目次

2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1 マウスを用いるグラチラマー酢酸塩の単回筋肉内投与毒性試験 9
2.6.6.2.2 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の単回皮下投与毒性試験 10
2.6.6.2.3 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の単回静脈内投与毒性試験 10
2.6.6.2.4 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩及び「臭化グラチラマー酢酸塩」の単回静脈内投与毒性試験 10
2.6.6.2.5 ラットを用いる「高フッ化グラチラマー酢酸塩」の単回静脈内投与毒性試験 11
2.6.6.2.6 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の単回静脈内投与毒性試験 11
2.6.6.2.7 イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の単回筋肉内・皮下投与毒性試験 12
2.6.6.3 反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1 マウスを用いるグラチラマー酢酸塩の 13 週間皮下投与毒性試験 13
2.6.6.3.2 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 4 週間皮下投与毒性試験 13
2.6.6.3.3 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 26 週間皮下投与毒性試験（重要な試験） 14
2.6.6.3.4 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 6 ヵ月間皮下・筋肉内投与毒性試験 17
2.6.6.3.5 ウサギを用いるグラチラマー酢酸塩の 6 ヵ月間筋肉内投与毒性試験 18
2.6.6.3.6 イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の 4 週間皮下投与毒性試験 19
2.6.6.3.7 イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の 36 日間皮下投与毒性試験 20
2.6.6.3.8 イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の 90 日間皮下投与毒性試験 20
2.6.6.3.9 サルを用いるグラチラマー酢酸塩の 28 日間皮下投与毒性試験 21
2.6.6.3.10 サルを用いるグラチラマー酢酸塩の 52 週間皮下投与毒性試験（重要な試験） 23
2.6.6.4 遺伝毒性試験 25
2.6.6.4.1 非哺乳動物細胞系での IN VITRO 試験 25
2.6.6.4.1.1 細菌を用いるグラチラマー酢酸塩の復帰突然変異試験 25
2.6.6.4.2 哺乳動物細胞系での IN VITRO 試験 26
2.6.6.4.2.1 グラチラマー酢酸塩のマウスリンフォーマ TK+/-試験 26
2.6.6.4.2.2 哺乳類培養細胞を用いるグラチラマー酢酸塩の IN VITRO 染色体異常試験 26
2.6.6.4.2.3 哺乳類培養細胞を用いるグラチラマー酢酸塩の IN VITRO 染色体異常試験 27
2.6.6.4.3 哺乳動物系での IN VIVO 試験 27
2.6.6.4.3.1 哺乳類赤血球を用いるグラチラマー酢酸塩の小核試験 27

2.6.6.5 がん原性試験 28
2.6.6.5.1 長期がん原性試験 28
2.6.6.5.1.1 マウスを用いるグラチラマー酢酸塩の 100 週間皮下投与がん原性試験 28
2.6.6.5.1.2 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 104 週間皮下投与がん原性試験 30
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 31
2.6.6.6.1 受胎能及び一般生殖能試験 31
2.6.6.6.1.1 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の受胎能及び一般生殖能試験（ICH STAGE A-F） 31
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 32
2.6.6.6.2.1 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の胚・胎児発生に関する試験（ICH STAGE C-D） 32
2.6.6.6.2.2 ウサギを用いるグラチラマー酢酸塩の胚・胎児発生に関する試験（ICH STAGE C-D） 33
2.6.6.6.3 周産期及び授乳期投与試験 34
2.6.6.6.3.1 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の周産期及び授乳期投与試験（ICH STAGE D-F） 34
2.6.6.7 局所刺激性試験 35
2.6.6.8 その他の毒性試験 35
2.6.6.8.1 抗原性試験 35
2.6.6.8.1.1 モルモット 35
2.6.6.8.1.2 マウス 37
2.6.6.9 考察及び結論 39
2.6.6.9.1 単回投与及び反復投与毒性試験 39
2.6.6.9.2 遺伝毒性試験 40
2.6.6.9.3 がん原性試験 40
2.6.6.9.4 生殖発生毒性試験 42
2.6.6.9.5 局所刺激性試験 42
2.6.6.9.6 免疫毒性試験 43
2.6.6.9.7 結論 44
2.6.6.10 図表 44
2.6.6.11 参考文献 44

表

表 2.6.6-1 GA の毒性試験の概要 6
表 2.6.6-2 マウスを用いる 13 週間皮下投与毒性試験のデザイン 13

表 2.6.6-3 ラットを用いる 4 週間皮下投与毒性試験のデザイン 14
表 2.6.6-4 ラットを用いる 26 週間皮下投与毒性試験のデザイン 15
表 2.6.6-5 [^{125}I]-GA をラットに単回皮下投与したときの血漿のトキシコキネティクス 16
表 2.6.6-6 GA をラットに 28 日間皮下投与した後[^{125}I]-GA を単回皮下投与したときの血漿の トキシコキネティクス 16
表 2.6.6-7 GA をラットに 177 日間皮下投与した後[^{125}I]-GA を単回皮下投与したときの血漿の トキシコキネティクス 17
表 2.6.6-8 ラットを用いる 6 ヵ月間皮下・筋肉内投与毒性試験のデザイン 18
表 2.6.6-9 ウサギを用いる 6 ヵ月間筋肉内投与毒性試験のデザイン 19
表 2.6.6-10 イヌを用いる 4 週間皮下投与毒性試験のデザイン 19
表 2.6.6-11 イヌを用いる 36 日間皮下投与毒性試験のデザイン 20
表 2.6.6-12 イヌを用いる 90 日間皮下投与毒性試験のデザイン 21
表 2.6.6-13 サルを用いる 28 日間皮下投与毒性試験のデザイン 21
表 2.6.6-14 [^{125}I]-GA をサルに単回皮下投与したときの血漿のトキシコキネティクス 22
表 2.6.6-15 サルを用いる 52 週間皮下投与毒性試験のデザイン 23
表 2.6.6-16 マウス小核試験のデザイン（主試験） 28
表 2.6.6-17 マウスを用いる 100 週間皮下投与がん原性試験のデザイン 29
表 2.6.6-18 ラットを用いる 104 週間皮下投与がん原性試験のデザイン 30
表 2.6.6-19 受胎能及び一般生殖能に関するラット皮下投与試験のデザイン 32
表 2.6.6-20 胚・胎児発生に関するラット皮下投与試験のデザイン 33
表 2.6.6-21 胚・胎児発生に関するウサギ皮下投与試験のデザイン 33
表 2.6.6-22 ラットを用いる周産期及び授乳期投与試験のデザイン 34
表 2.6.6-23 モルモットを用いる抗原性試験のデザイン：能動全身アナフィラキシー試験 36
表 2.6.6-24 モルモットを用いる抗原性試験のデザイン：受動皮膚アナフィラキシー試験 36
表 2.6.6-25 マウスを用いる抗原性試験のデザイン：受動皮膚アナフィラキシー試験 38

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明
ALP	Alkaline Phosphatase〔アルカリホスファターゼ〕
ALT	Alanine Aminotransferase〔アラニンアミノトランスフェラーゼ〕
Alum	Alum Gel〔水酸化アルミニウムゲル〕
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time〔活性化部分トロンボプラスチン時間〕
ASA	Active Systemic Anaphylaxis〔能動全身アナフィラキシー〕
AST	Aspartate Aminotransferase〔アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ〕
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the plasma concentration versus time-curve from time zero to 24 hours post-dose〔0 時間から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積〕
b.i.w	Twice per week〔週 2 回〕
C3	Complement Component 3〔補体第 3 成分〕
C_{max}	Maximum Plasma Concentration〔最高血漿中濃度〕
COP-1	Copolymer-1〔Copolymer-1〕
CP	Cyclophosphamide〔シクロホスファミド〕
EAE	Experimental Autoimmune Encephalomyelitis〔実験的自己免疫性脳脊髄炎〕
ECG	Electrocardiogram〔心電図〕
F	Female〔雌〕
FCA	Freund's complete adjuvant〔フロイント完全アジュバント〕
GA	Glatiramer Acetate〔グラチラマー酢酸塩〕
GD	Gestation Day〔妊娠日数〕
GLP	Good Laboratory Practice〔医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準〕
IM/im/i.m.	Intramuscular〔筋肉内〕
IP/ip/i.p.	Intraperitoneal〔腹腔内〕
IV/iv/i.v.	Intravenous〔静脈内〕
km	Factor for converting mg/kg dose to mg/m^2 dose〔用量を mg/kg 表示から mg/m^2 表示に換算するための係数〕
LD50	Median lethal dose〔半数致死量〕
M	Male〔雄〕
mo.	Months〔月〕
MTD	Maximum Tolerated Dose〔最大耐量〕
NA	Not Applicable〔該当せず〕
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect-Level〔無毒性量〕
NOEL	No-Observed-Effect-Level〔無作用量〕

略号	略していない表現又は説明
NZW	New Zealand White〔ニュージーランド白色種〕
OVA	Ovalbumin〔卵白アルブミン〕
PCA	Passive Cutaneous Anaphylaxis〔受動皮膚アナフィラキシー〕
PCE	Polychromatic Erythrocytes〔多染性赤血球〕
qd	Once per day〔1 日 1 回〕
SC/sc/s.c.	Subcutaneous〔皮下〕
SD	Sprague-Dawley〔Sprague-Dawley〕
$t_{1/2}$	Elimination Half-life〔消失半減期〕
TCA	Trichloroacetic Acid〔トリクロロ酢酸〕
TFT	5-trifluorothymidine〔5-トリフルオロチミジン〕
TK	Toxicokinetic〔トキシコキネティクス〕
T_{max}	Time to maximum plasma concentration〔最高血漿中濃度到達時間〕

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

グラチラマー酢酸塩（GA）の安全性プロファイルを単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、及び抗原性試験からなる一連の毒性試験で評価した。GA の主要な毒性試験の概要を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1 GA の毒性試験の概要

試験の種類	試験期間又は試験カテゴリー	投与経路	動物種（系統）	被験物質	添付資料番号（GLP）	区分
単回投与毒性試験	急性毒性試験	i.m.	マウス（ICR）	GA	4.2.3.1-1（GLP 非適用）	参考
	急性毒性試験	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.1-2（GLP 適用）	参考
	急性毒性試験	i.v.	ラット（Lewis）	GA	4.2.3.1-3（GLP 非適用）	参考
	急性毒性試験	i.v.	ラット（SD）	GA,「臭化 GA」	4.2.3.1-4（GLP 適用）	参考
	急性毒性試験	i.v.	ラット（SD）	「高フッ化 GA」	4.2.3.1-5（GLP 適用）	参考
	急性毒性試験	i.v.	ラット（SD）	GA	4.2.3.1-6（GLP 適用）	参考
	急性毒性試験	i.m., s.c.	イヌ（ビーグル）	GA	4.2.3.1-7（GLP 非適用）	参考
反復投与毒性試験	13 週間反復投与毒性試験	s.c.	マウス（ICR）	GA	4.2.3.2-1（GLP 適用）	評価
	4 週間反復投与毒性試験	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.2-2（GLP 適用）	参考
	26 週間反復投与毒性試験（重要な試験）	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.2-3（GLP 適用）	評価
	6 ヵ月間反復投与毒性試験	i.m., s.c.	ラット（CR）	GA	4.2.3.2-4（GLP 非適用）	参考
	6 ヵ月間反復投与毒性試験	i.m.	ウサギ（系統不明）	GA	4.2.3.2-5（GLP 非適用）	参考
	4 週間反復投与毒性試験	s.c.	イヌ（ビーグル）	GA	4.2.1.3-2（GLP 適用）	参考
	36 日間反復投与毒性試験	s.c.	イヌ（ビーグル）	GA	4.2.3.2-6（GLP 非適用）	参考
	90 日間反復投与毒性試験	s.c.	イヌ（ビーグル）	GA	4.2.3.2-7（GLP 非適用）	参考
	28 日間反復投与毒性試験	s.c.	サル（カニクイ）	GA	4.2.3.2-8（GLP 適用）	評価
	52 週間反復投与毒性試験（重要な試験）	s.c.	サル（カニクイ）	GA	4.2.3.2-9（GLP 適用）	評価
遺伝毒性試験	細菌を用いる復帰突然変異試験	NA	ネズミチフス菌株及び大腸菌株	GA	4.2.3.3.1-1（GLP 適用）	評価
	哺乳動物細胞を用いる突然変異試験	NA	マウスリンフォーマ L5178Y/TK$^{+/-}$細胞	GA	4.2.3.3.1-2（GLP 適用）	評価

試験の種類	試験期間又は試験カテゴリー	投与経路	動物種（系統）	被験物質	添付資料番号（GLP）	区分
	哺乳動物細胞を用いる染色体異常試験	NA	ヒト末梢血リンパ球（男性ドナー）	GA	4.2.3.3.1-3（GLP 適用）	評価
	哺乳動物細胞を用いる染色体異常試験	NA	ヒト末梢血リンパ球（女性ドナー）	GA	4.2.3.3.1-4（GLP 適用）	評価
	小核試験	i.p.	マウス（ICR）	GA	4.2.3.3.2-1（GLP 適用）	評価
がん原性試験	マウス 100 週間試験	s.c.	マウス（ICR）	GA	4.2.3.4.1-1（GLP 適用）	評価
	ラット 104 週間試験	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.4.1-2（GLP 適用）	評価
生殖発生毒性試験	受胎能及び一般生殖能試験	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.5.1-1（GLP 適用）	参考
	胚・胎児発生に関する試験	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.5.2-1（GLP 適用）	参考
	胚・胎児発生に関する試験	s.c.	ウサギ（NZW）	GA	4.2.3.5.2-2（GLP 適用）	参考
	周産期及び授乳期投与試験	s.c.	ラット（SD）	GA	4.2.3.5.3-1（GLP 適用）	参考
その他の試験	抗原性試験	s.c.	モルモット（Hartley）	GA	4.2.3.7.1-1（GLP 適用）	参考
	抗原性試験	s.c.	マウス（BALB/c 及び C3H/He）	GA	4.2.3.7.1-1（GLP 適用）	参考

GA = グラチラマー酢酸塩；GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；i.m. = 筋肉内；i.p. = 腹腔内；i.v. = 静脈内；NA = 該当せず；NZW = New Zealand White；s.c. = 皮下；SD = Sprague-Dawley。

GA 皮下投与後の毒性学的プロファイルは、単回投与毒性試験、最長 1 年間の反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験などを実施することにより検討した。また抗原性及び免疫毒性に関する検査項目を一部試験で追加した。連日皮下投与による投与可能量は、溶解性、浸透圧、及び局所刺激性によって制限された。

GLP 基準の施行以前の開発初期（1976 年頃）に実施された一部の毒性試験（4.2.3.1-1、4.2.3.1-3、4.2.3.1-7、4.2.3.2-4、4.2.3.2-5、4.2.3.2-6、4.2.3.2-7）を除き、以下の項に示す全試験は GLP 基準に準拠して実施された。

GA の単回投与試験では、ラットでは 400 mg/kg（皮下）、イヌでは 100 mg/kg（半量を皮下、残りを筋肉内）投与した際の忍容性は良好であった。

GA は反復投与試験で良好な忍容性を示した。一貫して見られた唯一の所見は投与部位の炎症反応であり、ほとんどの試験において用量制限毒性となり、ラット、サル両動物種における最大耐量（MTD）は、投与部位の炎症反応に基づき 30 mg/kg/日と判定された。当初、慢性毒性試験において、高用量（10 及び 30 mg/kg/日）を長期間投与したラット及びサルの少数例で免疫組織化学染色の擬陽性反応により腎糸球体における免疫複合体沈着が疑われた。しかし、このような所見は、より長期のラットの 2 年間がん原性試験では再現されなかった。同試験では電子顕微鏡検査及び免疫染色を実施したが、糸球体の免疫複合体沈着を示す証拠は得られなかった。

ラット（最長 104 週間）及びサル（最長 52 週間）では、反復皮下投与後の全身毒性に関する無毒性量（NOAEL）はそれぞれ 7.5 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日（それぞれ 45 及び 120 mg/m^2/日）

と判定された。ラットでは、104 週間投与した高用量群の雄で、糸球体腎炎の発生率が上昇した。10 mg/kg/日を超える用量を投与したサルでは、過剰な免疫刺激の徴候がいくつか見られた。

GA は、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）及び L5178Y 細胞を用いる *in vitro* マウスリンフォーマ試験において遺伝子突然変異を誘発しなかった。ヒトリンパ球を用いる 2 つの独立した染色体異常試験で S-9 存在又は非存在下での染色体異常誘発能を検討したところ、1 回目の試験では 1 濃度で染色体異常頻度のわずかな増加が見られたが、確認試験として実施した 2 回目の試験で陰性であることを確認した。また、マウス骨髄細胞を用いる *in vivo* 小核試験においても、染色体異常誘発性を示さなかった。

腫瘍の発生率及び形態学的特徴に対する GA 皮下投与の影響は、マウス及びラットを用いた 2 つの生涯投与試験で評価した。マウス 100 週間がん原性試験では、60 mg/kg/日（mg/m^2 換算で臨床用量の 15 倍に相当）を最高用量として GA を皮下投与した。高用量群（60 mg/kg/日群）の雄で、投与部位における線維肉腫の発生率が上昇したが、このような発生率上昇は、高用量群（60 mg/kg/日群）の雌及びこれより低用量群（30 mg/kg/日以下）の雄では見られなかった。これらの肉腫は、皮膚の一部に刺激物質を反復投与することにより誘発される皮膚損傷に関連するものであった。その他の腫瘍の発生率上昇は見られなかった。ラットの 2 年間がん原性試験では、GA の 30 mg/kg/日（mg/m^2 換算で臨床用量の 15 倍）までの皮下投与で腫瘍の発生率上昇は見られなかった。

ラットを用いる受胎能及び一般生殖能試験の結果から、生殖能以外に関する GA の無毒性量は雌雄とも 6 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）と判定された。本試験では、雌雄ラットで検討した生殖パラメータに関する無作用量（NOEL）は 36 mg/kg/日（216 mg/m^2/日）であると判定された。

胚・胎児発生に関する試験は、ラット及びウサギを用いて実施した。妊娠 6～15 日（ラット）又は妊娠 6～19 日（ウサギ）の母動物に GA を皮下投与した結果、いずれの動物種においても、37.5 mg/kg/日（それぞれ 225 mg/m^2/日及び 450 mg/m^2/日に相当）までの用量で催奇形性及び胎児毒性の所見は見られなかった。

