

IX. 非臨床試験に関する項目

1. 薬理試験

(1) 薬効薬理試験 (「VI. 薬効薬理に関する項目」参照)

(2) 副次的薬理試験

該当資料なし

(3) 安全性薬理試験⁴²⁾

| 試験項目 | | 動物種/系統 (例数) | 投与経路 投与量 | 特記すべき所見 |
|-----------|--------------------------------------|----------------------------------|---|---|
| 中枢 神経系 | 一般状態、体温及び自発運動 量に及ぼす作用 (Irwin 法) | ラット/ Wistar (雄、4) | 経口 30、100、300mg/kg | 影響なし |
| 心血管系 | hERG 電流に及ぼす作用 | hERG 発現 HEK293 細胞 (5) | <i>in vitro</i> 4、20、100 μ mol/L | 影響なし |
| | 心筋活動電位持続時間に 及ぼす作用 | モルモット 摘出乳頭筋/ Hartley (雄、6) | <i>in vitro</i> 4、20、100 μ mol/L | 4、20 μ mol/L : 影響なし 100 μ mol/L : APD ₅₀ 及び APD ₉₀ が短縮、RMP 及び APA がわずかに減少 V _{max} には影響なし |
| | 血圧、心拍数及び心電図 に及ぼす作用 (QT、QTc 間隔) | イヌ/ビーグル (雌雄、各 2) | 経口 3、10、30mg/kg | 3、10mg/kg : 影響なし 30mg/kg : 投与後 0~2 時間にごく軽度な心拍 数増加 血圧及び心電図には影 響なし |
| 呼吸系 | 呼吸数、1 回換気量 及び分時呼吸量に及ぼす作用 | ラット/ Wistar (雄、8) | 経口 30、100、300mg/kg | 30、100mg/kg : 影響なし 300mg/kg : 投与後 150 分においてのみ分時呼 吸量が増加したが、呼 吸数及び 1 回換気量に は影響なし |

APD₅₀ : 50%再分極持続時間、APD₉₀ : 90%再分極持続時間、RMP : 静止膜電位、APA : 活動電位振幅、
V_{max} : 最大立ち上がり速度

(4) その他の薬理試験

該当資料なし

2. 毒性試験

(1) 単回投与毒性試験⁴³⁾

| 動物種/系統 | 投与経路 | 投与量 (mg/kg) | 例数 | 概略の致死量 (mg/kg) |
|-----------|------|-----------------|----------|-------------------|
| マウス/CD-1 | 経口 | 2000 | 雌雄 : 各 5 | >2000 |
| | 腹腔内 | 300 | 雌雄 : 各 5 | 300 |
| ラット/SD | 経口 | 750 | 雌雄 : 各 5 | >750 |
| | 腹腔内 | 500、600 | 雌雄 : 各 5 | 500~600 |
| イヌ/ビーグル | 経口 | 500、1000、2000 | 雌雄 : 各 1 | >2000 |
| サル/カニクイザル | 経口 | 0、500、1000、2000 | 雌雄 : 各 1 | >2000 |

