
2.6.6.3.3 イヌを用いた 39 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 11
2.6.6.3.4 ラットを用いた 10 日間反復経口投与用量設定試験 11
2.6.6.3.5 イヌを用いた 4 日間用量漸増試験及び 10 日間反復経口投与用量設定試験 12
2.6.6.3.6 雌性イヌを用いた 2 週間反復経口投与用量設定試験 13
2.6.6.3.7 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 13
2.6.6.3.8 イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 14
2.6.6.3.9 雄性イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 15
2.6.6.3.10 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 16
2.6.6.4 遺伝毒性試験 16
2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 16
2.6.6.4.2 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験 17
2.6.6.4.3 ラットを用いた骨髄小核試験 17
2.6.6.4.4 ラットを用いた骨髄小核試験（再試験） 18
2.6.6.5 がん原性試験 18
2.6.6.5.1 Non-Tg rasH2 マウスを用いた 4 週間反復経口投与用量設定試験 18
2.6.6.5.2 Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与によるがん原性試験 19
2.6.6.5.3 ラットを用いた 24 ヵ月間反復経口投与によるがん原性試験 20
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 21
2.6.6.6.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する経口投与試験 21
2.6.6.6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する経口投与用量設定試験 21

2.6.6.6.3 ラットを用いた胚・胎児発生に関する経口投与試験 22
2.6.6.6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する経口投与用量設定試験 22
2.6.6.6.5 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する経口投与試験 23
2.6.6.6.6 ラットを用いた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 23
2.6.6.7 局所刺激性試験 24
2.6.6.7.1 ウサギを用いた 7 日間反復点眼投与による眼刺激性試験 24
2.6.6.8 その他の毒性試験 24
2.6.6.8.1 マウスを用いた皮膚感作性試験（LLNA: BrdU-ELISA 法） 24
2.6.6.8.2 Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験 24
2.6.6.8.3 モルモットを用いた皮膚光感作性試験（Harber 法） 25
2.6.6.8.4 ラット、イヌ及びヒトの血清又は血漿を用いたビリルビン測定法への干渉作用の検討 25
2.6.6.8.5 ラットを用いたビリルビン測定法への干渉作用の検討 26
2.6.6.8.6 不純物の毒性試験 26
2.6.6.8.6.1 原薬の不純物　不純物A* の毒性評価 26
2.6.6.8.7 新添加剤の安全性評価 27
2.6.6.9 考察及び結論 29
2.6.6.9.1 臨床との曝露比 29
2.6.6.9.2 体温への影響 30
2.6.6.9.3 ビリルビン測定法への影響 30
2.6.6.9.4 結論 31
2.6.6.10 図表 32
2.6.6.11 引用文献 33

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6 毒性試験の概要文

本項で使用した略語及び用語の定義を表 2.6.6-1 に示した。

表 2.6.6-1　略語及び用語の定義一覧

略語及び用語	内容
モツギバトレプ懸濁性点眼液	添加剤としてホウ酸、ホウ砂、チロキサポール、メチルセルロース、塩化亜鉛を使用した製剤
モツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤	添加剤として[redacted]を使用した製剤
モツギバトレプ懸濁性点眼液の初期製剤	添加剤として[redacted]を使用した製剤 （検討用製剤とは[redacted]が異なる）
$AUC_{0\text{-}12}$	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 to 12 Hours （時間 0 から 12 時間までの薬物濃度-時間曲線下面積）
$AUC_{0\text{-}16}$	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 to 16 Hours （時間 0 から 16 時間までの薬物濃度-時間曲線下面積）
$AUC_{0\text{-}24}$	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 to 24 Hours （時間 0 から 24 時間までの薬物濃度-時間曲線下面積）
$AUC_{0\text{-}t}$	Area Under the Concentration-Time Curve from Time 0 to the Last Time Point with Measurable Concentration ［時間 0 から最終測定可能時間（t）までの薬物濃度－時間曲線下面積］
BrdU	Bromodeoxyuridine（ブロモデオキシウリジン）
C_{max}	Maximum Concentration（最高濃度）
DMSO	Dimethylsulfoxide（ジメチルスルホキシド）
JW ウサギ	Japanese White rabbits（日本白色種ウサギ）
MTD	Maximum Tolerated Dose（最大耐量）
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level（無毒性量）
NZW ウサギ	New Zealand White rabbits（ニュージーランド白色種ウサギ）
SD ラット	Sprague-Dawley rats（Sprague-Dawley ラット）
Tg rasH2 マウス	Transgenic mice carrying human prototype c-Ha-ras transgenes （ヒトプロト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）

2.6.6.1 まとめ

0.3%モツギバトレプ懸濁性点眼液の有効成分であるモツギバトレプの非臨床における安全性評価を目的として、臨床投与経路による点眼投与毒性試験を実施した。また、全身曝露による毒性プロファイルを把握する目的で、単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、局所刺激性試験、皮膚感作性試験、光毒性試験、皮膚光感作性試験並びにビリルビン測定法への干渉作用の検討試験を実施した。原薬中の不純物については反復経口投与毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験で評価した。実施した主要な毒性試験を表 2.6.6-2 に示した。

なお、GLP 下で実施することが求められている試験は、OECD GLP 原則に準拠し、日本国 GLP 基準、米国 FDA GLP 基準又は英国 GLP 基準を遵守して実施した。

表 2.6.6-2　モツギバトレプの毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	試験系	GLP 適用
単回投与毒性試験			
単回経口投与試験	経口	マウス、ラット	非適
単回静脈内投与試験	静脈	マウス、ラット	非適
反復投与毒性試験			
4 週間試験（回復性：4 週間）（検討用製剤）	点眼	ウサギ	適
4 週間試験（回復性：4 週間）（検討用製剤）	点眼	イヌ	適
39 週間試験（回復性：4 週間）	点眼	イヌ	適
10 日間試験	経口	ラット	非適
4 及び 10 日間試験	経口	イヌ	非適
2 週間試験	経口	イヌ	非適
4 週間試験（回復性：2 週間）	経口	ラット	適
4 週間試験（回復性：2 週間）	経口	イヌ	適
4 週間試験（回復性：4 週間）	経口	イヌ	非適
26 週間試験（回復性：4 週間）	経口	ラット	適
遺伝毒性試験			
細菌を用いた復帰突然変異試験	*in vitro*	ネズミチフス菌、大腸菌	適
マウスリンフォーマチミジンキナーゼ試験	*in vitro*	マウスリンフォーマ細胞	適
骨髄小核試験	経口	ラット	適、非適
がん原性試験			
26 週間試験	経口	Tg rasH2 マウス	適
24 ヵ月間試験	経口	ラット	適
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	経口	ラット	適
胚・胎児発生に関する試験	経口	ラット、ウサギ	適
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	経口	ラット	適
局所刺激性試験			
眼刺激性試験	点眼	ウサギ	適
その他の毒性試験			
皮膚感作性試験（検討用製剤）	経皮	マウス	適
光毒性試験	*in vitro*	Balb/c 3T3 細胞	非適
皮膚光感作性試験（検討用製剤）	経皮	モルモット	適
ビリルビン測定法への干渉作用の検討	*in vitro*	ラット、イヌ及びヒトの血清又は血漿	非適
ビリルビン測定法への干渉作用の検討	経口	ラット	非適

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

マウス及びラットにモツギバトレプを 2000 mg/kg の用量で経口投与した試験では、MTD は 2000 mg/kg を上回ると判断した。

マウス及びラットにモツギバトレプを 50 及び 100 mg/kg の用量で静脈内投与した試験の MTD は、マウスでは 100 mg/kg を上回り、ラットでは 50 mg/kg 未満であると判断した。

非げっ歯類を用いた単回投与試験は実施していないが、雌性イヌにモツギバトレプを 0（対照群）及び 400 mg/kg の用量で 1 日 1 回、14 日間反復経口投与した試験では、死亡例はなく、非げっ歯類における MTD は 400 mg/kg を上回ると判断した。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

ウサギ 4 週間反復点眼投与毒性試験：ウサギに 0%（基剤）、0.3%、1%及び 3%モツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤（以下、0.3%、1%及び 3%検討用製剤）を 1 日 8 回、4 週間点眼投与した試験では、いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

イヌ 4 週間反復点眼投与毒性試験：イヌに 0%（基剤）、0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 1 日 8 回、4 週間点眼投与した試験では、いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

イヌ 39 週間反復点眼投与毒性試験：イヌに 0%（基剤）、0.3%、1%及び 3%モツギバトレプ懸濁性点眼液（以下、本剤、1%及び 3%製剤）を 1 日 6 回、39 週間反復点眼投与した試験では、いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

ラット 10 日間反復経口投与用量設定試験：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、300、400、及び 500 mg/kg の用量で、1 日 1 回、10 日間反復経口投与した試験では、最高用量まで重篤な毒性はみられなかった。

イヌ 4 日間用量漸増試験及び 10 日間反復経口投与用量設定試験：イヌにモツギバトレプを 100、200、350 及び 500 mg/kg の用量で漸増しながら、各用量 1 日 1 回、4 日間反復経口投与した。次に 400 mg/kg の用量で、1 日 1 回、10 日間反復経口投与した。その結果、いずれも最高用量まで忍容性を示した。

イヌ 2 週間反復経口投与用量設定試験（ビリルビン及び体温の上昇に関する評価）：雌性イヌにモツギバトレプを 0（対照群）及び 400 mg/kg の用量で、1 日 1 回、14 日間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与に関連する毒性学的意義のある変化はみられなかった。

ラット 4 週間反復経口投与毒性試験：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2.7、9.0 及び 277.5 mg/kg の用量で、1 日 1 回、28 日間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与に関連する毒性学的意義のある変化はみられなかった。

イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験：イヌにモツギバトレプを 0（対照群）、4.5、22.9 及び 371.3 mg/kg の用量で、1 日 1 回、28 日間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与に関連する毒性学的意義のある変化はみられなかった。

イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験（ビリルビン高値及び体温上昇の減弱に関する評価）：雄性イヌにモツギバトレプを 0（対照群）、2、20 及び 200 mg/kg の用量で、1 日 2 回、4 週間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与に関連する毒性学的意義のある変化はみられなかった。

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、0.5、5 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、26 週間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与に関連する毒性学

的意義のある変化はみられなかった。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験：ネズミチフス菌及び大腸菌にモツギバトレプを 5、17、50、167、500 及び 1667 µg/plate の用量で曝露させ、プレート法及びプレインキュベーション法によって評価した試験において、代謝活性化系存在下及び非存在下のいずれの条件においても、すべての菌株で変異原性はみられなかった。