周産期及び授乳期投与試験では、妊娠 15 日から分娩後 21 日までの妊娠期及び授乳期のラットに対し、36 mg/kg/日を最高用量として GA を皮下投与したところ、母動物では投与に起因する毒性徴候及び一般状態の異常は見られなかった。同腹児数、出生前及び出生後生存率、並びに性比は投与による影響を受けなかったが、GA 投与群の母動物からの出生児は、体重増加量が対照群と比較して軽度だが有意な低値を示した。出生児行動検査結果では、出生児の行動に対する GA の影響はみられなかった。母動物及び出生児の剖検では、投与に起因する肉眼的異常所見は観察されなかった。

いずれの生殖発生毒性試験でも交尾行動に対する影響は見られず、胎児死亡、胎児の異常及び出生後の障害を引き起こすと考えられる影響も見られなかった。

推定される GA の作用機序は生体の免疫系を介するものであるため、一般に受け入れられ、なおかつ妥当性が確認されている一連の免疫毒性評価を、ラット及びサル皮下投与毒性試験に組み込み、体液性及び細胞性免疫毒性を検討した。

ラット 26 週間試験及びサル 52 週間試験の期間中に、GA 反復皮下投与後にラジオイムノアッセイにより GA 反応性抗体が検出された。GA 投与群の大半の動物で、（IgE でなく）IgG 型の抗体が形成され、抗体価は約 3 ヵ月後にピークとなり、6 ヵ月後には低下した。いずれの動物種においても、抗体価と GA 投与量の間に相関はみられず、反応の強さ、持続期間のいずれも著しい個体差が認められた。

GA が動物の腎臓で免疫複合体の沈着を引き起こす可能性についてマウス、ラット、及びサルで検討した。

マウス 13 週間反復投与試験では、糸球体に GA、補体第 3 成分（C3）、及び IgG に対する明確な染色はみられなかった。GA を 26 週間投与したラット及び 52 週間投与したサルで、高用量

群（30 mg/kg/日群）の一部の動物で腎糸球体に免疫複合体の沈着が生じた可能性があることを示唆する擬陽性の免疫染色が見られた。

ラット 26 週間試験では、GA の最高用量（30 mg/kg/日）群の 40 例（雌雄各 20 例）中雄 3 例で、腎糸球体が GA の免疫組織染色陽性を伴う軽度の C3 染色陽性を示したが、IgG 染色（免疫複合体の沈着の指標）は陰性であった。

サル 52 週間反復投与毒性試験では、高濃度の GA 反応性抗体はすべての個体で検出されたものの、GA 沈着を示唆する免疫組織化学的反応性が見られたのは最高用量（30 mg/kg/日）群の 8 例中 2 例のみであった。1 例では C3 に対する軽度な反応性も見られたが、IgG 沈着はみられなかった。

ラット 104 週間がん原性試験の免疫組織化学的検査では、いずれの投与群でも腎糸球体に GA、IgG 又は C3 沈着を示す所見は見られなかった。また糸球体の電子顕微鏡検査でも、糸球体基底膜への免疫複合体の沈着は観察されなかった。

ラット及びサルにおける慢性毒性試験では、最高 30 mg/kg/日までの用量において、リンパ球サブセット、免疫グロブリンの構成、並びに胸腺、脾臓及びリンパ節の組織像に異常は見られなかった。また、GA は抗原性を有することが判明しているにもかかわらず、急性又は遅延型過敏反応の発現は見られなかった。モルモットを用いた能動全身アナフィラキシー試験及び同種受動皮膚アナフィラキシー試験、並びにマウスを用いた異種受動皮膚アナフィラキシー試験は陽性であり、これらの動物種では GA の抗原性が確認されたが、その抗原性の特徴からヒトでのリスク評価としての意義は疑わしいと考えられる。モルモットで見られた反応のパターンは、IgE 媒介性でないことを示すものであった。

マウスのがん原性試験では GA の反復投与により I 型過敏反応に関連すると考えられる死亡率上昇がみられた。このような死亡率上昇がみられたのは試験の投与初期のみであり、8 週間後には減少した。ラット、イヌ、サル、及びヒトでは同様の反応は見られなかった。GA の投与によりヒトで過敏性反応が生じる可能性は否定できないが、現在までに蓄積されたヒトでの使用経験では問題となるような知見は得られていない。本剤の投与に関して集積した年間 100 万人を超えるヒトでの安全性データによると、アナフィラキシー様反応が報告されることは極めてまれであり、臨床的に重大な続発症も見られていない。

GA の承認申請のために得られている非臨床安全性データの概要を、以下の各項に示す。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

GA の急性毒性試験をマウス、ラット及びイヌで実施した。これらの試験について以下の各項に要約する。各試験の概要及び特記すべき所見の要約を表 2.6.7-5 に記載する。

2.6.6.2.1　マウスを用いるグラチラマー酢酸塩の単回筋肉内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-1（参考）

本試験の目的は、GA を単回筋肉内投与したときの毒性を ICR マウスで評価することである（GLP 非適用）。

ICR マウス（1 群あたり雌雄各 5 例；体重 19～21 g）に、GA を 100、500 及び 2,500 mg/kg の用量で筋肉内投与した（それぞれ 2、10 及び 50 mg/0.25 mL 生理食塩液/匹）。対照群の ICR マウスには生理食塩液を筋肉内投与した。

投与後 14 日間観察し、毒性所見を記録した。

結論として、GA を雌雄 ICR マウスに 2,500 mg/kg までの用量で筋肉内投与したときの忍容性は良好であった。

2.6.6.2.2 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の単回皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-2（参考）

本試験の目的は、GA を単回皮下投与したときの毒性を Sprague-Dawley ラットで評価することである（GLP 適用）。

雌雄各 4 例のラットに GA を 400 mg/kg の用量（投与液量：0.5 mL/匹）で皮下投与した。対照群のラット（雌雄各 4 例）には注射用水を投与した。死亡、一般状態及び体重を記録し、投与後 14 日間観察した。

GA を Sprague-Dawley ラットに 400 mg/kg の用量で皮下投与したところ、毒性作用は見られなかった。

対照群及び投与群の両群ともに、雌雄いずれの動物にも 14 日間の観察期間中の死亡はなく、被験物質投与の影響を示唆する所見も見られなかった。

投与後 1～7 日目、7～14 日目及び 1～14 日目の各期間の体重増加量は、対照群と投与群で同程度であった。

結論として、GA を雌雄 Sprague-Dawley ラットに 400 mg/kg の用量で皮下投与したときの忍容性は良好であった。

2.6.6.2.3 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の単回静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-3（参考）

本試験の目的は、GA を単回静脈内投与したときの毒性を Lewis ラットで評価することである（GLP 非適用）。

Lewis ラット雌雄各 5 例（体重：雄 190～210 g、雌 180～200 g）に、GA を 1,500 mg/kg の用量で静脈内投与した（投与濃度：100 mg/mL）。対照群のラットには溶媒（生理食塩液）を投与した。

14 日間の観察期間中に一般状態を記録した。観察期間終了後動物を殺処分し、以下の器官・組織の病理組織学的検査を行った：脳、心筋、胸腺、肺、腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎及び生殖腺。

GA の投与に関連する病理学的変化は見られなかった。

結論として、GA を雌雄 Lewis ラットに 1,500 mg/kg の用量で静脈内投与しても病理学的変化は見られなかった。

2.6.6.2.4 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩及び「臭化グラチラマー酢酸塩」の単回静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-4（参考）

本試験の目的は、GA とその不純物の 1 つである臭素化誘導体を単回静脈内投与したときの毒性を Sprague-Dawley ラットで評価することである（GLP 適用）。

臭素化誘導体は、GA 合成過程の[redacted]で生成する可能性のある不純物である。本試験を実施するため、この不純物を高濃度で含有する GA ロット（[redacted]として 12～14%含有）を製造した。以下、このロットを「臭化 GA」と称する。

GA 及び「臭化 GA」を静脈内投与したときの急性毒性を、次の 4 群の Sprague-Dawley ラットで検討した：Group 2（雄 5 例に GA を 40 mg/kg 投与）、Group 3（雌雄各 5 例に「臭化 GA」を 40 mg/kg 投与）、Group 4（雌雄各 5 例に GA を 200 mg/kg 投与）及び Group 5（雌雄各 5 例に「臭化 GA」を 200 mg/kg 投与）。

被験物質は生理食塩液に溶解して投与した。上記とは別に 1 群（Group 1、雌雄各 2 例）を対照群として設け、生理食塩液を投与した。死亡及び被験物質投与に関連するその他の一般状態を投与後 14 日間記録した。

どちらの被験物質も 200 mg/kg を投与した群で死亡例が見られた。死亡例数は、「臭化 GA」では雄が 5 例中 3 例、雌が 5 例中 4 例であったのに対し、標準的な出品ロットを投与した群では雄が 5 例中 2 例、雌が 5 例中 0 例であった。GA 群で死亡した 2 例のうち 1 例には、死亡前に運動失調及び鼻の着色が観察された。「臭化 GA」群で死亡した個体に最も多く見られた一般状態は、意識消失（unconsciousness）、腹臥位、運動失調、呼吸緩徐、喘ぎ呼吸及びチアノーゼであった。

生存個体で最も多く見られた被験物質投与に関連する一般状態は振戦であった。振戦は、観察 1 日目に GA 40 mg/kg 群の 1 例及び「臭化 GA」40 mg/kg 群の雌雄ほとんどの動物で見られた。

投与群のほとんどの生存例で観察期間中に体重増加量が減少した。

GA の静脈内投与に関連する肉眼的変化は死亡例のみで見られ、観察された所見は肝臓の灰色化及び肺出血であった。「臭化 GA」の投与に関連する肉眼的変化は、腸の様々な部位における漿膜うっ血、胃粘膜うっ血、暗色で粘液性の小腸内容物、肝臓の灰色化、肺うっ血、肺出血及び脾臓の軽度腫大と暗色化であった。

結論として、GA の静脈内投与による LD_{50} は 200 mg/kg 以上であったのに対し「臭化 GA」のそれは 40-200 mg/kg の間であり、「臭化 GA」の方が臭化誘導体の混入のない GA に比べて毒性が強かった。静脈内投与時の GA の毒性に対する感受性は、雌ラットの方が雄ラットに比べて若干低かった。

2.6.6.2.5　ラットを用いる「高フッ化グラチラマー酢酸塩」の単回静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-5（参考）

本試験の目的は、GA の不純物である[redacted]誘導体を単回静脈内投与したときの毒性を Sprague-Dawley ラットで評価することである（GLP 適用）。

[redacted]誘導体は、GA の合成過程で生成する中間体である。本試験を実施するため、この不純物を比較的高濃度で含有する GA ロット（フッ素含有率として 0.7%）を製造した。以下、このロットを「高フッ化 GA」と称する。

雌雄各 5 例の Sprague-Dawley ラットに「高フッ化 GA」を 40 mg/kg の用量（投与液量：10 mL/kg）で単回静脈内投与した。被験物質の溶解性が低いため、本用量は投与可能な最高用量である。死亡及び被験物質投与に関連する一般状態を投与後 14 日間記録した。

死亡はなく投与に関連する毒性症状も見られなかった。いずれの動物も試験期間中に正常な体重増加を示した。試験終了時に各動物を殺処分した後の肉眼的病理検査では異常は観察されなかった。

結論として、[redacted]誘導体を含有する GA を雌雄 Sprague-Dawley ラットに 40 mg/kg の用量で静脈内投与したときの忍容性は良好であった。

2.6.6.2.6　ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の単回静脈内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-6（参考）

本試験の目的は、異なるロットの GA を単回静脈内投与したときの毒性を Sprague-Dawley ラットで評価することである（GLP 適用）。

2 つの GA 原薬ロット（ロット番号 00593 及びロット番号 06492）を静脈内投与したときの毒性を、雌雄 Sprague-Dawley ラットを用いて比較した。ロット番号 00593 は GA の標準的な出品ロットである。ロット番号 06492 は、クロマトグラフィー分析で構造未知の不純物を 0.28%含有することが判明したため不合格となったロットである。

どちらの GA ロットも、雌雄各 5 例の Sprague-Dawley ラットに 40 及び 200 mg/kg の用量（投与液量：10 mL/kg）で単回静脈内投与した。対照群のラット（雌雄各 5 例）には同量の生理食塩液を投与した。全動物を投与後 14 日間観察した。死亡例数、一般状態、体重、剖検時の肉眼的所見及び器官重量について評価した。

40 mg/kg を静脈内投与した群では、どちらの GA ロットでも毒性作用は見られなかった。

GA を 200 mg/kg の用量で単回静脈内投与した群では、どちらのロットでも投与後直ちに一部の動物で毒性症状が見られ、投与後 2 時間以内の死亡率はロット番号 00593 が 10%（雄 1 例）、ロット番号 06492 が 20%（雌 2 例）であった。両群の死亡率には統計学的有意差はみられなかった。

200 mg/kg 群では、一部の生存例において投与日に様々な中等度の毒性症状が見られた他、Day 2 の体重減少（雌雄）、14 日間の観察期間終了時の体重増加抑制（ロット番号 06492 の雌のみ）及び腎重量増加がみられた（いずれも生理食塩液投与対照群との比較）。

どちらの GA ロットを投与した場合にも、投与 24 時間後以降は、200 mg/kg 投与群の雌雄生存例に一般状態の異常は見られなかった。

結論として、GA の標準出品ロット（ロット番号 00593）と不合格ロット（ロット番号 06492）の間で差が見られた毒性所見は、ロット番号 06492 の 200 mg/kg における雌ラットの体重増加抑制のみであった。

2.6.6.2.7　イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の単回筋肉内・皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-7（参考）

本試験の目的は、GA を単回筋肉内・皮下投与したときの毒性をビーグル犬で評価することである（GLP 非適用）。

ビーグル犬雌雄各 1 例（体重：雄 20 kg、雌 14 kg）に GA を 100 mg/kg の用量で投与した。用量の約半分は筋肉内に投与し、残りの半分は皮下に投与した。2 種類の投与経路を使用したのは、投与液量が大量（30 mL 以上）であったためである。

動物を 48 時間観察したのち安楽死させ、肉眼的病理検査を行った後、以下の器官・組織の病理組織学的検査を行った：脳、下垂体、肺、肝臓、脾臓、リンパ節、腎臓、副腎、腸、筋肉、生殖腺、投与部位及び骨髄細胞塗抹標本。

毒性症状は見られず、剖検時に投与に関連する肉眼的所見も見られなかった。また、検査した器官・組織に病理組織学的変化は見られなかった。骨髄塗抹標本の骨髄像（百分率）は正常と判定された。

結論として、GA を雌雄ビーグル犬に 100 mg/kg の用量で筋肉内・皮下に単回投与したときの忍容性は良好であった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

GA の反復皮下投与毒性試験をマウス、ラット、ビーグル犬及びカニクイザルで実施した。また、GA の反復筋肉内投与毒性試験をラット及びウサギで実施した。これらの反復投与毒性試験で得られた結果を、以下の各項に詳述する。

重要な試験以外の各反復投与試験の概要及び特記すべき所見の要約を表 2.6.7-6 に示す。

重要な試験の結果は表 2.6.7-7A 及び表 2.6.7-7B に記載する。

2.6.6.3.1 マウスを用いるグラチラマー酢酸塩の 13 週間皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-1（評価）

本試験は、マウスがん原性試験（4.2.3.4.1-1；2.6.6.5.1.1 項参照）の用量設定を目的としたものである。ICR マウスに 13 週間連日皮下投与し、GA による毒性を検討した（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-2 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-2 マウスを用いる 13 週間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	12	12	溶媒*	0	10	0
2	12	12	GA	20	10	2
3	12	12	GA	40	10	4
4	12	12	GA	60	10	6

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。GA = グラチラマー酢酸塩

各動物の一般状態を毎日観察し、詳細観察を週 1 回実施した。体重及び摂餌量は投与開始前及び投与期間中の週 1 回測定した。投与期間の終了時に剖検し、器官重量を測定した。規定された全器官・組織を病理組織学的検査に供した。また、GA、C3 及び IgG 抗体複合体の形成について評価するため、全動物を対象に腎臓の免疫組織化学的染色を行った。

投与に関連する一般状態の変化は見られなかった。投与期間中に雄 2 例（Group 1 及び Group 3 の各 1 例）及び雌 3 例（いずれも Group 4）が死亡した。いずれの動物も死因は確定していないが、全身毒性を示唆する所見は見られなかった。

各動物の体重、摂餌量及び器官重量には投与に関連した変化は見られなかった。

剖検では投与に関連する肉眼的異常所見は見られなかった。病理組織学的検査では、軽度の炎症及び線維化反応を示す投与部位の変化が対照群を含むすべての群で見られた。これらの反応は、GA 投与群で高頻度かつ顕著であったが、用量反応性に一貫性はなかった。最終剖検時に全身毒性を示唆する所見を示す動物はなかった。また全動物を対象とした腎臓の GA、C3 及び IgG の免疫組織化学的染色ではいずれも陰性であった。

結論として、60 mg/kg/日（180 mg/m^2/日）までの用量をマウスに 13 週間連日皮下投与したときの忍容性は概ね良好であった。しかし、投与部位に変化（特に皮筋の進行性ミオパチー）が見られたことから、60 mg/kg/日を上回る用量はより長期の反復投与試験の用量としては適切でない可能性が示された。最終報告書に無毒性量は明記されていないが、本試験の全身毒性に関する無毒性量は雌雄とも 60 mg/kg/日（180 mg/m^2/日）と考える。

2.6.6.3.2 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 4 週間皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-2（参考）

本試験の目的は、GA を 4 週間連日皮下投与したときの毒性を Sprague-Dawley ラットで評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-3 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-3　ラットを用いる 4 週間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	12	12	溶媒*	0	2	0
2	12	12	GA	2	2	1
3	12	12	GA	10	2	5
4	12	12	GA	20	2	10
5	12	12	GA	40	2	20

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。GA = グラチラマー酢酸塩

一般状態を 1 日 2 回以上観察した。体重を投与 1 日目に測定し、それ以降は週 2 回測定した。摂餌量を毎週測定した。臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）を剖検前に実施した。4 週間の投与期間の終了後、各動物を殺処分して剖検し、器官重量を測定した。各動物から、規定された全器官・組織を病理組織学的検査用に供した。

GA 投与との関連を示唆する所見は、皮膚及び耳の一過性の発赤並びに顔面及び鼻の腫脹のみであった。これらの所見は投与開始から 10 日後に発現し、いずれも発現から 10 日以内に消失した。これらの反応の発現頻度に用量依存性は見られなかった。

