

特定細胞加工物概要書

再生医療等名称：口腔粘膜由来細胞による経尿道的尿道狭窄症治療

再生医療等提供計画申請者：社会福祉法人仁生社江戸川病院

〒133-0052 東京都江戸川区東小岩2丁目24-18

【管理者】加藤 正二郎

提出年月日：2024年10月01日

No.	項目及び内容	
1. 特定細胞加工物を使用する再生医療等に関する事項		
(ア)	再生医療等の名称	口腔粘膜由来細胞による尿道狭窄症治療
(イ)	提供機関	名称) 社会福祉法人仁生社江戸川病院 所在地) 〒133-0052 東京都江戸川区東小岩2丁目24-18 連絡先) 03-3671-1221
(ウ)	再生医療等を行う医師等	古賀祥嗣、堀口明男
エ)	再生医療等の概要	
	内容	自己由来の口腔粘膜由来細胞を増殖させ、ゲルとともに培養を行い、尿道狭窄部へカテーテルにて投与を行なう。
	等 適応	尿道狭窄症
る 効 能 効 効	期待される	尿道狭窄が改善され、既存の方法より再発を防止する効果が予測される。
量 又 は 使 用	用法・用量	ゲル含有口腔粘膜由来細胞 10^6 のオーダー
既 要	安全性及び妥当性についての検討内容	尿道狭窄症の治療は大きく二種類の方法に分類できる。ひとつは開放手術によるフォーマルな尿道形成術（狭い部位を切除してつなぎ直す、もしくは何らかの組織を使って尿道を作り直す治療）、もうひとつは尿道の中から狭窄部を広げる経尿道的治療である（内視鏡の先端についたナイフで狭い部位を切開して広げる内尿道切開術、金属の棒（ブジー）や風船（バルン）などで狭い部分を広げる尿道拡張がある）。尿道形成術は成功率の高い治療法であるが、極めて専門的な技術を要する難度の高い手術であるため、ごく一部の限られた医療機関しか行っていない。そして全身麻酔での手術と比較的長い入院期間も必要である。一方、経尿道的治療は局所麻酔下で外来や短期間の入院で治療が可能である。尿道形成術に比べて手技が簡便なため全国の病院で広く行われているが、成功率が低い治療である。そのため、侵襲が低く、成功率の高い治療法の開発が急務と言われている。参考文献のインドで行なわれた同種治療の報告では、内尿道切開単独では治癒し得ない難治性尿道狭窄6例に対して本法が施行され、3年経過時点で4例（66%）が治癒し、合併症もみられなかった。したがって、本治療を行なうことは、現状の経尿道的内尿道切開術を補完し、再度の侵襲の高い処置を回避できる可能性があり、インドで行なった臨床例においては経

No.	項目及び内容																										
	<p>過良好であることから今後の自由診療で費用がかかる点を除けば、患者様にとって得られる利益と起こりうる不利益を比較検討すると、身体的な利益が不利益を上回ると推測されることから、本再生医療を行うことは妥当であると考えられる。また、本特定細胞加工物には、非細胞成分（スキャフォールド；足場）としてメビオールゲルを使用する。メビオールゲルについては、以下の 12 種類の非臨床安全性試験を GLP 準拠で実施し、その安全性を確認している。</p> <table border="1" data-bbox="317 651 1442 1384"> <thead> <tr> <th data-bbox="317 651 400 701"></th> <th data-bbox="400 651 1442 701">試験内容</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="317 701 400 797">1</td> <td data-bbox="400 701 1442 797">メビオールジェル（TGP-07, TGP-20 及び TGP-37）のラットにおける単回復腔内投与毒性</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 797 400 846">2</td> <td data-bbox="400 797 1442 846">TGP-37 及び TGP-20 のラットにおける単回復腔内投与毒性試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 846 400 896">3</td> <td data-bbox="400 846 1442 896">TGP-37 のウサギにおける皮膚一次刺激性試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 896 400 945">4</td> <td data-bbox="400 896 1442 945">TGP-37 のウサギにおける皮膚累積刺激性試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 945 400 994">5</td> <td data-bbox="400 945 1442 994">TGP-37 及び TGP-20 のウサギにおける 2 週間皮膚累積刺激性試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 994 400 1043">6</td> <td data-bbox="400 994 1442 1043">TGP-37 のモルモットにおける皮膚感作性試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 1043 400 1093">7</td> <td data-bbox="400 1043 1442 1093">GP20 の細菌を用いる復帰突然変異試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 1093 400 1142">8</td> <td data-bbox="400 1093 1442 1142">TGP20 のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 1142 400 1191">9</td> <td data-bbox="400 1142 1442 1191">TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験（ASA 反応）</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 1191 400 1240">10</td> <td data-bbox="400 1191 1442 1240">TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験（PCA 反応）</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 1240 400 1290">11</td> <td data-bbox="400 1240 1442 1290">メビオールジェル（TGP-20）のウサギを用いた眼刺激性試験</td> </tr> <tr> <td data-bbox="317 1290 400 1384">12</td> <td data-bbox="400 1290 1442 1384">メビオールジェル（TGP-20）のラットを用いた単回静脈内及び腹腔内投与毒性試験</td> </tr> </tbody> </table> <p>さらに、メビオールゲルは、ウサギを用いた角膜上皮細胞移植（文献 1）やウサギ尿道狭窄モデルを用いた自己口腔粘膜細胞移植（文献 2）でもスキャフォールドとして使用され、その安全性に問題がないことが確認されている。</p> <p>ヒトにおいても、ビオールゲルは、前述のインドで実施された尿道狭窄症治療（資料 3）に使用されており、さらに、歯周再生のために自家骨髄単核細胞の移植（資料 4）の際にスキャフォールドとして使用され、その安全性に問題は認められませんでした。</p> <p>以上のことから、今回の再生治療に非細胞成分（スキャフォールド）としてメビオールゲルを使用しても、その安全性に全く問題はないと考えている。参考資料を本書面最後に記載する。</p> <p>≪参考文献≫ <文献 1> Ex Vivo Cultivation of Corneal Limbal Epithelial Cells in a Thermoreversible Polymer</p>		試験内容	1	メビオールジェル（TGP-07, TGP-20 及び TGP-37）のラットにおける単回復腔内投与毒性	2	TGP-37 及び TGP-20 のラットにおける単回復腔内投与毒性試験	3	TGP-37 のウサギにおける皮膚一次刺激性試験	4	TGP-37 のウサギにおける皮膚累積刺激性試験	5	TGP-37 及び TGP-20 のウサギにおける 2 週間皮膚累積刺激性試験	6	TGP-37 のモルモットにおける皮膚感作性試験	7	GP20 の細菌を用いる復帰突然変異試験	8	TGP20 のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	9	TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験（ASA 反応）	10	TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験（PCA 反応）	11	メビオールジェル（TGP-20）のウサギを用いた眼刺激性試験	12	メビオールジェル（TGP-20）のラットを用いた単回静脈内及び腹腔内投与毒性試験
	試験内容																										
1	メビオールジェル（TGP-07, TGP-20 及び TGP-37）のラットにおける単回復腔内投与毒性																										
2	TGP-37 及び TGP-20 のラットにおける単回復腔内投与毒性試験																										
3	TGP-37 のウサギにおける皮膚一次刺激性試験																										
4	TGP-37 のウサギにおける皮膚累積刺激性試験																										
5	TGP-37 及び TGP-20 のウサギにおける 2 週間皮膚累積刺激性試験																										
6	TGP-37 のモルモットにおける皮膚感作性試験																										
7	GP20 の細菌を用いる復帰突然変異試験																										
8	TGP20 のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験																										
9	TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験（ASA 反応）																										
10	TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験（PCA 反応）																										
11	メビオールジェル（TGP-20）のウサギを用いた眼刺激性試験																										
12	メビオールジェル（TGP-20）のラットを用いた単回静脈内及び腹腔内投与毒性試験																										

