イソトレチノイン
イソトレックス 8mg、同 16mg

第 2 部 CTD の概要
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

サンファーマ株式会社

略号一覧表

略語・用語	内容
ALP	アルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase）
ANF	α-ナフトフラボン（α-naphthoflavone）
DMSO	ジメチルスルホキシド（dimethylsulfoxide）
HEPM	ヒト胎芽口蓋間葉（human embryonic palatal mesenchymal）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use）
LD_{50}	50%致死量（50% lethal dose）
NOAEL	無毒性量（no observed adverse effect level）
RAR	レチノイン酸受容体（retinoid acid receptor）
SCE	姉妹染色分体交換（sister chromatid exchange）

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 6
2.6.6.3 反復投与毒性試験 7
2.6.6.3.1 マウスを用いた 21 日間反復経口投与毒性試験 7
2.6.6.3.2 ラットを用いた 12 週間反復経口投与毒性試験 7
2.6.6.4 遺伝毒性試験 9
2.6.6.4.1 ヒト HEPM 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 9
2.6.6.4.2 HEPM 細胞を用いた *in vitro* SCE 試験 9
2.6.6.4.3 ヒト線維芽細胞を用いた *in vitro* SCE 試験 10
2.6.6.5 がん原性試験 12
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 13
2.6.6.7 局所刺激性試験 14
2.6.6.8 考察及び結論 15
2.6.6.9 図表 16
2.6.6.10 参考文献 17

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

イソトレチノインはビタミン A 誘導体であり、核内受容体であるレチノイン酸受容体（RAR）への結合を介して、各種細胞の増殖及び分化を調節する[1),2)]。

イソトレチノインは 1982 年に米国で初めて重症難治性結節性ざ瘡に対し承認されて以来､海外で長期にわたる臨床使用経験を有している。また、イソトレチノインは、海外において神経芽腫治療薬として適応外使用されている。国内ではイソトレチノインを有効成分とする医薬品はいずれの適応症でも承認されておらず、令和 2 年 9 月 16 日の厚生労働省「第 42 回医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議」にて高リスク神経芽腫の維持療法として医療上の必要性が高いと認定され、早期の開発と国内承認が望まれている。イソトレチノインの開発要請に対してサンファーマ株式会社は受諾の意向を示し、開発に着手することとなった。

SPJ-101CA は Sun Pharmaceutical Industries, Inc.が開発したイソトレチノインのカプセル製剤であり、重症難治性結節性ざ瘡を適応症として米国において Absorica LD®の販売名で 2019 年 11 月 5 日に承認された。国内における神経芽腫を適応症とする本申請の申請区分は（1）新有効成分含有医薬品に該当する。

イソトレチノインの毒性学的プロファイルは、長い間非臨床研究の対象となっており、ヒトでの使用を支持する多くのデータが得られている。したがって、本申請では、これらのデータのうち原著論文を精査してイソトレチノインの毒性を評価した。さらに、Kamm の総説[3)]や海外の添付文書[4),5)]で報告されているデータを含めて考察した。本申請の適応症である神経芽腫は進行がんであるため、医薬品規制調和国際会議（ICH）S9 に基づくと、がん原性試験、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、更には出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験は必須とされない。非臨床毒性評価に使用した論文を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1 非臨床毒性評価に使用した論文の一覧

試験の種類及び期間	投与経路	試験系	論文
反復投与毒性試験			
21 日間	経口	マウス	Hixson 1978
12 週間	経口	ラット	Hixson 1979
遺伝毒性試験			
染色体異常試験	*In vitro*	ヒト胎芽口蓋間葉細胞	Watanabe 1991
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	ヒト胎芽口蓋間葉細胞	Watanabe 1991
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	ヒト線維芽細胞	Tetzner 1980

マウス（60～400 mg/kg/日、21 日間）及びラット（4～40 mg/kg/日、12 週間）を用いた反復経口投与毒性試験では、主な毒性所見として、アルカリフォスファターゼ（ALP）の高値、骨折、表皮及び真皮の炎症及び角化亢進､並びに精子形成阻害を伴う精巣の変性及び壊死が認められた。これらは、いずれも他のレチノイドにも共通してみられる所見である。反復投与毒性試験の無毒性量（NOAEL）はマウスで 60 mg/kg/日未満、ラットで 15 mg/kg/日であった。