4 週間の投与期間終了後の血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少が見られた（すべての用量群の雄及び 20 mg/kg/日以上の群の雌）。40 mg/kg/日群の雌にはアルカリホスファターゼ（ALP）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の上昇が見られた。2 及び 40 mg/kg/日群の雄ではアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の軽度低下が見られた。これらの所見と投与との関連性は不明である。

投与部位の病理組織学的検査では、投与による炎症反応の重症度は最低用量群（2 mg/kg/日群）の雌を除き GA 投与群の方が対照群に比べて高かった。

最高用量群（40 mg/kg/日群）の雄の肝臓では、細胞質淡明部分示されるグリコーゲン野の減少が見られた。

全体として、GA の投与に関連する毒性作用は極めて軽微であった。毒性学的意義のある病理組織学的所見は、投与部位に見られた局所炎症反応の悪化のみであった。結論として、GA を 40 mg/kg/日（240 mg/m^2/日）までの用量で雌雄 Sprague-Dawley ラットに連続 4 週間皮下投与したときの忍容性は良好であった。最終報告書に無毒性量は明記されていないが、本試験の全身毒性に関する無毒性量は雌雄とも 40 mg/kg/日（240 mg/m^2/日）と考える。

2.6.6.3.3　ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 26 週間皮下投与毒性試験（重要な試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-3（評価）

本試験の目的は、GA を 26 週間連日皮下投与したときの毒性を Sprague-Dawley ラットで評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-4 に示す。

この試験でみられた特記すべき所見を表 2.6.7-7A に記載する。

表 2.6.6-4　ラットを用いる 26 週間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数				被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	毒性		トキシコキネティクス*					
	雄	雌	雄	雌				
1	20	20	15	15	溶媒**	0	2	0
2	20	20	15	15	GA	3	2	1.5
3	20	20	15	15	GA	10	2	5
4	20	20	15	15	GA	30	2	15

* 投与第 1、29 及び 178 日のトキシコキネティクス評価には、1 群あたり雌雄各 5 例のラットを使用した（4.2.2.2-4 で報告）。
** 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩

各動物の一般状態を毎日観察し、詳細観察を週 1 回実施した。体重を投与開始前、投与期間中は週 1 回、並びに剖検前に測定した。摂餌量は週 1 回測定した。血液学的検査、血液凝固系検査及び血液生化学的検査用として、投与第 4、13 及び 26 週に各群雌雄各 10 匹から採血した。抗薬物抗体の測定用及び免疫毒性学的評価用として投与第 5、13 及び 26 週に上記以外の各群雌雄各 10 匹から採血した。尿検査用として、投与第 4、12 及び 25 週に各群雌雄各 10 匹から採尿した。

トキシコキネティクス（TK）評価としては、投与第 1、29 及び 178 日に GA の放射性標識体（[^{125}I] -GA）3、10 又は 30 mg/kg を GA 未投与の動物あるいは非標識 GA を 28 日間又は 177 日間投与した動物にそれぞれ単回皮下投与して、血漿中総放射能濃度及び血漿トリクロロ酢酸（TCA）沈殿画分（ペレット）中放射能濃度を測定し（4.2.2.2-4；参考）、GLP 準拠のラット慢性毒性試験の一部として GA やその関連物質の全身曝露量を評価した。ただし、この方法は特異性に欠けており、GA の分解生成物や代謝物を GA と識別することはできない。TCA 沈殿画分は高分子量物質、すなわち GA やその関連物質（GA の代謝物及び他の蛋白質に取り込まれたヨードチロシン）と考えられる。

眼科学的検査は投与開始前には全動物に対し 1 回実施し、投与第 25 週には 1 及び 4 群の全動物に対して実施した。すべての生存例を 26 週間の投与期間終了時に安楽死させ、剖検した。器官重量を測定し、規定された全器官・組織を病理組織学的検査用に供した。

投与期間中に計 6 例が死亡したが、いずれも投与との関連はないと判断された。

3 及び 4 群の一部の動物に投与部位の創傷がみられた以外、投与群で観察された一般状態異常は被毛粗剛及び散発的な被毛汚染のみであった。

体重は群間で若干のばらつきが見られたものの、投与による影響は投与期間を通じて見られなかった。摂餌量に対する影響も見られず、投与に関連する眼科学的変化も見られなかった。

一部の血液学的検査値に若干の変動が見られたが、投与との関連は見られなかった。血液生化学的検査値のいずれにも変化はなく、尿検査でも投与の影響は見られなかった。

抗 GA 抗体価は、全般的に投与 13 週目が最も高く、投与 26 週目に減少した。ただし、2 及び 3 群（3 及び 10 mg/kg/日群）の雌は投与開始から 5 週後でピークに達した。いずれの群も、投与開始から 5 週後で抗体陽性の動物数が最大となり、26 週間後には最小となった（2.6.6.9 項参照）。

免疫毒性学的評価項目としては、高用量群及び中用量群の一部の動物で腎糸球体基底膜が抗 C3 抗体免疫染色陽性を示した。対照群では 1 例（雌）のみで陽性であった。高用量群（30 mg/kg/日群）の雄 3 例の糸球体で、明確な抗 GA 抗体免疫染色陽性反応が見られた。リンパ系組

織（リンパ節、脾臓、パイエル板及び胸腺）の形態学的評価では変化は見られず、IgG に対する免疫染色陽性反応も見られなかった。

リンパ球サブセットには投与による影響は見られず、IgG、IgM、抗核抗体、抗 2 本鎖 DNA 抗体又は抗ヒストン抗体の濃度にも影響は見られなかった。

剖検では、GA の投与に関連すると考えられる病変は見られなかった。一部の器官重量に若干のばらつきが見られたが、投与に関連した変化は見られなかった。

病理組織学的検査ではすべての用量群で投与部位に病変が見られ、その強さには用量相関性が見られた。ただし、低頻度の蜂窩織炎を除けば、投与部位の変化はたとえ高用量（30 mg/kg/日）でも線維化又は筋炎に代表される低グレードの慢性病変がほとんどであった。全身毒性や臓器毒性を示唆する所見は見られなかった。

TK 試験の結果から、血漿中総放射能濃度は用量に比例して直線的に増加することが示され、雌雄で大きな差はなかった。また、同一の用量群で投与 1 日後、28 日後又は 177 日後の TK パラメータを比較した場合、統計学的有意差が散見されたが、[^{125}I]-GA 由来物質の蓄積に起因するものであることを示唆する傾向はみられなかった。また、平均半減期が約 10 時間であることから、投与開始から 2～3 日後に血漿濃度が定常状態に達していたと推察される。この試験で得られた血漿中総放射能濃度に関する TK パラメータ（T_{max}、C_{max}、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び $t_{1/2}$）を表 2.6.6-5、表 2.6.6-6 及び表 2.6.6-7 に示す。

表 2.6.6-5　[^{125}I]-GA をラットに単回皮下投与したときの血漿のトキシコキネティクス

放射標識体の用量 (mg/kg)	T_{max} (h)		C_{max} (μg GA 換算値 /mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg GA 換算値 •h/mL)		$t_{1/2}$ (h)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
3*	2	2	5.13	5.54	56.30	66.46	6.77	6.68
3	2	2	5.68	6.04	69.16	65.74	9.16	5.88
10	2	2	20.08	20.90	235.9	258.3	7.90	6.92
30	2	2	54.41	60.92	642.3	719.6	6.65	6.03

*溶媒（生理食塩液）を単回投与した後[^{125}I]-GA を単回投与
$AUC_{0\text{-}24h}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；F = 雌；M = 雄；$t_{1/2}$ = 消失半減期；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

表 2.6.6-6　GA をラットに 28 日間皮下投与した後[^{125}I]-GA を単回皮下投与したときの血漿のトキシコキネティクス

放射標識体の用量（mg/kg）	T_{max} (h)		C_{max} (μg GA 換算値 /mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg GA 換算値 •h/mL)		$t_{1/2}$ (h)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
3*	2	2	5.10	6.13	65.72	76.61	8.97	8.21
3	2	2	6.07	6.84	68.31	79.15	7.89	6.95
10	2	2	18.59	20.06	225.3	214.2	8.41	7.05
30	2	2	46.63	57.91	661.3	697.6	9.03	6.50

*溶媒（生理食塩液）を 28 日間連日投与した後、投与第 29 日に[^{125}I]-GA を単回投与
$AUC_{0\text{-}24h}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；F = 雌；M = 雄；$t_{1/2}$ = 消失半減期；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

表 2.6.6-7　GA をラットに 177 日間皮下投与した後[^{125}I]-GA を単回皮下投与したときの血漿のトキシコキネティクス

放射標識体の用量 (mg/kg)	T_{max} (h)		C_{max} (μg GA 換算値 /mL)		AUC_{0-24h} (μg GA 換算値 •h/mL)		$t_{1/2}$ (h)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
3*	2	2	5.48	7.62	72.81	101.8	10.04	9.29
3	2	2	5.67	6.93	66.94	92.32	9.69	8.95
10	2	2	18.91	21.94	280.2	266.3	16.15	7.91
30	2	2	51.33	60.11	787.7	872.0	10.32	12.03

*溶媒（生理食塩液）を 177 日間連日投与した後、投与第 178 日に[^{125}I]-GA を単回投与
AUC_{0-24h} = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；F = 雌；M = 雄；$t_{1/2}$ = 消失半減期；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

血漿中の TCA 沈殿性放射能のプロファイルは、血漿中総放射能濃度時間曲線に類似の挙動を示したが、TCA 沈殿性放射能濃度は総放射能に比べて約 50%低かった。これら総放射能及び TCA 沈殿性放射能の PK プロファイルは用量比に応じて上昇した。血漿中総放射能の濃度推移を解析した結果、反復投与後に高分子量の[^{125}I]-GA 由来物質が蓄積する可能性は低いと考えられた。

要約すると、TK 試験の結果から、[^{125}I]-GA をラットに 3、10 及び 30 mg/kg の用量で投与すると GA 又は GA 由来高分子量物質の曝露量が用量に比例して直線的に増加することが示された。非標識 GA を最長 6 ヵ月間反復投与した後、標識体を投与して血漿中総放射能濃度及び血漿 TCA 沈殿画分中の放射能濃度を測定したところ、雌雄の TK パラメータには毒性学的に意義のある性差はなかった。また、抗 GA 抗体の産生量は反復投与開始から 4～13 週間後に最大値に達したが、GA の放射標識体の TK パラメータには影響が見られなかったことから、GA の曝露量には影響はなかったと考えられる。

結論として、GA を Sprague-Dawley ラットに 0、3、10 及び 30 mg/kg/日（それぞれ 0、18、60 及び 180 mg/m^2/日）の用量で 26 週間皮下投与したところ、全身毒性を示唆する所見はなく、特異的免疫毒性反応のみが認められたが、病理学的あるいは生理学的変化を伴っていないことから、毒性学的に意義のあるものではないと考えられた。しかし、皮下投与部位には病変が見られたことから、30 mg/kg/日を上回る用量（投与濃度 15 mg/mL）はげっ歯類を用いる長期投与試験の用量としては適さないと判断された。最終報告書に無毒性量は明記されていないが、本試験の全身毒性に関する無毒性量は雌雄とも 30 mg/kg/日（180 mg/m^2/日）と考える。

2.6.6.3.4　ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 6 ヵ月間皮下・筋肉内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-4（参考）

本試験の目的は、GA を 3 ヵ月間連日筋肉内投与後さらに週 2 回の皮下投与を 3 ヵ月間継続したときの毒性を、CR ラットで評価することである（GLP 非適用）。試験デザインを表 2.6.6-8 に示す。

この試験でみられた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-8　ラットを用いる 6 ヵ月間皮下・筋肉内投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量（mg/kg）
	雄	雌		
1	5	5	溶媒**	0
2*	5	5	GA	250（i.m.、q.d.）、 200（s.c.、b.i.w.）

* 3 ヵ月間連日筋肉内投与した後、3 ヵ月間週 2 回皮下投与した。
** 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
b.i.w. = 週 2 回；GA = グラチラマー酢酸塩；i.m. = 筋肉内；q.d. = 1 日 1 回；s.c. = 皮下

CR ラット（雌雄各 5 例）に GA を 250 mg/kg の用量で筋肉内投与した。GA は投与濃度が 150 mg/mL になるよう生理食塩液で調製し、3 ヵ月間連日投与した。筋肉内投与期間の終了後、さらに 3 ヵ月間 GA を 200 mg/kg の用量で週 2 回皮下投与した。対照群（雌雄各 5 例）には生理食塩液を投与した。

試験期間を通じて一般状態を観察し、6 ヵ月間の投与期間の終了後、ラットを代謝ケージに収容し、尿及び糞を 48 時間採取した後殺処分した。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査を行い、以下の器官・組織の病理組織学的検査を実施した：脳、心筋、胸腺、肺、腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、骨格筋、下垂体及び生殖腺。骨髄及び血液は百分率算定のため塗抹標本を作製した。

一般状態の観察では、筋肉内投与開始から 4 週間後に投与部位（四肢）に浮腫が見られ、ほとんどの動物で跛行が見られた。しかし、皮下投与の開始後、これらの所見は徐々に消失していった。

血液及び尿検査では、投与に関連した明確な変化は見られなかった。骨髄細胞分類では、対照群では雌雄とも投与群に比べてリンパ球百分率が若干高かった。これは反復投与によるストレスへの反応として骨髄リンパ球数が一時的に（2 ヵ月間）減少したことに対する生理的代償反応であると考えられた。投与群では、リンパ球百分率の軽度減少と好中球百分率の増加が見られた。このような顆粒球の増加は、高用量の被験物質投与による局所炎症反応が原因であると考えられた。末梢血血球分類では群間で明確な差は見られなかった。

投与部位の顕微鏡検査では、投与群の全動物に、異物性巨細胞反応を特徴とする限局性の軽度な慢性炎症反応が見られた。このような投与部位の筋肉に見られた所見は、比較的大量の GA を局所に反復投与したことが原因であると判断された。全体としては、種々の器官・組織で極めて軽微で毒性学的意義の乏しい病理学的変化がいくつか見られたのみであった。

投与群の脾臓では主に生理学的な反応として、B 細胞領域の軽度縮小と T 細胞領域の拡大が見られた。これらの所見は、投与部位での持続的な特異的細胞応答に起因したものであると判断された。また、これらの所見は骨髄細胞分類の結果（骨髄リンパ球減少及び顆粒球増加）とも一致した。

骨髄像（百分率）の変化、脾臓のリンパ組織の変化及び投与部位の異物性巨細胞反応は、いずれも即時型の生理学的・免疫学的な反応であり、毒性を示す病理学的変化ではなかった。

結論として、GA を雌雄 CR ラットに 250 mg/kg/日（1,500 mg/m^2/日）の用量で 3 ヵ月間連日筋肉内投与し、さらに 3 ヵ月間週 2 回皮下投与したときの忍容性は良好であった。

2.6.6.3.5　ウサギを用いるグラチラマー酢酸塩の 6 ヵ月間筋肉内投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-5（参考）

本試験の目的は、GA を 6 ヵ月間にわたり週 2 回筋肉内投与したときの毒性をウサギ（系統不明）で評価することである（GLP 非適用）。試験デザインを表 2.6.6-9 に示す。

この試験でみられた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-9　ウサギを用いる 6 ヵ月間筋肉内投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数（雌）	被験物質	用量 (mg/kg 週 2 回)
1	4	GA	0.8

GA = グラチラマー酢酸塩

雌ウサギ 4 例（体重：2.5 kg）に、GA を 2 mg（0.8 mg/kg）の用量で 6 ヵ月間週 2 回筋肉内投与した。試験期間を通じて一般状態を観察した。6 ヵ月間の投与期間の終了後、全動物を殺処分した。血液生化学的検査を実施し、以下の器官・組織の病理組織学的検査を行った：脳、心筋、胸腺、肺、腸、肝臓、脾臓、腎臓、副腎及び生殖腺。

6 ヵ月間の投与及び観察期間を通じて、一般状態及び血液生化学的検査で異常は見られなかった。病理検査でも投与に関連した所見は見られなかった。

結論として、GA をウサギに 0.8 mg/kg（9.6 mg/m^2）の用量で 6 ヵ月間週 2 回筋肉内投与したところ、毒性所見、肉眼的異常所見及び病理組織学的異常所見は見られなかった。

2.6.6.3.6　イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の 4 週間皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.1.3-2（参考）

本試験の目的は、GA を 4 週間連日皮下投与したときの毒性をビーグル犬で評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-10 に示す。

この試験でみられた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-10　イヌを用いる 4 週間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	3	3	溶媒*	0	1	0
2	3	3	GA	2	1	2
3	3	3	GA	10	1	10
4	3	3	GA	20	1	20

* 溶媒には注射用生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩

投与期間中に一般状態を 1 日 3 回観察した。詳細観察を投与開始前に実施し、その後は 2 週間に 1 回実施した。各動物の体重を毎週測定した。摂餌量は毎日測定し、週毎に各動物 1 日あたりの平均値を算出した。血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査を投与開始前、投与 2 及び 4 週間後に実施した。また、眼科学的検査を試験開始前及び投与 4 週後に実施し、神経学的検査を投与開始前及び投与期間の最終週に実施した。全動物を剖検し、器官重量を測定した。規定された全器官・組織を摘出し、病理組織学的検査に供した。

ビーグル犬 3 群（1 群あたり雌雄各 3 例）に、GA を 2、10 及び 20 mg/kg/日の用量で 4 週間連日皮下投与した。対照群（雌雄各 3 例）には生理食塩液を投与した。

投与に関連する一般状態の変化としては、投与部位の掻爬傷が投与第 3 週以降に GA 投与全動物で見られた。また、投与部位の腫脹も観察された。

体重及び摂餌量には投与による影響はみられなかった。

眼科学的検査では、中用量群及び高用量群（10 mg/kg/日群及び 20 mg/kg/日群）でタペタムと非タペタムの境界における反射亢進が見られたが、投与との関連性は懐疑的であった。

血液生化学的検査では、ナトリウム、リン、α_1-グロブリン及びγ-グロブリンの変動が試験期間を通じて散発的にみられた。いずれの変化も軽度であり、毒性学的意義は不明である。血液学的検査及び尿検査では変化は見られなかった。