(2) 反復投与毒性試験⁴⁴⁾

| 動物種 /系統 | 投与期間 投与経路 | 投与量 (mg/kg/日) | 無毒性量 (mg/kg/日) | 主な所見 |
|-------------------|--------------|------------------|-------------------|--|
| ラット /SD | 4週 経口 | 0.3、1、3 | 無毒性量は 求めず | 1mg/kg/日以上：尿量の増加、尿細管又は集合管の好塩基性変化又は拡張、乳頭部の間質性細胞浸潤又は結合組織増生、乳頭部又は腎盂上皮の増生 3mg/kg/日：体重増加抑制、摂餌量低下、削瘦、立毛、円背姿勢、血中尿素窒素及びクレアチニンの増加、尿比重の低下、尿沈さ中の上皮細胞、腎臓において重量増加、腫大又は腫脹、顆粒状変化、白色変化、肝臓においてグリコーゲン量の減少に伴う肝細胞の変化 |
| | 13週 経口 | 0.3、1、3 | 雌雄：0.3 | 1mg/kg/日以上：キサンチン結晶の析出による腎臓の白色巣、表面粗造、腎臓断面の黄白色顆粒物質、膀胱内に黄白色顆粒物質、間質性腎炎、尿細管あるいは集合管の好塩基性変化、拡張、間質性細胞浸潤・組織増生、乳頭部上皮の増生 3mg/kg/日群の雄：一過性の体重増加抑制、血中尿素窒素及びクレアチニンの増加 |
| | 26週 経口 | 0.04、0.2、1 | 雌雄：0.2 | 0.2mg/kg/日以上：用量依存的な尿沈さ中の黄色顆粒状物質、腎臓断面の黄白色顆粒物質 1mg/kg/日群の雄：1例の死亡、体重増加抑制、尿量の増加と尿比重、浸透圧の低下、尿沈さ中の白血球、血中尿素窒素及びクレアチニンの増加 1mg/kg/日群の雌雄：キサンチン結晶の析出による腎変化 |
| イヌ /ビーグル | 4週 経口 | 3、10、30 | 無毒性量は 求めず | 10mg/kg/日以上：若干例で腎に線状の瘢痕病変の頻度及び程度（軽度から中等度）の増加、微小な腎盂結石（炎症、出血、上皮の壊死/増生などの局所反応は伴わないキサンチン結石） |
| | 13週 経口 | 10、30、100 | 雌雄：10 | 10mg/kg/日以上：尿沈さ中にキサンチン結晶と考えられる微小な黄色顆粒状物質 30mg/kg/日以上：便色の異常（黄白色あるいは白色物質の混在）、腎盂腔内の異物（キサンチン結石）及びその物理的刺激による用量依存的な乳頭部上皮の増生) 100mg/kg/日群：腎臓の黄白色顆粒物質 100mg/kg/日の雌1例：左側腎の腎盂腔内に大きなキサンチン結石及びその物理的刺激による腎乳頭の単細胞壊死、腎盂周囲軟組織の出血・炎症性細胞浸潤、皮質・髄質の出血、同例で血中クレアチニン高値傾向、遠位尿細管の拡張、遠位尿細管上皮の限局性変性・壊死 |
| サル /カニクイ ザル | 13週 経口 | 10、30、100 | 雌雄：100 | 異常は認められなかった。 |
| | 52週 経口 | 30、100、300 | 雌雄：300 | 異常は認められなかった。 |

(3) 生殖発生毒性試験⁴⁵⁾

1) 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (ラット)

ラットの雌雄にトピロキソスタットを1、3及び10mg/kg/日の投与量で雄では交配前28日から解剖前日、雌では交配前2週間から妊娠6日まで経口投与した。受胎能及び初期胚発生にトピロキソスタット投与による影響は認められなかった。雄では1mg/kg/日群で腎臓の白色巣及び表面粗造などが認められ、3mg/kg/日群で2例、10mg/kg/日群で6例の死亡がみられた。3mg/kg/日以上群で体重増加抑制、自発運動低下、粗毛、赤色鼻汁痕、10mg/kg/日群では削瘦、立毛などがみられた。雌でも1mg/kg/日以上群で腎変化が認められ、10mg/kg/日群では体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。親動物の一般毒性学的無毒性量は1mg/kg/日未満、生殖に対する無毒性量は10mg/kg/日、次世代の発生に対する無毒性量は10mg/kg/日と推定された。

2) 胚・胎児発生に関する試験

① ラット

ラットにトピロキソスタットを3、10及び30mg/kg/日の投与量で妊娠6～17日まで経口投与した。いずれの用量でも胚・胎児への影響は認められなかった。母動物では3mg/kg/日以上群で腎臓の白色巣、10mg/kg/日以上群で体重増加抑制、腎臓の表面粗造、腎盂及び腎臓断面の黄白色顆粒物質が認められた。30mg/kg/日群で2例の死亡がみられた。母動物の一般毒性学的無毒性量は3mg/kg/日未満、生殖に対する無毒性量は30mg/kg/日、次世代に関する無毒性量は30mg/kg/日と推定された。

② ウサギ

ウサギにトピロキソスタットを3、10及び30mg/kg/日の投与量で妊娠6～18日まで経口投与した。30mg/kg/日群まで胚・胎児への影響はみられず、母動物の一般毒性学的影響も認められなかった。母動物の一般毒性学的及び生殖に対する無毒性量、次世代に対する無毒性量は共に30mg/kg/日と推定された。

3) 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 (ラット)