マウスリンフォーマチミジンキナーゼ試験：マウスリンフォーマ L5178Y 細胞にモツギバトレプを 5～500 µg/mL の用量で曝露させた試験において、代謝活性化系存在下及び非存在下のいずれの条件においても、変異発生率の有意な増加はみられなかった。

ラット骨髄小核試験：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、200、600 及び 2000 mg/kg の用量で、1 日 1 回、2 日間経口投与した試験において、モツギバトレプの骨髄小核誘発能は陰性と判断した。

2.6.6.1.4 がん原性試験

Tg rasH2 マウス 26 週がん原性試験：Tg rasH2 マウスにモツギバトレプを 0（対照群）、1、10 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回、26 週間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加や非腫瘍性病変の発生はみられなかった。

ラット 24 ヵ月がん原性試験：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、0.5、5 及び 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回、雄で 104 週間、雌で 99 週間反復経口投与した試験では、モツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加はみられなかった。非腫瘍性変化として、加齢性変化である大腿四頭筋の萎縮が 5 及び 50 mg/kg/day 群の雄で増強した。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2、10 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、雄は交配前 2 週間から剖検前日までの 42 日間、雌は交配前 2 週間から妊娠 6 日までの 22～35 日間反復経口投与した試験では、受胎能及び初期胚発生に対しモツギバトレプ投与に関連する毒性学的意義のある変化はみられなかった。

ラット胚･胎児発生に関する試験：妊娠ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2、10 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、妊娠 6 日から 17 日までの 12 日間反復経口投与した試験では、母動物及び胚・胎児発生に対しモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験：妊娠ウサギにモツギバトレプを 0（対照群）、10、40 及び 200 mg/kg の用量で、1 日 1 回、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間反復経口投与した試験では、200 mg/kg 群で肺副葉欠損（変異）を有する母体数及び変異胎児数の増加傾向がみられた。したがって、胚・胎児発生に対する NOAEL は 40 mg/kg/day と判断した。母動物に対しモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験：妊娠ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2、10 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、妊娠 6 日から授乳 20 日まで反復経口投与した試験では、母動物及び出生児に対しモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

2.6.6.1.6 局所刺激性試験

ウサギ 7 日間反復点眼投与眼刺激性試験：ウサギに本剤を 1 日 6 回、7 日間反復点眼投与し、眼刺激性を評価した試験では、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

皮膚感作性試験：マウスの両側耳介背部皮膚に基剤、0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 1 日 1 回、3 日間連続で開放塗布し、LLNA: BrdU-ELISA 法により皮膚感作した試験では、被験物質の塗布に関連する変化はみられず、基剤、0.3%、1%及び 3%検討用製剤は皮膚感作性を有さないと判断した。

光毒性試験：Balb/c 3T3 細胞に非照射下及び照射下においてモツギバトレプを 1.90、2.66、3.72、5.21、7.29、10.2、14.3 及び 20 µg /mL の用量で曝露させた試験では、モツギバトレプは光毒性を有さないと判断した。

皮膚光感作性試験：モルモットの背部皮膚に 0.3%、1%及び 3%検討用製剤を開放塗布し、Harber 法により光感作及び光惹起した試験では、被験物質の塗布に関連する変化はみられず、0.3%、1%及び 3%検討用製剤は皮膚光感作性を有さないと判断した。

ラット、イヌ及びヒトの血清又は血漿を用いたビリルビン測定法への干渉作用の検討：ラット、イヌ及びヒトの血清又は血漿サンプルにモツギバトレプを濃度が 5、25 及び 50 µg/mL になるように添加し、ジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法により総ビリルビン及び直接ビリルビンを測定した試験では、対照群と比較してビリルビン濃度に変化はみられず、モツギバトレプは血清及び血漿サンプルへの混合のみではジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法のいずれにも干渉しないと判断した。

ラットを用いたビリルビン測定法への干渉作用の検討：ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、10 及び 30 mg/kg の用量で、1 日 1 回、10 日間反復経口投与した試験では、血漿中のビリルビン濃度は定量下限値未満であり、モツギバトレプは modified Jendrassik-Grof 法及び化学酸化法による血漿中のビリルビン濃度測定に干渉しないと判断した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 マウスを用いた単回経口投与毒性試験

……4.2.3.1-1【参考資料】

モツギバトレプを 2000 mg/kg の用量で雌雄各 5 例の CD-1 マウスに単回経口投与し、投与後 14 日まで観察した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重測定並びに剖検とした。

いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での MTD は雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると判断した。

2.6.6.2.2 ラットを用いた単回経口投与毒性試験

……4.2.3.1-2【参考資料】

モツギバトレプを 2000 mg/kg の用量で雌雄各 5 例の Han Wistar ラットに単回経口投与し、投与後 14 日まで観察した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重測定並びに剖検とした。

いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での MTD は雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると判断した。

2.6.6.2.3 非げっ歯類を用いた単回経口投与毒性試験

……4.2.3.2-6【参考資料】

非げっ歯類を用いた単回経口投与毒性試験は実施していないが、モツギバトレプを 0（対照群）及び 400 mg/kg の用量で 1 群あたり 3 例の雌性ビーグル犬に 1 日 1 回、14 日間反復経口投与した試験（2.6.6.3.6）では、死亡例はみられなかった。また、対照群と比較して約 1°C の体温の上昇が初回投与後からみられたが、動物の全身状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性学的意義のない変化と判断した。その他の評価項目において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、非げっ歯類にモツギバトレプを単回経口投与した時の MTD は 400 mg/kg を上回ると判断した。

2.6.6.2.4 マウスを用いた単回静脈内投与毒性試験

……4.2.3.1-3【参考資料】

モツギバトレプを 0（対照群）、50 及び 100 mg/kg の用量で 1 群あたり雌雄各 5 例の CD-1 マウスに単回静脈内投与し、投与後 14 日まで観察した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重測定並びに剖検とした。

雌雄ともにモツギバトレプ投与に関連する死亡例はみられなかった。一般状態観察において、100 mg/kg 群の雌雄に円背位及び立毛がみられ、雄には更に運動失調、眼瞼下垂、呼吸数減少及び努力性呼吸がみられたが、いずれも投与翌日には消失した。50 mg/kg 群では一般状態に異常はみられなかった。体重、及び剖検において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での MTD は雌雄ともに 100 mg/kg を上回ると判断した。

2.6.6.2.5 ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験

……4.2.3.1-4【参考資料】

モツギバトレプを 0（対照群）、50 及び 100 mg/kg の用量でそれぞれ雌雄各 5 例、雄 5 例・雌 2

例及び雄 4 例・雌 2 例の Han Wister ラットに単回静脈内投与し、投与後 14 日まで観察した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重測定並びに剖検とした。

50 mg/kg 群の 2 例（雌雄各 1 例）及び 100 mg/kg 群の 4 例（雄 3 例及び雌 1 例）が投与直後に死亡した。死亡前の一般状態観察では、呼吸数減少、努力性呼吸及び喘ぎ呼吸がみられた。

生存例の一般状態観察において、50 mg/kg 群では昏睡、運動失調、呼吸数減少、努力性呼吸及び喘ぎ呼吸がみられたが、投与後 1 時間以内に回復した。100 mg/kg 群では変化はみられなかった。

剖検において、50 mg/kg 群の死亡例で肺の赤色化並びに肝臓及び腎臓の暗色化がみられた。50 mg/kg 群の生存例並びに 100 mg/kg 群の死亡例及び生存例では異常はみられなかった。

体重において、モツギバトレプ投与に関連した変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での MTD は雌雄ともに 50 mg/kg 未満であると判断した。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ウサギを用いた 4 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

……4.2.3.2-1

JW ウサギの両眼に 0%（基剤）、0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 1 眼あたり 1 回 50 µL、約 1 時間間隔で 1 日 8 回（それぞれ 2.4、8 及び 24 mg/body/day）、4 週間反復点眼投与した。動物数は、基剤及び 3%検討用製剤投与群では休薬動物として用いた雌雄各 2 例を含む雌雄各 6 例、0.3%及び 1%検討用製剤投与群では雌雄各 3 例とした。投与期間終了後、基剤及び 3%検討用製剤投与群の雌雄各 2 例に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査・倒像検眼鏡検査、涙液量測定、眼圧測定、角膜厚測定及び網膜電図検査）、体温測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織的学検査とした。また、すべての用量について投与 1 及び 28 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は雌雄ともに 3%と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加し、明らかな性差はみられなかった。反復投与により、各群の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}16}$ は増加した。NOAEL における投与 28 日目の C_{max} は雄で 398 ng/mL、雌で 485 ng/mL、$AUC_{0\text{-}16}$ は雄で 4570 ng·h/mL、雌で 6060 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.2 イヌを用いた 4 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

……4.2.3.2-2

ビーグル犬の両眼に 0%（基剤）、0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 1 眼あたり 1 回 50 µL、約 1 時間間隔で 1 日 8 回（それぞれ 2.4、8 及び 24 mg/body/day）、4 週間反復点眼投与した。動物数は、基剤及び 3%検討用製剤投与群では休薬動物として用いた雌雄各 2 例を含む雌雄各 6 例、0.3%及び 1%検討用製剤投与群では雌雄各 3 例とした。投与期間終了後、基剤及び 3%検討用製剤投与群の雌雄各 2 例に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査（細隙灯顕微鏡検査・倒像検眼鏡検査、涙液量測定、眼圧測定、角膜厚測定及び網膜電図検査）、心電図検査、体温測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織学的検査とした。また、すべての用量について

投与 1 及び 28 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は雌雄ともに 3%と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加し、蓄積性及び明らかな性差はみられなかった。NOAEL における投与 28 日目の C_{max} は雄で 272 ng/mL、雌で 293 ng/mL、$AUC_{0\text{-}16}$ は雄で 2830 ng·h/mL、雌で 2880 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.3 イヌを用いた 39 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