剖検で肉眼的所見が見られたのは投与部位のみであった。投与群では対照群に比べて皮下浮腫が高頻度で認められた。また、局所の脱毛が高用量群（20 mg/kg/日群）にのみみられた。病理組織学的検査で観察された投与に関連する所見は、投与部位の局所的作用のみであり、具体的には出血、慢性及び急性炎症、浮腫、単核球浸潤及び多核巨細胞の出現であった。

結論として、GA を雌雄ビーグル犬に 4 週間連日皮下投与したときの投与部位の局所的影響を除く全身毒性に関する無毒性量は、20 mg/kg/日（400 mg/m^2/日）と判断した。

2.6.6.3.7　イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の 36 日間皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-6（参考）

本試験の目的は、GA を 36 日間連日皮下投与したときの毒性をビーグル犬で評価することである（GLP 非適用）。試験デザインを表 2.6.6-11 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-11　イヌを用いる 36 日間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数*	被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
1	5	GA	10	0.33	30

* 試験には雌雄が使用されたが、性別の内訳は報告されていない。
GA = グラチラマー酢酸塩

ビーグル犬 5 例（体重 8.5～16 kg）に、GA を 10 mg/kg の用量で 36 日間連日皮下投与した（生理食塩液に溶解；投与濃度 30 mg/mL）。投与期間中は各動物を毎日観察し、体重を毎週測定した。36 日間の投与期間の終了後、雌雄各 1 例を安楽死させ、肉眼的所見を記録した。以下の器官・組織の病理組織学的検査を行った：脳、下垂体、肺、肝臓、脾臓、リンパ節、腎臓、副腎、腸、筋肉及び生殖腺。

安楽死させた動物はいずれも体重が約 1.5 kg 増加した。投与部位に腫脹が見られた以外は、肉眼的異常所見はなかった。いずれの組織にも、投与に関連する病理組織学的異常所見は見られなかった。

結論として、GA を雌雄ビーグル犬に 10 mg/kg/日（200 mg/m^2/日）の用量で 36 日間連日皮下投与したところ、一般状態、体重及び病理組織学的検査のいずれにも投与に関連する全身性の毒性作用は見られなかった。

2.6.6.3.8　イヌを用いるグラチラマー酢酸塩の 90 日間皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-7（参考）

本試験の目的は、GA を 90 日間連日皮下投与したときの毒性をビーグル犬で評価することである（GLP 非適用）。試験デザインを表 2.6.6-12 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-12　イヌを用いる 90 日間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	1	2	GA	10	0.33	30

GA = グラチラマー酢酸塩

ビーグル犬 3 例（体重：8.5～16 kg）に、GA を 10 mg/kg の用量で 90 日間連日皮下投与した（生理食塩液に溶解；投与濃度 30 mg/mL）。投与期間中は各動物を毎日観察した。体重を毎週測定した。90 日間の投与期間の終了後、3 例とも安楽死させ、肉眼的所見を記録した。次の組織の病理組織学的検査を行った：脳、下垂体、肺、肝臓、脾臓、リンパ節、腎臓、副腎、腸、筋肉及び生殖腺。

3 例とも体重は正常に増加した。90 日間の投与期間中に毒性症状は見られず、剖検時に肉眼的異常所見も見られなかった。いずれの器官・組織にも、投与に関連する病理組織学的異常所見は見られなかった。

結論として、GA を雌雄ビーグル犬に 10 mg/kg/日（200 mg/m^2/日）の用量で 90 日間連日皮下投与したところ、一般状態、体重及び病理組織学的検査のいずれにも投与に関連する毒性変化は見られなかった。

2.6.6.3.9　サルを用いるグラチラマー酢酸塩の 28 日間皮下投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-8（評価）

本試験の目的は、GA を 28 日間連日皮下投与したときの毒性をカニクイザルで評価し、52 週間試験の用量の設定に必要な情報を得ることである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-13 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-6 に要約する。

表 2.6.6-13　サルを用いる 28 日間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	1	1	溶媒	0	1.5	0
2	1	1	GA	20	1.5	13.33
3	1	1	GA	40	1.5	26.67
4	1	1	GA	60*	1.5	40
5	1	1	GA	60**	1.5	40

* 生理食塩液（0.9% w/v）に溶解。最終投与溶液はやや高張であった。
** 100 mg/mL の等張液を生理食塩液（0.9% w/v）で希釈して調製。最終投与溶液は等張であった。
GA = グラチラマー酢酸塩

一般状態を毎日観察し、詳細観察を毎週実施した。体重は投与開始前の第-14、-11 及び-8 日に、投与期間中は毎週測定し、剖検前にも測定した。摂餌量は毎日測定し、週 1 回集計した。眼科学的検査は、投与開始前及び投与期間の第 4 週に実施した。心電図（ECG）は投与開始前及び投与期間の第 4 週に記録した。臨床検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）は投与開始前及び投与期間の第 4 週に実施した。抗薬物抗体の分析のため、投与第 4 週に全動物から追加採血した。TK 解析は、4 週間の投与開始前の 1 週間に実施した。具体的には、2、3、4 及び 5 群の全動物に[^{125}I]-GA を単回皮下投与した後、経時的に採血した。4 週間の投与期間

の終了後、各動物を安楽死させ剖検し、器官重量を測定した。規定された全器官・組織を摘出し、肉眼的変化が見られたすべての組織について病理組織学的検査を実施した。

投与期間中は、投与部位の軽微な創傷が散発的に見られた以外はいずれの動物も健康状態は良好であり、死亡例はなかった。

いずれの動物も投与期間中の体重は維持又は増加した。60 mg/kg/日群の雌 2 例で、投与期間の後半に摂餌量の軽度減少が見られた。これら以外の動物の摂餌量は、対照群の値及び投与前値と同程度であった。

眼科学的検査及び ECG 検査において、投与に関連した変化は見られなかった。

一部の臨床検査項目に変動が見られたが、投与に関連すると考えられる変化はなかった。また、GA を投与した全動物で抗 GA 抗体の産生が確認された。

器官重量に関して特記すべき変化は、投与群の雄の腎重量増加及び甲状腺重量減少のみであった。腎重量増加には用量相関性がなく、また、いずれの変化も肉眼的及び病理組織学的変化を伴っていなかった。

剖検時に観察された特記すべき所見は、40 及び 60 mg/kg/日群の数例に見られた投与部位の赤色巣のみであった。4 群（60 mg/kg/日群）の雌 1 例には、この所見に伴って、投与部位 1 ヵ所に肥厚した膠様領域が観察された。

病理組織学的検査により、20 mg/kg/日以上を投与した群では投与部位の皮下及び皮筋の慢性炎症が見られ、これらは主として蜂窩織炎、筋炎及び血管周囲性細胞浸潤を特徴としており、上層の真皮及び表皮にはほとんど変化が見られないことから、被験物質の投与に関連する所見と考えられた。いずれの用量群の変化も重症度は同程度であり、明確な用量相関性は見られなかった。

投与期間中と同じ用量（20、40 及び 60 mg/kg）の GA を雌雄のサルに投与し、GA 由来物質の TK を評価した。評価を容易にするため、GA の放射性標識体（[^{125}I]-GA）を単回皮下投与した。また、60 mg/kg では、投与液を[redacted]液（0.9% [w/v] [redacted]液に溶解）から[redacted]液（0.45% [w/v] [redacted]液に溶解）に変更したときの影響も検討した。

投与後、1 用量あたり雌雄各 1 例から投与 72 時間後まで経時的に採血した。血漿中総放射能濃度及び血漿 TCA 沈殿画分中の放射能濃度を測定した。TCA 沈殿画分は GA 由来の高分子量物質（GA 自体又はその代謝物）と考えられる。血漿中薬物動態を算出し、用量間及び雌雄間で比較した。この試験で得られた血漿中総放射能濃度に関する TK パラメータ（T_{max}、C_{max}、$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び $t_{1/2}$）を表 2.6.6-14 に示す。

表 2.6.6-14　[^{125}I]-GA をサルに単回皮下投与したときの血漿のトキシコキネティクス

用量（mg/kg）	T_{max} (h)		C_{max} (μg GA 換算値/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg GA 換算値•h/mL)		$t_{1/2}$ (h)	
	M	F	M	F	M	F	M	F
20	2	2	46.67	50.32	606.7	691.9	32.31	30.96
40	4	2	96.39	78.01	1513.3	1106.2	30.81	37.80
60	2	4	141.5	138.0	2323.8	2288.7	30.29	31.80
60*	2	2	133.9	132.8	1880.2	2004.1	34.28	31.03

*[redacted]液で投与

$AUC_{0\text{-}24h}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度；F = 雌；M = 雄；$t_{1/2}$ = 消失半減期；T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間

GA を[redacted]液で投与しても放射能濃度の動態に影響はなく、60 mg/kg 群の曝露量は[redacted]液で投与したときと同程度であった。要約すると、[^{125}I]-GA を GA 未投与の雌雄サルに 20～60 mg/kg

の用量で単回皮下投与したところ、GA 由来物質の全身曝露量に明確な性差は見られず、用量に比例して曝露量が増加した。[redacted]液で投与したときと[redacted]液で投与したときで全身曝露量に差はなかった。

結論として、GA を 60 mg/kg/日（720 mg/m^2/日）までの用量で雌雄カニクイザルに投与したときの全身忍容性は良好であったが、投与部位に変化がみられたことから、次に実施する 52 週間の皮下投与試験では 40 mg/kg/日以下の用量を使用することが望ましいと考えられた（2.6.6.3.10 参照）。なお、この試験は 1 群あたり 2 例で実施した用量設定試験であることから、無毒性量は算出しなかった。

2.6.6.3.10 サルを用いるグラチラマー酢酸塩の 52 週間皮下投与毒性試験（重要な試験）

：添付資料番号 4.2.3.2-9（評価）

本試験の目的は、GA を 52 週間連日皮下投与したときの毒性をカニクイザルで評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-15 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-7B に要約する。

表 2.6.6-15 サルを用いる 52 週間皮下投与毒性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	4	4	溶媒*	0	1.5	0
2	4	4	GA	3	1.5	2
3	4	4	GA	10	1.5	6.67
4	4	4	GA	30	1.5	20

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩

28 日間の用量設定試験（4.2.3.2-8）で、60 mg/kg/日を長期間投与すると投与部位に許容できない刺激性及び炎症を誘発する可能性が示唆されたため、30 mg/kg/日をこの試験の最高用量とした。

一般状態を 1 日 3 回観察し、詳細観察を毎週実施した。体重を投与開始前 4 週間及び投与期間の毎週、並びに剖検前に測定した。摂餌量を投与開始前 4 週から試験期間を通して毎日測定し、週 1 回集計した。眼科学的検査を試験開始前並びに投与第 13、26 及び 52 週に実施した。心電図（ECG）を試験開始前並びに投与第 13、26 及び 52 週に記録した。臨床検査（血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）を投与開始前 2 及び 1 週、並びに投与第 13、26 及び 52 週に実施した。抗薬物抗体の分析のため、投与第 4、8、13、26、39 及び 52 週に全動物から採血した。抗核抗体、抗ヒストン抗体、抗 1 本鎖 DNA 抗体及び抗 2 本鎖 DNA 抗体の測定のため、投与第 6、8、13、26、39 及び 52 週に全動物から追加採血した。52 週間の投与期間の終了後、各動物を殺処分して剖検し、器官重量を測定した。各動物から、規定された全組織を病理組織学的検査用に供した。また、GA、C3 及び IgG 抗体複合体の形成を評価するため、全動物を対象に腎臓の免疫組織化学的染色を行った。

投与第 14 週に 3 群（10 mg/kg/日群）の雌 1 例が死亡した。この動物の一般状態は第 13 週までは正常であったが、その後摂餌不良となり体重が減少した。電解質溶液を経口補給したが回復しなかったため第 14 週に殺処分した。途中剖検した動物の病理組織学的検査を行ったところ、ストレスによると思われるリンパ組織及び骨髄の萎縮並びに副腎皮質肥大が見られ、尾及び脚の皮膚並びに直腸に非特異的な炎症性病変がみられた。投与部位には線維化を伴う慢性炎症が見られた。膵臓、回腸及び結腸には、急性ストレスの末期に生じたと思われる活動性の軽微な限局性類線維素性動脈炎を示す所見が観察された。心臓には、投与開始前から存在したと思わ

れる非活動性の線維化した動脈病変がみられた。状態悪化の具体的原因は特定できなかったが、非特異的な炎症性変化の複合的発生がこの動物の衰弱の原因となった可能性が考えられる。

上記以外の動物に見られた特記すべき一般状態は、投与部位の所見のみであった。2 群の雄を除くすべての投与群で投与第 11 週以降に投与部位の肥厚が見られ、4 群では発生頻度が高かった。2 群の雄では、投与部位の肥厚は第 20 週以降に見られた。いずれの投与群でも、この変化に伴ってしばしば腫脹及び膿瘍が見られた。第 52 週までには 4 群の全動物で投与部位の肥厚が例外なく観察されるようになり、4 群の雄 1 例及び 3 群の雌 1 例では第 48～49 週以降に膿瘍もみられた。

4 群の雄及びすべての投与群の雌で、対照群と比較して軽度の体重増加抑制が見られた。しかし、統計学的な有意差（$p< 0.05$）が見られたのは、4 群の雄の投与第 24～52 週のみであった。

摂餌量、眼科学的検査又は ECG には影響は見られなかった。

血液凝固系検査項目に関する特記すべき影響は、30 mg/kg/日群の雄で投与第 13 週にみられた統計学的に有意な（$p< 0.01$）軽度の活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）短縮のみであった。しかし、第 26 及び 52 週の検査では同様の変化は見られなかったことから、毒性学的意義はないと判断した。

投与第 13 週に 30 mg/kg/日群の雄の約半数例で AST の軽度上昇（$p< 0.05$）及び ALT の軽度上昇が見られた。第 26 週の時点ではこれらの変化が雄で継続しているだけでなく 4 群の雌にも見られ、4 群の雌の AST は対照群と比べ統計学的に有意に上昇した（$p< 0.05$）。第 52 週の検査でも高用量群ではひき続いて統計学的に有意な AST 上昇（最大で $p < 0.001$）及び ALT 上昇（最大で $p < 0.05$）が見られた。

バラツキはあるものの、尿検査及び糸球体ろ過率の推定値としてのクレアチニンクリアランスに投与の影響は見られなかった。

抗 1 本鎖 DNA 抗体、抗 2 本鎖 DNA 抗体及び抗ヒストン抗体の群平均値は、いずれの測定時点でも投与群が対照群を若干上回る傾向を示したが、抗核抗体は 52 週間の試料採取期間中のいずれの時点でも検出されなかった。

投与第 13 週以降、投与群では雌雄ともに IgG 濃度の増加が見られた。統計学的に有意な増加が散見されたが、用量に比例した一貫性のある増加ではなかった。

すべての測定時点で、投与群のすべての個体に高濃度の抗 GA 抗体が検出された。明確な用量相関性は見られなかったが、多くの場合は投与第 13 週に抗体価が最高値となった（2.6.6.9 項参照）。

絶対又は相対器官重量には、毒性学的に意義のある影響はみられなかった。

投与との関連性が明確な病理組織学的所見は、投与部位の変化のみであった。最初に投与を行った 4 ヵ所の投与部位（表 2.6.7-7B 参照）には線維性慢性炎症がみられ、その線維化領域には小単核細胞集簇と少数の巨細胞、及びまれに濾胞形成が見られた。ほとんどの動物で、軽微なびまん性の好酸球浸潤もみられた。対照群を含むすべての群に影響が見られたが、その強さは明らかに用量依存的であった。「無作用量」は判定できなかった。

特定の臓器に対する直接的な標的毒性を示唆する所見は得られなかった。高用量群（30 mg/kg/日群）の 3 例には、骨髄の活動性胚濾胞及び／あるいは線維化を伴う限局性の軽微な慢性動脈病変が見られた。動脈の慢性線維化病変の発現に関し報告書では「Minor chronic fibrosing arterial lesions were present in two high dose males and one high dose female (see below). The incidence of such arterial lesions is within the range of background pathology in terms of prevalence and severity for control primates in this laboratory.（高用量群の雄 2 例及び雌 1 例に軽微な慢性線維化性動脈病変がみられた。本所見の発現頻度は、当施設における対照動物での発生率と病変の程度を考慮すると背景データの範囲内である）」と記載されている。しかし現時点では本試験実施当時（19[redacted]年～19[redacted]年）の背景データは入手不可能であり、これを確認することはできなかった。一方、報告書では、本病変と被験物質投与との関連については否定せず、当該病変の発現

がみられない用量である 10 mg/kg を NOAEL と判断した。これは治療用量である 20 mg/man（体重 60 kg として 0.33 mg/kg）に対して 30 倍の用量であり、本病変のヒトへの外挿性は否定できないものの、30 倍の安全域があることから、臨床用量の GA がヒトにおいて本病変に関連した危惧すべき重篤な副作用を誘発する懸念は低いと考えられる。

投与期間終了時に剖検した全ての動物の腎臓について、GA、IgG 及び C3 の免疫組織化学的染色を実施した。高用量群（30 mg/kg/日群）の雌 1 例の腎糸球体で GA が検出され、高用量群（30 mg/kg/日群）の雄 1 例で GA 及び C3 が検出された。IgG はいずれの動物にも検出されなかった。

リンパ系器官の軽微な変化を検出するため、胸腺及び腸間膜リンパ節の形態計測を行ったが、胸腺の皮質が占める割合及び腸間膜リンパ節の濾胞数には投与に関連する影響はみられなかった。

結論として、GA を雌雄カニクイザルに 0、3、10 及び 30 mg/kg/日（それぞれ 0、36、120 及び 360 mg/m^2/日）の用量で連日皮下投与した場合、直接的な全身毒性は誘発されなかった。投与第 14 週に 10 mg/kg/日群の雌 1 例が状態悪化により途中剖検されたが、これにはストレスと併発性の炎症性病変が関連すると考えられた。30 mg/kg/日（360 mg/m^2/日）群では、体重増加及び血中アミノトランスフェラーゼに軽微な影響が見られた。直接的な全身毒性は見られなかったが、30 mg/kg/日群の 2 例で骨髄の活動性の胚中心、腎糸球体の免疫複合体沈着が疑われる所見、及び動脈の限局性の軽微な線維化病変が見られた。これらの所見は、過度の免疫刺激に起因する間接的な毒性作用を示す指標と解釈されるため、全身作用に関する無毒性量は 10 mg/kg/日（120 mg/m^2/日）と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