No.	項目及び内容																																																																						
	<p>(Mebiol Gel) and Their Transplantation in Rabbits: An Animal Model Tissue Eng Part A 2009 Feb;15(2):407-152013;8(2):99-103</p> <p>〈文献 2〉 Successful engraftment of epithelial cells derived from autologous rabbit buccal mucosal tissue, encapsulated in a polymer scaffold in a rabbit model of a urethral stricture, transplanted using the transurethral approach Regenerative Therapy 18 (2 021) 127-132</p> <p>〈文献 3〉 Buccal epithelium Expanded and Encapsulated in Scaffold - Hybrid Approach to Urethral Stricture (BEES - HAUS) procedure: A novel cell therapy - based pilot study. International Journal of Urology (2019) 26, 253—257</p> <p>〈文献 4〉 Periodontal Regeneration by Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells Embedded in A Novel Thermo Reversible Gelation Polymer - Report with 36 Months Follow-Up J Stem Cells J Stem Cells 2013;8(2):99-103</p>																																																																						
国内 外 の 実 施 状 況	<p>本再生医療等提供計画に記載された再生医療の方法の概略は自己の口腔粘膜を含む組織を採取して上皮細胞を単離培養、一部はゲルとともに培養を行い、足場となるゲルとともに注射器にて尿道カテーテル周囲から尿道狭窄部に注入を行って、細胞の移植をねらう方法である。国内において本再生医療等提供計画に記載された再生医療等と同種の方法としては行われていないが、インドで6例の臨床例が行なわれており、3年経過後も4例(66%)が再狭窄していない。</p> <div data-bbox="347 1480 1455 1832" style="border: 1px solid black; background-color: #e6f2ff; padding: 5px;"> <p>Table 1 Patient characteristics and procedure details</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Sl No.</th> <th>Etiology</th> <th>Age (years)</th> <th>Prior interventions</th> <th>Graft size (cm)</th> <th>Initial cell count (million)</th> <th>Final cell count (million)</th> <th>Stricture length (cm)</th> <th>Follow-up (months)</th> <th>Auxiliary procedure</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Idiopathic</td> <td>38</td> <td>Endoscopic urethrotomy (twice)</td> <td>0.5 × 0.5</td> <td>0.3</td> <td>1.4</td> <td>2.5</td> <td>18</td> <td>Buccal substitution urethroplasty</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Idiopathic</td> <td>28</td> <td>—</td> <td>2 × 1</td> <td>1.57</td> <td>11.6</td> <td>2</td> <td>40</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Idiopathic</td> <td>70</td> <td>Buccal substitution</td> <td>2.5 × 1.5</td> <td>0.76</td> <td>10</td> <td>2</td> <td>39</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Idiopathic</td> <td>37</td> <td>—</td> <td>2 × 1.5</td> <td>2.24</td> <td>9.2</td> <td>2.5</td> <td>36</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>Idiopathic</td> <td>45</td> <td>Endoscopic urethrotomy</td> <td>2 × 1.5</td> <td>1.2</td> <td>8.06</td> <td>3.5</td> <td>36</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>Idiopathic</td> <td>32</td> <td>—</td> <td>2 × 1.5</td> <td>2.2</td> <td>18.5</td> <td>2</td> <td>10</td> <td>Buccal substitution urethroplasty</td> </tr> </tbody> </table> </div> <p>※参考文献 Buccal epithelium Expanded and Encapsulated in Scaffold - Hybrid Approach to Urethral</p>	Sl No.	Etiology	Age (years)	Prior interventions	Graft size (cm)	Initial cell count (million)	Final cell count (million)	Stricture length (cm)	Follow-up (months)	Auxiliary procedure	1	Idiopathic	38	Endoscopic urethrotomy (twice)	0.5 × 0.5	0.3	1.4	2.5	18	Buccal substitution urethroplasty	2	Idiopathic	28	—	2 × 1	1.57	11.6	2	40	—	3	Idiopathic	70	Buccal substitution	2.5 × 1.5	0.76	10	2	39	—	4	Idiopathic	37	—	2 × 1.5	2.24	9.2	2.5	36	—	5	Idiopathic	45	Endoscopic urethrotomy	2 × 1.5	1.2	8.06	3.5	36	—	6	Idiopathic	32	—	2 × 1.5	2.2	18.5	2	10	Buccal substitution urethroplasty
Sl No.	Etiology	Age (years)	Prior interventions	Graft size (cm)	Initial cell count (million)	Final cell count (million)	Stricture length (cm)	Follow-up (months)	Auxiliary procedure																																																														
1	Idiopathic	38	Endoscopic urethrotomy (twice)	0.5 × 0.5	0.3	1.4	2.5	18	Buccal substitution urethroplasty																																																														
2	Idiopathic	28	—	2 × 1	1.57	11.6	2	40	—																																																														
3	Idiopathic	70	Buccal substitution	2.5 × 1.5	0.76	10	2	39	—																																																														
4	Idiopathic	37	—	2 × 1.5	2.24	9.2	2.5	36	—																																																														
5	Idiopathic	45	Endoscopic urethrotomy	2 × 1.5	1.2	8.06	3.5	36	—																																																														
6	Idiopathic	32	—	2 × 1.5	2.2	18.5	2	10	Buccal substitution urethroplasty																																																														

No.	項目及び内容	
		Stricture (BEES - HAUS) procedure: A novel cell therapy - based pilot study. International Journal of Urology (2019) 26, 253--257
2. 特定細胞加工物に関する事項		
(ア)	名称	ゲル含有口腔粘膜由来細胞
(イ)	成分及びその分量	細胞：10 の 6 乗個オーダーを基準とする
(ウ)	原料等及び原料等の規格	<p>特定細胞加工物の製造のために、以下の原料を用いる。</p> <p>受診者より採取した口腔粘膜、血液 50m l (初代培養時)</p> <p>D-PBS</p> <p>DMEM, high glucose</p> <p>Water For Injection</p> <p>注射用ペニシリン G カリウム</p> <p>硫酸ストレプトマイシン注射用</p> <p>ゲンタシン注 60</p> <p>ファンギゾン注射用</p> <p>上皮細胞成長因子</p> <p>ヒューマリン R 注</p> <p>Dispase I</p> <p>Accutase</p> <p>メビオールゲル</p> <p>生理食塩水</p>
	規格	<p>1) 細胞数：自己培養口腔粘膜由来細胞 10 の 6 乗個以上</p> <p>2) 細胞形態：顕微鏡下にて形態異常がないことを確認</p> <p>3) 感染症検査</p> <p>(1) 無菌試験：陰性</p> <p>(2) エンドトキシン試験：0.1EU/mL 未満</p> <p>(3) マイコプラズマ検査：陰性</p> <hr/> <p>規格の設定根拠</p> <p>いままでの予備検討および国外での臨床研究をもとに設定した。</p>

No.	項目及び内容	
(e)	使用上の注意及び留意事項	本標準書で記載されている細胞は回収後凝集しているため、表示通りの時間内で可及的に早く細胞を使用することが望ましい。
3. 特定細胞加工物の製造及び品質管理に関する事項		
(7)	細胞培養加工施設	名称) 江戸川病院 BNCT 棟細胞培養加工施設 所在地) 〒133-0052 東京都江戸川区東小岩 2 丁目 24-18
(4)	製造方法	<p>製造工程及び工程管理のフローを含む概略は以下の通り。</p> <p>医療機関</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 局所麻酔 2. 開口器で口腔内を観察、0.01% 塩化ベンザルコニウムにて口腔粘膜を消毒 3. メスで口腔粘膜を採取後、剪刀で粘膜下組織を除去 4. 採取後に生理食塩水で十分に洗浄 5. 輸送容器に組織を入れる <ol style="list-style-type: none"> 1. 梱包のSOPに従い組織を梱包 <p>ELISA実施確認 ELISA実施指示 出荷可否確認 出荷指示 出荷可否確認 出荷指示</p> <p>生理食塩水で洗浄後に尿道へ移植</p> <p>出荷時検査 マイコプラズマ検査 一般生菌検査 エンドトキシン検査</p>

