

一般薬理試験及び毒性試験

1. 一般薬理試験(マウス、ウサギ、イヌ、ラット、*in vitro*)¹⁰⁾

試験項目	動物種	投与経路	投与量・濃度	試験成績
一般症状及び行動と中枢神経系に及ぼす影響	マウス	皮下	0.01, 0.1, 1mg/kg	1mg/kgでライジング数の減少(痛覚の抑制)が認められた
	ウサギ	静脈内	0.01, 0.1, 1mg/kg	0.1mg/kgで脳波レベルの割合に変化をきたし、1mg/kgで睡眠覚醒期脳波の安静期を増加させた
自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響	ラット摘出 非妊娠子宮	<i>In vitro</i> 添加	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁵ g/mLで子宮の自動運動に対して、筋緊張を亢進した
	ラット摘出 非妊娠子宮		10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁴ g/mLで子宮の収縮力に対して、収縮力の抑制を示した
	ラット摘出 妊娠子宮		10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁴ g/mLで子宮の収縮力に対して、収縮力の抑制傾向を示した
呼吸・循環器系に及ぼす影響	麻酔イヌ	静脈内	0.001, 0.01, 0.1mg/kg	0.01mg/kgで呼吸数、心拍数の増加傾向と血圧下降及び大腿血流量の減少が認められた
	無麻酔ラット	皮下	0.01, 0.1, 1mg/kg	1mg/kgで心拍数の増加傾向と軽度の血圧低下が認められた
	モルモット 摘出心房	<i>In vitro</i> 添加	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁴ g/mLで収縮力の抑制傾向が認められた
水及び電解質代謝に及ぼす影響	ラット	皮下	0.01, 0.1, 1mg/kg	1mg/kgで尿中Na ⁺ 排泄量の減少とNa ⁺ /K ⁺ 比の低下が認められた
その他の作用	ラット	足蹠皮下	0.005, 0.05, 0.5mg/site	0.005mgでカラゲニン浮腫を1日後から増強した

2. 毒性試験

(1) 単回投与毒性試験(ラット、イヌ)¹¹⁾

動物種	投与経路	概略の致死量(mg/kg)
ラット	経口	>73
ラット	皮下	>73
イヌ	皮下	>5

(2) 反復投与毒性試験(ラット、イヌ、サル)¹¹⁾

動物種	投与期間	投与経路	投与量・濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	無毒性量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)
ラット	1ヵ月	皮下	40, 200, 1000	40
		経皮	20, 200, 2000	2000
イヌ		皮下	30, 120, 480	30
ラット	3ヵ月	皮下	20, 80, 320	20
サル		皮下	15, 45, 135	15
ラット	6ヵ月	経皮	20, 200, 2000	2000
サル		皮下	5, 15, 45	15

(3) 生殖発生毒性試験(ラット、ウサギ)¹¹⁾

試験項目	動物種	投与経路	投与量・濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	無影響量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)
妊娠前及び 妊娠初期投与試験	ラット	皮下	25, 100, 400	親動物雄 25 親動物雌 100 生殖機能 100 胎児 400
器官形成期 投与試験	ラット	皮下	30, 120, 480	母動物・胎児・産児 480
	ウサギ	皮下	2.5, 25, 250	母動物・胎児 25
周産期及び授乳期 投与試験	ラット	皮下	30, 120, 480	母動物 30 産児 120

(4) その他の特殊毒性(マウス、ラット、イヌ、モルモット、*in vitro*)