GA の遺伝毒性を検討するため、標準的組み合わせの遺伝毒性試験を実施した。いずれの遺伝毒性試験も GLP に準拠して実施した。各試験の概要を以下の各項に示す。遺伝毒性試験全体の概要は表 2.6.7-1 に示す。

4 つの *in vitro* 試験の結果を表 2.6.7-8A、表 2.6.7-8B、表 2.6.7-8C 及び表 2.6.7-8D に記載する。*In vivo* 試験の結果は表 2.6.7-9 に記載する。

2.6.6.4.1 非哺乳動物細胞系での in vitro 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いるグラチラマー酢酸塩の復帰突然変異試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-1（評価）

本試験の目的は、細菌を用いる in vitro 復帰突然変異試験で GA の遺伝毒性を評価することである（GLP 適用）。

本試験の結果を表 2.6.7-8A に記載する。

GA の遺伝毒性を、ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98、及び TA100）及び大腸菌株（WP2 pKM101 及び WP2 uvrA pKM101）を用いる復帰突然変異試験で、S9 mix の存在下及び非存在下で 5,000 μg/plate までの濃度範囲で検討した。この試験は、プレート法を用いて 2 段階で実施した。第 1 段階では、主試験の用量範囲を設定する予備試験を実施した。第 2 段階では主試験（独立した 3 試験）を実施し、GA の変異原性を検討した。

予備試験では TA100 株のみを使用し、最高用量を 5,000 μg/plate とした。この用量は、50 mg/mL の濃度の被験物質溶液を 1 プレートあたり 100 μL 添加して調製した。その他の用量（8、40、200、及び 1,000 μg/plate）は、被験物質の各希釈液（滅菌蒸留水に溶解）又は陰性（溶媒）対照を 1 プレートあたり 100 μL 添加して調製した。細胞毒性が見られたのは 5,000 μg/plate のみであった。得られた結果に基づき、主試験で使用する最高用量を 2,500 μg/plate とした。

主試験の最初に実施した独立した試験（初回試験）では、GA の最終濃度を 4、20、100、500、及び 2,500 μg/plate とした。最高濃度（2,500 μg/plate）では、軽度の細胞毒性が一部の菌株に見ら

れたが、変異原性はいずれの菌株にも見られなかった。2回目の独立した試験では、プレインキュベーション法を用いた。最終濃度は 156.25、312.5、625、1,250 及び 2,500 μg/plate とした。625 μg/plate 以上の濃度で一部の菌株に軽度の細胞毒性が見られた。また、TA98 株で復帰変異コロニー数の増加が見られたが、数値は背景値の範囲内であった。このため、3 回目の独立した試験では、TA98 株のみを用いて 500 μg/plate までの濃度で実施したところ、細胞毒性は見られず、復帰変異コロニー数の増加も見られなかった。

したがって本試験の結果に基づき、GA の細胞毒性限界濃度又はそれに近い濃度まで処理したが、細菌を用いる復帰突然変異試験では陰性であると結論した。

2.6.6.4.2　哺乳動物細胞系での in vitro 試験

2.6.6.4.2.1　グラチラマー酢酸塩のマウスリンフォーマ $TK^{+/-}$ 試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-2（評価）

本試験の目的は、マウスリンフォーマ L5178Y/$TK^{+/-}$細胞の TK 遺伝子の突然変異誘発能を検討することにより GA の変異原性を評価することである（GLP 適用）。

本試験の結果は表 2.6.7-8B に記載する。

予備試験を実施し、独立した主試験で用いる GA の用量を検討した。最初に実施した主試験（試験 1）では、31.25～1,000 μg/mL の範囲（S-9 非存在下）及び 125～1,250 μg/mL の範囲（S-9 存在下）で 6 つの被験物質濃度を選択した。最高濃度は S-9 非存在下が 1,000 μg/mL、S-9 存在下が 1,250 μg/mL であり、相対生存率はそれぞれ 1.9%及び 4.9%であった。沈殿物が観察されたのは、S-9 存在下の最高濃度（1,250 μg/mL）のみであった。2 日間の回復培養後、最高用量と下位 4 用量についてはコロニー形成率及び突然変異率を測定するため、細胞をプレートへ播種した。2 回目の主試験（試験 2）では、試験 1 で観察された細胞毒性を考慮して用量範囲を若干変更し、S-9 の非存在下及び存在下ともに、最高用量を 1,250 μg/mL とした。1,250 μg/mL での相対生存率は、S-9 非存在下が 0.4%、S-9 存在下が 3.1%であった。S-9 存在下の 1,250 μg/mL にのみ、軽度の沈殿物が観察された。S-9 非存在下及び存在下の高用量 2 用量で顕著な細胞毒性が見られたものの、5 用量すべてについて回復培養 2 日後の細胞を、生存率及び突然変異率測定用にプレートへ播種した。

総合すると、S-9 の存在下及び非存在下に GA を細胞毒性を示す濃度まで添加しても突然変異頻度の実質的な増加は見られなかった。

結論として、マウスリンフォーマ試験では GA に変異原性は見られなかった。

2.6.6.4.2.2　哺乳類培養細胞を用いるグラチラマー酢酸塩の in vitro 染色体異常試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-3（評価）

本試験の目的は、培養ヒトリンパ球（男性ドナー1 名）を用いて GA の染色体異常誘発能を評価することである（GLP 適用）。本試験は、類似した試験デザインで実施した 2 つの試験の最初の試験である。

本試験の結果は表 2.6.7-8C に記載する。

本試験では、GA は生理食塩液に溶解し、最高用量は 5,000 μg/mL とした。溶解性に関する予備データから、GA は 50 mg/mL を超える濃度でも生理食塩液に溶解することが示されている。GA の処理濃度は分裂指数に及ぼす影響により選定し、アロクロール誘導ラット肝 S-9 の存在下及び非存在下で行った。

S-9 の非存在下では、処理時間を 20 時間又は 44 時間とした。S-9 存在下では処理時間を 3 時間のみとし、17 時間又は 41 時間の回復期間を設けて培養した（3＋17 又は 3＋41 時間）。処理開始から 20 時間後に回収した細胞について、3 つの連続する用量で染色体異常を評価した。評価に用いた最高濃度は、S-9 の非存在下が 580.1 μg/mL、S-9 の存在下が 1,373 μg/mL であり、それぞれ約 55%及び 57%の有糸分裂阻害（分裂指数の低下）が観察された。44 時間後に回収した

細胞については、1 濃度（S-9 非存在下が 580.1 μg/mL、S-9 存在下が 1,373 μg/mL）で検討した。このときの有糸分裂阻害率はそれぞれ 56%及び 27%であった。

S-9 の非存在下に GA を添加した培養では、染色体構造異常（ギャップ以外）をもつ異常細胞の出現頻度はいずれの被験濃度も陰性（溶媒）対照と同程度の値であった。

S-9 の存在下で GA を 1,373 μg/mL の濃度で処理し 20 時間後に回収した標本では、染色体構造異常（ギャップ以外）をもつ異常細胞の出現頻度が溶媒対照と比較し高値であったが、背景データの範囲内であった。同じ濃度（1,373 μg/mL）で 44 時間後に回収した場合や、1～2 段階低い濃度（892.5 及び 580.1 μg/mL）で 20 時間後に回収した場合には溶媒対照との差はなかったことから、上記の所見に毒性学的意義はないと考えられた。

結論として、GA をラット肝代謝活性化系（S-9）の存在下及び非存在下に培養ヒト末梢血リンパ球で細胞毒性限界濃度まで評価したところ、染色体構造異常の誘発は見られなかった。

2.6.6.4.2.3 哺乳類培養細胞を用いるグラチラマー酢酸塩の in vitro 染色体異常試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-4（評価）

本試験の目的は、培養ヒトリンパ球（女性ドナー1 名）を用いて GA の染色体異常誘発能を評価することである（GLP 適用）。本試験は、最初の染色体異常試験（2.6.6.4.2.2 項参照）で疑陽性結果が得られたため、確認のため実施した。

本試験の結果は表 2.6.7-8D に記載する。

本試験では、GA は生理食塩液に溶解し、最高用量は 2,500 μg/mL とした。この濃度は、培地での溶解限界に近い。GA の処理濃度は分裂指数に及ぼす影響により選定し、アロクロール誘導ラット肝 S9 の存在下及び非存在下で行った。

S-9 の非存在下では処理時間を 20 時間とした。S-9 の存在下では処理時間を 3 時間のみとし、17 時間の回復期間を設けて培養した（3＋17 時間）。3 つの連続する用量で染色体異常を評価した。評価に用いた最高濃度は、S-9 の非存在下が 419.4 μg/mL、S-9 の存在下が 524.3 μg/mL であり、どちらも約 62%の有糸分裂阻害（分裂指数の低下）が観察された。

S-9 の非存在下で GA を添加した培養では、染色体の数的・構造的異常（ギャップ以外）をもつ異常細胞の出現頻度は、いずれの被験濃度も陰性（溶媒）対照と同程度の値であった。

S-9 の存在下で GA を添加した培養では、1 濃度（524.3 μg/mL）で染色体構造異常をもつ異常細胞の出現頻度が溶媒対照と比較し高値であった。しかし、その差は小さく（単一の異常細胞で正常範囲を超えたのみ）、再現性も見られなかった（2 標本うち 1 標本にしかみられなかった）ことから、この所見に毒性学的意義はないと考えられた。

結論として、GA をラット肝代謝活性化系（S-9）の存在下及び非存在下において培養ヒト血中リンパ球で細胞毒性限界濃度まで評価したところ、染色体異常の誘発は見られなかった。

2.6.6.4.3 哺乳動物系での in vivo 試験

2.6.6.4.3.1 哺乳類赤血球を用いるグラチラマー酢酸塩の小核試験

：添付資料番号 4.2.3.3.2-1（評価）

本試験の目的は、マウス骨髄を用いる小核試験で GA の *in vivo* での染色体異常誘発能を評価することである（GLP 適用）。被験物質及び対照物質を 0.9%生理食塩液に溶解してマウスに腹腔内投与した。主試験の試験デザインを表 2.6.6-16 に示す。

この試験の結果は表 2.6.7-9 に記載する。

表 2.6.6-16　マウス小核試験のデザイン（主試験）

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	10	10	溶媒*	0	25	0
2	10	10	GA	35	25	1.4
3	10	10	GA	70	25	2.8
4	14	15	GA	140	25	5.6
5	5	5	CP	40	25	1.6

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
CP = シクロホスファミド（陽性対照）；GA = グラチラマー酢酸塩。

本試験は 2 段階で実施した。第 1 段階（用量設定試験）の目的は、GA の毒性をマウスで評価し、主試験の用量を選定することである。第 2 段階（小核試験）の目的は、雌雄 ICR マウス骨髄の小核を有する多染性赤血球（PCE）の出現頻度が GA 投与により増加するかどうかを評価することである。

用量設定試験では、GA をマウス（1 群あたり雌雄各 3 例）に 41.42～2,000 mg/kg の用量範囲で 2 日間連日投与した。死亡の有無を観察した結果、2 日間投与後の LD_{50} は約 232 mg/kg であった。

小核試験では、GA をマウス（1 群あたり雌雄各 10 例）に 35、70、又は 140 mg/kg の用量で 2 日間連日投与した。死亡はなかったが、中用量群及び高用量群では一般状態に毒性徴候が見られた。最終投与の 24 又は 48 時間後に安楽死させて大腿骨骨髄を採取し、骨髄塗抹標本を作製してギムザ染色した（両時点とも 1 群あたり雌雄各 5 例）。骨髄細胞を顕微鏡で観察し、小核を有する PCE の有無を調べた。

GA 投与群では、投与 24 時間後及び 48 時間後の両時点とも、対応する溶媒対照群と比較して小核を有する PCE 数の有意な増加は見られなかった。

結論として、GA を 140 mg/kg（LD_{50} の約 60%に相当）までの用量で雌雄マウスに 2 日間連日投与したところ、骨髄における小核の誘発はみられなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

GA のがん原性については、マウス 100 週間がん原性試験（4.2.3.4.1-1）及びラット 104 週間がん原性試験（4.2.3.4.1-2）で評価した。また、マウス 100 週間がん原性試験での適切な用量を選定するため、マウスで用量設定試験（4.2.3.2-1）を実施した（2.6.6.3.1 項参照）。がん原性試験の結果は表 2.6.7-10A（マウス）及び表 2.6.7-10B（ラット）に記載する。

2.6.6.5.1　長期がん原性試験

2.6.6.5.1.1　マウスを用いるグラチラマー酢酸塩の 100 週間皮下投与がん原性試験

：添付資料番号 4.2.3.4.1-1（評価）

本試験の目的は、マウスを用いる 100 週間試験で GA のがん原性を評価することである（GLP 適用）。当初、この試験は 80 週間のがん原性試験としてデザインされたが、生存率が高かったため 100 週間に延長した。試験デザインを表 2.6.6-17 に示す。

本試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-10A に記載する。

表 2.6.6-17　マウスを用いる 100 週間皮下投与がん原性試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	60	60	溶媒 1*	0	10	0
2	60	60	GA	3	10	0.3
3	60	60	GA	15	10	1.5
4	60	60	GA	30	10	3
5	60	60	GA	60	10	6
6	60	60	溶媒 2*	0	10	0

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩。

本試験は全 6 群からなる ICR マウス（[redacted]ICR[redacted]；1 群あたり雌雄各 60 例）で実施した。溶媒（生理食塩液）及び GA（3、15、30、及び 60 mg/kg/日［それぞれ 9、45、90、及び 180 mg/m^2/日］）を連続 100 週間にわたって 1 日 1 回皮下投与した。本試験の評価項目は次のとおりである：一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、剖検時の肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

投与開始後最初の 8 週間の生存率は、被験物質投与群の方が対照群に比べて低かった。死亡例の発現状況から GA 投与との間に関連性があることは明らかであったが、死亡率がこのような高値となった原因は特定できなかった。第 4 週までの死亡例はすべて予備の動物で置き換えた。

最初の 8 週間経過後死亡率は低下し、生存率の低下は見られなくなった。このため試験期間を 80 週間から 100 週間に延長した。

投与開始後初期に死亡例が見られた以外は、試験期間中に本薬投与に起因する一般状態の異常は見られなかった。この初期の死亡の一部は、過敏反応によるものと考えられた（2.6.6.9 項参照）。雄では、体重及び体重増加率は対照群と同程度であった。雌では、最初の 13 週間は平均体重増加率の軽度な低下が見られた。100 週間の投与期間の終了時までには、雌の体重変化は投与群と対照群で同程度となった。摂餌量に関しては、投与群と対照群の間に雌雄とも差は見られなかった。

剖検時に、15 mg/kg/日群の雄及び 60 mg/kg/日群の雌で白血球数の増加が見られた。しかし、いずれの変化も統計学的有意差はなく、背景データの範囲内であった。

いずれの用量群にも触知可能な腫瘤の増加はなかった。肉眼的病理所見では、対照群及び投与群で投与部位の皮膚肥厚の発生率がわずかに上昇し、高用量群の雄の発生率が高かった。これらの投与部位の病理組織学的検査では、雄で線維化、皮筋のミオパチー及び肥大の重症度に用量依存性が見られた。特異的な臓器毒性はなかった。高用量群の雄では皮下肉腫の発生率が高かった。第 80 週以降に殺処分（第 4 週までに死亡した 40 例に対して置き換えられた予備動物への投与は試験開始から 2～4 週間後に開始したため、最終剖検もそれに応じて実施）した動物では、皮下肉腫のほとんどは投与部位に限局してみられた。皮膚の肉腫の発生率上昇は、げっ歯類では皮下に長期連日投与したときによく見られる所見である（2.6.6.9 項参照）。全身曝露によるがん原性を示唆する異常な腫瘍発生は見られなかった。

結論として、マウスを用いる 100 週間がん原性試験により、GA は 60 mg/kg/日（180 mg/m^2/日）までの用量を皮下投与しても発がん性はないことが示された。高用量群の雄に見られた投与部位の腫瘍性所見については、投与液の局所刺激性が関係していると考えられた。

2.6.6.5.1.2 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の 104 週間皮下投与がん原性試験

：添付資料番号 4.2.3.4.1-2（評価）

本試験の目的は、ラットを用いる 104 週間試験で GA のがん原性を評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-18 に示す。

本試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-10B に記載する。

表 2.6.6-18　ラットを用いる 104 週間皮下投与がん原性試験のデザイン

群番号	動物数								被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	主試験[b]		サテライト試験[a]									
			6 mo.		12 mo.		18 mo.					
	M	F	M	F	M	F	M	F				
1	50	50	5	5	5	5	5	5	溶媒 1*	0	2	0
2	50	50	5	5	5	5	5	5	GA	3	2	1.5
3	50	50	5	5	5	5	5	5	GA	7.5	2	3.75
4	50	50	5	5	5	5	5	5	GA	15	2	7.5
5	50	50	5	5	5	5	5	5	GA	30	2	15
6	50	50	5	5	5	5	5	5	溶媒 2*	0	2	0

[a] 免疫組織化学的検査及び電子顕微鏡検査に使用したサテライト群の動物（雌雄各 15 例＝6、12 及び 18 ヵ月目に雌雄各 5 例ずつ）。
[b] 剖検日を除き、97 週間以上（雌）又は 104 週間以上（雄）投与。
* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA＝グラチラマー酢酸塩；M＝雄；F＝雌；mo.＝ヵ月

本試験は全 6 群からなる Sprague-Dawley ラット（1 群あたり雌雄各 50 例）で実施した。溶媒（生理食塩液）及び GA（3、7.5、15 及び 30 mg/kg/日［それぞれ 18、45、90、及び 180 mg/m^2/日］）を連続 104 週間にわたって 1 日 1 回皮下投与した。本試験の評価項目は一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査及び剖検時の肉眼的病理検査とした。必要に応じて骨髄塗抹標本も検査した。全用量群のすべての動物について本評価に必要な器官・組織を摘出し、病理組織学的検査を実施した。サテライト群の動物で、腎臓の免疫組織化学的検査（GA、C3 及び IgG 抗体複合体）及び電子顕微鏡的検査を実施した。

104 週間の投与期間中に、本薬投与に起因する一般状態の異常は観察されなかった。しかし、30 mg/kg/日群の雄では、投与期間の終了時に対照群と比較して生存率低下が見られた（雌では同所見なし）。また、高用量群の雄には、統計学的有意差はないものの軽度の体重増加抑制が見られた。摂餌量及び血液学的検査項目に関しては、雌雄ともに投与に関連した変化は見られなかった。