No.	項目及び内容	
	↓ 治療用細胞調製 概要：2ml の Collect TGP に懸濁液を加え回収した細胞を混合。混合液を 2.5ml シリンジに移し、シリンジキャップを装着する。	
	品質管理	
原料 受入	各原料に対する試験及び判定基準は以下の通り。各試験検査方法は、原料及び資材の試験検査に関する手順書参照。	
検査	原料名：口腔粘膜、血液	
	試験項目	判定基準
	供給者記録確認	供給者から受領した記録書内容が適切であること
	輸送条件確認	一次容器に収納されていること
		ラベルに必要な情報が表記されていること
		二次容器に収納され、衛生的に管理されていること。
	目視検査	明らかな異物の混入がないこと
最終 特定 細胞	最終特定細胞加工物に対する試験及び判定基準は以下の通り。各試験検査方法は、培養細胞の試験検査に関する手順書を参照。	
	試験項目	判定基準
加工 物の 試験	細胞数並びに生存率	10の6乗個以上
	細胞表面形質試験	異常がないこと
	エンドトキシン試験	0.1EU/mL 未満
	マイコプラズマ検査	陰性
	無菌試験	陰性
(㉞)	特定 細胞 加工 物の 取扱 いの 決定 方法	適合条件： (1)決定を行う時期：細胞を投与できる10の6乗個オーダーの細胞を得るために、最終フラスコ段階でマイコプラズマ検査、一般生菌検査、エンドトキシン検査を行い問題がないこと、細胞形態は顕微鏡下にて形態異常がないことを確認が確認できた場合に投与の決定を行う。 (2)決定を行う者：細胞培養加工施設管理者、製造管理者および品質管理者をはじめ最低限2人以上で確認を行う。 (3)決定を行う検査後に特定細胞加工物に何らかの疑義が生じた場合、速やかに患者に連絡を行い提供を見合わせ再採取等の対策を講じる。
(㉟)	特定 表示ラベル	特定細胞加工物ごとにペンで記載

No.	項目及び内容		
	細胞加工物の表示事項	表示内容	<p>品目名称：ゲル含有口腔粘膜由来細胞</p> <p>貯蔵方法：0℃～4℃</p> <p>有効期限：包装後24時間</p> <p>製造施設：江戸川病院 BNCT 棟細胞培養加工施設</p> <p>製造日：YYYY.MM.DD</p>
(㊦)	保管条件	採取し培養した細胞加工物の一部は-80度において最低10年間保存し、治療終了後10年後以降は患者様の希望がある場合を除き破棄を行う。	
	投与可能期間	製造後24時間以内（細胞が凝集するため、長時間を経過すると急速に生存率が低下する。）	
(㊦)	特定細胞加工物の輸送方法	特定細胞加工物の輸送は行わない	
(㊦)	その他製造・品質管理に係る事項	<p>関連文書は添付の通り。</p> <p>(1) 特定細胞加工物の品質の照査に関する手順書</p> <p>(2) 特定細胞加工物の逸脱の管理に関する手順書</p> <p>(3) 製品作業書</p> <p>(4) 品質管理標準作業手順書</p> <p>(5) 原料及び資材の検体採取に関する手順書</p> <p>(6) 原料及び資材の検体検査に関する手順書</p> <p>(7) 培養細胞の試験検査に関する手順書</p>	

参考資料

1. メビオールジェル (TGP-07, TGP-20 及び TGP-37) のラットにおける単回復腔内投与毒性試験

要約

1 群雌雄各 5 匹の Crj: CD(SD)IGS ラットにメビオールジェル (TGP-07, TGP-20 及び TGP-37) の 2000 mg/kg を単回復腔内投与し、その急性期の毒性徴候について検討した。なお、本被験物質は 100 mg/mL となるように生理食塩液に溶解し、20 mL/kg の容量で投与した。また、対照群には各被験物質群と同容量の生理食塩液を投与した。各投与液は投与直前まで氷冷にて保持した。

観察期間は、I 群で 3 日間、II 群で 7 日間とし、観察期間中に一般状態観察及び体重測定を実施するとともに、観察期間終了時に剖検及び腹腔内残留物の観察を実施した。

< I 群 >

TGP-07 群では、雌雄で投与翌日に体重減少が認められたが、投与後 3 日には順調な増加を示した。腹腔内観察では、ほぼ全例で透明固形物の残留が認められた。

TGP-20 群では、一般状態、体重及び剖検において、雌雄ともに異常は認められなかった。腹腔内観察では、全例で透明固形物の残留が認められた。

TGP-37 群では、症状として雌で投与後 2 及び 3 日に皮膚蒼白が認められた。体重では、雄で投与後 3 日に増加抑制傾向、雌で投与翌日及び投与後 3 日に減少が認められた。剖検では、雌雄で小腸の暗赤色化がみられ、雄で小腸及び大腸の黒赤色内容物の貯留、並びに肺の収縮不全、雌で腎臓の暗赤色点及び前胃胃壁の肥厚が認められた。腹腔内観察では、雄 5/5 例、雌 1/5 例で半透明液体の貯留が認められた。

< II 群 >

TGP-07 及び TGP-20 群では、一般状態、体重及び剖検において、雌雄ともに異常は認められなかった。腹腔内観察では、TGP-07 群のほぼ全例、TGP-20 群の全例で透明固形物の

残留が認められ、I 群の各被験物質群と比較した場合、残留物の容量に明らかな差はなかった。

TGP-37 群では、雌 1 例が活動性低下及び皮膚蒼白を呈したのち、投与後 2 日に死亡した。同例では、剖検において食堂粘膜の暗赤色化、前胃粘膜の暗赤色点、小腸粘膜の暗赤色化、小腸及び大腸の黒赤色内容物の貯留、並びに胸水の貯留が認められた。生存例では、症状として投与後 4~7 日に雌雄で活動性低下及び皮膚蒼白、雄で眼球蒼白が認められた。体重では、雄で投与翌日に増加、投与後 3 日に増加抑制傾向、投与後 7 日に減少がみられ、雄で投与後 3 日に増加抑制傾向が認められた。剖検では、雌雄で脾臓の肥大がみられ、雄で小腸粘膜の暗赤色化、前胃胃壁の肥厚及び腎臓の暗赤色点、雄で胸水の貯留が認められた。腹腔内観察では、雌雄各 1 例で半透明液体の貯留が認められ、I 群の同被験物質群と比較した場合、雄で残留物容量に減少傾向が認められた。

試験群構成

	投与群	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	性別	動物数
I 群	媒体対照群	-	-	20	♂	5
					♀	5
	TGP-07 群	2000	10	20	♂	5
					♀	5
	TGP-20 群	2000	10	20	♂	5
					♀	5
	TGP-37 群	2000	10	20	♂	5
					♀	5
II 群	媒体対照群	-	-	20	♂	5
					♀	5
	TGP-07 群	2000	10	20	♂	5
					♀	5
	TGP-20 群	2000	10	20	♂	5
					♀	5
	TGP-37 群	2000	10	20	♂	5
					♀	5

単回投与毒性試験成績

動物種, 月齡, 体重	ラット, 6週齡, ♂: 211.1~241.3g / ♀: 135.7~167.5g					
投与経路 (方法)	単回腹腔内投与					
投与量 (mg/kg)	2000	2000	2000	2000	2000	2000
観察期間 I群 (3日間) / II群 (7日間)	I群	I群	I群	II群	II群	II群
	TGP-07	TGP-20	TGP-37	TGP-07	TGP-20	TGP-37
動物数	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5
死亡数	0	0	0	0	0	♀: 1
一般状態	異常なし	異常なし	♀: 皮膚蒼白	異常なし	異常なし	♂♀: 活動性低下、皮膚蒼白、♂: 眼球蒼白
体重	♂♀: 投与翌日減少、投与後3日に増加	異常なし	♂: 増加抑制傾向 ♀: 減少	異常なし	異常なし	♂: 投与翌日増加、投与後3日に増加抑制傾向、投

						与後7日 に減少、 ♀：投与 後3日に 増加抑制 傾向、投 与後7日 に増加
剖 検	異常なし	異常なし	♂♀： 小腸部 暗赤色 化 ♂：小 腸及び 大腸の 黒赤色 内容物 の貯 留、肺 の収縮 不全 ♀：腎	異常なし	異常なし	♂：脾臓 の肥大、 小腸粘膜 の暗赤色 化、前胃 胃壁の肥 厚、腎臓 の暗赤色 点 ♀： 脾臓の肥 大、胸水 の貯留、 食道粘膜 の暗赤色