In vitro 遺伝毒性評価では、ヒト胎芽口蓋間葉（HEPM）細胞又はヒト線維芽細胞において、イソトレチノインによる染色体異常又は姉妹染色分体交換（SCE）の増加は観察されなかった。

イソトレチノインは発生毒性を誘発することが知られている[3),4),5)]。ICH S9 に基づき、胚・胎児発生に関する試験については、発生毒性を誘発することが既に知られている系統の医薬品では

イソトレチノイン

必須とされないため、イソトレチノインの当該試験は実施していない。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

イソトレチノインの反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 項）では、マウスへの 300 mg/kg までの経口投与で良好な忍容性が示されている。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 マウスを用いた 21 日間反復経口投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2-1：Hixson 1978

Swiss マウス（雌雄各 10 匹／群）にイソトレチノインを 0（溶媒：8%クレモフォール EL・10%プロピレングリコール水溶液）、60、100、300 又は 400 mg/kg/日の用量で 21 日間連日強制経口投与した。

投与期間中に体重測定（2 回／週）を実施し、脱毛、落屑及び骨折の程度を評価した。投与期間終了時に X 線検査、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。全身の組織の病理組織学的検査を実施した。

400 mg/kg/日群において、2/20 匹で死亡が認められた（表 2.6.6-2 参照）。

100 mg/kg/日以上の群で体重減少、脱毛及び落屑並びに骨折を指標としたレチノイド毒性の重症度の増加が認められた。

X 線検査では、全投薬群で骨折が認められ、骨折部位数は用量依存的に増加した（表 2.6.6-2 参照）。

表 2.6.6-2 マウス反復投与毒性試験の X 線検査結果及び生存動物数の概要

Dose (mg/kg/day)	Number of mice			
	0 Fractures	1 Fracture	>1 Fracture	Surviving/Total
60	16	3	1	20/20
100	10	5	4	19/20
300	2	4	14	20/20
400	1	1	16	18/20

[Source] Module 4.2.3.2-1: Hixson 1978, Table 2

血液学的検査では、被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

血液生化学的検査では、ALP の軽微な高値が 60、100 及び 300 mg/kg/日群で認められたが、400 mg/kg/日群では認められなかった。

病理組織学的検査では長骨の骨折、表皮及び真皮の炎症及び角化亢進、並びに精子形成阻害を伴う精巣の変性及び壊死が観察された。

以上の結果より、NOAEL は 60 mg/kg/日未満と判断した。

2.6.6.3.2 ラットを用いた 12 週間反復経口投与毒性試験

添付資料番号 4.2.3.2-2：Hixson 1979

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 15 匹／群）にイソトレチノインを 0（溶媒：8%クレモフォール EL・10%プロピレングリコール水溶液）、4、15 又は 40 mg/kg/日の用量で連日強制経口投与した。また、雌雄各 15 匹／群の無処置対照群を設定した。4、8 又は 12 週間の投与後に雌雄各 5 匹／群をそれぞれ剖検した。

摂餌量及び体重測定（1 回／週）並びに X 線検査（1 回／4 週）を実施した。4、8 及び 12 週間の投与期間終了時に血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。全身の組織の病理組織学的検査を実施した。

摂餌量及び体重増加量に被験物質投与に関連した変化はみられなかった。

X 線検査では、骨折が 40 mg/kg/日群の雌 1 例で 8 週間投与後にみられた。

溶媒対照群と比較した統計学的有意差を伴う変化として、血液学的検査ではヘモグロビンの低

値、血液生化学的検査ではアルブミンの低値及び ALP の高値が、全てのイソトレチノイン投薬群で認められた（表 2.6.6-3 参照）。これらの変化は概して無処置対照群で認められた値の範囲内であり、関連する病理組織学的変化も認められなかったことから、有害とはみなさなかった。