いずれの用量群にも触知可能な腫瘤の増加は見られなかった。対照群を含むすべての群の雌で、主として高頻度の乳腺及び下垂体腫瘍の発生による生存率低下のため、第 97 週までに全群の雌を殺処分した。これらの腫瘍はラットの加齢に伴うものと考えられ、病理組織学的検査では投与に関連した腫瘍発生は見られなかった（2.6.6.9 項参照）。

組織学的にはすべての群で投与に関連する投与部位の炎症及び線維化の増加が見られた。腎臓でのみ投与に関連する所見が見られた。15 及び 30 mg/kg/日群では、雌雄ともに腎腫大及び慢性進行性腎症の発生率がわずかに上昇した。本被験物質投与による局所又は全身性の腫瘍性変化の発生率に影響はなかった。

免疫組織化学的評価では、いずれの時点でも糸球体における免疫複合体の沈着を示す所見は見られなかった。

糸球体の電子顕微鏡的検査では、基底膜の肥厚のような自然発生の慢性進行性腎症と思われる変化が見られた。いずれの動物にも、糸球体基底膜に補体結合免疫複合体の特徴である高電子密度塊は見られず、概ね正常な糸球体構造を保持していた。

30 mg/kg/日群の雄で副腎の良性褐色細胞腫の発生率に統計学的に有意な増加（$p<0.046$）が見られたが、試験実施施設における無処置の雄ラットの背景データ範囲内であった。

結論として、ラットを用いる 104 週間がん原性試験により、GA を 30 mg/kg/日（180 mg/m^2/日）までの用量で皮下投与しても発がん性はないことが示された。腎臓の非腫瘍性所見は、本薬のタンパク質としての性質が関係しており、腎糸球体での免疫複合体沈着が原因ではないと考えられた。これらの腎障害に関する無毒性量は 7.5 mg/kg/日（45 mg/m^2/日）と判定された。また、GA の投与は局所又は全身性の腫瘍性変化の発生率に影響を及ぼさなかった。

ラットに慢性（最長 104 週間）皮下投与したときの全身性の毒性作用に関する無毒性量は、7.5 mg/kg/日と判定された。全用量群で投与部位の炎症及び線維化を示す病理組織学的所見が見られたことから、「無作用量」は判定できなかった。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

一連の生殖発生毒性試験を GA について実施した。すなわち、ラットを用いる受胎能及び一般生殖能試験（ICH Stage A-F［Segment I-III］；4.2.3.5.1-1）、ラットを用いる胚・胎児発生試験（ICH Stage C-D［Segment II］；4.2.3.5.2-1）、ウサギを用いる胚・胎児発生試験（ICH Stage C-D［Segment II］；4.2.3.5.2-2）及びラットを用いる周産期及び授乳期投与試験（ICH Stage D-F［Segment III］；4.2.3.5.3-1）であった。4 つの試験はいずれも GA の生殖発生毒性を評価する重要な試験として分類されており、ICH S5 の要件を満たしている。

各試験の結果を以下の概要表に示す。

- Segment I-III：表 2.6.7-11
- Segment II：表 2.6.7-12A 及び表 2.6.7-12B
- Segment III：表 2.6.7-13

2.6.6.6.1　受胎能及び一般生殖能試験

2.6.6.6.1.1　ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の受胎能及び一般生殖能試験（ICH Stage A-F）

：添付資料番号 4.2.3.5.1-1（参考）

本試験の目的は、Sprague-Dawley ラットに GA を皮下投与し、雌雄親動物の受胎能、胚・胎児及び出生後の発生、母体の機能並びに F1 動物の生殖機能に及ぼす影響を評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-19 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-11 に記載する。

表 2.6.6-19　受胎能及び一般生殖能に関するラット皮下投与試験のデザイン

群番号	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
	雄	雌				
1	30	30	溶媒*	0	2	0
2	30	30	GA	1	2	0.5
3	30	30	GA	6	2	3
4	30	30	GA	36	2	18

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩。

GA が F0 世代の生殖能、胚・胎児発生、出生後の発生及び母体の機能に及ぼす影響を評価した。先行するラットを用いた GA の毒性試験成績より、投与部位の局所毒性が予想される用量である 36 mg/kg/日を高用量とした。雄には交配前 10 週間から剖検日まで、雌には交配前 2 週から剖検日まで投与した。雄は F1 児の離乳後に剖検した。雌の半数は妊娠 20 日（GD20）に胚・胎児の検査のため帝王切開し、残りの半数は自然分娩させ、分娩後 25 日に剖検した。

全動物の外観及び行動を 1 日 2 回観察し、F0 及び F1 動物の体重及び摂餌量を適切な間隔で記録した。F0 及び F1 動物（交配用として選抜した動物）については血液学的検査、剖検並びに精巣又は卵巣重量測定を実施した。交配後の F0 動物については、交尾までの日数、妊娠率及び受胎率を算出した。雌の半数例は GD20 に帝王切開し、生存胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数、性比、胎盤重量及び体重を測定し、外表、内臓及び骨格の異常及び変異の有無を観察した。残り半数の妊娠動物については自然分娩させ分娩・哺育について評価するとともに、出生児（F1 世代）の発生及び行動・機能（正向反射、聴覚性驚愕反射、瞳孔反射）を検査した。さらに F1 動物を交配して分娩させ、F2 動物を離乳まで観察することにより、F1 動物の生殖機能を評価した。

F0 動物では、投与開始 12 週間後の雄の赤血球パラメータ（ヘマトクリット値及び総ヘモグロビン濃度）の低下、並びに剖検時に雌雄で投与部位の局所的うっ血又は出血が見られたが、いずれも最高用量群のみでの所見であり、軽微なものであった。いずれの群にも一般状態、摂餌量、体重増加、器官重量に GA 投与の影響は見られなかった。

F0 動物の交配の結果、交尾率、受胎率及び交尾までの日数に GA 投与の影響は見られなかった。GD20 の帝王切開では、胎児の生存率、体重及び形態、並びに胎盤重量には GA 投与による影響は見られなかった。自然分娩群においても母動物の妊娠期間及び分娩に GA 投与の影響は見られず、出生児の性比、生存率及び体重、摂餌量、血液学的検査、並びに行動及び生殖機能に GA 投与の影響は見られなかった。

結論として、GA をラットに皮下投与した場合の生殖能以外に関する無毒性量は雌雄とも 6 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）と判定した。この試験の雌雄ラットで検討した生殖パラメータに関する無毒性量は 36 mg/kg/日（216 mg/m^2/日）と判定した。

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の胚・胎児発生に関する試験（ICH Stage C-D）

：添付資料番号 4.2.3.5.2-1（参考）

本試験の目的は、GA を妊娠 Sprague-Dawley ラットに皮下投与したときの母体毒性及び胚・胎児毒性を評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-20 に示す。

本試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-12A に記載する。

表 2.6.6-20　胚・胎児発生に関するラット皮下投与試験のデザイン

群番号	雌動物数	被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
1	22	溶媒*	0	2	0
2	22	GA	0.3	2	0.15
3	22	GA	1.5	2	0.75
4	22	GA	7.5	2	3.75
5	22	GA	37.5	2	18.75

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩。

GA の母体毒性や胚・胎児発生に関する影響をラットで評価した。GA を雌ラットに妊娠第 6 日（GD 6）から第 15 日（GD 15）まで 1 日 1 回皮下投与した。全例の一般状態を毎日観察した。体重及び摂餌量を適切な間隔で記録した。GD 20 に、すべての生存動物について帝王切開し、子宮及び卵巣を摘出して検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数を記録した。妊娠子宮重量及び体重変化の群平均値を算出した。胎児の体重を測定し、性別、外表、内臓及び骨格の異常及び変異を観察した。

全用量において、毒性を示唆する一般状態並びに摂餌量及び体重増加に対する影響は見られなかった。胎児生存率、胎児体重及び体長、並びに胎盤重量に GA の投与による影響は見られなかった。剖検時に、投与に関連する形態学的な異常は見られなかった。投与群で観察された奇形は自然発生性のものであり、投与とは無関係と判断された。投与に関連する胎児発生の変異はいずれの用量でも見られなかった。

結論として、GA をラットに皮下投与した場合の母体及び胚・胎児発生に関する無毒性量は、37.5 mg/kg/日（225 mg/m^{2}／日）と判定された。

2.6.6.6.2.2　ウサギを用いるグラチラマー酢酸塩の胚・胎児発生に関する試験（ICH Stage C-D）

：添付資料番号 4.2.3.5.2-2（参考）

本試験の目的は、GA を妊娠 New Zealand White（NZW）ウサギに皮下投与したときの母体毒性及び胚・胎児毒性を評価することである（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-21 に示す。

本試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-12B に記載する。

表 2.6.6-21　胚・胎児発生に関するウサギ皮下投与試験のデザイン

群番号	雌動物数	被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
1	17	溶媒*	0	2	0
2	17	GA	0.3	2	0.15
3	17	GA	1.5	2	0.75
4	17	GA	7.5	2	3.75
5	17	GA	37.5	2	18.75

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA = グラチラマー酢酸塩。

GA を NZW ウサギに GD 6 から GD 19 まで 1 日 1 回皮下投与した。妊娠期間を通じて、全例の外観及び行動を毎日観察した。体重は GD 0、GD 3、GD 6～19（毎日）、GD 22、GD 25 及び GD 29 に記録した。摂餌量は週 2 回記録した。GD 29 に、すべての母動物について帝王切開し、子宮及び卵巣を摘出して検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数を記録した。妊娠子宮重量及び体重変化の群平均値を算出した。胎児の体重を測定し、性別、外表、内臓及び骨格の異常及び変異を観察した。

低用量群の 1 例は、自然流産したため GD 27 に剖検した。低用量以外では流産はみられなかったことから、本所見は投与に関連するものではないと判断した。これ以外には、予定された剖検日（GD 29）までに死亡例はなかった。いずれの用量でも、臓器・組織（子宮、卵巣など）に投与に関連する所見は見られなかった。投与期間（GD 6～19）の初期には、高用量群の母動物の平均体重増加率が対照群を下回った。また、投与開始直後の数日間（GD 7～10）に高用量群で一過性の軽度の摂餌量減少が見られた。

いずれの用量でも GA の投与による胎児生存率、胎児体重及び体長、胎盤重量及び器官形成に対する影響は見られなかった。

結論として、NZW ウサギに GA を 37.5 mg/kg/日の用量で皮下投与したとき軽度の母動物に対する毒性が見られたことから母動物における無毒性量は 7.5 mg/kg/日（90 mg/m^2/日）、胚・胎児発生に関する無毒性量は 37.5 mg/kg/日（450 mg/m^2/日）と判定した。

2.6.6.6.3 周産期及び授乳期投与試験

ラットを用いる出生前及び出生後の発生に関する試験（4.2.3.5.3-1；GLP 適用）の概要を次項に記載する。このほかにもラットを用いる受胎能試験（4.2.3.5.1-1；GLP 適用）を実施し、その中で出生前及び出生後の発生に関する評価項目についても検討した。ラットを用いる受胎能試験で得られた出生前及び出生後の発生に関する結果については、2.6.6.6.1.1 項に記載した。

2.6.6.6.3.1 ラットを用いるグラチラマー酢酸塩の周産期及び授乳期投与試験（ICH Stage D-F）

：添付資料番号 4.2.3.5.3-1（参考）

本試験の目的は、GA を妊娠 Sprague-Dawley ラット（F0）に皮下投与したときの周産期から離乳時までの母動物の妊娠、分娩及び授乳に対する毒性を評価することであった。また、F1 出生児の成長、生存率及び行動も評価した（GLP 適用）。試験デザインを表 2.6.6-22 に示す。

この試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-13 に記載する。

表 2.6.6-22 ラットを用いる周産期及び授乳期投与試験のデザイン

群番号	雌動物数	被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与液量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
1	22	溶媒*	0	2	0
2	22	GA	1	2	0.5
3	22	GA	6	2	3
4	22	GA	36	2	18

* 溶媒には滅菌生理食塩液を使用した。
GA＝グラチラマー酢酸塩。

GA を雌ラットに GD 15 から授乳 21 日目まで皮下投与した。一般状態、体重及び摂餌量を適切な間隔で記録した。妊娠について評価するとともに、出生児（F1 世代）の発生又は行動の異常を検査した。全出生児について以下の行動を検査した。なお、生存出生児は生後第 21 日の離乳後に殺処分し、剖検した。

1. 面正向反射：生後第 1 日から反応率が 100%に達するまで、同腹児単位で毎日検査した。

2. 空中落下正向反射：生後第 14 日から反応率が 100%に達するまで、同腹児単位で毎日検査した。
3. 聴覚性驚愕反射：生後第 14 日に動物毎に 1 回検査した。
4. 瞳孔対光反射：生後第 21 日の離乳時に動物毎に検査した。

GA を投与した母動物では、投与に関連する一般毒性変化は見られなかった。母動物の摂餌量及び体重増加率はいずれの群も同程度であった。GA（1、6、及び 36 mg/kg/日）を皮下投与したとき、予定の剖検時まで生存していた母動物の妊娠期間及び分娩に毒性学的な影響は見られなかった。出生児数、出生前及び出生後の生存率並びに性比にも投与の影響は見られなかった。36 mg/kg/日群の母動物から生まれた F1 雌及び 6 又は 36 mg/kg/日群の母動物から生まれた F1 雄では、対照群との比較で統計学的に有意な軽度の体重増加抑制が見られた。親動物では体重に統計学的有意差はみられなかったものの授乳期を通して GA 投与群で体重が低い傾向にあることから、この親動物の体重の低値傾向により乳汁産生量が減少することで F1 児の体重増加抑制が生じた可能性があると考えられる。GA の投与は出生児の行動検査結果に影響を及ぼさなかった。母動物及び出生児の剖検では、投与に起因する肉眼的異常所見はなかった。

結論として、GA をラットに妊娠中から授乳期まで 36 mg/kg/日（216 mg/m^2/日）までの用量で皮下投与したとき、投与母動物から生まれた出生児の生存率及び機能発達に毒性学的変化は見られなかった。6 mg/kg/日以上を投与した群では、出生児に軽度の体重増加抑制が見られた。ラットの出生前及び出生後の発生に関する無毒性量は、F1 雄で 1 mg/kg/日（6 mg/m^2/日）、F1 雌で 6 mg/kg/日（36 mg/m^2/日）と判定された。

2.6.6.7 局所刺激性試験

GA の独立した局所刺激性試験は実施していない。しかし、GA の皮下投与での反復投与毒性試験及びがん原性試験において投与部位への影響を評価（一般状態、剖検時の肉眼的所見及び病理組織学的検査）した（2.6.6.3 項及び 2.6.6.5 項参照）。その結果、GA のすべての投与用量で投与部位の変化が見られ、その変化は低用量では軽度であったが、最大耐量では顕著であり用量制限毒性と判断された（2.6.6.9 項参照）。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

GA の感作性に関し、モルモット及びマウスの全身アナフィラキシーモデル及び受動皮膚アナフィラキシーモデルを用いて抗原性を検討した。本試験結果の概要は、以下の 2 項に動物種別に記載する。

2.6.6.8.1.1 モルモット

：添付資料番号 4.2.3.7.1-1（参考）

本試験の目的は、GA がモルモットで抗原性を示すかどうかを能動全身アナフィラキシー（ASA）法及び受動皮膚アナフィラキシー（PCA）法で評価することである（GLP 適用）。

ASA 試験では、馴化済みの健康な Hartley 系雄モルモット 60 例（10 例／群）に表 2.6.6-23 に記載したように投与した。

本試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-16 に記載する。

表 2.6.6-23　モルモットを用いる抗原性試験のデザイン：能動全身アナフィラキシー試験

群番号	投与					
	感作*			惹起**		
	試験群	感作抗原の用量 (mg/kg)	動物数 (雄)	試験群	惹起抗原の用量 (mg/kg)	動物数 (雄)
1	GA（低用量）	0.33 GA	10	GA（低用量）	3.3 GA	5
2	GA（高用量）	3.3 GA	10	GA（高用量）	3.3GA	5
3	GA（低用量）＋FCA	0.33 GA	10	GA（低用量）＋FCA	3.3 GA	5
4	GA（高用量）＋FCA	3.3 GA	10	GA（高用量）＋FCA	3.3 GA	5
5	OVA＋FCA（陽性対照）	2.0 OVA	10	OVA＋FCA	2.0 OVA	5
6	マンニトール＋FCA（陰性対照）	6.7 マンニトール	10	マンニトール＋FCA	3.3 GA	5

FCA＝フロイント完全アジュバント；GA＝グラチラマー酢酸塩；OVA＝卵白アルブミン。
* 感作期間、第 1 及び 2 群には 21 日間連日、第 3、4、5 及び 6 群には第 0（感作 1 日目）、7、14 及び 21 日に皮下投与した。
** 惹起期間、最終感作の 14 日後に静脈内投与した。

感作期間中は、各動物の一般状態を毎日観察した。惹起期間中は、投与後約 30 分間観察した。体重測定は、初回感作後の第 0（感作 1 日目）、7、14 及び 21 日、並びに最終感作の 7 及び 14 日後に実施した。さらに、IgG 抗体及び IgE 抗体の検出（PCA 試験）のため、最終感作後の 14 日後に 1 群あたり 5 例から採血した。

同種 PCA 試験では、Hartley 系雄モルモット 30 例（5 例／群）に表 2.6.6-24 に記載したように投与した。

表 2.6.6-24　モルモットを用いる抗原性試験のデザイン：受動皮膚アナフィラキシー試験

群番号	動物数（雄）	惹起抗原	用量
1	5	GA	3.3 mg/kg
2	5	GA	3.3 mg/kg
3	5	GA	3.3 mg/kg
4	5	GA	3.3 mg/kg
5	5	OVA	2.0 mg/kg
6	5	GA	3.3. mg/kg
		OVA	2.0 mg/kg

GA＝グラチラマー酢酸塩；OVA＝卵白アルブミン。

IgG_1 抗体の検出を目的とした試験では、最終感作の 14 日後に第 1～6 群の各動物から採取した血清を 56℃で 4 時間処理したのち生理食塩液で 5 倍に希釈し、未処置のモルモットに 0.1 mL 皮内投与した。皮内投与後約 4 時間の感作期間後に、各動物に対応する惹起抗原とエバンスブルーの混合液を静脈内投与した。静脈内投与約 30 分後に、各皮内投与の反応部位（エバンスブルー