			臓の暗赤色点及び前胃胃壁の肥厚			化、前胃粘膜の暗赤色点、小腸粘膜の暗赤色化、小腸及び大腸の黒赤色内容物の貯留
腹腔内観察	♂♀：透明固形物の残留	♂♀：透明固形物の残留	♂♀：半透明液体の貯留	♂♀：透明固形物の残留	♂♀：透明固形物の残留	♂♀：半透明液体の貯留

2. TGP-37 及び TGP-20 のラットにおける単回復腔内投与毒性試験

要 約

1 群雌雄各 5 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットにメビオールジェル (TGP-20 及び TGP-37) の 200,1000 及び 2000 mg/kg を単回復腔内投与し、その急性期の毒性徴候について検討した。なお、本被験物質は 10,50 及び 100 mg/mL となるように生理食塩液に溶解し、20 mL/kg の容量で投与した。また、対照群には各被験物質群と同容量の生理食塩液を投与した。各投与液は投与直前まで氷冷にて保持した。

観察期間は、I 群で 7 日間、II 群で 14 日間とし、観察期間中に一般状態観察及び体重測

定を実施するとともに、観察期間終了時に剖検及び腹腔内残留物の観察を実施した。

< I 群 >

対照群では、一般状態の観察、体重及び剖検において、異常は認められなかった。

TGP-20 群では、一般状態の観察において、1000 mg/kg 群の雌雄で活動性低下、雌で皮膚蒼白が認められた。体重では、200 及び 1000 mg/kg 群の雌雄で体重減少あるいは体重増加抑制が認められ、体重値はこれらの群の雌雄で低値を示した。剖検では、200 mg/kg 群の雄で腎臓の褪色が認められた。1000 mg/kg 群では、雌雄で腎臓の褪色及び肥大、脾臓周囲の浮腫状変化、胸水の貯留がみられ、雄で腎臓の暗赤色点、腺胃粘膜の暗赤色点及び腺胃の浮腫状変化、雌で盲腸粘膜の暗赤色斑及び皮下の浮腫状変化が認められた。2000 mg/kg 群では、雌雄で小腸漿膜の暗赤色化がみられ、雄で脾臓周囲の浮腫状変化が認められた。腹腔内残留物の観察では、1000 mg/kg 群の雌雄各 4 例でゾル状の残留物（約 1~20mL）がみられ、2000 mg/kg 群の雄 4 例及び雌 5 例でゲル状の残留物（約 0.5~4mL）、雄 1 例でゾル状の残留物（約 9mL）が認められた。

TGP-37 群では、1000 mg/kg 群の雄 1 例が投与後 4 日に死亡した。一般状態の観察では、1000 mg/kg 群の雄で活動性低下、2000 mg/kg 群の雌雄で皮膚蒼白、眼球蒼白及びタール様便がみられ、2000 mg/kg 群の雌 1 例では引きずり歩行も認められた。体重では、200 mg/kg 群の雄、1000 及び 2000 mg/kg 群の雌雄で体重減少がみられ、体重値は 1000 mg/kg 群の雄及び 2000 mg/kg 群の雌雄で低値を示した。なお、1000 mg/kg 群の雌では、投与後 7 日に体重増加が認められ、回復傾向が窺われた。生存例の剖検では、200 mg/kg 群の雄で腎臓の肥大がみられ、1000 mg/kg 群の雄で腎臓の褪色が認められた。2000 mg/kg 群では、雌雄で脾臓の肥大がみられ、雄で腎臓の暗赤色点、雌で腎臓の褪色及び脾臓周囲の浮腫状変化が認められた。そのほか、引きずり歩行を示した 1000 mg/kg 群の雌 1 例で腰部神経根の暗赤

色点が認められた。死亡例の剖検では、1000 mg/kg 群の雄 1 例で腎臓の暗赤色点及び褪色、盲腸粘膜の暗赤色点、胸水の貯留並びに期間内に泡沫状液体の貯留が認められた。腹腔内残留物の観察では、TGP-37 群の生存例及び死亡例のいずれにも腹腔内残留物は認められなかった。

< II 群 >

対照群では、一般状態の観察、体重及び剖検において、異常は認められなかった。

TGP-20 群では、1000 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例が投与後 12 ないし 14 日に死亡した。観察期間前期（投与日～投与後 7 日）の一般状態の観察及び体重では、各群で I 群とほぼ同様の変化が認められた。観察期間後期（投与後 8～14 日）の一般状態の観察では、1000 mg/kg 群の雄雌で新たに腹部膨満、呼吸緩徐、体温低下、尿による下腹部汚染あるいは皮膚の腫脹が認められた。観察期間後期の体重では、1000 mg/kg 群の雄で体重増加抑制が認められ、体重値は 200 mg/kg 群の雄、1000 mg/kg 群の雌雄及び 2000 mg/kg 群の雄で低値を示した。生存例の剖検では、I 群とほぼ同様の変化がみられたが、投与後 7 日に比べて、消化管の出血性変化を示す例数はやや減少する傾向にあった。そのほか、1000 mg/kg 群の雄で前胃の浮腫状変化、1000 mg/kg 群の雌及び 2000 mg/kg 群の雌雄で脾臓の肥大が認められた。死亡例の剖検では、1000 mg/kg 群の雄 2 例で腎臓の肥大、胸水の貯留並びに胸腺の小型化がみられ、このうち 1 例では腎臓の暗赤色点及び褪色、並びに肺の暗赤色化も認められた。また、同群の雌 1 例で腎臓の褪色及び皮下の浮腫状変化がみられ、肺の暗赤色化も認められた。生存例の腹腔内残留物観察では、1000 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例でゾル状の残留物（約 15.5～20mL）、2000 mg/kg 群の雌雄各 4 例でゲル状の残留物（約 0.5～2mL）がみられ、投与後 7 日に比べて、残留物量は 1000 mg/kg 群ではやや増加する傾向が、2000

mg/kg 群ではほぼ同様かやや減少する傾向が認められた。死亡例の腹腔内残留物の観察では、1000 mg/kg 群の雄 1 例にゾル状の残留物（約 3mL）がみられた。

TGP-37 群では、観察期間前期の一般状態の観察及び体重において、各群で I 群とほぼ同様の変化が認められた。観察期間後期の一般状態の観察では、観察期間前期に引き続き 1000 及び 2000 mg/kg 群の雄で活動性低下、2000 mg/kg 群の雌雄で皮膚蒼白、同群の雄で眼球蒼白が認められたが、これらの症状は投与後 13 日までにすべて消失した。観察期間後期の体重では、1000 及び 2000 mg/kg 群の雄で体重値は低値を示した。1000 及び 2000 mg/kg 群の雌では投与後 10 日に体重増加が認められ、回復傾向が窺われた。投与後 14 日の剖検では、I 群とほぼ同様の変化がみられたが、投与後 7 日に 200 あるいは 2000 mg/kg 群でみられた腎臓の肥大及び暗赤色点は、投与後 14 日には認められなかった。投与後 14 日の腹腔内残留物の観察では、TGP-37 群の雌雄いずれにも腹腔内残留物は認められなかった。

試験群構成

投与群	投与量	投与液濃度	投与容量	性別	動物数
	(mg/kg)	(w/v%)	(mL/kg)		
媒体対照群	-	-	20	♂	5
				♀	5
TGP-20 低用量群	200	1	20	♂	5
				♀	5
TGP-20 中間用量群	1000	5	20	♂	5
				♀	5
TGP-20 高用量群	2000	10	20	♂	5
				♀	5
TGP-37 低用量群	200	1	20	♂	5
				♀	5
TGP-37 中間用量群	1000	5	20	♂	5
				♀	5
TGP-37 高用量群	2000	10	20	♂	5
				♀	5
媒体対照群	-	-	20	♂	5
				♀	5
TGP-20 低用量群	200	1	20	♂	5
				♀	5

II 群	TGP-20				♂	5
	中間用量群	1000	5	20	♀	5
	TGP-20				♂	5
	高用量群	2000	10	20	♀	5
	TGP-37				♂	5
	低用量群	200	1	20	♀	5
	TGP-37				♂	5
	中間用量群	1000	5	20	♀	5
	TGP-37				♂	5
	高用量群	2000	10	20	♀	5