以上の結果より、NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。

表 2.6.6-3　ラット反復投与毒性試験の血液学的検査及び血液生化学的検査における統計学的に有意な変化の概要

Treatment duration	Sex	Dose (mg/kg/day)			
		0	4.0	15.0	40.0
Means of hemoglobin concentrations [g/dL, SD = 0.90 g/dL, 87 df]					
4 weeks	Males	14.3	15.2	13.9	15.1
	Females	14.5	14.1	13.0*	12.9*
8 weeks	Males	16.1	14.9	14.8	14.6*
	Females	16.2	15.3	14.1**	13.6**
12 weeks	Males	16.2	15.7	15.1	14.3**
	Females	15.7	14.3*	13.7**	13.0**
Means of albumin concentrations [g/dL, SD = 0.240 g/dL, 85 df]					
4 weeks	Males	4.10	3.99	3.93	3.87
	Females	4.67	4.27*	4.08**	3.86**
8 weeks	Males	4.28	4.21	3.96	3.79**
	Females	4.82	4.72	4.07**	3.72**
12 weeks	Males	4.25	4.35	4.30	3.73**
	Females	4.62	4.69	4.03**	3.80**
Means of alkaline phosphatase activity [mU/mL, SD = 41.1 mU/mL, 85 df]					
4 weeks	Males	185	229	249*	284**
	Females	107	153	235**	277**
8 weeks	Males	127	182	201*	257**
	Females	71	82	164**	221**
12 weeks	Males	106	179*	241**	223**
	Females	61	116	206**	249**

[Source] Module 4.2.3.2-2: Hixson 1979, Table 2
df = degrees of freedom; SD = standard deviation
*p<0.05, based on Dunnett's multiple comparisons procedure.
**p<0.01, based on Dunnett's multiple comparisons procedure.
Pooled estimate of SD is based on specified number of df.

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 ヒト HEPM 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

添付資料番号 4.2.3.3.1-1：Watanabe 1991

HEPM 細胞をイソトレチノインで処理して染色体異常の有無を検討した。代謝活性化系（S-9mix）非存在下では、イソトレチノイン 25 又は 100 µmol/L で 44 時間処理した。S-9mix 存在下では、イソトレチノイン 25、100 又は 200 µmol/L で 5 時間処理した後、被験物質を含まない培地を用いて 44 時間培養した。対照群の細胞は処理なし又は溶媒［ジメチルスルホキシド（DMSO）］で処理した。イソトレチノイン処理群では S-9mix 非存在下で分裂指数の減少が認められた（表 2.6.6-4 参照）。S-9mix 存在下及び非存在下のいずれについても、染色体の構造異常又は数的異常の増加は観察されず、本試験条件下の結果は陰性であった（表 2.6.6-4 及び表 2.6.6-5 参照）。

表 2.6.6-4 HEPM 細胞の染色体異常発生頻度及び分裂指数（S-9mix 非存在下）

Groups	Number of cells with[a)]			Mitotic Index (%)[b)]
	Chromosome Aberrations	Gaps	Breaks	
Control (untreated)	10	7	3	1.57
Control (DMSO)	11	10	3	1.39
Isotretinoin, 25 µmol/L	8	9	0	1.06*
Isotretinoin, 100 µmol/L	8	9	1	0.75*

[Source] Module 4.2.3.3.1-1: Watanabe 1991, Table I
DMSO = dimethylsulfoxide; HEPM = human embryonic palatal mesenchymal
*$p<0.05$, Significantly different from DMSO control value (based on the χ^2 test).
a) A total of 100 well-spread metaphases were examined in each group.
b) The mitotic index was based on the number of dividing cells among approximately 5000 cells.

表 2.6.6-5 HEPM 細胞の染色体異常発生頻度及び分裂指数（S-9mix 存在下）

Groups	Number of cells with[a)]		
	Chromosome Aberrations	Gaps	Breaks
Control (untreated)	12	13	1
Control (DMSO)	13	13	2
Control (DMSO)[b)]	10	10	0
Control (DMSO)[b)c)]	9	13	1
Isotretinoin, 25 µmol/L[b)c)]	10	10	2
Isotretinoin, 100 µmol/L[b)c)]	11	10	3
Isotretinoin, 200 µmol/L[b)c)]	11	12	1

[Source] Module 4.2.3.3.1-1: Watanabe 1991, Table II
DMSO = dimethylsulfoxide; HEPM = human embryonic palatal mesenchymal
a) A total of 100 well-spread metaphases were examined in each treatment for the analysis of chromosome aberrations.
b) With S-9mix
c) With co-factor for metabolic activation