漏出部位）の直径を測定した。5 倍希釈で陽性反応が見られた血清は、抗体価を求めるために、さらに最大 78,125 倍まで 5 倍段階希釈した。

IgE 抗体の検出を目的とした試験では、最終感作の 14 日後に第 1～6 群の各動物から採取した血清を生理食塩液で 5 倍に希釈し、未処置のモルモットに 0.1 mL 皮内投与した。皮内投与後 8 日間の感作期間後に、各動物に対応する惹起抗原とエバンスブルーの混合液を静脈内投与した。静脈内投与約 30 分後に、各皮内投与の反応部位（エバンスブルー漏出部位）の直径を測定した。OVA 及び FCA で感作した群では惹起抗原投与後アナフィラキシー反応による死亡例が見られたため希釈率を 25 倍及び 125 倍にまで上げたが、アナフィラキシー反応が再び誘導されたため、最大 78,125 倍まで希釈した。

ASA 試験の感作期間中は、いずれの動物でも体重増加が見られ、一般状態は正常であった。第 6 群（陰性対照；マンニトール及び FCA）では、惹起時にアナフィラキシーの徴候は見られなかった。第 5 群（陽性対照；OVA 及び FCA）及び第 1～4 群（GA）では、惹起時に強いアナフィラキシー反応が誘導された。第 1 群（GA 0.33 mg/kg）、第 3 群（GA 0.33 mg/kg＋FCA）及び第 4 群（GA 3.3 mg/kg＋FCA）では全例が死亡した。第 2 群（GA 3.3 mg/kg）では 2 例が死亡した。

PCA 試験では、第 6 群（陰性対照）から採取した血清による感作の 4 時間後又は 8 日間後に GA 又は OVA で惹起しても PCA 反応は見られなかった。第 5 群（陽性対照）から採取した血清は、感作 4 時間後の OVA による惹起で陽性反応を示し、抗体価は 3,125～78,125 であったが、感作 8 日後の PCA 反応試験では全身アナフィラキシー反応が惹起されたため抗体価を測定することができなかった。第 1～4 群の一部の動物の血清では、感作 4 時間後の PCA 反応試験で GA による惹起で陽性反応が誘導された。第 1 群（GA 0.33 mg/kg）の抗体価は 25～125（5 例中 3 例）、第 2 群（GA 3.3 mg/kg）の抗体価は 5（5 例中 1 例）、第 3 群（GA 0.33 mg/kg＋FCA）の抗体価は 25～625（5 例中 5 例）、第 4 群（GA 3.3 mg/kg＋FCA）の抗体価は 25～125（5 例中 4 例）であった。しかし、感作 8 日後の PCA 反応試験では、いずれの動物の血清も 5 倍希釈で陰性であった。

結論として、雄モルモットに GA（0.33 又は 3.3 mg/kg）を皮下投与して感作し、次いで GA（3.3 mg/kg）を静脈内投与して惹起したところ、強い急性全身アナフィラキシー反応を示唆する一般症状が見られた。同種 PCA 試験では、感作 4 時間後の PCA 試験で陽性反応が見られたことから、IgG_1 抗体の産生が示された。しかし、感作 8 日後の PCA 試験ではいずれの動物の血清でも陰性であったことから、IgE 抗体の産生はなかったことが示唆される。なお、陽性対照（OVA）は、強い急性全身アナフィラキシー反応及び受動皮膚アナフィラキシー反応を引き起こした。

2.6.6.8.1.2 マウス

：添付資料番号 4.2.3.7.1-1（参考）

本試験の目的は、GA がマウスで抗原性を示すかどうかを異種受動皮膚アナフィラキシー（PCA）法で評価することである（GLP 適用）。

PCA 反応試験では、馴化済みの健康な雄マウス 72 例（BALB/c 系：6 例／群、C3H/He 系：6 例／群）に表 2.6.6-25 に記載したように投与した。

本試験で見られた特記すべき所見を表 2.6.7-16 に記載する。

表 2.6.6-25　マウスを用いる抗原性試験のデザイン：受動皮膚アナフィラキシー試験

	投与					
	感作*			惹起**		
	試験群	感作抗原の用量 (mg/kg)	動物数（雄）	試験群	惹起抗原の用量 (mg/kg)	動物数（雄）
1	GA（低用量）	0.33 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）	GA（低用量）	3.3 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）
2	GA（高用量）	3.3 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）	GA（高用量）	3.3 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）
3	GA（低用量）＋Alum	0.33 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）	GA（低用量）＋Alum	3.3 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）
4	GA（高用量）＋Alum	3.3 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）	GA（高用量）＋Alum	3.3 GA	6（BALB/c） 6（C3H/He）
5	OVA＋Alum（陽性対照）	2.0 OVA	6（BALB/c） 6（C3H/He）	OVA＋Alum	2.0 OVA	6（BALB/c） 6（C3H/He）
6	マンニトール＋Alum（陰性対照）	6.7 マンニトール	6（BALB/c） 6（C3H/He）	マンニトール＋Alum	3.3 GA 2.0 OVA	6（BALB/c） 6（C3H/He）

Alum = 水酸化アルミニウムゲル；GA = グラチラマー酢酸塩；OVA = 卵白アルブミン。
* 感作期間、第 1 及び 2 群には 21 日間連日皮下投与、第 3、4、5 及び 6 群には第 0（感作 1 日目）、7、14 及び 21 日に腹腔内投与した。
** 最終感作の 14 日後に採取した血清を PCA 試験に使用した。

各動物の一般状態を、感作期間中から血清採取まで毎日観察した。体重測定は、初回感作後第 0（感作 1 日目）、7、14 及び 21 日、並びに最終感作の 7 及び 14 日後に実施した。最終感作の 14 日後に採血し、血清を採取した。

抗体検出では、最終感作の 14 日後に第 1～6 群の両系統のマウスから採取した血清を生理食塩液で 5 倍希釈し、未処置のラットに 0.05 mL 皮内投与した。皮内投与後約 24 時間（±15 分）の感作期間後に、動物に対応する惹起抗原とエバンスブルーの混合液を静脈内投与した。静脈内投与約 30 分後に、各皮内投与の反応部位（エバンスブルー漏出部位）の直径を測定した。5 倍希釈で陽性反応が見られた血清は、抗体価を求めるためにさらに最大 78,125 倍まで 5 倍段階希釈した。

感作期間中及び感作後の観察期間ではいずれの動物でも体重増加が見られ、一般状態は正常であった。第 6 群（陰性対照：マンニトール＋Alum）では、両系統（BALB/c 及び C3H/He）のいずれの血清でも、GA 又は OVA で惹起しても PCA 反応は見られなかった。第 5 群（陽性対照：OVA＋Alum）では、OVA による惹起後にすべての動物の血清で PCA 陽性反応が見られ、抗体価は BALB/c マウスで 5～25、C3H/He マウスで 5～125 であった。第 1～4 群（GA 又は GA＋FCA）に関し、BALB/c マウスでは、GA による惹起で一部の動物に PCA 陽性反応が見られ、抗体価は GA（0.33 mg/kg）群が 5（6 例中 3 例）、GA（3.3 mg/kg）群が 25（6 例中 1 例）、及び GA（3.3 mg/kg）＋Alum 併用群が 5 であった（6 例中 1 例）。これに対し、C3H/He マウスでは、GA 群及び GA＋Alum 併用群のいずれにも PCA 陽性反応は見られなかった。

結論として、GA（0.33 又は 3.3 mg/kg）又は GA を水酸化アルミニウムゲルに懸濁したものを感作期間中に皮下投与又は腹腔内投与したところ、BALB/c マウスで PCA 陽性反応が見られ、

IgE 抗体の産生が示唆された。一方、C3H/He マウスの血清では PCA 反応が陰性であったことから、この系統のマウスでは IgE 抗体が産生されないと考えられる。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 単回投与及び反復投与毒性試験

GA の単回投与毒性試験では、皮下投与による死亡例は観察されていないが、忍容性の確認はされており、これらの試験デザインは GA の安全性を評価するという目的では適切である。反復投与毒性試験では抗原性及び免疫毒性に関する検査項目を一部試験で追加した。連日皮下投与が可能な用量は、GA の溶解性、浸透圧及び局所刺激性によって制限され、直接的な全身毒性を示唆する明らかな変化は見られなかった。

GA の標準的な出品ロットと、混入物及び不純物を含有するロットの毒性の評価を目的にラットにおける静脈内投与単回毒性試験を実施した。2 つの試験では GA を 40 及び 200 mg/kg の用量で静脈内投与したが、標準的な出品ロットに関しては、最初の試験では 200 mg/kg 群の雄（5 例中 2 例）が投与後 3 時間以内に死亡し、死亡した動物の剖検では、肝臓の灰色化及び肺出血が見られた。2 番目の試験では、200 mg/kg 群の雄で 5 例中 1 例が死亡した。200 mg/kg 群の生存動物には、運動失調、自発運動の低下、振戦、無関心及び流涙が見られた。体重増加抑制も見られたが、回復した。40 mg/kg 群の動物には、死亡、一般状態の異常及び体重減少は見られなかった。

[redacted]誘導体（フッ素含有率として 0.7%）又は臭化誘導体（[redacted]として 12～14%）を意図的に混入した 2 つの GA ロット及び構造未知の不純物（0.28%）を含有する 1 つのロットの静脈内投与急性毒性を、分析規格を満たした標準的な出品ロットと比較した。

[redacted]誘導体は、GA の合成過程で生成する中間体である。[redacted]誘導体（フッ素含有率 0.7%）を意図的に完全除去しなかった原薬ロットをラットに 40 mg/kg の用量で静脈内したところ、毒性所見はなかった。

臭化誘導体は、[redacted]で生成する可能性のある不純物である。臭化誘導体の含有率が高い（12～14%）ロットは、200 mg/kg を投与したときの死亡率が標準的な出品ロットに比べて高かった。死亡例は、臭化誘導体の含有率が高いロットを投与した群では雄が 5 例中 3 例、雌が 5 例中 4 例であったのに対し、標準的な出品ロットを投与した群では雄が 5 例中 2 例、雌が 5 例中 0 例であった。臭化誘導体の含有率が高いロットを 40 mg/kg 投与した群では、振戦の発生率が上昇したが、死亡例はなかった。

GA の標準的な出品ロットと構造未知の不純物を 0.28%含有するため不合格となったロットの 200 mg/kg を静脈内単回投与したときの死亡率には、明確な差は見られなかった。

GA を Sprague-Dawley ラットに 400 mg/kg 皮下に単回投与した。投与 14 日後の試験終了時までに死亡例はなかった。また、この期間中に、一般状態及び体重増加に対する毒性所見も見られなかった。

4 週間の皮下投与毒性試験を、ラットでは 0、2、10、20 及び 40 mg/kg/日の用量で（4.2.3.2-2；2.6.6.3.2 項参照）、ビーグル犬では 0、2、10 及び 20 mg/kg/日の用量で実施した（4.2.1.3-2；2.6.6.3.6 項参照）。

ラットの試験では、投与第 11～20 日に、皮膚及び耳の発赤、並びに顔面及び鼻の腫脹が散発的に見られた。用量依存性がなかったこと、また、その他の試験で同様の徴候が見られなかったことから、投与との関連は疑わしいと考えられる。イヌでは、投与第 3 週以降に投与部位の掻爬傷が見られた。本所見は GA 投与群の全例及び対照群の雌 1 例で見られ、その発生率は投与量に関連することを示している。試験終了前の検査時に、投与部位の腫脹が 20 mg/kg/日群の雌雄各 3 例中各 1 例、10 mg/kg/日群の雌 3 例中 2 例及び雄 3 例中 1 例で見られた。掻破傷の二次的影響と考えられる局所の脱毛も 20 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で見られた。4 週間投与後に実施した眼

科学的検査では、タペタムと非タペタムの境界における反射亢進が 20 mg/kg/日群の雌雄各 1 例、10 mg/kg/日群の雄 2 例で見られた。これに関連する組織学的変化が見られなかったこと、またタペタムの反射亢進は無処置イヌでも高頻度に見られることから、毒性学的意義はないと考えられた。ラットでは、赤血球数、ALP、ALT、アルブミン及びα2-グロブリン、イヌでは、α2-グロブリン及びγ-グロブリンに軽微だが統計学的に有意な変化が見られたが、これらはいずれも毒性学的意義があるとは判断されなかった。投与部位における局所反応の組織学的変化が両動物種の全投与群で見られた。ラットを用いた 4 週試験の NOAEL は最終報告書では明記されていないが、雌雄ともに 40 mg/kg/日（240 mg/m^2/日）と判断した。イヌを用いた 4 週試験の NOAEL は雌雄ともに 20 mg/kg/日（400 mg/m^2/日）と判断した。

GA 皮下投与による慢性毒性は、ラットの 6 ヵ月間連日投与（4.2.3.2-3；2.6.6.3.3 項参照）及びカニクイザルの 1 年間連日投与（4.2.3.2-9；2.6.6.3.10 項参照）により評価した。GA はアカゲザル及びヒヒの実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）で生存率を高め、臨床症状及び組織学的変化の改善に有効であることが確認されていることから、GA の評価に適した非げっ歯類としてカニクイザルを選択した。

ラットでは 6 ヵ月間、サルでは 1 年間にわたり、30 mg/kg/日までの連日皮下投与で検討した。ラットにおける慢性毒性試験の最終報告書では NOAEL は明記されていないが、全身毒性の NOAEL は雌雄ともに 30 mg/kg/日（180 mg/m^2/日）であると判断した。サルでの投与量は、28 日間の用量設定試験（4.2.3.2-8）で、60 mg/kg/日の長期投与により投与部位に許容できない刺激及び炎症が生じることが示唆されたことから、30 mg/kg/日に設定した。これらの試験では、毒性学的意義が極めて低いかあるいは明確でない所見（体重増加率のわずかな減少、臨床検査項目での偶発的で軽微な変化など）が散見されたが、これらの所見には試験間で一貫性がなく、臨床的又は病理学的検査で関連する変化がなかった。30 mg/kg/日を 1 年間投与したサル 2 例で、骨髄の活動性胚濾胞、軽微で限局性の動脈の慢性線維化病変が見られた。したがって、サル 1 年間投与試験における全身性の毒性に関する無毒性量（NOAEL）は、10 mg/kg/日（120 mg/m^2/日）と判断した。

サル 10 mg/kg/日群の雌 1 例は、重度の食欲不振及び急激な状態悪化のため、第 14 週に殺処分された。詳細な剖検及び組織の組織学的検査を実施したが、瀕死となった原因の説明となるような病理学的変化は見られなかった。したがって、この動物の重度の衰弱は、炎症病変の併発と急性ストレスが重なったことによる状態悪化結果であると結論づけられた。

ラットの慢性毒性試験において、全投与群で投与部位の障害の重症度が用量依存的に増した。同様に、サルを用いる試験でも、線維化を伴う投与部位の慢性炎症の重症度が増したことに関して、病理組織学的な基準に基づいた「無作用量」は確認できなかった。しかし、慢性毒性試験で検討した最低用量（3 mg/kg/日）は予定臨床用量の 10 倍に当たるうえ、この用量での忍容性は良好で、軽微な病理組織学的変化が見られたのみであった。臨床上の忍容性を勘案すると、動物への長期投与後の投与部位変化に関して「無作用」量を求める必要はないと判断した。

2.6.6.9.2 遺伝毒性試験

GA の遺伝毒性は、細菌を用いる復帰突然変異試験（4.2.3.3.1-1；2.6.6.4.1.1 項参照）、哺乳類細胞を用いる遺伝子突然変異試験（4.2.3.3.1-2；2.6.6.4.2.1 項参照）、2 回の *in vitro* 染色体異常試験（4.2.3.3.1-3 及び 4.2.3.3.1-4；2.6.6.4.2.2 項及び 2.6.6.4.2.3 項参照）及びマウス小核試験（4.2.3.3.2-1；2.6.6.4.3.1 項参照）で評価した。上記の一連の標準的な遺伝毒性試験において陰性の結果が得られたことから、GA は細菌及び哺乳類培養細胞の遺伝子突然変異を誘発しないこと、並びに *in vivo* 及び *in vitro* のどちらでも染色体損傷を誘発しないことが確認された。

2.6.6.9.3 がん原性試験

GA が変異原性を示さなかったこと、また、GA の薬理学的プロファイルから、慢性的な細胞傷害又は細胞増殖の誘発性、若しくは刺激ホルモンの分泌促進作用はないと考えられることを勘案しても、GA のような薬剤（ポリペプチド混合物）についてはがん原性試験は特に要求され

ない。さらに、GA 又はその分解生成物（ペプチド又はアミノ酸）と、発がん性が既知又は疑われる物質との間の構造的類似性を示唆する知見はない。慢性毒性試験中に検査したいずれの組織においても、投与に関連する前癌病変は観察されていない。しかし、FDA からの実施要請に応じて、また米国におけるフェーズ 4 コミットメントの一環としてげっ歯類を用いて 2 つのがん原性試験を実施した。

ラット及びマウスを用いて、連日皮下投与によるがん原性試験を実施した。用量は、0、3、15、30 及び 60 mg/kg/日（マウス；4.2.3.4.1-1）及び 0、3、7.5、15 及び 30 mg/kg/日（ラット；4.2.3.4.1-2）に設定した。これらの試験の最大用量は、先行する毒性試験で主に投与部位障害の重症度に基づき判定した最大耐量（MTD）とした。これらの MTD は、体重換算での比較で臨床用量の 100 倍（ラット）及び 200 倍（マウス）であり、体表面積換算での比較で両動物種とも臨床用量の約 15 倍であった。

マウス

マウスのがん原性試験開始に先立ち、同系統のマウスに 0、20、40 及び 60 mg/kg を連日皮下投与する 13 週間の用量設定試験（4.2.3.2-1；2.6.6.3.1 項参照）を実施した。試験終了前に 5 例が死亡した（対照群の雄 1 例、40 mg/kg/日群の雄 1 例及び 60 mg/kg/日群の雌 3 例）。詳細な剖検及び組織学的検査では、これらのマウスの死因又は死亡に関与した可能性がある要因は特定できなかった。全身毒性の証拠は見られなかったが、対照群及び GA 投与群で投与部位に軽度な炎症及び線維性変化が見られた。投与部位の変化（特に皮筋の進行性ミオパチー）から、60 mg/kg/日を超える用量では、がん原性試験の期間中に許容できない重篤な変化を引き起こすと予想された。したがって、マウスのがん原性試験では、60 mg/kg/日を最高用量に設定した。