単回投与毒性試験成績

1) 観察期間：I群（7日間）

動物種, 月齢, 体重	ラット, 6週齢, ♂: 165.6~196.4g / ♀: 124.5~146.5g					
投与経路 (方法)	単回腹腔内投与					
投与量 (mg/kg)	200	1000	2000	200	1000	2000
	TGP-20	TGP-20	TGP-20	TGP-37	TGP-37	TGP-37
動物数	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5
死亡数	0	0	0	0	♂:1	♀:1
一般状態	異常なし	♂♀:活動性低下、♀:皮膚蒼白	♀:皮膚蒼白	異常なし	♂:活動性低下	♂♀:皮膚蒼白、眼球蒼白、タール様便、♀:引きずり歩行
体重	♂♀:体重減少あるいは体重増加抑制	♂♀:体重減少あるいは体重増加抑制	♂:増加抑制傾向 ♀:減少	♂:体重減少	♂♀:体重減少、♀:体重増加	♂♀:体重減少
剖検	♂:腎臓の褪色	♂♀:腎臓の褪色及び肥大、脾臓周囲の浮腫状変化、胸水の貯留、♂:腎臓の暗赤色点、腺胃粘膜の暗赤色点、腺胃の浮腫状変化、♀:盲腸粘膜の暗赤色斑及び皮下の浮	♂♀:小腸漿膜の暗赤色化、♂:脾臓周囲の浮腫状変化	♂:腎臓の肥大	♂:腎臓の褪色、♀:引きずり歩行、腰部神経根の暗赤色点、♂(死亡例):腎臓の暗赤色点及び褪色、盲腸粘膜の暗赤色点、胸水の貯留、気管内に泡沫上液体の貯留	♂♀:脾臓の肥大、♂:腎臓の暗赤色点、♀:腎臓の褪色、脾臓周囲の浮腫状変化

		腫状変化				
腹腔内観察		♂♀：ゾル状の残留物	♂♀：ゲル状の残留物、♂：ゾル状の残留物			

2) 観察期間：II群（14日間）

動物種, 月齢, 体重	ラット, 6週齢, ♂：165.6~196.4g / ♀：124.5~146.5g					
投与経路（方法）	単回腹腔内投与					
投与量（mg/kg）	200	1000	2000	200	1000	2000
	TGP-20	TGP-20	TGP-20	TGP-37	TGP-37	TGP-37
動物数	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5	♂5, ♀5
死亡数	0	♂：2♀：1	0	0	♂：1	♀：1
一般状態	異常なし	♂♀：腹部膨満、呼吸緩徐、体温低下、尿による下腹部汚染、皮膚の腫脹		異常なし	♂：活動性低下	♂：活動性低下、♂♀：皮膚蒼白、眼球蒼白、タール様便、♀：引きずり歩行
体重		♂：体重増加抑制			♀：体重増加	♀：体重増加
剖検		♂：前胃の浮腫状変化、♀：腎臓の肥大、♂（死亡例）：腎臓の肥大、胸水の貯留、胸腺の小型化、腎臓の暗赤色点、褪色、肺の暗	♂♀：腎臓の肥大			

		赤色化、♀ (死亡例)： 腎臓の褪色、 皮下の浮腫 状変化、肺の 暗赤色化				
腹腔内観察		♂♀：ゾル 状の残留物	♂♀：ゲル 状の残留 物、♂：ゾル 状の残留物			

3. TGP-37 のウサギにおける皮膚一次刺激性試験

要 約

TGP-37 の皮膚一次刺激性を、New Zealand White 種雄性ウサギを用いて検討した。

TGP-37 では、貼付 24 時間後の観察において 2 例の健常皮膚及び 3 例の損傷皮膚にごく軽度の紅斑が認められた。しかし、この皮膚反応は貼付 48 時間後の観察ですべて消失した。

生理食塩液では、各観察時間を通して全例の健常及び損傷皮膚において皮膚反応は認められなかった。

TGP-37 及び生理食塩液の一次刺激指数(P.I.I.)は 0.2 及び 0.0 であり、刺激性の程度はいずれも「弱い刺激物」に評価された。

以上、本試験条件下でみられた TGP-37 の刺激性は弱く、その反応は速やかに消失するものであった。

試験群構成

TGP-37 並びに生理食塩液を同一動物に投与する 1 群のみとし、動物は 6 匹を使用した。

投与物質	投与量 (mL/site)	性別	投与動物数
TGP-37	0.5	♂	6
生理食塩液	0.5		6

<皮膚反応の評価基準>

皮膚の状態	評点
紅斑と痂皮形成	
紅斑なし	0
ごく軽度の紅斑（やっと認める程度）	1
明らかな紅斑	2
中等度から強い紅斑	3
強い紅斑（深紅色）に軽い痂皮形成（深部に傷害）	4
浮腫形成	
浮腫なし	0
ごく軽度の浮腫（やっと認める程度）	1
軽度の浮腫（領域の縁が明らかな盛り上がりで区別できる）	2
中等度の浮腫（約 1 mm 程度盛り上がっている）	3
強い浮腫（1 mm 以上盛り上がり、暴露領域を越えて広がる）	4

<刺激性の評価>

平均評点	評価区分
2 以下	弱い刺激物
2 より大きく 5 以下	中等度刺激物
5 より大きく 8 以下	強い刺激物

4. TGP-37 のウサギにおける皮膚累積刺激性試験

要 約

TGP-37 の皮膚累積刺激性を、New Zealand White 種雄性ウサギを用いて、2 週間連続閉塞貼付により検討した。

TGP-37 では、貼付期間を通して全例の健常及び損傷皮膚でごく軽度ないし明らかな紅斑及びごく軽度の浮腫が認められ、このうち、6 例中 1 例の損傷皮膚で中等度から強い紅斑が認められた。貼付期間を通した総平均値は 1.5 であり、刺激性の程度は「弱い刺激物」に評価された。

生理食塩液では、貼付期間を通して 6 例中 3 例健常及び 6 例中 2 例の損傷皮膚においてごく軽度の紅斑が認められた。貼付期間を通した総平均値は 0.2 であり、刺激性の程度は「弱い刺激物」に評価された。

以上、本試験条件下で TGP-37 はウサギの皮膚に対して弱い累積刺激性が認められた。

試験群構成

TGP-37 並びに生理食塩液を同一動物に投与する 1 群のみとし、動物は 6 匹を使用した。

投与物質	投与量 (mL/site)	性別	投与動物数
TGP-37	0.5	♂	6
生理食塩液	0.5		6

<皮膚反応の評価基準>

皮膚の状態	評点
紅斑と痂皮形成	
紅斑なし	0
ごく軽度の紅斑（やっとな認める程度）	1
明らかな紅斑	2
中等度から強い紅斑	3
強い紅斑（深紅色）に軽い痂皮形成（深部に傷害）	4
浮腫形成	
浮腫なし	0
ごく軽度の浮腫（やっとな認める程度）	1
軽度の浮腫（領域の縁が明らかな盛り上がりで区別できる）	2
中等度の浮腫（約 1 mm 程度盛り上がっている）	3
強い浮腫（1 mm 以上盛り上がり、暴露領域を越えて広がる）	4

<刺激性の評価>

平均評点	評価区分
2 以下	弱い刺激物
2 より大きく 5 以下	中等度刺激物
5 より大きく 8 以下	強い刺激物

5. TGP-37 及び TGP-20 のウサギにおける 2 週間皮膚累積刺激性試験

要 約

TGP-37 及び TGP-20 の皮膚累積刺激性を、New Zealand White 種雄性ウサギを用いて、2 週間連続塗布により検討した。

TGP-37, TGP-20 及び生理食塩液のいずれも塗布期間を通して全例の健常及び損傷皮膚に皮膚反応は認められなかった。TGP-37, TGP-20 及び生理食塩液の塗布期間を通じた総平均値は 0 であり、いずれも刺激性の程度は「弱い刺激物」に評価された。