……4.2.3.2-3

ビーグル犬の両眼に 0%（基剤）、本剤、1%及び 3%製剤を 1 眼あたり 1 回 50 µL、約 1 時間間隔で 1 日 6 回（それぞれ 1.8、6 及び 18 mg/body/day）、39 週間反復点眼投与した。動物数は、基剤及び 3%製剤投与群では休薬動物として用いた雌雄各 2 例を含む雌雄各 6 例、本剤及び 1%製剤投与群では雌雄各 3 例とした。投与期間終了後、基剤及び 3%製剤投与群の雌雄各 2 例に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査（肉眼及び検眼鏡的検査、眼底検査、網膜電図、眼圧、角膜厚測定並びに涙液量測定）、心電図検査、体温測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定並びに病理組織学的検査とした。また、すべての用量について投与 1、91 及び 273 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は雌雄ともに 3%と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加した。反復投与により 3%製剤投与群では C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は増加する傾向がみられたが、他の投与群では明確な差はみられなかった。雌における $AUC_{0\text{-}t}$ は、すべての用量で雄より高かった。NOAEL における投与 273 日目の C_{max} は雄で 96.8 ng/mL、雌で 180 ng/mL、$AUC_{0\text{-}t}$ は雄で 1320 ng·h/mL、雌で 2710 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.4 ラットを用いた 10 日間反復経口投与用量設定試験

……4.2.3.2-4【参考資料】

1 群あたり雌雄各 5 例の Han Wistar ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、300、400、及び 500 mg/kg の用量で、1 日 1 回、10 日間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検並びに器官重量測定とした。総ビリルビンは Jendrassik-Grof 法により測定した。また、対照群を除くすべての投与群についてサテライト動物を設け、投与 1 及び 10 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの投与群でも雌雄ともに死亡例はみられなかった。

血液生化学的検査において、300 mg/kg/day 以上の群の雌雄で総ビリルビンの統計学的に有意な高値がみられた。後述のとおり（2.6.6.9.3）、総ビリルビンの高値は、モツギバトレプの代謝物が Jendrassik-Grof 法に干渉したものであり、血中のビリルビンの変動によるものではないと判断した。

器官重量測定において、300 mg/kg/day 以上の群の雌で脾臓の絶対重量が統計学的に有意に増加した。また、300 mg/kg/day 以上の群の雌で脾臓の相対重量が増加し、300 及び 500 mg/kg/day 群では統計学的に有意に増加した。300 及び 500 mg/kg/day 群の雄で腎臓の相対重量が統計学的に有意

に増加した。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液凝固系検査、尿検査及び剖検において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でモツギバトレプは 500 mg/kg/day まで重篤な毒性を示さないと判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度の用量依存的な増加はみられず、蓄積性もみられなかった。雌における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、すべての用量で雄より高かった。500 mg/kg/day における投与 10 日目の C_{max} は雄で 26.8 µg/mL、雌で 46.9 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 446 µg·h/mL、雌で 972 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.5 イヌを用いた 4 日間用量漸増試験及び 10 日間反復経口投与用量設定試験

……4.2.3.2-5【参考資料】

雌雄各 1 例のビーグル犬にモツギバトレプを 100、200、350 及び 500 mg/kg の用量で漸増しながら、各用量 1 日 1 回、4 日間反復経口投与した（4 日間用量漸増試験）。その後、雌雄各 1 例の未処置のビーグル犬を追加してモツギバトレプを 400 mg/kg の用量で、1 日 1 回、10 日間反復経口投与した（10 日間反復経口投与用量設定試験）。媒体はコーン油を用いた。評価項目は、4 日間用量漸増試験では生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査並びに血液生化学的検査とし、10 日間反復経口投与用量設定試験では更に尿検査、器官重量測定及び剖検を行った。総ビリルビンは Jendrassik-Grof 法により測定した。また、100 mg/kg/day 投与 1 日目、すべての漸増用量の各用量投与 4 日目、並びに 400 mg/kg/day 投与 1 及び 10 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

4 日間用量漸増試験において、いずれの用量でも雌雄ともに死亡例はみられなかった。血液生化学的検査の結果、すべての用量の雌雄で総ビリルビンの高値がみられ、すべての用量の雄でコレステロールの高値がみられた。総ビリルビンの高値は、最終投与時より程度は減少したものの、最終投与後 7 日間でも継続していた。モツギバトレプ投与に関連した一般状態、体重、摂餌量及び血液学的検査への影響はみられなかった。

10 日間反復経口投与用量設定試験において、雌雄ともに死亡例はみられなかった。血液生化学的検査及び尿検査の結果、雌雄で総ビリルビン及び尿中ウロビリノーゲンの高値がみられ、雄でコレステロールの高値がみられた。モツギバトレプ投与に関連した一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、器官重量及び剖検への影響はみられなかった。

後述のとおり（2.6.6.9.3）、総ビリルビンの高値は、モツギバトレプの代謝物が Jendrassik-Grof 法に干渉したものであり、血中のビリルビンの変動によるものではないと判断した。

以上のように、モツギバトレプは 4 日間用量漸増投与及び 10 日間反復経口投与でそれぞれ 500 mg/kg/day 及び 400 mg/kg/day まで忍容性を示した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加したが、その増加比は用量比よりも小さかった。雄における $AUC_{0\text{-}24}$ は、すべての用量で雌より高かった。400 mg/kg/day における 10 日目の C_{max} は雄で 8.25 µg/mL、雌で 6.01 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 142 µg·h/mL、雌で 63.2 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.6 雌性イヌを用いた 2 週間反復経口投与用量設定試験

……4.2.3.2-6【参考資料】

イヌ安全性薬理試験（2.6.2.4.4.2）でみられた体温の上昇、イヌ 4 日間用量漸増試験及び 10 日間反復経口投与用量設定試験（2.6.6.3.5）並びにイヌ 4 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.8）でみられたビリルビン高値の評価のため、雌性イヌを用いた 2 週間反復経口投与試験を実施した。

1 群あたり 3 例の雌性ビーグル犬にモツギバトレプを 0（対照群）及び 400 mg/kg の用量で、1 日 1 回、2 週間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、体温測定（毎日の投与前及び投与後 2 時間）、血液生化学的検査、並びに剖検及び肝臓の病理組織学的検査とした。血液生化学的検査における総ビリルビン、直接ビリルビン及び間接ビリルビンの測定では、ジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法の 2 種類のビリルビン測定法を採用した。また、すべての用量について投与 13 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの投与群でも死亡例はみられなかった。

一般状態観察において、400 mg/kg/day 群に黄色退色便及び粘液便がみられたが、低頻度であったこと、及び投与液が黄色であったことが原因と推察し、毒性学的意義のない変化と判断した。

体温測定において、対照群と比較して、400 mg/kg/day 群では約 1°C の体温の上昇がみられた。体温の上昇は初回投与後からみられ、それぞれの投与日の投与前に低下することなく、投与期間を通じて継続的にみられた。しかし動物の全身状態に影響を及ぼさなかったことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

血液生化学的検査において、400 mg/kg/day 群でコレステロール及びアラニンアミノトランスフェラーゼの統計学的に有意な高値並びにリパーゼ及び血中尿素窒素の統計学的に有意な低値がみられた。また、400 mg/kg/day 群の全例で、投与前値と比較して、ジアゾ/DPD 酸化酵素法で測定した総ビリルビン及び間接ビリルビンの高値がみられた。一方、バナジン酸法で測定した値には変動はみられなかった。後述のとおり（2.6.6.9.3）、総ビリルビンの高値はモツギバトレプの代謝物がジアゾ/DPD 酸化酵素法に干渉したものであり、血中のビリルビンの変動によるものではないと判断した。

なお、体重、摂餌量、剖検及び肝臓の病理組織学的検査において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

400 mg/kg/day における投与 13 日目の C_{max} は 9.79 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 190 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.7 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

……4.2.3.2-7

Han Wistar ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2.7、9.0 及び 277.5 mg/kg の用量で、1 日 1 回、4 週間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。動物数は、対照群及び 277.5 mg/kg/day 群では休薬動物として用いた雌雄各 5 例を含む雌雄各 15 例、2.7 及び 9.0 mg/kg/day 群では雌雄各 10 例とした。投与期間終了後、対照群及び高用量群の雌雄各 5 例に 2 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重、摂餌量及び飲水量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、血液・骨髄塗抹検査、器官重量測定、剖検、並びに病理組織学的検査とした。総ビリルビンは Jendrassik-Grof 法により測定した。また、すべての投与群についてサテライト動物を設け、投与 1 及び 28 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの投与群でも雌雄ともに死亡例はみられなかった。

血液生化学的検査において、2.7 mg/kg/day 以上の群の雌雄で総ビリルビンの用量依存的な高値がみられ、2.7 mg/kg/day 群の雄を除くすべてのモツギバトレプ投与群で対照群と比較し統計学的に有意に高値であった。これらの高値は休薬期間終了時には回復していた。後述のとおり（2.6.6.9.3）、総ビリルビンの高値は、モツギバトレプの代謝物が Jendrassik-Grof 法に干渉したものであり、血中のビリルビンの変動によるものではないと判断した。

一般状態、体重、摂餌量・飲水量、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、尿検査、骨髄塗抹、血液塗抹、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は雌雄ともに 277.5 mg/kg/day と判断した。

$AUC_{0\text{-}24}$ は用量依存的に増加し、その程度は 2.7 及び 9.0 mg/kg/day 群間では用量比に近かったが、9.0 及び 277.5 mg/kg/day 群間では用量比よりも小さかった。2.7 及び 9.0 mg/kg 群では反復投与に伴い $AUC_{0\text{-}24}$ が増加したが、277.5 mg/kg 群では増加しなかった。雌の $AUC_{0\text{-}24}$ は、すべての用量で雄より高かった。NOAEL における投与 28 日目の C_{max} は雄で 26.9 µg/mL、雌で 44.4 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 448 µg·h/mL、雌で 935 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.8 イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

……4.2.3.2-8

ビーグル犬にモツギバトレプを 0（対照群）、4.5、22.9 及び 371.3 mg/kg の用量で、1 日 1 回、4 週間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。動物数は、対照群及び 371.3 mg/kg/day 群では休薬動物として用いた雌雄各 2 例を含む雌雄各 5 例、4.5 及び 22.9 mg/kg/day 群では雌雄各 3 例とした。投与期間終了後、対照群及び 371.3 mg/kg/day 群の雌雄各 2 例に 2 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査、尿検査、骨髄・血液塗抹検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織学的検査とした。総ビリルビンは Jendrassik-Grof 法により測定した。また、すべての用量について投与 1 及び 28 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの投与群でも雌雄ともに死亡例はみられなかった。

一般状態観察において、371.3 mg/kg/day 群の雌雄で便の異常（軟便/水様便）がみられたが、軽微かつ低頻度であり、その頻度は徐々に低下し休薬期間中にはみられなかったことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