2.6.6.4.2 HEPM 細胞を用いた *in vitro* SCE 試験

添付資料番号 4.2.3.3.1-1：Watanabe 1991

HEPM 細胞をイソトレチノインで処理して SCE の出現頻度を検討した。S-9mix 非存在下では、イソトレチノイン 25、50、100 又は 200 µmol/L で 44 時間処理した。S-9mix 存在下では、イソトレチノイン 50、100 又は 200 µmol/L で 5 時間処理した後、被験物質を含まない培地を用いて 44 時間培養した。対照群の細胞は処理なし又は溶媒（DMSO）で処理した。陽性対照としてシクロフォスファミドを使用した。S-9mix 存在下及び非存在下のいずれについても、SCE の増加は観察

されなかった。シクロフォスファミド処理群では S-9mix 存在下で SCE の約 6 倍の増加が観察され、試験系の反応性が示された。本試験条件下の結果は陰性であった（表 2.6.6-6 及び表 2.6.6-7 参照）。

表 2.6.6-6　HEPM 細胞の SCE 出現頻度（S-9mix 非存在下）

Groups	Number of cells analyzed	SCE[a)]
Control (untreated)	57	9.2 ± 2.63*
Control (DMSO)	60	9.0 ± 3.33
Isotretinoin, 25 µmol/L	53	10.1 ± 3.50
Isotretinoin, 50 µmol/L	52	9.4 ± 3.10
Isotretinoin, 100 µmol/L	50	8.4 ± 2.85
Isotretinoin, 200 µmol/L	-	n.d

[Source] Module 4.2.3.3.1-1: Watanabe 1991, Table III
DMSO = dimethylsulfoxide; HEPM = human embryonic palatal mesenchymal; n.d = not determined; SCE = sister chromatid exchange; SD = standard deviations
*p<0.01, Significantly different from DMSO control value [based on the analysis of variance (ANOVA)].
a) SCE values are expressed as mean number of SCE per cell ± SD.

表 2.6.6-7　HEPM 細胞の SCE 出現頻度（S-9mix 存在下）

Groups	Number of cells analyzed	SCE[a)]
Control (untreated)	66	10.0 ± 2.86
Control (DMSO)	63	10.4 ± 3.79
Control (DMSO)[b)]	63	11.3 ±3.30
Control (DMSO)[b)c)]	96	11.7 ± 3.21
Isotretinoin, 100 µmol/L	61	9.6 ± 2.92
Isotretinoin, 50 µmol/L[b)c)]	76	10.9 ±3.26
Isotretinoin, 100 µmol/L[b)c)]	70	11.8 ± 3.51
Isotretinoin, 200 µmol/L[b)c)]	60	12.5 ± 3.60
Cyclophosphamide, 17 µmol/L	68	10.7 ± 3.75
Cyclophosphamide, 17 µmol/L[b)c)]	60	62.4 ± 3.75

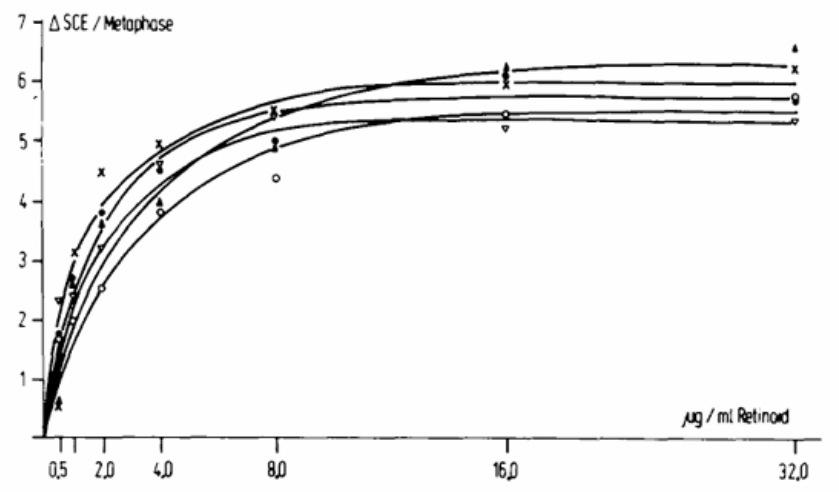
[Source] Module 4.2.3.3.1-1: Watanabe 1991, Table IV
DMSO = dimethylsulfoxide; HEPM = human embryonic palatal mesenchymal; SCE = sister chromatid exchange; SD = standard deviations
a) SCE values are expressed as mean number of SCE per cell ± SD.
b) With S-9mix
c) With co-factor for metabolic activation