試験項目		動物種	投与経路 (投与期間)	投与量・濃度	結果
遺伝毒性試験	復帰突然変異試験 ^{11,12)}	<i>S.Typhimurium</i> 及び <i>E.Coli</i>	<i>In vitro</i> 添加	25, 50, 100, 200, 400, 800µg/plate	陰性
	染色体異常試験 ^{11,13)}	チャイニーズ ハムスター 肺線維芽細胞	<i>In vitro</i> 添加	55, 110, 220, 440 µg/mL	直接法の最高用量処理群である440µg/mL に染色体異常細胞の増加が認められたが、こ の原因はトラフェルミン溶液に含まれる高濃 度のNaClに起因すると考えられた
	小核試験 ^{11,14)}	マウス	腹腔内	30, 60, 120mg/kg	陰性
がん原性試験	皮膚発がん イニシエーション試験 ¹¹⁾	マウス	皮下 (週2回 5週)	4, 40, 400 µg/site	トラフェルミンは皮膚発がんイニシエーショ ン作用を示さなかった
	皮膚発がん プロモーション試験 ^{11, 15)}	マウス	皮下 (週2回 20週)	0.4, 4, 40 µg/mouse	トラフェルミンは正常及び損傷皮膚において 皮膚発がんプロモーション作用を示さず、ま た既知プロモーター作用増強も認められな かった
		ヌードマウス	皮下 (週2回 20週)	4, 40 µg/site	抗トラフェルミン抗体が産生されない条件 下においてもトラフェルミンは皮膚発がんプロ モーション作用を示さなかった
	<i>In vitro</i> ヒト腫瘍細胞への作用に 関する試験 ^{11,16)}	ヒト腫瘍細胞	<i>In vitro</i> 添加	1, 10, 100, 1000 ng/mL	24種中6種(軟骨肉腫、胆管細胞がん、平滑 筋肉腫、口腔類表皮がん、扁平上皮がん、乳 がん)で細胞増殖促進作用が認められた
	<i>In vitro</i> トランスフォーム試験 ¹¹⁾	BALB/c 3T3 細胞	<i>In vitro</i> 添加	0.1, 1, 10, 100, 1000, 10000ng/mL	トラフェルミンには形質転換作用は認められ なかった
	ヌードマウス 長期反復皮下投与 毒性試験 ¹¹⁾	ヌードマウス	皮下 (週2回 15ヵ月)	0.4, 4, 40 µg/head	トラフェルミンに起因する腫瘍発生は認めら れなかった 無毒性量: 雌雄 0.4µg/head
	マウスメラノーマ細胞の 増殖及び転移に関する 試験 ^{11,17)}	マウス	移植部位(背, 足蹠) 及び 移植部の遠隔部位 (1日, 1-4日)	背:40µg/mouse 足蹠:4µg/mouse 移植部の遠隔部位: 20µg/mouse	腫瘍移植部位に直接投与した場合、B16-BL6 マウスメラノーマ細胞の増殖及び転移を促進 したが、移植部位から遠位部に投与した場合 には腫瘍細胞の増殖に影響を与えなかった
局所刺激性試験 ¹¹⁾		ラット	口腔内 (2週)	1.5mg/kg/day	投与部位に毒性を示唆する変化は認められ なかった
		イヌ	歯槽粘膜下 (単回)	0.1, 0.8% 500µL/site	骨膜の骨芽細胞様細胞の増生、粘膜固有層 の血管新生、線維芽細胞様細胞の遊走及び 小円形細胞浸潤が認められた。これらの病理 組織学的変化はトラフェルミンの薬理作用に 起因した変化と考えられた
			歯槽骨欠損部	0.1, 0.8% 250µL/site	歯槽骨の線維芽細胞様細胞の増生、間葉系 細胞増生、海綿状骨形成及び骨芽細胞様細 胞の増生が認められた。これらの病理組織学 的変化はトラフェルミンの薬理作用に起因し た変化と考えられた
抗原性試験	皮内反応試験 ^{11,18)}	モルモット	皮内	0.1mg/animal	トラフェルミンで感作した動物に対して、トラ フェルミンは明らかな免疫原性を示したが、 陽性対照物質のヒトアルブミンと比較すると 明らかに弱かった。また、熱及び光劣化品に よる新たな抗原性と宿主蛋白との交差反応 性は認められなかった
	全身性 アナフィラキシー試験 ^{11,18)}		静脈内	2mg/animal	
	受身皮膚 アナフィラキシー試験 ^{11,18)}		静脈内	5mg/animal	