血液生化学的検査において、22.9 mg/kg/day 群の雄 1 例及び 371.3 mg/kg/day 群の雌雄でコレステロールの統計学的に有意な高値が、371.3 mg/kg/day 群の雄で血中尿素窒素の有意な高値が、22.9 mg/kg/day 群及び 371.3 mg/kg/day 群の雄でクレアチニンの有意な高値がそれぞれみられたが、変動幅が小さかったこと及び肝臓や腎臓を含めて病理組織学的変化がみられなかったことから毒性学的意義のない変化と判断した。また、すべての投与群の雌雄で総ビリルビンの用量依存的な高値がみられた。4.5 mg/kg/day 以上の群の雄及び 22.9 mg/kg/day 以上の群の雌では対照群と比較して統計学的に有意な高値であり、371.3 mg/kg/day 群の雄では休薬 14 日目においても高値のままであった。後述のとおり（2.6.6.9.3）、総ビリルビンの高値は、モツギバトレプの代謝物が Jendrassik-Grof 法に干渉したものであり、血中のビリルビンの変動によるものではないと判断した。

体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液凝固系検査、尿検査、骨髄塗

抹、血液塗抹、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は雌雄ともに 371.3 mg/kg/day と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加したが、その増加比は用量比よりも小さかった。蓄積性及び明らかな性差はみられなかった。NOAEL における投与 28 日目の C_{max} は雄で 7.43 µg/mL、雌で 6.21 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 141 µg·h/mL、雌で 108 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.9 雄性イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

……4.2.3.2-9【参考資料】

反復経口投与毒性試験において Jendrassik-Grof 法で測定した際にみられたビリルビンの高値が測定法への干渉であること、並びに安全性薬理試験（2.6.2.4.4.1、2.6.2.4.4.2 及び 2.6.2.4.4.3）及び雌性イヌ 2 週間反復経口投与用量設定試験（2.6.6.3.6）でみられた体温の上昇が反復投与により減弱することの確認を目的として、雄性イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験を実施した。

雄性ビーグル犬にモツギバトレプを 0（対照群）、2、20 及び 200 mg/kg の用量で、約 6 時間間隔で 1 日 2 回（それぞれ 4、40 及び 400 mg/kg/day 群）、4 週間反復経口投与した。対照群には 50% Labrafil M 1944 CS、45% Capryol 90 及び 5% Polysorbate 80 からなる媒体を投与した。動物数は、対照群及び 400 mg/kg/day 群では休薬動物として用いた 3 例を含む 6 例、4 及び 40 mg/kg/day 群では 3 例とした。投与期間終了後、対照群及び 400 mg/kg/day 群の 3 例に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、体温測定、獣医学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織学的検査とした。総ビリルビン及び直接ビリルビンはジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法により測定し、これらの測定値から間接ビリルビンを算出した。また、すべての用量について投与 1 及び 28 日目の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの投与群でも死亡例はみられなかった。

体温測定において、4 mg/kg/day 以上の群で、投与 1 日目の投与後に、対照群と比較して用量非依存的な体温の上昇がみられた。体温の上昇はすべての投与群で投与 1 日目の投与後、投与 8 日目の投与前、投与 15 及び 22 日目の投与後にみられたが、投与期間中に減弱し、投与 28 日目及び休薬期間は対照群と比較して体温の上昇はみられなかった。体温の上昇は、投与期間中に減弱したこと、及び動物の全身状態へは影響を与えなかったことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

血液生化学的検査において、40 mg/kg/day 以上の群でコレステロールの統計学的に有意な高値がみられたが、関連する病理組織学的変化を伴っておらず、変動幅がわずかであること、休薬期間中に回復したことから毒性学的意義のない変化と判断した。また、40 mg/kg/day 以上の群で、ジアゾ/DPD 酸化酵素法で測定した総ビリルビン及び間接ビリルビンの用量依存的な高値がみられた。総ビリルビン及び間接ビリルビン濃度は、3 例中 2 例が休薬 28 日目には投与前の値まで回復したが、残りの 1 例はわずかに高値を示した。一方、バナジン酸法ではいずれの時点においても測定値に変動はみられなかった。後述のとおり（2.6.6.9.3）、総ビリルビン及び間接ビリルビンの高値は、モツギバトレプの代謝物がジアゾ/DPD 酸化酵素法へ干渉したものであり、血中のビリルビンの変動によるものではないと判断した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、尿検査、器官重量、剖検

及び病理組織学的検査において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は 400 mg/kg/day と判断した。

$AUC_{0\text{-}24}$ は 4 及び 40 mg/kg/day 群間では用量に伴い増加したが、その増加比は用量比より小さく、40 及び 400 mg/kg/day 群間では増加しなかった。いずれの用量においても反復経口投与により $AUC_{0\text{-}24}$ は増加した。NOAEL における投与 28 日のモツギバトレプの C_{max} は 5.79 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 104 µg·h/mL であった。

2.6.6.3.10 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

…… 4.2.3.2-10

1 群あたり雌雄各 12 又は 20 例の SD ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、0.5、5 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、26 週間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。投与期間終了後、対照群及び 50 mg/kg/day 群の雌雄各 8 例に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、骨髄検査、剖検、器官重量測定並びに病理組織学的検査とした。また、すべての投与群についてサテライト動物を設け、投与 1 日並びに投与 13 及び 26 週の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

対照群の雄 1 例が投与 110 日に悪性リンパ腫により死亡したが、モツギバトレプ投与群に死亡例はみられなかった。

器官重量測定において、50 mg/kg/day 群の雄で甲状腺の絶対及び相対重量の統計学的に有意な増加がみられた。また、50 mg/kg/day 群の雌雄で副腎の絶対重量の統計学的に有意な増加がみられ、5 mg/kg/day 以上の雌で副腎の相対重量の統計学的に有意な増加がみられた。しかし、病理組織学的検査で関連する異常はみられていないことから、いずれも毒性学的意義のない変化と判断した。なお、これらの変化は休薬終了時にはみられず、回復性を示した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液凝固系検査、血液化学検査、骨髄検査、剖検及び病理組織学的検査において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下での NOAEL は雌雄ともに 50 mg/kg/day と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加し、その増加比は、0.5 及び 5 mg/kg/day 群間では用量比に近かったが、5 及び 50 mg/kg/day 群間では用量比よりも小さかった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、雌の方が雄よりも高い傾向にあり、反復投与後は投与量が増加するほど雌の方が雄よりも高くなる傾向がみられた。雄の 50 mg/kg/day 群以外では、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は 26 週間の反復投与により増加する傾向がみられた。NOAEL における投与 26 週の C_{max} は雄で 17.3 µg/mL、雌で 43.5 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t}$ は雄で 312 µg·h/mL、雌で 913 µg·h/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

……4.2.3.3.1-1

Salmonella Typhimurium TA98、TA100、TA1535 及び TA1537、並びに *Escherichia coli* WP2*uvr*A を使用し、Aroclor 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化系存在下及び非存在下でモツギバトレプの変異原性を評価した。予備検討の結果、モツギバトレプの濃度は 5、17、50、167、500 及び 1667 µg/plate

と設定し、プレート法及びプレインキュベーション法によって評価した。陰性対照にはDMSOを用いた。

モツギバトレプはプレート法及びプレインキュベーション法における代謝活性化系存在下及び非存在下のいずれの条件においても、すべての菌株で変異原性はみられなかった。

2.6.6.4.2 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験

……4.2.3.3.1-2

マウスリンフォーマ L5178Y 細胞を使用し、Aroclor 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化系存在下及び非存在下でモツギバトレプのチミジンキナーゼ遺伝子に対する突然変異誘発能を評価した。予備試験における細胞毒性を考慮し、代謝活性化系非存在下の 4 時間処理群では 5、15、50、150 及び 500 µg/mL、代謝活性化系存在下の 4 時間処理群では 10、20、40、80 及び 160 µg/mL、代謝活性化系非存在下の 24 時間処理群では 20、30、50、70 及び 100 µg/mL を設定した。陰性対照にはDMSOを用いた。陽性対照には、代謝活性化系非存在下ではメタンスルホン酸エチル及びメタンスルホン酸メチル、代謝活性化系存在下では3-メチルコラントレンを用いた。

モツギバトレプは代謝活性化系存在下及び非存在下のいずれの条件においても、変異発生率へ影響を及ぼさなかった。陽性対照群では、陰性対照群と比較して変異発生率が有意に増加した。

2.6.6.4.3 ラットを用いた骨髄小核試験

……4.2.3.3.2-1, 4.2.3.3.2-2【参考資料】

モツギバトレプの *in vivo* による染色体異常誘発能を評価するため、1 群あたり 10 例の雌性 SD ラットにモツギバトレプを 0（陰性対照群）、20、200 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。陰性対照群には媒体であるコーン油を単回経口投与した。陽性対照として 5 例の雌性 SD ラットにシクロホスファミドを 40 mg/kg の用量で単回経口投与した。陰性対照群及びモツギバトレプ投与群については、投与前及び投与後 1、2、4 及び 8 時間に体温測定を行った。陰性対照群及びモツギバトレプ投与群の半数は投与後約 24 時間に、残りの半数は投与後約 48 時間に安楽死させ、大腿骨より骨髄塗抹標本を作製してアクリジンオレンジにより核酸を染色した。陽性対照群の全例を投与後約 24 時間に同様に処置した。投与後 24 時間に処置した各 5 例/群、及び投与後 48 時間に処置した陰性対照群及び 2000 mg/kg 投与群の各 5 例について、1 例あたり 2000 個の多染性赤血球（PCE）を顕微鏡下で観察し、小核を有する PCE の出現頻度を評価した。また、モツギバトレプの骨髄毒性を評価するため、1 例あたり 1000 個の赤血球（EC）に対する PCE の割合（PCEs/ECs 比）を算出した。

いずれの投与群でも死亡例はみられず、一般状態及び体重にも異常はみられなかった。

体温測定において、陰性対照群及びモツギバトレプ投与群のいずれも投与後の体温に変動はみられなかった。

いずれのモツギバトレプ投与群においても PCEs/ECs 比に顕著な低下はみられず、モツギバトレプは骨髄毒性を有さないと判断した。投与後 24 時間及び 48 時間のいずれの評価時点及びモツギバトレプ投与群においても、PCE 10000 個（各群の総 PCE 数）あたりの小核を有する PCE の出現頻度は、陰性対照群と比べて有意な増加を示さなかった。陽性対照群では、小核を有する PCE の出現頻度が有意に増加した。陰性対照群における小核を有する PCE の出現頻度は、背景データの範囲内であった。