以上、本試験条件下では、TGP-37 及び TGP-20 のウサギの皮膚に対する累積刺激性は認められなかった。

試験群構成

TGP-37 及び TGP-20 並びに生理食塩液を同一動物に投与する 1 群のみとし、動物は 6 匹を

使
た。

投与物質	投与量 (mL/site)	性別	投与動物数
TGP-37	0.1	♂	6
TGP-20	0.1		6
生理食塩液	0.1		6

用し

<皮膚反応の評価基準>

皮膚の状態	評点
紅斑と痂皮形成	
紅斑なし	0
ごく軽度の紅斑（やっと認める程度）	1
明らかな紅斑	2
中等度から強い紅斑	3
強い紅斑（深紅色）に軽い痂皮形成（深部に傷害）	4
浮腫形成	
浮腫なし	0
ごく軽度の浮腫（やっと認める程度）	1
軽度の浮腫（領域の縁が明らかな盛り上がりで区別できる）	2
中等度の浮腫（約 1 mm 程度盛り上がっている）	3
強い浮腫（1 mm 以上盛り上がり、暴露領域を越えて広がる）	4

<刺激性の評価>

平均評点	評価区分
2 以下	弱い刺激物
2 より大きく 5 以下	中等度刺激物
5 より大きく 8 以下	強い刺激物

6. TGP-37 のモルモットにおける皮膚感作性試験

要 約

TGP-37 の皮膚感作性を、Hartley 系雌性モルモットを用いた Maximization Test 法により検討した。陽性対照に 2,4-ジニトロクロルベンゼン (DNCB) を、その媒体に白色ワセリンを使用した。

陽性対照の DNCB で感作した動物を DNCB で惹起した場合、感作性による明らかな皮膚反応が全例でみられ、動物の反応性には問題がなかった。

10w/v %TGP-37 で感作した動物を 10w/v %TGP-37 で惹起した場合、1 例に皮膚反応がみられ、陽性率 10%となることから、皮膚感作性はグレード II の「軽度」に評価された。また、1w/v %TGP-37 で感作した動物を 1w/v %TGP-37 で惹起した場合、全例に皮膚反応はみられず、皮膚感作性はグレード I の「弱度」に評価された。

以上、本試験条件下で TGP-37 は、10w/v %溶液で「軽度」、1w/v %溶液で「弱度」の皮膚感作性に評価された。

4. 試験群構成, 投与量設定の根拠及び群分け

4.1. 感作時

群番号	感作物質	感 作						性別	動物数
		皮 内 投 与				貼 付			
		FCA(-)		FCA(+)		投与液濃度	投与量		
		投与液濃度	投与液量	投与液濃度	投与液量				
I	TGP-37	10 w/v %	0.1 mL/site	10 w/v %	0.1 mL/site	10 w/v %	0.2 mL/body	♀	10
II	TGP-37	1 w/v %	0.1 mL/site	1 w/v %	0.1 mL/site	1 w/v %	0.2 mL/body	♀	10
III	DNCB	0.1 w/v %	0.1 mL/site	0.1 w/v %	0.1 mL/site	1 w/v %	0.2 g/body	♀	5

4.2. 惹起時

群番号	感作物質	惹 起				性別	動物数
		惹起物質	投与濃度	投与量	投与経路		
I	TGP-37	TGP-37	10 w/v %	0.1 mL/body	閉塞貼付	♀	10
II	TGP-37	TGP-37	1 w/v %	0.1 mL/body	閉塞貼付	♀	10
III	DNCB	DNCB	0.1 w/v %	0.1 g/body	閉塞貼付	♀	5
		白色ワセリン	-	0.1 g/body	閉塞貼付		

- : 媒体のみ投与のため、濃度記載せず

6. 適用皮膚の観察及び判定

<皮膚反応の判定基準>

程度	皮膚の状態
-	反応は認められない
+	かすかな紅斑（軽度）
++	中等度の紅斑
+++	強い紅斑と浮腫
++++	痂皮又は壊死

<皮膚感作性の評価基準>

陽性率 (%)	グレード*	皮膚感作性の分類
0~ 8	I	弱度(Weak)
9~ 28	II	軽度(Mild)
29~ 64	III	中等度(Moderate)
65~ 80	IV	強度(Strong)
81~100	V	極めて強度(Extreme)

7. TGP20 の細菌を用いる復帰突然変異試験

要 約

Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で TGP20 の変異原性を調べた。

用量設定試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22 μg /プレートで実施した結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても被験物質処理群における復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった。また、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められず、プレート上に沈殿物も認められなかった。

これらの結果をもとに本試験では、すべての菌株について 5000, 2500, 1250, 625, 313 μg /プレートの 5 用量を設定した。

本試験の結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった。また、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株についても菌の生育阻害は認められず、プレート上に沈殿物も認められなかった。

以上の結果から、TGP20 は細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有さない（陰性）と結論した。

8. TGP20 のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

要 約

雌チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 CHL/IU を用い、TGP20 の *in vitro* における染色体異常試験を実施した。

予備試験の結果に基づいて、細胞増殖抑制試験は、短時間処理法の S9 mix 非共存下、S9 mix 共存下および連続処理法 24 時間処理において、313, 625, 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g/mL}$ を設定した。その結果、いずれの処理条件においても、50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。

この結果に基づき、染色体異常試験は、いずれの処理条件についても 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g/mL}$ を設定した。標本観察の結果、いずれの処理条件のいずれの被験物質処理群においても、染色体構造異常および数的異常を持つ細胞の出現頻度は 5%未満であった。

従って、TGP20 は、本試験条件下において CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性を有しないと結論した。

9. TGP-37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験 (ASA 反応)

要 約

TGP-37 及び TGP-20 の安全性に関する非臨床試験の一環として、モルモットにおける抗原性を能動全身アナフィラキシー (ASA) 反応により検討した。

1. 予備検討試験

TGP-20 及び TGP-37 をいずれも 100, 10 mg/mL 及び 1 mg/mL 溶液として 1 mL/kg で静脈内投与した。TGP-20 100 mg/mL 溶液は注射針を通過せず、TGP-37 100 mg/mL 溶液は注射針を通過しにくかった。一方、TGP-20 並びに TGP-37 は、いずれも 10 mg/mL 以下の濃度の溶液では容易に注射針を通過した。また、TGP-20 の濃度 10 mg/mL 以下及び TGP-37 の濃度 100 mg/mL 以下では、静脈内投与後 1 時間以内に全身症状は発現しなかった。以上の結果から、惹起時の静脈内投与で全身症状が発現しない投与量・投与濃度として、TGP-20 及び TGP-37 は、ともに同じ 1 mL/kg (10 mg/mL) に設定するのが適切と考えられた。

2. ASA 試験

OVA を FCA とともに感作した群 (III群) で OVA による惹起で全例が ASA 反応陽性を示した。OVA により動物に感作が成立し、確実にアナフィラキシー反応が惹起されており、使用動物の反応性に問題がないことを確認した。陽性対照である OVA に明らかな抗原性を確認した条件下で、TGP-20 を FCA とともに感作する群 (I群) で TGP-20 惹起を、TGP-37 を FCA とともに感作する群 (II群) で TGP-37 惹起を行ったが、いずれも ASA 反応は発現しなかった。

以上、本試験条件下で TGP-20 及び TGP-37 は、いずれも抗原性を有しないものと考えられた。

4.1. 予備検討試験

試験群構成

投与物質名	投与経路	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与液量 (mL/kg)	動物数
TGP-20	静脈内投与	100	100	1	2
		10	10	1	2
		1	1	1	2
		0.1	0.1	1	2
TGP-37	静脈内投与	100	100	1	2
		10	10	1	2
		1	1	1	2
		0.1	0.1	1	2

4.2. ASA 試験

試験群構成

(1) 感作時

群番号	感 作						
	試験物質名	投与経路	投与回数	投与量 (mg/kg)	投与液濃度 ^{a)} (mg/mL)	投与液量 (mL/kg)	動物数
I	TGP-20 +FCA	皮下	1回/週×3	100	50	2	5
II	TGP-37 +FCA	皮下	1回/週×3	100	50	2	5
III	OVA +FCA	皮下	1回/週×3	2	1	2	5

a) FCA との良好な乳化物ができる濃度に設定した。

(2) 惹起時

群番号	惹起用投与液	ASA 反応		
		投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与液量 (mL/kg)
I	TGP-20	10	10 ^{b)}	1
II	TGP-37	10	10 ^{b)}	1
III	OVA	2	2	1

b) 予備検討試験の結果から静脈内投与が可能で全身症状がみられない最高濃度として設定した。

10. TGP - 37 及び TGP-20 のモルモット抗原性試験 (PCA 反応)

要 約

TGP-37 及び TGP-20 の安全性に関する非臨床試験の一環として、モルモットにおける抗原性を受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応により検討した。