2.6.6.4.3　ヒト線維芽細胞を用いた *in vitro* SCE 試験

添付資料番号 4.2.3.3.1-2：Tetzner 1980

ヒト線維芽細胞をイソトレチノイン（最高 32.0 µg/mL）で 6 時間処理後 22 時間培養して SCE の出現頻度を検討した。対照群の細胞は処理なし又は溶媒（エタノール）で処理した。トリパンブルー染色による死細胞の染色で陽性は認められず、分裂指数の評価において増殖阻害は認められなかった。対照群（12.87～13.73 個／分裂中期細胞）と比較してイソトレチノイン処理群で用量依存的な SCE 出現頻度の増加（最大約 50%）が観察された（図 2.6.6-1 参照）。

図 2.6.6-1　ヒト線維芽細胞における SCE 出現頻度の増加



[Source] Module 4.2.3.3.1-2: Tetzner 1980, Figure 2
SCE = sister chromatid exchange; SEM = standard error of the mean; ΔSCE = number of increased SCE
Dose-dependent SCE induction in human diploid fibroblasts by retinyl-phenyl-ether (○), retinyl-methyl-ether (▲), retinyl-thio-ether (▽), axerophthene (×) and Isotretinoin (●). A minimum of 15 metaphases was evaluated at each retinoid concentration. The absolute difference between the mean value and the control value is indicated on the y axis. The control values ranged from 12.87 to 13.73 SCE per metaphase. The SEM ranged between 0.47 and 0.65 for all determinations.

ヒト線維芽細胞においてイソトレチノイン（32 µg/mL）を単独又は α-ナフトフラボン（ANF、チトクローム P448 依存的モノオキシゲナーゼ阻害薬、5 µg/mL）と併用処理して同様に SCE の出現頻度を検討した結果、単独群では SCE の出現頻度が増加したが、ANF 併用群では増加は認められなかった（表 2.6.6-8 参照）。モノオキシゲナーゼ活性を欠くチャイニーズハムスターの線維芽細胞をイソトレチノイン（8 µg/mL）で同様に処理した結果、SCE の増加は認められなかった（表 2.6.6-9 参照）。これらの結果から、ヒト線維芽細胞で認められた SCE の増加は、モノオキシゲナーゼ活性によって生成したイソトレチノインの代謝物に起因する変化の可能性が考えられた。

表 2.6.6-8　ヒト線維芽細胞の SCE 出現頻度

Group	SCE per cell (mean ± SEM)[a)]	
	without ANF	with ANF (5 µg/mL)
Control	13.05 ± 0.55	-
Control (0.5% ethanol)	12.87 ± 0.47	-
Isotretinoin, 32 µg/mL	18.20 ± 0.66*	12.48 ± 0.68

[Source] Module 4.2.3.3.1-2: Tetzner 1980, Table 1
ANF = α-naphthoflavone; SCE = sister chromatid exchange; SEM = standard error of the mean
*Significant versus control according to t test for paired data.
a)　At least 15 metaphases were evaluated for each determination.

表 2.6.6-9　チャイニーズハムスター線維芽細胞の SCE 出現頻度

Group	SCE per cell (mean ± SEM)[a)]
Control	21.89 ± 0.59
Control (0.5% ethanol)	22.52 ± 0.86
Isotretinoin, 8 µg/mL	20.87 ± 0.67

[Source] Module 4.2.3.3.1-2: Tetzner 1980, Table 2
SCE = sister chromatid exchange; SEM = standard error of the mean
a)　At least 15 metaphases were evaluated for each determination.