別途実施した TK 試験において、最高用量である 2000 mg/kg を雌性 SD ラットに単回経口投与

した結果、血漿中モツギバトレプの AUC_{0-24} は 1475 μg·h/mL であり、モツギバトレプの全身曝露が確認された。

以上の結果から、モツギバトレプのラットに対する染色体異常誘発能は陰性と判断した。

2.6.6.4.4 ラットを用いた骨髄小核試験（再試験）

……4.2.3.3.2-3

モツギバトレプの *in vivo* による染色体異常誘発能を評価するため、1 群あたり 5 例の雄性 SD ラットにモツギバトレプを 0（陰性対照群）、200、600、2000 mg/kg の用量で、約 24 時間間隔で 2 日間経口投与した。陰性対照群には媒体であるコーン油を経口投与した。陽性対照群にはマイトマイシン C を 2 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。全例を最終投与の約 24 時間後に安楽死させ、大腿骨より骨髄塗抹標本を作製してアクリジンオレンジにより核酸を染色した。1 例あたり 4000 個の幼若赤血球（IME）を顕微鏡下で観察し、小核を有する IME（MNIME）の出現頻度を評価した。また、モツギバトレプの骨髄毒性を評価するため、1 例あたり 500 個の全赤血球に対する IME の割合を算出した。また、高用量群について投与 1 日目の投与後 2 時間の血漿中モツギバトレプ濃度を測定した。

いずれの投与群でも死亡例はみられず、一般状態にも異常はみられなかった。

2000 mg/kg/day 群で MNIME の出現頻度が陰性対照群と比較してわずかに高く、陰性対照群との比較及び傾向検定ともに統計学的に有意に増加した。しかし、2000 mg/kg/day 群における各個体の MNIME の出現割合は、試験実施施設の陰性対照群背景データの平均値に標準偏差の 1.96 倍を加えた値から外れておらず、陽性判定基準を満たさなかったことから、小核試験の結果は陰性と判定した。また、いずれのモツギバトレプ投与群においても IME の出現頻度は陰性対照群と同等であり、モツギバトレプは骨髄毒性を有さないと判断した。陽性対照群では、陰性対照群と比較して MNIME の出現頻度が有意に増加した。

高用量群の血漿中モツギバトレプ濃度は 32.8 μg/mL であり、モツギバトレプの全身曝露が確認された。

以上の結果から、モツギバトレプのラットに対する染色体異常誘発能は陰性と判断した。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 Non-Tg rasH2 マウスを用いた 4 週間反復経口投与用量設定試験

……4.2.3.4.1-1

Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験の用量設定のため、1 群あたり雌雄各 10 例の野生型 rasH2-Wt マウスにモツギバトレプを 0（対照群）、10、100 及び 500 mg/kg の用量で、1 日 1 回、4 週間反復経口投与し、全身への影響を検討した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定並びに病理組織学的検査とした。また、すべての投与群についてサテライト動物を設け、投与開始日及び投与終了日の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

いずれの投与群でも雌雄ともに死亡例はみられなかった。

血液学的検査において、500 mg/kg/day 群の雌で、対照群と比較して軽度ではあるが赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、白血球数及び血小板数が低値、平均赤血球容積が高値を示し、100

及び 500 mg/kg/day 群ではリンパ球数及び単球数の低値がみられ、造血に対する影響が示唆された。しかしながら、骨髄では病理組織学的に造血抑制を示唆する変化はなく、その程度は軽度と判断した。

血液生化学的検査において、すべてのモツギバトレプ投与群で総ビリルビンの有意な高値が用量に相関してみられたが、病理組織学的に肝胆道系には影響はみられなかった。

剖検において、胃の黒色点／域が 500 mg/kg/day 群の雄に 1 例、対照群を含むすべての投与群の雌で 1～4 例みられ、500 mg/kg/day 群では発生頻度の増加傾向がみられた。

器官重量測定において、500 mg/kg/day 群の雌で心臓の絶対重量の統計学的に有意な高値、500 mg/kg/day 群の雌雄で心臓の相対重量の統計学的に有意な高値、500 mg/kg/day 群の雄で肝臓の相対重量の統計学的に有意な高値がみられたが、いずれの臓器においても病理組織学的検査で関連した変化はみられなかった。

病理組織学的検査において、腺胃部粘膜のびらんが対照群を含むすべての投与群でみられ、特に 500 mg/kg/day 群の雌雄では発生頻度及び程度の増強がみられた。また、雌の胸腺において、皮質における Tingible body macrophage（核片を取り込んだマクロファージ）の増加が用量と関連してみられた。

なお、100 及び 500 mg/kg/day 群の雄でリン脂質の統計学的に有意な高値又は高値傾向、100 及び 500 mg/kg/day 群の雌雄で総コレステロールの統計学的に有意な高値がみられた。また、100 及び 500 mg/kg/day 群の雌で無機リンの統計学的に有意な高値、500 mg/kg/day 群の雌でグルコースの統計学的に有意な低値がみられたが、いずれの変化も軽度であり、関連する検査項目や病理組織学的変化を伴っていないことから、毒性学的には意義の乏しい変化と判断した。

一般状態、体重及び摂餌量において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験における MTD は雌雄とも 500 mg/kg/day 未満と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度はいずれも用量に伴い増加したが、その増加比は用量比より小さかった。また、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ に性差及び反復投与による明らかな影響はみられなかった。MTD における投与最終日の C_{max} は雄で 7.39 µg/mL、雌で 9.26 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t}$ は雄で 93.0 µg·h/mL、雌で 153 µg·h/mL であった。

2.6.6.5.2 Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与によるがん原性試験

……4.2.3.4.1-2

モツギバトレプのがん原性を評価するため、1 群あたり雌雄各 25 例の Tg rasH2 マウスにモツギバトレプを 0（陰性対照群）、1、10 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回、26 週間反復経口投与した。陰性対照群には媒体であるコーン油を投与した。陽性対照群には雌雄各 15 例の Tg rasH2 マウスを用い、*N*-Methyl-*N*-nitrosourea（MNU）を単回腹腔内投与した。評価項目は、生死、一般状態及び触診による表在性腫瘤の観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、剖検並びに病理組織学的検査とした。血液学的検査は陰性対照群及びモツギバトレプ投与群のみで実施した。また、陽性対照群を除くすべての投与群についてサテライト動物を設け、投与 1 日及び 26 週の投与後 2 時間の血漿中モツギバトレプ濃度を測定した。

モツギバトレプ投与に関連した生存率の変化はみられなかった。

体重及び摂餌量測定において、100 mg/kg/day 群の雄で摂餌量の増加が投与期間を通じてみられたが、体重への影響はなかったことから、毒性学的意義のない変化と判断した。また、100 mg/kg/day

群の雌で体重及び摂餌量が投与期間中に一時的な高値を示したが、投与終了時の体重及び摂餌量は陰性対照群と同等であったことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

一般状態、表在性腫瘤、血液学検査及び剖検において、モツギバトレプ投与に関連した変化はみられなかった。また、病理組織学検査において、いずれの器官／組織にもモツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加や非腫瘍性病変の発生はみられなかった。

陽性対照群では、MNU によって誘発される腫瘍である前胃の扁平上皮乳頭腫／癌又は胸腺及び脾臓の悪性リンパ腫が雌雄全例にみられた。したがって、本試験で使用したマウスは、発がん物質に対して十分な感受性を有していることが確認された。

以上の結果から、モツギバトレプの Tg rasH2 マウスに対するがん原性は陰性と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は、雌雄ともに 1 mg/kg/day 及び 10 mg/kg/day 群間では用量比に近かったが、10 mg/kg/day 及び 100 mg/kg/day 群間の増加の程度は用量比よりも小さかった。腫瘍発生の増加がみられなかった 100 mg/kg/day における投与 26 週の血漿中モツギバトレプ濃度は雄で 6.64 µg/mL、雌で 8.20 µg/mL であった。

2.6.6.5.3 ラットを用いた 24 ヵ月間反復経口投与によるがん原性試験

……4.2.3.4.1-3

モツギバトレプのがん原性を評価するため、1 群あたり雌雄各 60 例の SD ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、0.5、5 及び 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回、24 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。なお、雌は対照群の累積死亡率が 75%に達したため、生存動物を投与 99 週に剖検した。評価項目は、生死、一般状態及び触診による表在性腫瘤の観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、剖検並びに病理組織学的検査とした。また、すべての投与群についてサテライト動物を設け、投与 1 日及び 26 週に血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

雌では媒体対照群と比較して 5 及び 50 mg/kg/day 群の生存率が高かったが、雄の生存率にはモツギバトレプの影響はなかった。

体重及び摂餌量測定において、50 mg/kg/day 群の雄では投与期間の終盤（投与 686 日以降）に体重及び摂餌量の低値がみられた。

病理組織学的検査において、いずれの器官／組織にもモツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加はみられなかった。非腫瘍性変化として、加齢性変化である大腿四頭筋の萎縮が 5 及び 50 mg/kg/day 群の雄で増強した。

一般状態、表在性腫瘤、血液学検査及び剖検において、モツギバトレプ投与に関連した変化はみられなかった。

以上の結果から、モツギバトレプのラットに対するがん原性は陰性と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は用量依存的に増加し、その程度は 0.5 及び 5 mg/kg/day 群間では用量比に近かったが、5 及び 50 mg/kg/day 群間では用量比よりも小さかった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ は、雌の方が雄よりも高い傾向があり、26 週間の反復投与により雄の 50 mg/kg/day 以外の用量で増加した。非腫瘍性変化が生じなかった 0.5 mg/kg/day における投与 26 週の C_{max} は雄で 1.27 µg/mL、雌で 2.18 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t}$ は雄で 21.0 µg·h/mL、雌で 39.0 µg·h/mL であった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する経口投与試験

……4.2.3.5.1-1

モツギバトレプの雄及び雌親動物に対する受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響を評価するため、1 群あたり雌雄各 20 例の SD ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2、10 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、雄は交配前 2 週間から交配期間を通して剖検前日までの 42 日間、雌は交配前 2 週間から交配期間を通して妊娠 6 日までの 22～35 日間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、雌の性周期観察（膣垢検査）、交配及び雌の妊娠中期観察並びに剖検とした。

いずれの投与群でも雌雄ともに親動物の死亡例はみられなかった。

摂餌量測定において、すべてのモツギバトレプ投与群の雌雄で投与初期に高値がみられ、50 mg/kg/day 群の雄では交配前投与期間中の総摂餌量にも高値がみられた。しかし、一過性の軽微な変動であり、交配前投与期間の体重推移に異常はみられないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

一般状態、体重、剖検、雌の膣垢検査、交尾までに要した日数、交尾率及び受胎率、並びに妊娠動物の黄体数、着床数、着床率、胚死亡率及び生存胚数において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でのモツギバトレプの一般毒性並びに受胎能及び初期胚発生に対する NOAEL は、いずれも雌雄で 50 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する経口投与用量設定試験

