

# 安全性薬理試験及び毒性試験

## 1. 安全性薬理試験<sup>34)</sup>

試験項目	動物種 (性、動物数)	投与経路 投与量	主な結果・評価	
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 (雄、4)	経口、単回 30、100、300mg/kg	影響なし
	hERG電流に及ぼす作用 (ホールセルパッチクランプ法)	hERG発現 ヒト胎児腎細胞株 HEK293	<i>in vitro</i> 4、20、100 $\mu$ mol/L	影響なし
心血管系	心筋活動電位持続時間に 及ぼす作用	モルモット 摘出乳頭筋標本 (雄、6)	<i>in vitro</i> 4、20、100 $\mu$ mol/L	4、20 $\mu$ mol/L: 影響なし 100 $\mu$ mol/L: RMP及びAPAが わずかに減少し、APD <sub>50</sub> 及び APD <sub>90</sub> が短縮。 V <sub>max</sub> には影響なし。
	血圧、心拍数及び心電図に 及ぼす作用 (覚醒下テレメトリー法)	ビーグル犬 (雌雄各2)	経口、単回 3、10、30mg/kg	3、10mg/kg: 影響なし 30mg/kg: 投与0~2時間後 にごく軽度な心拍数増加。 血圧及び心電図(QT、QTc 間隔)には影響なし。
呼吸器系	呼吸数、1回換気量及び 分時呼吸量に及ぼす作用 (全身プレスチモグラフィ法)	ラット (雄、8)	経口、単回 30、100、300mg/kg	30、100mg/kg: 影響なし 300mg/kg: 投与150分後に 分時呼吸量が増加。 呼吸数及び1回換気量に影響 なし。

RMP: 静止膜電位、APA: 活動電位振幅、APD<sub>50</sub>: 50%再分極時活動電位持続時間、APD<sub>90</sub>: 90%再分極時活動電位持続時間、  
V<sub>max</sub>: 最大立ち上がり速度

## 2. 毒性試験

### (1) 単回投与毒性試験 (マウス、ラット、イヌ、サル)<sup>35)</sup>

動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	概略の致死量 (mg/kg)
マウス	経口	2000	雌雄：>2000
	腹腔内	300	雌雄：300
ラット	経口	750	雌雄：>750
	腹腔内	500、600	雌雄：500~600
イヌ	経口	500、1000、2000	雌雄：>2000
サル	経口	500、1000、2000	雌雄：>2000

### (2) 反復投与毒性試験 (ラット、イヌ、サル)<sup>36)</sup>

動物種	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	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、消瘦、立毛、円背姿勢、血中の尿素窒素及びクレアチニンの増加、尿比重の低下、尿沈渣中の上皮細胞、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、血中の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：用量依存的な尿沈渣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、尿沈渣中の白血球、血中の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	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癒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を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：尿沈渣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、血中クレアチニン高値傾向、遠位尿管の拡張、遠位尿管上皮の限局性変性・壊死
サル	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<sup>37)</sup>

#### 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)

トピロキソスタット1、3及び10mg/kg/日を雄には交配前28日から解剖前日まで、雌には交配前2週間から妊娠6日まで経口投与したところ、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ませんでした。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/日群及び10mg/kg/日群で死亡がみられました。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/日群では消瘦、立毛などがみられました。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ました。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/日と推定されました。

#### 2) 胚・胎児発生に関する試験 (ラット、ウサギ)

##### 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ところ、いずれの用量でも胚・胎児への影響は認められませんでした。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、腎盂及び腎断面の黄白色顆粒物質が認められました。30mg/kg/日群で死亡がみられ、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/日と推定されました。

##### 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ところ、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ませんでした。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/日と推定されました。

#### 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ところ、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ました。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/日と推定されました。

## (4) その他の特殊毒性

### 1) 抗原性試験 (マウス、モルモット)<sup>38)</sup>

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により検討した結果、いずれも陰性であり、抗原性は示さないと考えられました。

### 2) 光毒性試験 (有色ラット)<sup>39)</sup>

有色ラットにトピロキソスタットを30、100及び300mg/kgの投与量で単回経口投与し、投与0.5時間後より長波長紫外線を照射 (約10J/cm<sup>2</sup>) しました。皮膚の肉眼的観察、耳介厚の測定、眼科的検査及び病理組織学的検査において異常は認められず、トピロキソスタットは有色ラットにおいて光毒性を示さないと考えられました。

### 3) 遺伝毒性試験 (*in vitro*、ラット)<sup>40)</sup>

細菌を用いた復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験 (いずれも*in vitro*試験)において、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及び染色体異常は認められませんでした。また、ラットを用いた小核試験 (*in vivo*試験)においても小核誘発性は認められず、したがってトピロキソスタットが生体内で遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられました。

### 4) がん原性試験 (マウス、ラット)<sup>3)、4)</sup>

マウス及びラットを用いた2年間がん原性試験 (いずれも投与量0.3、1及び3mg/kg/日)を実施し、トピロキソスタットのがん原性を検討しました。

マウスでは3mg/kg/日の雌で乳腺の腺がんの増加が認められました。ラットでは0.3mg/kg/日以上雄で膀胱の移行上皮乳頭腫、1mg/kg/日以上雄で膀胱の移行上皮がん、3mg/kg/日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ました。

げっ歯類では、長時間にわたる結晶・結石などの機械的刺激の持続により、膀胱腫瘍など泌尿器の移行上皮腫瘍が誘発されることが知られています<sup>41~44)</sup>。キサンチン結晶・結石が生成しない条件下 (クエン酸塩の併用)で実施したラット52週間反復経口投与試験<sup>5)</sup>では、腎臓及び膀胱に変化は認められず、また、キサンチン結晶・結石を生成しないサル<sup>36)</sup>の52週間反復投与試験<sup>36)</sup>においても同様の所見は認められませんでした。したがって、がん原性試験において認められた腫瘍発生は、げっ歯類における尿中キサンチンの析出に伴う二次的な影響と考えられました。