OVA を FCA とともに感作した群 (Ⅲ群) から得た血清は、OVA による惹起で全例が PCA 反応陽性 (抗体価 592 倍以上) を示した。OVA により動物に感作が成立し、確実にアナフィラキシー反応が惹起されており、使用動物の反応性に問題がないことを確認した。陽性対照である OVA に明らかな抗原性を確認した条件下で、TGP-20 を FCA とともに感作する群 (Ⅰ群) から得た血清は TGP-37 による惹起で、いずれも PCA 反応は認められなかった。従って、TGP-20 及び TGP-37 については、いずれもアナフィラキシー抗体は検出されなかった。

以上、本試験条件下で TGP-20 及び TGP-37 は、いずれもモルモットに抗原性を有しないものと考えられた。

4.1. PCA 試験

試験群構成

(1) 惹起時

群番号	惹起用 投与液	ASA 反応		
		投与量 (mg/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	投与液量 (mL/kg)
I	TGP-20	10	10 ^{a)}	1
II	TGP-37	10	10 ^{a)}	1
III	OVA	2	2	1

- a) 予備検討試験の結果から静脈内投与が可能で全身症状がみられない最高濃度として設定した。

1 1. メビオールジェル (TGP-20) のウサギを用いた眼刺激性試験

要 約

メビオールジェル (TGP-20) の眼に対する刺激性を検討するため、日本白色種雌 SPF ウサギを用いて眼刺激性試験を実施した。すなわち、メビオールジェルはポリマー重合体であり、熱可逆性ゾル-ゲル転移の性質を有するため、投与濃度は生理食塩水を媒体にゲルを呈する 10%を高用量とし、中用量はゾルを呈する 4%、低容量は中容量の 1/10 の 0.4%を設定し、非洗眼動物として 3 匹のウサギの眼にそれぞれ 0.1mL ずつ投与し、眼刺激性反応の変化と一般状態及び体重を経時的に観察した。

1. 10%及び4%では、結膜の発赤が投与1時間後にそれぞれ3/3全例及び1/3例に出現したが、いずれも24時間後に消失し、角膜及び虹彩の変化、結膜の浮腫並びに眼脂分泌は見られなかった。投与24時間後におけるフルオレセインによる角膜の染色斑も見られなかった。平均総評点（以下 MTS と略す）及び最大平均総評点（以下 MMTS と略す）は投与1時間後において10%では2.0、4%では0.7であった。ゲルを呈する10%の投与物質は投与1時間後において1/3例の結膜囊内に見られたが、他の2例では見られず、脱落したと判断した。
2. 0.4%では、角膜及び虹彩の変化、結膜の発赤及び浮腫並びに眼脂分泌のいずれも見られず、投与24時間後におけるフルオレセインによる角膜の染色斑も見られなかった。MTS は各時点において0、MMTS は0であった。
3. 一般状態及び体重には投与物質に起因した影響は認められなかった。

以上のように、本試験条件下においてメビオールジェルのウサギの眼に対する刺激性は、10%及び4%では投与1時間後に2.0及び0.7のMMTSを示したが24時間後に刺激性の消失を認め「實際上刺激性なし」、0.4%ではMMTSは0であり「刺激性なし」と判断した。

試験群構成

試験群	動物数
高用量群	3
中用量群	3
低用量群	3

眼の刺激性試験の局所反応の判定基準（Draize の基準：1959 年）

項 目	反応の強さ
角 膜	
A) 混濁の強さの程度（最も濃い領域を判定する）	
混濁なし	0
散在性又はびまん性の混濁、虹彩の細部ははっきり認める	1
用意に識別可能な半透明の領域、虹彩の細部はわずかに不明瞭	2
乳白色領域、虹彩の詳細は見えない、瞳孔径はかろうじて観察可能	3
白濁、虹彩は見えない	4
B) 混濁の広さ	
1/4 以下、しかし 0 ではない	1
1/4 より大で、1/2 以下	2
1/2 より大で、3/4 以下	3
3/4 より大で全面積まで	4
点数 I = A × B × 5 最大値 80	
虹 彩	
A) 等級	
正常	0
正常を超えるひだ、充血、腫脹、角膜周辺部の充血（いずれか一つ、又は組み合せ）、対光反応あり（ゆるやかな反応は陽性）	1
対光反応なし、出血、肉眼的組織の破壊（いずれか一つ、又はすべて）	2
点数 II = A × 5 最大値 10	
結 膜	
A) 発赤（角膜と虹彩以外の眼瞼及び眼球結膜に関して）	
血管正常	0
一部血管が明らかに充血	1
びまん性の深紅色を呈し、個々の血管は容易に見分けられない	2
びまん性の牛肉様赤色	3
B) 浮腫	
腫脹なし	0
正常を超える腫脹（瞬膜を含む）	1
眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹	2
眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹	3
眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹	4
C) 分泌物	

分泌物なし	0
正常と違う量の分泌物 (正常動物の内眼角に認められる程度の少量の分泌は除く)	1
眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす分泌物	2
眼瞼と毛と眼の周囲のかなりの区域を濡らす分泌物	3
点数Ⅲ = (A+B+C) × 2	最大値 20
合計評点 = 点数Ⅰ + 点数Ⅱ + 点数Ⅲ	最大合計評点 110

12. メビオールジェル (TGP-20) のラットを用いた単回静脈内及び腹腔内投与毒性試験

1. 予備試験

投与量、投与液濃度、投与容量、性及び動物数を下表に示す。

静脈内投与

投与量 (mg/kg)	投与量濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性別	動物数
0 対照群	0 (生理食塩水)	10	♂	3
			♀	3
50	10	5	♂	3
			♀	3
100	10	10	♂	3
			♀	3
50	40	1.25	♂	3
			♀	3
100	40	2.5	♂	3
			♀	3

腹腔内投与

投与量 (mg/kg)	投与量濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性別	動物数
0 対照群	0 (生理食塩水)	10	♂	3
			♀	3
50	10	5	♂	3
			♀	3
100	10	10	♂	3
			♀	3
50	40	1.25	♂	3
			♀	3
100	40	2.5	♂	3
			♀	3

1) 死亡状況 (Table1-1、1-2)

静脈内及び腹腔内投与のいずれの動物においても、死亡はみられなかった。

2) 一般状態 (Table2-1、2-2)

静脈内及び腹腔内投与のいずれの動物においても、異常はみられなかった。

3) 体重 (Fig.1-1、1-2、Table3-1、3-2)

① 静脈内投与

10mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日 (投与 1 日後) に体重減少したが、投与 2 日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示した。40mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日 (投与 1 日後) に体重増加の抑制がみられたが、投与 2 日後以降対照群と同等の体重増加を示した。

② 腹腔内投与

10mg/mL 液の 50mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日 (投与 1 日後) に軽微な体重増加の抑制がみられたが、投与 2 日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示した。

40mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg 投与群では、雄で対照群とほぼ同等の体重増加を示した。雌では投与翌日 (投与 1 日後) に軽微な体重増加の抑制がみられたが、投与 2 日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示した。

4) 摂餌量 (Fig.2-1~2-4、Table4-1、4-2)

① 静脈内投与

10mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日 (投与 1 日後) の摂餌量に有意な低値を示したが、投与 7 日後には対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。40mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg 投与群では、雄で軽微な摂餌量の低値を示したが、投与 7 日後には対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。雌では対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。

② 腹腔内投与

10 及び 40mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日 (投与 1 日後) に用量に関連して低値又は有意な低値を示したが、投与 7 日後には対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。

5) 剖検所見 (Table5-1、5-2)