……4.2.3.5.2-1

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定のため、1 群あたり 8 例の妊娠 SD ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、10、50 及び 500 mg/kg の用量で、1 日 1 回、着床から胎児の硬口蓋閉鎖までの期間に相当する妊娠 7 日から 17 日までの 11 日間反復経口投与し、妊娠動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響を予備的に評価した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、母動物の生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、妊娠末期の剖検、帝王切開時観察、並びに生存胎児の外表、性別、体重測定、内臓観察及び骨格観察とした。また、すべての用量の母動物について妊娠 7 及び 17 日の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

母動物では、いずれの投与群でも死亡例はみられなかった。

一般状態、体重、摂餌量、剖検、妊娠末期における黄体数、着床数、着床前死亡率及び着床率において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。また、いずれの投与群でも死亡胚・胎児数、着床後死亡率、並びに生存胎児の数、性比、体重、外表及び胎盤（重量含む）に異常はなく、生存胎児の内臓形態、骨格形態及び骨化進行においてもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でのモツギバトレプの母動物及び胚・胎児に対する NOAEL はいずれも 500 mg/kg/day と判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は妊娠 7 及び 17 日のいずれも用量依存的に増加したが、その増加比は用量比より小さかった。妊娠 17 日における C_{max} 及び AUC_{0-24} は妊娠 7 日と比較して明らかな差

はみられず、反復経口投与による曝露量の増加はみられなかったため、本試験（2.6.6.6.3）における最高用量を全身曝露が飽和する用量と考えられる 50 mg/kg/day とした。NOAEL における妊娠 17 日の C_{max} は 41.9 µg/mL、AUC_{0-24} は 818 µg·h/mL であった。

2.6.6.6.3 ラットを用いた胚・胎児発生に関する経口投与試験

……4.2.3.5.2-2

モツギバトレプの妊娠動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を評価するため、1 群あたり 18～20 例の妊娠 SD ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2、10 及び 50 mg/kg の用量で、1 日 1 回、胎児の器官形成期に相当する妊娠 6 日から 17 日までの 12 日間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、母動物の生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、妊娠末期の剖検、帝王切開時観察、並びに生存胎児の外表、性別、体重測定、内臓観察及び骨格観察とした。

母動物では、いずれの投与群でも死亡例はみられなかった。

一般状態、体重、摂餌量、剖検、黄体数、着床数、着床前死亡率及び着床率において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。また、いずれの投与群でも死亡胚・胎児数、着床後死亡率並びに生存胎児の数、性比、体重、外表及び胎盤に異常はなく、生存胎児の内臓形態、骨格形態及び骨化進行においてもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でのモツギバトレプの母動物及び胚・胎児発生に対する NOAEL はいずれも 50 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する経口投与用量設定試験

……4.2.3.5.2-3

ウサギを用いた胚･胎児発生に関する試験の用量設定のため､1 群あたり 7 又は 8 例の妊娠 NZW ウサギにモツギバトレプを 0（対照群）、10、40 及び 200 mg/kg（調製可能上限濃度付近である濃度 200 mg/mL を投与容量 1 mL/kg で投与した）の用量で、1 日 1 回、着床から胎児の硬口蓋閉鎖までの期間に相当する妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間反復経口投与し、妊娠動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響を予備的に評価した｡対照群には媒体であるコーン油を投与した｡評価項目は、母動物の生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、妊娠末期の剖検、帝王切開時観察、並びに生存胎児の外表、性別、体重測定、内臓観察及び骨格観察とした。また、すべての用量の母動物について妊娠 6 及び 18 日の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し､TK パラメータを算出した。

母動物では、いずれの投与群でも死亡例はみられなかった。

対照群及び 200 mg/kg/day 群の各 1 例で妊娠 25 日に流産がみられたが、媒体として用いたコーン油投与に伴う摂餌量の減少によって生じた栄養不良が原因と推察し、モツギバトレプ投与による影響ではないと判断した。

一般状態、体重、摂餌量、剖検、妊娠末期における黄体数、着床数、着床前死亡率及び着床率において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。また、いずれの投与群でも死亡胚・胎児数、着床後死亡率並びに生存胎児の数、性比、体重、外表及び胎盤（重量含む）に異常はなく、生存胎児の内臓形態、骨格形態及び骨化進行においても 200 mg/kg/day 群にモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でのモツギバトレプの母動物及び胚・胎児に対する NOAEL は 200 mg/kg/day であると判断した。

血漿中モツギバトレプ濃度は妊娠 6 日及び 18 日ともに用量依存的に増加したが、その増加比は用量比より小さかった。反復投与により平均 C_{max} 及び AUC_{0-24} はすべての投与用量において増加する傾向がみられたため、本試験（2.6.6.6.5）における最高用量を 200 mg/kg/day とした。NOAEL における妊娠 18 日の C_{max} は 2.08 µg/mL、AUC_{0-24} は 42.4 µg·h/mL であった。

2.6.6.6.5 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する経口投与試験

……4.2.3.5.2-4

モツギバトレプの妊娠動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を評価するため、1 群あたり 18～22 例の妊娠 NZW ウサギにモツギバトレプを 0（対照群）、10、40 及び 200 mg/kg の用量で、1 日 1 回、胎児の器官形成期に相当する妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、母動物の生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、妊娠末期の剖検、帝王切開時観察、並びに生存胎児の外表、胎盤、性別、体重、内臓観察及び骨格観察とした。

胎児の内臓観察において、200 mg/kg/day 群で肺副葉欠損（変異）を有する母体数及び変異胎児数の増加傾向がみられた。

母動物では、いずれの投与群でも、死亡例はみられなかった。

200 mg/kg/day 群の 1 例で妊娠 18 日に流産がみられたが、媒体として用いたコーン油投与に伴う摂餌量の減少によって生じた栄養不良が原因と推察し、モツギバトレプ投与の影響ではないと判断した。

一般状態、体重、摂餌量、剖検、黄体数、着床数、着床前死亡率及び着床率において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。また、死亡胚・胎児数、着床後死亡率、生存胎児の数、性比及び体重、外表、胎盤、骨格形態及び骨化進行においてモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でのモツギバトレプの胚・胎児発生に対する NOAEL は 40 mg/kg/day と判断した。母動物に対してはモツギバトレプ投与に関連する変化はみられず、NOAEL は 200 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.6 ラットを用いた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

……4.2.3.5.3-1

モツギバトレプの妊娠中あるいは授乳中の雌動物及び児の発生に対する影響を評価するため、1 群あたり 19 又は 20 例の妊娠 SD ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、2、10 及び 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回、妊娠 6 日から授乳 20 日まで反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、母動物では生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、分娩・哺育観察並びに剖検とし、出生児では生死の観察、出生時の外表観察、体重測定、発育分化検査、感覚・反射機能検査、行動検査、生殖機能検査及び各検査終了時の剖検とした。また、すべての投与群にサテライト動物を設け、初回（妊娠 6 日）及び最終（授乳 20 日）投与後の母動物の血漿中モツギバトレプ濃度を測定し、TK パラメータを算出した。

全投与群の母動物及び出生児で、いずれの評価項目でもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下でのモツギバトレプの母動物及び出生児に対する NOAEL はいずれも 50 mg/kg/day と判断した。

NOAEL における最終投与時の C_{max} は 36.0 µg/mL、AUC_{0-t} は 603 µg·h/mL であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギを用いた 7 日間反復点眼投与による眼刺激性試験

……4.2.3.6-1

本剤の眼刺激性を評価するため、1 群あたり 3 例の雄性 JW ウサギの両眼に生理食塩液及び本剤を 1 眼あたり 1 回 100 µL、約 1 時間間隔で 1 日 6 回、7 日間反復点眼投与した。評価項目は、一般状態観察、体重及び摂餌量測定並びに眼科学的検査（肉眼及び検眼鏡的検査並びに眼底検査）とした。

その結果、いずれの評価項目にもモツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 マウスを用いた皮膚感作性試験（LLNA: BrdU-ELISA 法）

……4.2.3.7.7-1

モツギバトレプの皮膚感作性を評価するため、1 群あたり 5 例の雌性 CBA/J マウスの両側耳介背部皮膚に 0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 1 回 25 µL、1 日 1 回、3 日間連続して塗布し、局所リンパ節試験（LLNA: BrdU-ELISA 法）を実施した。また、陽性対照物質の媒体であるアセトン–オリーブ油混合液（4:1、v/v）を塗布する陰性対照群、1%及び 3%検討用製剤の基剤を塗布する基剤群並びに 25% α-Hexylcinnamaldehyde を塗布する陽性対照群を設定した。最終投与の 3 日後に耳介リンパ節を採取した。なお、耳介リンパ節採取の約 24 時間前に BrdU を単回腹腔内投与した。採取後、耳介リンパ節の重量を測定し、BrdU ラベルインデックス及び刺激指数（SI）を算出した。

いずれの投与群でも死亡例はみられず、投与部位の局所刺激性を含む一般状態、体重及び耳介リンパ節重量において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

基剤、0.3%、1%及び 3%検討用製剤投与群における平均 BrdU ラベルインデックスはそれぞれ 0.167、0.137、0.147 及び 0.149、平均 SI はそれぞれ 0.9、0.8、0.8 及び 0.8 であり、被験物質及び基剤の皮膚感作性は陰性（SI<1.6）と判定した。陽性対照群では、耳介リンパ節重量が明らかに増加し、平均 BrdU ラベルインデックス及び SI はそれぞれ 0.649 及び 3.6 であり、陽性反応を示した。

以上の結果から、本試験条件下で基剤、0.3%、1%及び 3%検討用製剤は皮膚感作性を有さないと判断した。

2.6.6.8.2 Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験

…… 4.2.3.7.7-5【参考資料】

Balb/c 3T3 細胞を使用し、非照射下及び照射下でモツギバトレプの光毒性誘発能を評価した。予備試験における細胞毒性及び溶解限界を考慮し、1.90、2.66、3.72、5.21、7.29、10.2、14.3 及び 20 µg/mL を設定した。陰性対照には媒体である DMSO を用いた。陽性対照にはクロルプロマジン塩酸塩を用いた。

モツギバトレプは非照射下及び照射下いずれの条件においても細胞生存率へ影響を及ぼさず IC50 及び Photo Irritation Factor（PIF）は算出できなかった。結果の判定は Mean Photo Effect（MPE）を用いて行い、MPE は-0.016 であったことから、モツギバトレプは光毒性なしと判断した。陽性