2.6.6.5 がん原性試験

本申請の適応症である神経芽腫は進行がんであるため、ICH S9 に基づき、がん原性試験は必要とされない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

本申請の適応症である神経芽腫は進行がんであるため、ICH S9 に基づき、雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、更には出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験は必須とされない。また、ICH S9 では、発生毒性を誘発することが既に知られている系統の医薬品の製造販売承認申請において胚・胎児に関する毒性試験は必要でないとされている。イソトレチノインは海外の既承認品目のラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験において胎児奇形を増加させ、発生毒性を誘発することが知られている [3),5)]。さらに、その後の研究においてもマウス（4.2.2.2-1：Kraft 1991）、ラット（4.2.2.2-2：Tembe 1996）[6)]、ハムスター[7)]及びウサギ [8)]で器官形成期の経口投与において内臓（中枢神経系、心血管系及び泌尿生殖器系）及び骨格奇形を含む胎児奇形が認められることが報告されている。

2.6.6.7 局所刺激性試験

イソトレチノインの反復投与毒性試験（2.6.6.3 項）では、ラット及びマウスへの経口投与後に消化管への刺激性を示唆する所見は報告されていない。

2.6.6.8 考察及び結論

イソトレチノインは重症難治性結節性ざ瘡の治療薬として 1982 年に米国で初めて承認されて以来、海外で長期にわたる臨床使用経験を有している。また、イソトレチノインの毒性プロファイルは、長い間研究の対象となっており、ヒトでの使用を支持する十分なデータが得られている。本概要では、原著論文に基づき、げっ歯類を用いた反復投与毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験の成績を評価した。さらに、Kamm の総説[3]及び海外の添付文書[4),5)]で報告されている単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性及び生殖発生毒性のデータを含めて考察した。

イソトレチノインの単回投与毒性試験は実施していないが、反復投与毒性試験において、マウスへの 300 mg/kg までの経口投与で良好な忍容性が示されている。また、Kamm の総説ではイソトレチノインのマウス及びラットを用いた単回経口投与後の毒性が報告されており、50%致死量（LD_{50}）はマウス及びラットでそれぞれ 3389 及び 4000 mg/kg 超であった[3]。

イソトレチノインの反復投与毒性について、マウスを用いた反復経口投与毒性試験（60～400 mg/kg/日、21 日間）における主な毒性所見として、ALP の高値、骨折、表皮及び真皮の炎症及び角化亢進、並びに精子形成阻害を伴う精巣の変性及び壊死が認められた。ラットを用いた反復経口投与毒性試験（4～40 mg/kg/日、12 週間）では、40 mg/kg/日群で骨折が認められた。マウス及びラットを用いた反復経口投与毒性試験の NOAEL はそれぞれ 60 mg/kg/日未満及び 15 mg/kg/日であった。さらに、Kamm の総説及び海外添付文書では、非げっ歯類への反復投与時の毒性として、イヌ 55 週間反復経口投与毒性試験において 3 mg/kg/日以上の連日投与で皮膚、精巣、肝臓及びリンパ節に所見が認められることが報告されている[3),5)]。これらイソトレチノインの反復投与による影響は、概してレチノイドに共通して認められる所見であった[3]。

In vitro 遺伝毒性評価では、HEPM 細胞又はヒト線維芽細胞において、イソトレチノインによる染色体異常又は SCE の増加は観察されなかった。Kamm の総説及び海外添付文書では、イソトレチノインの遺伝毒性は、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験を含む一連の *in vitro*/*in vivo* 評価において陰性であることが報告されている[3),4),5)]。

イソトレチノインは発生毒性を誘発することが知られており[3),4),5)]、他のビタミン A 誘導体と同様に、動物実験で催奇形性を示すことから（4.2.2.2-1：Kraft 1991、4.2.2.2-2：Tembe 1996）[6),7),8)]、妊婦又は妊娠している可能性のある女性には使用すべきでない[4)]。

イソトレチノインの毒性試験では他のレチノイドにも共通して認められる所見（皮膚、骨格系及び精巣所見を含む標的臓器毒性並びに催奇形性）が観察された。以上のとおり、神経芽腫を適応症とした承認を受けるにあたり、イソトレチノインの非臨床毒性プロファイルは明らかにされている。