ラットにトピロキソスタットを0.3、1及び3mg/kg/日の投与量で妊娠6日～分娩後21日まで経口投与した。1mg/kg/日以上群で母動物に腎の黄白色変化、体重増加抑制、3mg/kg/日群で1例の分娩中の死亡、2例の哺育行動の放棄がみられ、出生児の哺育期間中の体重増加抑制が認められた。母動物の一般毒性学的無毒性量は0.3mg/kg/日、生殖機能に対する無毒性量は1mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は1mg/kg/日と推定された。

(4) その他の特殊毒性

1) 遺伝毒性試験 (*in vitro*, *in vivo*)⁴⁶⁾

ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験を代謝活性化系の存在下及び非存在下にて8.19~5000 µg/プレートの用量範囲で実施した。いずれの用量でも代謝活性化系の有無にかかわらず、遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞を用いた染色体異常試験を代謝活性化系の存在下及び非存在下にて621、1241及び2482 µg/mLの用量範囲で実施した。いずれの用量でも代謝活性化系の有無にかかわらず、染色体の異常は認められなかった。

雄ラットに200、400及び800mg/kg/日を1日1回2日間経口投与し、小核試験を実施した。いずれの投与量でも小核誘発性は認められなかった。

2) がん原性試験 (マウス、ラット)

マウス⁴⁰⁾ にトピロキソスタット0.3、1及び3mg/kg/日を104週間反復経口投与したがん原性試験において、3mg/kg/日群の雌で乳腺の腺がんの増加が認められた。また、ラット³⁹⁾ にトピロキソスタット0.3、1及び3mg/kg/日を104週間反復経口投与したがん原性試験において、0.3mg/kg/日以上群の雄で膀胱の移行上皮乳頭腫、1mg/kg群/日以上群の雄で膀胱の移行上皮がん、3mg/kg/日群の雌雄で腎臓の乳頭部血管肉腫、雄で腎臓の移行上皮がん及び甲状腺濾胞細胞腺腫、雌で尿管の移行上皮がん及び腎細胞がんが認められた。ラットなどのげっ歯類では、結晶・結石などによる物理的刺激が長時間持続することにより、膀胱腫瘍などの泌尿器の移行上皮腫瘍が誘発されることが知られている⁴⁷⁻⁵⁰⁾。今回認められた泌尿器の移行上皮腫瘍がトピロキソスタットの薬理作用に基づくキサンチン結石による物理的刺激によることを実証するため、ラットにトピロキソスタットの3mg/kg/日とクエン酸塩の52週間反復併用経口投与による腎障害抑制試験を実施した⁴¹⁾。その結果、クエン酸塩併用群では、トピロキソスタット単独群で認められたキサンチン析出による間質性腎炎、腎臓及び尿管におけるキサンチン結石、移行上皮過形成、膀胱におけるキサンチン結石、移行上皮の単純性又は乳頭状過形成は認められなかった。また、キサンチン結晶・結石が生じないサル⁴²⁾の52週間反復投与毒性試験⁴⁴⁾においても腎臓、尿管、膀胱に異常はみられなかった。よって、泌尿器の移行上皮腫瘍は、種特異的で、非遺伝毒性機序による発がんとして解釈され、ヒトで発生する可能性は極めて低いと考えられた。その他の腫瘍(ラットでの腎細胞がん、腎乳頭部血管肉腫、甲状腺濾胞細胞腺腫、マウスでの乳腺の腺がん)についても、キサンチン結晶/結石による腎組織損傷、慢性腎障害及びそれに伴う全身状態の悪化・機能低下(マウス乳腺腫瘍ウイルス感染を併発)により誘発された二次的変化で、ヒトへの外挿性の低い所見と考えられた。(「VIII. 15. その他の注意」の項参照)

なお、臨床試験において尿中結晶陽性の発現率はプラセボと同等であった。

3) 抗原性試験 (モルモット、マウス) ⁵¹⁾

モルモットを用いた全身性アナフィラキシー反応及び同種受身皮膚アナフィラキシー反応、マウスを用いたラット異種受身皮膚アナフィラキシー反応を実施した結果、いずれも陰性であり、抗原性は示さないと考えられた。

4) 光毒性試験 (ラット) ⁵²⁾

有色ラットにトピロキソスタット30、100及び300mg/kgを単回経口投与し、投与後0.5時間より長波長紫外線を照射(約10J/cm²)したところ、異常は認められず、光毒性は示さないと考えられた。