対照群では、照射下で非照射下と比較して低濃度から細胞生存率が低下し、PIF 及び MPE はそれぞれ 17.279 及び 0.557 と算出され、光毒性がみられた。

2.6.6.8.3 モルモットを用いた皮膚光感作性試験（Harber 法）

……4.2.3.7.7-2

モツギバトレプの皮膚光感作性を評価するため、1 群あたり 10 例の雌性 Hartley 系白色モルモットの背部皮膚に 0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 0.1 mL 開放塗布し、短波長紫外線（UVB）を 1 J/cm^2 となるように照射後、長波長紫外線（UVA）を 30 J/cm^2 になるように照射した。この開放塗布と紫外線照射を計 3 回（光感作 0 日、光感作 3 日後及び 6 日後）実施した（感作）。光感作 21 日後、感作時とは別部位の背部皮膚に 0.3%、1%及び 3%検討用製剤を 0.05 mL 開放塗布し、UVA を照射する部位を UV (+) 部位、UVA を照射しない部位を UV (−) 部位とし、UV (+) 部位には UVA を 9 J/cm^2 になるように照射した（惹起）。陰性対照群は、生理食塩液で光感作し、0.3%、1%及び 3%検討用製剤で光惹起した。陽性対照群は、2% 3,3’,4’,5-Tetrachlorosalicylanilide（TCSA）溶液で光感作し、0.2% TCSA 溶液及びアセトン（媒体）で光惹起した。光惹起の UVA 照射終了 24 及び 48 時間後に皮膚反応を観察し、モツギバトレプ投与群及び陰性対照群における UV（+）部位及び UV（−）部位の反応を相互に比較することで Harber 法により皮膚光感作性を評価した。

すべてのモツギバトレプ投与群及び陰性対照群において、0.3%、1%及び 3%検討用製剤で惹起した UV（+）部位及び UV（−）部位に皮膚反応はみられなかった。各群のそれぞれの惹起物質における皮膚反応率は、UV（+）部位、UV（−）部位ともに 0%であった。

陽性対照群において、評点 1 又は 2 の紅斑及び評点 1 の浮腫が 0.2% TCSA 溶液で処置した UV（+）部位でみられ、皮膚反応率は 100%であった。0.2% TCSA 溶液で処置した UV（−）部位に皮膚反応がみられなかったことから、UV（+）部位における皮膚反応は皮膚光感作性による変化と判断した。陽性対照群のアセトンで処置した UV（+）部位及び UV（−）部位に皮膚反応はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下で 0.3%、1%及び 3%検討用製剤は皮膚光感作性を有さないと判断した。

2.6.6.8.4 ラット、イヌ及びヒトの血清又は血漿を用いたビリルビン測定法への干渉作用の検討

…… 4.2.3.7.7-3【参考資料】

モツギバトレプがビリルビン測定法に干渉している可能性を評価するため、SD ラット、ビーグル犬及びヒトの血清又は血漿サンプルにモツギバトレプを濃度が 5、25 及び 50 µg/mL になるように添加し、ジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法により総ビリルビン及び直接ビリルビンを測定した。加えて、フィブリノーゲン、血中尿素窒素、クレアチニン及びコレステロールを測定した。対照群には生理食塩液又は媒体であるメタノールを添加した。

すべてのモツギバトレプ添加試料において、いずれの方法でも対照群と比較してビリルビン濃度に変化はみられなかった。なお、その他の測定項目でもモツギバトレプ添加の影響はみられなかった。

以上の結果から、モツギバトレプは血清並びに血漿サンプルへの混合のみではジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法のいずれにも干渉しないことが示された。

2.6.6.8.5 ラットを用いたビリルビン測定法への干渉作用の検討

4.2.3.7.7-4【参考資料】

血漿中ビリルビン測定法へのモツギバトレプの干渉の有無を評価するため、1 群あたり 3 例の雌性 Han Wistar ラットにモツギバトレプを 0（対照群）、10 及び 30 mg/kg の用量で、1 日 1 回、10 日間反復経口投与した。対照群には媒体であるコーン油を投与した。評価項目は、生死及び一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査並びに剖検とした。投与 2、7 及び 10 日目に血液を採取し、血漿中の総ビリルビン濃度を modified Jendrassik-Grof 法又は化学酸化法により測定した。

いずれの投与群でも死亡例はみられなかった。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検において、モツギバトレプ投与に関連する変化はみられなかった。

血漿中の総ビリルビン濃度は modified Jendrassik-Grof 法及び化学酸化法の定量下限値（それぞれ 2.7 µmol/L 及び 0.68 µmol/L）未満であった。

以上の結果から、モツギバトレプは modified Jendrassik-Grof 法及び化学酸化法による血漿中のビリルビン濃度測定に干渉しないと判断した。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

2.6.6.8.6.1 原薬の不純物　不純物A*　の毒性評価

モツギバトレプ原薬の不純物　不純物A*　の規格は [redacted]%以下と設定しており、ICH Q3A の安全性確認の閾値を超える。そのため、 不純物A*　を含む原薬を用いて実施した反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の結果をもとに安全性を評価した。本剤を 1 眼あたり 1 回 40 µL、1 日 4 回、両眼に点眼投与した場合、モツギバトレプの 1 日最大投与量は 0.96 mg/body/day となる。したがって　不純物A*　の 1 日最大摂取量は [redacted] mg/body/day（体重 60 kg のヒトの場合 [redacted] mg/kg/day）となる。

不純物　不純物A*　を含むモツギバトレプで実施した一般毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験一覧を表 2.6.6-3 に示す。ラット又はイヌに　不純物A*　を [redacted]%（暫定規格の [redacted] 倍）含むモツギバトレプを 4 週間反復経口投与した結果、最高用量まで毒性学的意義のある所見はみられなかった。これらの試験の最高用量（ラット : 277.5 mg/kg/day、イヌ : 371.3 mg/kg/day）における　不純物A*　の 1 日摂取量は、ラット又はイヌでそれぞれ [redacted] 又は [redacted] mg/kg/day と算出された。この摂取量は、体重 60 kg のヒトの 1 日最大摂取量のそれぞれ約 [redacted] 倍又は約 [redacted] 倍である。

ラットに　不純物A*　を [redacted]%含むモツギバトレプを 26 週間反復経口投与した結果、最高用量の 50 mg/kg/day まで毒性学的意義のある所見はみられなかった。最高用量における　不純物A*　の 1 日摂取量は、[redacted] mg/kg/day と算出された。この摂取量は、体重 60 kg のヒトの 1 日最大摂取量の約 [redacted] 倍である。

不純物A*　を [redacted]%含むモツギバトレプの細菌を用いた復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマチミジンキナーゼ試験の結果は陰性であった。

以上の結果から、本剤に含まれる不純物　不純物A*　の毒性評価は十分になされていると判断した。

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.6-3　不純物　不純物A*　を含む原薬で実施した一般毒性試験・*in vitro* 遺伝毒性試験一覧

試験	使用原薬 Lot No.（ 不純物A* 含量）	用量	結果概要（NOAEL での 不純物A* 量及び用量比）	記載箇所 GLP 適用
ラット 4 週間経口投与試験	[redacted]（[redacted]%）	2.7、9.0、277.5 mg/kg/day	NOAEL: 277.5 mg/kg/day（[redacted] mg/kg/day、約 [redacted] 倍）	4.2.3.2-7 適
イヌ 4 週間経口投与試験		4.5、22.9、371.3 mg/kg/day	NOAEL: 371.3 mg/kg/day（[redacted]mg/kg/day、約 [redacted] 倍）	4.2.3.2-8 適
細菌を用いた復帰突然変異試験		S9−/+: 5、17、50、167、500、1667 µg/plate 使用菌株：*Salmonella Typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100、*Escherichia coli* WP2*uvr*A	S9−/+: いずれも陰性（1667 µg/plate での 不純物A* 量: [redacted] µg/plate）	4.2.3.3.1-1 適
マウスリンフォーマチミジンキナーゼ試験		S9−、4h: 5、15、50、150、500 µg/mL S9−、24h: 20、30、50、70、100 µg/mL S9+、4h、1st: 10、20、40、80、160 µg/mL S9+、4h、2nd: 10、20、40、80、160 µg/mL	S9−/+: いずれも陰性（S9−、4h: [redacted] µg/mL; S9−、24h: [redacted] µg/mL; S9+、4h: [redacted] µg/mL）	4.2.3.3.1-2 適
ラット 26 週間経口投与試験	[redacted]（[redacted]%）	0.5、5、50 mg/kg/day	NOAEL: 50 mg/kg/day（[redacted] mg/kg/day、約 [redacted] 倍）	4.2.3.2-10 適

2.6.6.8.7 新添加剤の安全性評価

本剤にはチロキサポールが [redacted] mg/mL 配合されており、本剤の用法・用量（1 回 1 滴（[redacted] µL）、1 日 4 回点眼）を踏まえると、チロキサポールの一日投与量は約 [redacted] µg/body/day であり、国内の使用前例を超えるため、新添加剤に該当する。本剤を点眼投与した際のチロキサポールの安全性について以下の通り評価した。

眼局所の安全性について、本剤の非臨床毒性試験の結果から評価した。ウサギ及びイヌを用いた 4 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（2.6.6.3.1、2.6.6.3.2）では、チロキサポールが [redacted] mg/mL 配合された検討用製剤を 1 眼あたり 1 回 50 µL、1 日 8 回両眼投与した結果、投与に関連する変化はみられなかった。当該試験の眼局所におけるチロキサポールの 1 日当たりの最大投与量は [redacted] µg/eye/day であり、本剤の用法・用量におけるチロキサポールの眼局所への一日投与量である約 [redacted] µg/eye/day（ヒトの両眼に 1 眼あたり 1 回 1 滴（[redacted] µL）、1 日 4 回点眼したとして算出）を [redacted] 倍上回る。また、イヌを用いた 39 週間反復点眼投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（2.6.6.3.3）では、チロキサポールが [redacted] mg/mL 配合された本剤及び 1%並びに 3%製剤を 1 眼あたり 1 回 50 µL、1 日 6 回両眼投与した結果、投与に関連する変化はみられなかった。当該試験におけるチロキサポールの一日投与量は [redacted] µg/eye/day となるため、本剤の用法・用量における眼局所へのチロキサポールの一日投与量を [redacted] 倍上回る。