① 静脈内投与

いずれの動物にも異常はみられなかった。

② 腹腔内投与

脾 臓 : 大型化が 40mg/mL 液の 100mg/kg 投与群の雄で 3 例にみられた。

腎 臓 : 大型化が 40mg/mL 液の 100mg/kg 投与群の雄で 2 例にみられた。

本被験物質の 10 及び 40mg/mL 液の 50 及び 100mg/kg を静脈内及び腹腔内に単回投与した場合、投与翌日（投与 1 日後）に体重増加の抑制、体重減少あるいは摂餌量の低値が認められ、脾臓と腎臓の大型化がみられた。これら変化の程度は 40mg/mL 液より 10mg/mL 液で、腹腔内投与より静脈内投与で、かつ用量の増加に伴い強く認められた。これらのことから、投与翌日（投与 1 日後）に体重減少もしくは摂餌量の低値が認められると予想される 10mg/mL 液の 100mg/kg を高用量とし、以下公比約 3 で除して 30 及び 10 mg/kg をそれぞれ中及び低用量に設定した。これに被験物質のゾル状態とゲル状態の毒性を比較するために、60mg/mL 液の 100mg/kg を腹腔内投与群に加えた。

2. 本試験

投与量、投与液濃度、投与容量、性及び動物数を下表に示す。

静脈内投与

投与量 (mg/kg)	投与量濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性別	動物数	
				投与 7 日後剖 検	投与 14 日後剖 検
0	0 (生理食塩水)	10	♂	5	5
			♀	5	5
10	10	1	♂	5	5
			♀	5	5
30	10	3	♂	5	5
			♀	5	5
100	10	10	♂	5	5
			♀	5	5

腹腔内投与

投与量 (mg/kg)	投与量濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性別	動物数	
				投与 7 日後剖 検	投与 14 日後剖 検
0	0 (生理食塩水)	10	♂	5	5
			♀	5	5
10	10	1	♂	5	5
			♀	5	5
30	10	3	♂	5	5
			♀	5	5
100	10	10	♂	5	5
			♀	5	5
100	60 (ゲル化濃度)	1.67	♂	5	5
			♀	5	5

1) 死亡状況 (Table6-1、6-2)

静脈内及び腹腔内投与のいずれの動物においても、死亡はみられなかった。

2) 一般状態 (Table7-1、7-2)

静脈内及び腹腔内投与のいずれの動物においても、異常はみられなかった。

3) 体重 (Fig.3-1、3-2、Table8-1、8-2)

① 静脈内投与

10mg/kg 投与群では、雌雄ともに対照群とほぼ同等の体重増加を示し、有意差は認められなかった。

30mg/kg 投与群では、雄で投与翌日（投与1日後）に体重減少、投与2日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示したが、有意差は認められなかった。雄では対照群とほぼ同等の体重増加を示し、有意差は認められなかった。

100mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日（投与1日後）に体重減少、その後対照群と同等の体重増加を示したが、雄で投与後7日後に有意な低値が認められた。一方、雌では対照群の間に有意差は認められなかった。

② 腹腔内投与

10mg/kg 投与群では、雌雄ともに対照群とほぼ同等の体重増加を示し、有意差は認められなかった。

30mg/kg 投与群では、雄で投与翌日（投与1日後）に体重増加の抑制、投与2日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示したが、有意差は認められなかった。雌では対照群と同等もしくは上回る体重増加を示し、有意差は認められなかった。

100mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日（投与1日後）に体重減少したが、投与2日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示した。しかし、投与翌日（投与1日後）の体重減少が雄で著しく、投与1及び2日後に有意な低値が認められた。ゲル化濃度の60mg/mL液の100mg/kg投与群では、雄で投与翌日（投与1日後）及び投与2日後に軽微な体重増加の抑制、投与3日後以降対照群と同等もしくは上回る体重増加を示したが、有意差は認められなかった。雌では対照群とほぼ同等の体重増加を示し、有意差は認められなかった。

4) 摂餌量 (Fig.4-1~4-4、Table9-1、9-2)

① 静脈内投与

10mg/kg 投与群では、雌雄ともに対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。なお、雄の投与7日後の摂餌量に有意な低値が認められたが、一時的な変化であり、かつ用量との関連性がないことから被験物質投与との関連はないと考えられる。

30mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日（投与1日後）の摂餌量の有意な低値が認められたが、投与後2日後以降は対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。

100mg/mL 投与群では、雌雄ともに投与翌日（投与1日後）に摂餌量の有意な低値、更に雄で投与2日後に摂餌量の有意な低値が認められたが、その後は対照群とほぼ同等の摂餌量を示した。

② 腹腔内投与

10mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日（投与1日後）に対照群とほぼ同等の摂

餌量を示し、有意差は認められなかった。

30mg/kg 投与群では、雄で投与翌日（投与 1 日後）に軽微な摂餌量の低値、投与 2 日後以降は対照群とほぼ同等の摂取量を示したが、有意差は認められなかった。雌では対照群とほぼ同等の摂取量を示し、有意差は認められなかった。

100 mg/kg 投与群では、雌雄ともに投与翌日（投与 1 日後）に摂餌量の有意な低値が認められたが、その後は対照群とほぼ同等の摂取量を示した。

ゲル化濃度の 60 mg/mL 液の 100 mg/kg 投与群では、雌雄ともに対照群とほぼ同等の摂餌量を示し、有意差は認められなかった。

5) 血液学検査 (Table 10-1~10-4)

いずれの検査項目にも被験物質投与による影響は認められなかった。

①静脈内投与

各被験物質投与群の雌雄ともに、いずれの検査項目においても対処群との間に有意差は認められなかった。

②腹腔内投与

各被験物質投与群及びゲル化濃度の 60 mg/mL 液の 100 mg/kg 投与群では、雌雄ともにいずれの検査項目においても対照群との間に有意差は認められなかった。

6) 血液化学検査 (Table 11-1~11-4)

Alp 活性の有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雄にみられ、被験物質投与との関連が疑われたが、他の検査項目には被験物質投与による影響は認められなかった。

①静脈内投与

10 及び 30 mg/kg 投与群では、雌雄ともにいずれの検査項目においても対照群との間に有意差は認められなかった。

100 mg/kg 投与群では、雄で Alp 活性の有意な低値が認められたが、雌にはみられない変化であった。なお、他の検査項目では対照群との間に有意差は認められなかった。

②腹腔内投与

10 mg/kg 投与群では、雌雄ともにいずれの検査項目においても対照群との間に有意差は認められなかった。

30 mg/kg 投与群では、雄のいずれの検査項目においても対照群との間に有意差は認められなかった。雌ではカリウムに有意な低値が認められたが、片性のみであり、かつ用量との関連性がないことから、被験物質投与との関連はないとの考えられる。

100 mg/kg 投与群では、雄雌ともにいずれの検査項目においても対照群との間に有意差は認められなかった。

ゲル化濃度の 60 mg/mL 液の 100 mg/kg 投与群では、雌雄ともにいずれの検査項目においても対照群との間に有意差は認められなかった。

7) 器官重量 (Table 12-1~12-8)

いずれの器官重量にも被験物質投与による影響は認められなかった。

①静脈内投与

以下の器官に対照群との間に有意差が認められたが、絶対又は相対重量のみの変化であり、かつ用量との関連がないことから、被験物質投与との関連はないと考えられる。

心臓：絶対重量の有意な低値が 30 mg/kg 投与群の雄に認められた。

甲状腺：相対重量の有意な定値が 10 mg/kg 投与群の雌に認められた。

②腹腔内投与

いずれの器官重量においても、対照群との間に有意差は認められなかった。

8) 剖検所見 (Table 13-1、13-2)

いずれの器官・組織にも被験物質投与による影響は認められなかった。なお、以下の器官に所見がみられたが、出現頻度及び病理学的性状から自然発生性の変化と考えられる。

①静脈内投与

腎臓：右側の無形性とその代償性大型化が 10 mg/kg 投与群の雌 1 例にみられた。

肺：暗赤色巣が対照群の雄 1 例と 10 mg/kg 投与群の雌 1 例にみられた。

②腹腔内投与

肝臓：癒着が対照群の雌 1 例にみられた。

甲状腺：右側の無形性が 100 mg/kg 投与群の雄 1 例にみられた。