2.6.6.9 図表

本文中に記載した。

2.6.6.10 参考文献

1) Makimoto A, Fujisaki H, Matsumoto K, Takahashi Y, Cho Y, Morikawa Y, et al. Retinoid therapy for neuroblastoma: historical overview, regulatory challenges, and prospects. Cancers (Basel). 2024;16:544.（添付資料番号：4.3-17）
2) Perry MD, McEvoy GK. Isotretinoin: new therapy for severe acne. Clin Pharm. 1983;2:12-19.（添付資料番号：4.3-20）
3) Kamm JJ. Toxicology, carcinogenicity, and teratogenicity of some orally administered retinoids. J Am Acad Dermatol. 1982;6:652-659.（添付資料番号：4.3-14）
4) ABSORICA/ABSORICA LD, US prescribing information. Revised: July 2023.（添付資料番号:4.3-1）
5) Accutane Roche (Isotretinoin capsule, USP), Product monograph including patient medication information. Date of Revision: May 16, 2025.（添付資料番号：4.3-2）
6) Turton JA, Willars GB, Haselden JN, Ward SJ, Steele CE, Hicks RM. Comparative teratogenicity of nine retinoids in the rat. Int J Exp Pathol. 1992;73:551-563.（添付資料番号：4.3-26）
7) Eckhoff C, Willhite CC. Embryonic delivered dose of isotretinoin (13-*cis*-retinoic acid) and its metabolites in hamsters. Toxicol Appl Pharmacol. 1997;146:79-87.（添付資料番号：4.3-9）
8) Eckhoff C, Chari S, Kromka M, Staudner H, Juhasz L, Rudiger H, et al. Teratogenicity and transplacental pharmacokinetics of 13-*cis*-retinoic acid in rabbits. Toxicol Appl Pharmacol. 1994;125:34-41.（添付資料番号：4.3-8）

イソトレチノイン
イソトレックス 8mg、同 16mg

第 2 部 CTD の概要
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7 毒性試験概要表

サンファーマ株式会社

目次

頁
2.6.7 毒性試験概要表 3
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表 4
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 4
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 4
2.6.7.5 単回投与毒性試験 4
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 4
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 4
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 4
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 4
2.6.7.10 がん原性試験 5
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 5
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 5
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 5
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 5
2.6.7.15 新生児を用いた試験 5
2.6.7.16 局所刺激性試験 5
2.6.7.17 その他の毒性試験 5

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test article: Isotretinoin

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a)]	GLP Compliance	Publication	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	Not applicable						
Repeat-Dose Toxicity	Swiss mice	Oral gavage	21 days	0, 60, 100, 300, 400 mg/kg/day[a)]	No	Hixson 1978	4.2.3.2-1
Repeat-Dose Toxicity	Sprague-Dawley rats	Oral gavage	4, 8, or 12 weeks	0, 4.0, <u>15.0</u>, 40.0 mg/kg/day[b)]	No	Hixson 1979	4.2.3.2-2
Genotoxicity: chromosome aberration and sister chromatid exchange assays	Human embryonic palatal mesenchymal cells	*In vitro*	44 hours without metabolic activation, 5 hours with metabolic activation	25 - 100 µmol/L without metabolic activation, 25 - 200 µmol/L with metabolic activation	No	Watanabe 1991	4.2.3.3.1-1
Genotoxicity: sister chromatid exchange assay	Human fibroblast	*In vitro*	6 hours	Up to 32.0 µg/mL	No	Tetzner 1980	4.2.3.3.1-2
Carcinogenicity	Not applicable						
Reproductive and Developmental Toxicity	Not applicable						
Local Tolerance	Not applicable						

CTD = common technical document; GLP = good laboratory practices; NOAEL = no observed adverse effect level

a) The NOAEL could not be determined as effects were noted at the lowest dose tested.

b) The highest NOAEL is underlined.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

該当資料なし

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

該当資料なし

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

該当資料なし

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.6.3 に要約した。

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

該当資料なし

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4 に要約した。

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.10　がん原性試験
該当資料なし

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験
該当資料なし

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
該当資料なし

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験
該当資料なし

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
該当資料なし

2.6.7.15　新生児を用いた試験
該当資料なし

2.6.7.16　局所刺激性試験
該当資料なし

2.6.7.17　その他の毒性試験
該当資料なし