全身の安全性について、本剤の非臨床毒性試験の結果、FDA の公開情報及び本邦の既承認薬の用法・用量から評価した。ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験（2.6.6.3.1、2.6.6.3.2、2.6.6.3.3）におけるチロキサポールの一日投与量はそれぞれ約 [redacted] µg/kg、[redacted] µg/kg 及び [redacted] µg/kg（ウサギの体重を 3 kg、イヌの体重を 10 kg として算出）であり、本剤の用法・用量におけるチロ

＊新薬承認情報提供時に置換

キサポールの一日投与量である約 [redacted] μg/kg（体重を 60 kg として算出）を [redacted] 倍、[redacted] 及び [redacted] 倍上回る。また、FDA より、チロキサポールは眼局所投与製剤の添加剤として 1 日あたり 7 mg/body の使用前例があることが公表されており [1]、本剤の用法･用量におけるチロキサポールの一日投与量を [redacted] 倍上回る。さらに、本邦ではチロキサポールを有効成分としたアレベール®吸入用溶解液 0.125%が承認されている。当該医薬品の添付文書 [2]に「通常、本剤 1～5 mL に呼吸器官用剤を用時混合して、噴霧吸入する。」との記載があることから、1 回あたりの使用量は 1.25～6.25 mg となり、本剤の用法･用量におけるチロキサポールの一日投与量を [redacted] 倍上回る。

以上より、ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験の成績、FDA の公開情報、並びに本邦においてチロキサポールを有効成分とした吸入剤が承認されていることから、本剤の用法･用量に従った臨床使用におけるチロキサポールの眼局所及び全身に対する安全性に問題はないと判断した。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 臨床との曝露比

血漿中モツギバトレプ濃度の測定は反復投与毒性試験、骨髄小核試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験で実施した。主要な反復投与毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験における曝露量と、申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量を比較し、これらの比を表 2.6.6-4 及び表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-4　モツギバトレプの一般毒性試験及びがん原性試験における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比

試験の種類及び投与経路	主な所見	投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)		$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	
			雄	雌	雄	雌
ウサギ 1 ヵ月 点眼	毒性なし （NOAEL）	8.0[1)]	398 [207]	485 [253]	4570 [108]	6060 [143]
イヌ 1 ヵ月 点眼	毒性なし （NOAEL）	2.4[1)]	272 [142]	293 [153]	2830 [67]	2880 [68]
イヌ 9 ヵ月 点眼	毒性なし （NOAEL）	1.8[1)]	96.8 [50]	180 [94]	1320 [31]	2710 [64]
ラット 1 ヵ月 経口	毒性なし （NOAEL）	277.5	26867 [13993]	44400 [23125]	447540 [10555]	935033 [22053]
ラット 6 ヵ月 経口	毒性なし （NOAEL）	50	17300 [9010]	43500 [22656]	312000 [7358]	913000 [21533]
イヌ 1 ヵ月 経口	毒性なし （NOAEL）	371.3	7434 [3872]	6214 [3236]	141172 [3330]	108388 [2556]
Tg rasH2 マウス 6 ヵ月 がん原性 経口	毒性なし （NOAEL）	100	6350[2)] [3307]	7470[2)] [3891]	71600[2)] [1689]	91300[2)] [2153]
ラット 2 年 がん原性 経口	毒性なし （NOAEL）	0.5	1270 [661]	2180 [1135]	21000 [495]	39000 [920]
	大腿四頭筋の萎縮の増強	5	10900 [5677]	20300 [10573]	206000 [4858]	388000 [9151]
ヒト 点眼		0.015[3)]	1.92[4)]		42.4[4)]	

[　]：申請用法・用量で投与したときの定常状態における推定 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ との比

1) 3%検討用製剤及び 3%製剤投与群の投与量。ウサギは体重 3 kg、イヌは体重 10 kg と仮定して算出

2) Non-Tg rasH2 マウス用量設定試験（2.6.6.5.1）の 100 mg/kg/day 群における投与 1 ヵ月の値

3) 体重 60 kg のヒトに申請用法・用量で投与したときの 1 日あたりの投与量

4) 申請用法・用量で投与したときの定常状態における推定 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$（探索試験にて算出）

表 2.6.6-5　モツギバトレプの生殖発生毒性試験における曝露量と
申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比

試験の種類 及び投与経路	主な所見	投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-t} (ng·h/mL)	
			雄	雌	雄	雌
ラット受胎能及び着床までの初期胚発生 経口	毒性なし（NOAEL）	50	24900[1)] [12969]	27600[1)] [14375]	396000[1)] [9340]	500000[1)] [11792]
ラット 胚・胎児発生 経口	母動物: 毒性なし（NOAEL) 胎児: 毒性なし（NOAEL）	50	-	40300 [20990]	-	787000 [18561]
ウサギ 胚・胎児発生 経口	母動物: 毒性なし（NOAEL） 胎児: 肺副葉欠損（変異）を有する母体数及び変異胎児数の増加傾向	200	-	2080[2)] [1083]	-	42400[2)] [1000]
	母動物：毒性なし 胎児：毒性なし（NOAEL）	40	-	1560[2)] [813]	-	30300[2)] [715]
ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能 経口	母動物: 毒性なし（NOAEL） 出生児: 毒性なし（NOAEL）	50	-	36000 [18750]	-	603000 [14222]
ヒト点眼		0.015[3)]	1.92[4)]		42.4[4)]	

[　]：申請用法･用量で投与したときの定常状態における推定 C_{max} 及び AUC_{0-24} との比

1) ラット 26 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.10）の 50 mg/kg/day 群における投与 1 日目の曝露量

2) 妊娠ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験（2.6.6.6.4）における妊娠 18 日目の曝露量

3) 体重 60 kg のヒトに申請用法・用量で投与したときの 1 日あたりの投与量

4) 申請用法・用量で投与したときの定常状態における推定 C_{max} 及び AUC_{0-24}（探索試験にて算出）

2.6.6.9.2 体温への影響

イヌを用いた反復経口投与毒性試験において体温上昇がみられたが、体温上昇幅は反復投与により減少した。TRPV1 拮抗薬はクラスエフェクトとして体温上昇作用を有し[3)]、反復投与により体温上昇作用は減弱することが知られている[4)]。よって、モツギバトレプ投与でみられた体温上昇及びその反復投与による減弱は TRPV1 拮抗薬のクラスエフェクトであると判断した。しかし、体温上昇に伴った臨床学的意義のある全身影響はみられず、ウサギ及びイヌを用いた反復点眼投与毒性試験では体温上昇はみられなかったことから、本剤の臨床使用上の懸念は低いと考える。

2.6.6.9.3 ビリルビン測定法への影響

反復経口投与毒性試験でみられたビリルビンの高値は肝酵素値の変化を伴っておらず、肝臓の重量の変化並びに肉眼的及び病理組織変化もみられなかった。ラット及びイヌにおけるビリルビンの高値は Jendrassik-Grof 法及びジアゾ/DPD 酸化酵素法でみられ、バナジン酸法、modified Jendrassik-Grof 法及び化学酸化法ではみられなかった。また、モツギバトレプを血清又は血漿サンプルへ混合しただけではジアゾ/DPD 酸化酵素法及びバナジン酸法のいずれでもビリルビンの高値はみられなかった。よって、ラット及びイヌにおけるビリルビンの高値は生体内で生成されたモツギバトレプの代謝物が Jendrassik-Grof 法及びジアゾ/DPD 酸化酵素法測定に干渉し、ビリルビン値を変動させたことが原因と判断した。

2.6.6.9.4 結論

臨床投与経路による毒性評価として、モツギバトレプ懸濁性点眼液又はモツギバトレプ懸濁性点眼液の検討用製剤をウサギ及びイヌに 4 週又は 39 週間反復点眼投与した結果、濃度 3%まで毒性学的意義のある変化はみられなかった。全身曝露を介した毒性プロファイルを把握するためにモツギバトレプをラット及びイヌに 2～26 週間反復経口投与した結果、最高用量まで毒性学的意義のある変化はみられなかった。反復投与毒性試験の NOAEL における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比は C_{max} で 50 倍以上、AUC で 31 倍以上であった（表 2.6.6-4）。Tg rasH2 マウス及びラットを用いたがん原性試験の結果、モツギバトレプ投与による腫瘍発生の増加はみられなかった。一方、非腫瘍性変化としてラットで大腿四頭筋の萎縮の増強が 5 mg/kg/day からみられた。非腫瘍性変化の生じなかった 0.5 mg/kg/day における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比は C_{max} で 661 倍、AUC で 495 倍であった（表 2.6.6-4）。ラットを用いた生殖発生毒性試験では、モツギバトレプ投与による影響はみられなかった。一方、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、胎児の内臓観察において 200 mg/kg/day 群で肺副葉欠損（変異）を有する母体数及び変異胎児数の増加傾向がみられた。生殖発生毒性試験の NOAEL における曝露量と申請用法・用量で投与したときの定常状態におけるヒト推定曝露量との比は C_{max} で 813 倍以上、AUC で 715 倍以上であった（表 2.6.6-5）。本剤をウサギに 1 日 6 回、7 日間反復点眼投与した結果、眼刺激性はみられなかった。マウスを用いた LLNA: BrdU-ELISA 法による皮膚感作性試験及びモルモットを用いた Harber 法による皮膚光感作性試験の結果、モツギバトレプ検討用製剤は皮膚感作性・皮膚光感作性を示さなかった。Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験の結果、モツギバトレプは光毒性を示さなかった。ICH Q3A の安全性確認の閾値を超えて含まれる不純物　不純物A*　はモツギバトレプの反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験で用いた原薬中に含まれており、その安全性はそれらの試験で評価されていると判断した。

以上より、本剤及びモツギバトレプの非臨床における毒性プロファイルは明らかにされており、生じた変化は本剤の臨床使用上問題となるものではないと判断した。

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11 引用文献

1)FDA/Center for Drug Evaluation and Research, Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products, Tyloxapol, Database Last Updated: April 23, 2025.
Available at: https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm

2)アレベール®吸入用溶解液 0.125% 添付文書．第 2 版（2019 年 12 月）．アルフレッサファーマ株式会社.

3)Gavva NR, Bannon AW, Surapaneni S, Hovland DN Jr, Lehto SG, Gore A, et al. The vanilloid receptor TRPV1 is tonically activated *in vivo* and involved in body temperature regulation. J Neurosci. 2007;27:3366-74.

4)Gavva NR, Bannon AW, Hovland DN Jr, Lehto SG, Klionsky L, Surapaneni S, et al. Repeated administration of vanilloid receptor TRPV1 antagonists attenuates hyperthermia elicited by TRPV1 blockade. J Pharmacol Exp Ther. 2007;323:128-37.