その後、60 mg/kg/日を最高用量をとして、マウスの 80 週間（当初予定）がん原性試験（4.2.3.4.1-1；2.6.6.5.1.1 項参照）を開始した。投与開始後 8 週間に高い死亡率が見られた。投与第 2～8 週に、計 56 例（対照群の雌雄各 1 例を含む）が死亡した。死亡例の大多数は GA 投与群であったが、明らかな用量依存性は見られなかった。

第 4 週までに死亡した 40 例は、同じ動物ロット由来の予備マウスで置き換えた。そのため、本試験に割り付けたマウスの一部は、試験開始 2～4 週間後に投与を開始した。投与に関連する死亡率がこのように異常に高かった原因は特定できなかった。しかし、組織学的に免疫系の刺激を示す所見が認められたことから、ある種の過敏反応が関与した可能性が示唆された。

同一ロットの GA を用いて同時に実施したラットのがん原性試験、並びに先に実施したイヌ及びサルの反復投与毒性試験では、死亡は発生しなかった。したがって、投与開始初期の多数の死亡は、マウスにおける特異的な何らかの過敏反応の結果であると推察される。

投与期間初期に原因不明の死亡が見られたものの、第 8 週以降の死亡率は明らかに低下した。本試験は当初計画した 80 週間を超えて継続し、投与開始 100 週間後に終了した。対照群を含む全群で、投与部位の変化として筋膜炎／線維化、皮筋のミオパチー及び肥大を主な特徴とした局所刺激に起因する病理組織学的所見が見られた。特に GA 投与群の雄では、投与部位の変化の発生率及び重症度は明らかに用量依存的に上昇した。

60 mg/kg/日群の雄では、第 80 週以降、投与部位の皮膚における皮下肉腫の発生率は統計学的に有意に上昇した。しかし、長期間の連日皮下投与により、高い局所濃度の化学物質により誘発される細胞傷害性損傷への代償性反応として過形成が生じ、その結果皮膚の肉腫の発生率が上昇することはげっ歯類では一般的な現象である[1]。投与との関連が疑われるその他の種類の腫瘍は見られなかった。

ラット

ラットのがん原性試験（4.2.3.4.1-2；2.6.6.5.1.2 項参照）における最高用量（30 mg/kg/日）は、過去のラットへの長期皮下投与後に見られた投与部位反応を考慮し設定した。この用量は、ICH ガイドライン「医薬品のがん原性試験のための用量選択のガイダンス」（ICH S1C）で定義されている投与可能最大量に該当する。雌動物への投与は、生存率の基準を満たすため、97 週間で

終了した。Sprague-Dawley 系の雌は乳がん等の特定の腫瘍を生じやすいため、この系統の雌のがん原性試験が早期終了されることはよく知られている[2,3]。いずれの用量群においても、十分な例数の雌が第 97 週まで投与されたため、第 97 週に雌の試験を終了したことにより、本試験は無効とならなかった。雄動物への投与は 104 週間継続した。最高用量（30 mg/kg/日）群の雄における死亡率は、対照群の雄と比較して有意（$p<0.05$）に高かった。このような影響が明らかになったのは第 92 週以降であり、最高用量群の雄における死亡率は 68%であったのに対し、対照群の雄では 48%であった。このような死亡率上昇は、最高用量群で慢性進行性腎症の発生率及び重症度が上昇したことに関連する可能性が高いと考えられる。

15 及び 30 mg/kg/日群の雄では、慢性進行性腎症（研究施設で飼育されるラットで加齢に伴って一般に見られる病変）の重症度に明らかな悪化が見られたため、全身性の毒性に関する NOAEL は 7.5 mg/kg/日（45 mg/m^2/日）と判定された。GA 投与群の雄で慢性進行性腎症の悪化が見られたのは、GA の分解ペプチドによる腎臓の過負荷に要因があると考えられる。雄ラットの腎臓は、このような過負荷に対する感受性が特に高いことが知られている[4]。免疫複合体の沈着に基づく慢性進行性腎症である可能性は、免疫組織化学的検討及び電子顕微鏡検査によって否定された。

投与部位の組織学的変化として、最長 104 週間の連日皮下投与による外傷に起因する線維化及び炎症が、対照群を含む全群で見られた。しかし、GA 投与群では、重症度及び発生率の明らかな増悪化が見られ、いわゆる「無作用」量は確認できなかった。投与との関連が見られた腫瘍は副腎髄質腫瘍のみで、そのほとんどは良性褐色細胞腫であり、最高用量群の雄での発生率に統計学的に有意な増加（$p<0.046$）が見られた。しかし、その発生率は、試験実施施設における無処置の正常雄ラットの背景データ範囲内であった。この系統の雄では、このような腫瘍性変化の自然発生率が高いことが報告されている[5]。また、慢性進行性腎症に起因するカルシウム恒常性の変化がこの良性腫瘍の発生率上昇に影響した可能性も考えられる。ラットへの GA 投与は、腫瘍の発生率、種類及び分布に影響を及ぼさなかった。

マウス及びラットの試験の結果、GA はがん原性を有さないと判断された。さらに、現行の規格に適合するロットの被験物質を使用した場合、不純物／分解生成物、及び本剤調製時に使用された微量の化学物質は、いずれもがん原性を示さないことが示された。

2.6.6.9.4　生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験としては、ラットを用いた受胎能及び一般生殖能試験（4.2.3.5.1-1；2.6.6.6.1.1 項参照）、胚・胎児発生に関する試験（4.2.3.5.2-1；2.6.6.6.2.1 項参照）、並びに周産期及び授乳期投与試験（4.2.3.5.3-1；2.6.6.6.3.1 項参照）のほか、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（4.2.3.5.2-2；2.6.6.6.2.2 項参照）を実施した。親動物に毒性をもたらす用量を最高用量に設定したところ、GA はラット及びウサギで胚及び胎児毒性を示さず、ラットで受胎能及び一般生殖能に影響せず、ラットで出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に影響を及ぼさなかった。患者では、妊娠期及び授乳期における GA の安全性は確認されていないが、動物試験ではいかなる毒性も見られなかった。

2.6.6.9.5　局所刺激性試験

本剤（海外での販売名：Copaxone®）を用いた局所刺激性試験は、それ自体を目的とした試験としては実施されていない。しかし、注目すべき所見としては、サルを用いた 52 週間毒性試験（4.2.3.2-9；2.6.6.3.10 項参照）の期間中、30 mg/kg/日群で重度の局所反応が見られたため投与部位を変更したところ、感作性を示唆する徴候は見られなかったことが挙げられる。

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-3；2.6.6.3.3 項参照）では、全投与群で投与部位の障害が見られ、重症度が用量依存的に増した。同様に、サルを用いた 52 週間反復投与毒性試験では投与部位で慢性線維性炎症の重症度が増したため、病理組織学的な判定基準ではいわゆる「無作用」量を確認できなかった。慢性毒性の評価で設定した最低用量（3 mg/kg/日）は、予定臨床用量の 10 倍に相当し、臨床的に良好な忍容性を示しているだけでなく、認められた組

繊学的変化も軽微であった。臨床上の忍容性を考慮すると、動物への長期皮下投与後の投与部位の変化に関して「無作用」量を求める必要はないと判断される。

GA のいずれの臨床試験においても、投与部位の変化は最も高頻度に見られた有害事象であり、GA 投与患者の大多数で報告された。最も高頻度に報告された投与部位の変化は、紅斑、疼痛、腫瘤、そう痒、浮腫、炎症及び過敏症であった。また、本剤の市販後の使用経験では、投与部位の限局性の皮下脂肪萎縮や、まれに皮膚の壊死が報告されている。

2.6.6.9.6 免疫毒性試験

ラットを用いた 26 週間皮下投与毒性試験（4.2.3.2-3 ; 2.6.6.3.3 項参照）の期間中、投与開始 1、3 及び 6 ヵ月後に血漿を採取し、抗 GA 抗体の有無を RIA 法により分析した。全般的にみて、抗 GA 抗体価は投与開始 1～3 ヵ月後にピークとなり、6 ヵ月後には低下を示した。ただし、3 mg/kg/日群及び 10 mg/kg/日群の雌は投与開始 1 ヵ月後に最高値に達した。抗体価と GA 投与量の間に相関は見られなかった。サルでは、52 週間の皮下投与毒性試験（4.2.3.2-9 ; 2.6.6.3.10 項参照）の期間中、第 4、13、26、39 及び 52 週に抗 GA 抗体価を測定した。GA 投与群の全例で抗 GA 抗体の産生反応が見られ、ほとんどの場合、第 13 週における反応が最大であった。第 13 週と第 52 週の抗 GA 抗体価を比較したところ、反応の強さ及び持続性ともに著しい個体差が見られた。数例では、抗体価が持続的に高値を示した。

GA は免疫調節作用を有するペプチドであるため、慢性毒性試験において免疫系に対する毒性の有無を確認するためのパラメータを追加した。これらの検討から、臨床用量では GA が免疫毒性作用を示す可能性は極めて低いという主張を裏づける明らかな結果が得られたので、以下に要約する。

ラット及びサルを用いた慢性毒性試験において、30 mg/kg/日までの用量では免疫抑制作用が見られないことが確認された。同様に、GA は抗原性を有することが判明しているにもかかわらず、慢性毒性試験の期間中に急性又は遅延型過敏反応の発現は見られなかった。モルモットを用いる能動全身アナフィラキシー及び同種受動皮膚アナフィラキシー試験、並びにマウスを用いる異種受動皮膚アナフィラキシー試験の結果は、ヒトでのリスク評価を行う上での意義は疑わしいと考えられる。なお、モルモットで観察された反応は IgE に関与したものではないことが確認された。

マウスのがん原性試験では、GA の反復投与により死亡率の上昇が見られたが、そのうち数例は I 型アレルギーに関連すると考えられた。このような死亡率上昇は投与初期のみに見られ、8 週以降は死亡率が低下した。ラット、イヌ及びサルでは、同様の反応は見られなかった。マウスとヒトの免疫系には本質的な差異が存在するため、マウスの結果をヒトに外挿することは適当ではないと考えられる。GA の投与によりヒトで過敏性反応が生じる可能性は否定できないが、無比較臨床試験や市販後調査のデータでは、アナフィラキシー様反応の報告はまれであり、臨床的に問題となる続発症もないことが確認されている。

GA は、ヒトを含むすべての試験動物種で抗原性を示した。GA の抗原性は、ペプチド性であることに起因すると考えられ、反復投与毒性試験の期間中に抗 GA 抗体の産生がみられたことは想定の範囲内である。この点を踏まえると、免疫複合体が形成されるかどうかを検討することは、GA のような分子の安全性評価において不可欠な要素である。このため、以下の 4 つの試験で腎臓における免疫複合体の沈着の有無を検討した。

- マウスを用いる 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 項参照）
- ラットを用いる 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 項参照）
- サルを用いる 52 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.10 項参照）
- ラットを用いる 104 週間がん原性試験（2.6.6.5.1.2 項参照）

マウスを用いる反復投与試験では、GA を最高用量 60 mg/kg/日で投与した。この試験すべての動物を対象として、腎臓で GA、C3 及び IgG の免疫組織化学染色を行ったところ、いずれの染

色も陰性であった。ラットを用いる反復投与試験では、GA の最高用量（30 mg/kg/日）を投与した 40 例（雌雄各 20 例）のうち雄 3 例の糸球体に GA の免疫組織染色陽性を伴う C3 染色陽性が観察されたが、IgG 染色（免疫複合体の沈着の指標）は陰性であった。しかし、より投与期間が長いラットがん原性試験では、2 年間にわたる投与期間のいずれの時点にもすべての用量で GA、IgG 及び C3 の腎糸球体沈着を示唆する所見はみられなかった。がん原性試験で使用したラットから超薄切片を作製し電子顕微鏡で観察したところ、免疫複合体の沈着の指標となる典型的な高電子密度物質は確認できなかった。

サルを用いる反復投与試験では、最高用量（30 mg/kg/日）の全例で末梢血中の GA 反応性抗体が全例で高濃度に検出されたにもかかわらず、GA の沈着を示唆する免疫組織学的所見がみられたのは 8 例中 2 例のみであった。うち 1 例では GA の沈着部位に軽度の C3 染色性の共局在がみられたが、IgG の沈着を示唆する知見は得られなかった。

[redacted]（フランス）の免疫毒性学者 Dr.[redacted]が GA の免疫複合体の問題に関連するデータの主要部を精査・評価した。Dr.[redacted]は、動物及びヒトの臨床、生物学的及び組織学的データのいずれもが、GA 投与が免疫複合体に関連する疾患の発症リスクの増大には繋がらないことを示していると結論付けた[6]。

GA は、自己免疫疾患が重要な役割を果たすと考えられている患者への投与が予定されている。また、GA は免疫調節作用を示すことから、GA 投与により自己免疫が新たに誘導又は増強される可能性の有無を確認する必要がある。投与量 0、3、10 及び 30 mg/kg/日で実施したラットを用いた 26 週間毒性試験では、GA 投与群で抗核抗体、抗二本鎖 DNA 抗体及び抗ヒストン抗体の増加は見られなかった。同じ用量域で実施したサルを用いた 52 週間試験では、抗一本鎖 DNA 抗体及び抗二本鎖 DNA 抗体、並びに抗ヒストン抗体の軽度の増加が見られたが、抗核抗体の増加は見られなかった。これらの反応は低く、かつ一貫性を示さず、また GA 投与群のサルで自己免疫疾患を示唆する明らかな臨床的又は病理学的異常所見は見られなかった。

これまでに得られているデータ及び治療目的で使用されているその他のペプチド性化合物の臨床経験に基づき、推奨される投与条件下で GA を投与される患者で免疫毒性が生じる可能性は極めて低いと判断した。

2.6.6.9.7 結論

以上のことから、これら一連の非臨床安全性試験で確認された GA の安全性プロファイルは、再発寛解型多発性硬化症（RRMS）患者の治療薬として GA を臨床使用することの根拠を十分に示していると考える。

2.6.6.10 図表

図表はいずれも必要に応じて上記の本文中に掲載した。

2.6.6.11 参考文献

1. Le Calvez S, Perron-Lepage M-F, Burnett R. Subcutaneous microchip-associated tumours in B6C3F1 mice: A retrospective study to attempt to determine their histogenesis. Exp Toxicol Pathol 2006; 57:255–65.
2. McMartin DN, Sahota PS, Gunson DE, et al. Neoplasms and related proliferative lesions in control Sprague-Dawley rats from carcinogenicity studies: historical data and diagnostic considerations. Toxicol Pathol 1992; 20:212-225.
3. Baldrick P. Carcinogenicity evaluation: comparison of tumor data from dual control groups in the Sprague-Dawley rat. Toxicol Pathol 2005; 33:283–291.

4. Hard GC, Johnson KJ, Cohen SM. A comparison of rat chronic progressive nephropathy with human renal disease—implications for human risk assessment. Critical Reviews in Toxicology 2009; 39(4): 332–346.

5. Tannenbaum A, Vesselinovitch SD, Maltoni C, et al. Multipotential carcinogenicity of urethan in the Sprague-Dawley rat. Cancer Res 1962; 22:1362-1371.

6. [redacted]

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2

表

表 2.6.7-1 毒性試験：一覧表 3
表 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 8
表 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 9
表 2.6.7-4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 10
表 2.6.7-5 単回投与毒性試験 12
表 2.6.7-6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 15
表 2.6.7-7A 反復投与毒性試験（重要な試験） 21
表 2.6.7-7B 反復投与毒性試験（重要な試験） 29
表 2.6.7-8A 遺伝毒性試験：In Vitro 32
表 2.6.7-8B 遺伝毒性試験：In Vitro 34
表 2.6.7-8C 遺伝毒性試験：In Vitro 35
表 2.6.7-8D 遺伝毒性試験：In Vitro 36
表 2.6.7-9 遺伝毒性試験：In Vivo 37
表 2.6.7-10A がん原性試験 38
表 2.6.7-11 生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 42
表 2.6.7-12A 生殖発生毒性試験–胚・胎児発生に対する影響 49
表 2.6.7-12B 生殖発生毒性試験–胚・胎児発生に対する影響 51
表 2.6.7-13 生殖発生毒性試験–周産期及び授乳期投与試験 53
表 2.6.7-14 新生児を用いた試験 55
表 2.6.7-15 局所刺激性試験 56
表 2.6.7-16 その他の毒性試験 57

2.6.7 毒性試験概要表

グラチラマー酢酸塩（GA）の毒性試験の概要表を表 2.6.7-1 に示す。各毒性試験の個別データは表 2.6.7-2 ～表 2.6.7-16 に示す。

表 2.6.7-1　毒性試験：一覧表

被験物質：グラチラマー酢酸塩

試験の種類	試験系 動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	添付資料番号 (概要文の参照箇所)	区分
単回投与毒性試験	マウス／ICR	i.m.	1 日	0, 100, 500, 2,500 mg/kg	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.1-1 (2.6.6.2.1 項)	参考
単回投与毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	1 日	0, 400 mg/kg	適用	[redacted], Netanya, Israel	4.2.3.1-2 (2.6.6.2.2 項)	参考
単回投与毒性試験	ラット／Lewis	i.v.	1 日	0, 1,500 mg/kg	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.1-3 (2.6.6.2.3 項)	参考
単回投与毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	i.v.	1 日	0, 40, 200 mg/kg	適用	[redacted] Ness Ziona, Israel	4.2.3.1-4 (2.6.6.2.4 項)	参考
単回投与毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	i.v.	1 日	40 mg/kg	適用	[redacted] Ness Ziona, Israel	4.2.3.1-5 (2.6.6.2.5 項)	参考
単回投与毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	i.v.	1 日	0, 40, 200 mg/kg	適用	[redacted] Netanya, Israel	4.2.3.1-6 (2.6.6.2.6 項)	参考
単回投与毒性試験	イヌ／ビーグル	i.m., s.c.	1 日	100 mg/kg	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.1-7 (2.6.6.2.7 項)	参考
反復投与毒性試験	マウス／ICR	s.c.	13 週間	0, 20, 40, 60 mg/kg/日	適用	[redacted] Harrogate, England	4.2.3.2-1 (2.6.6.3.1 項)	評価
反復投与毒性試験	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	4 週間	0, 2, 10, 20, 40 mg/kg／日	適用	[redacted] Ness Ziona, Israel	4.2.3.2-2 (2.6.6.3.2 項)	参考

表 2.6.7-1　毒性試験：一覧表 (Continued)

試験の種類	試験系 動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	添付資料番号 (概要文の参照箇所)	区分
反復投与毒性試験（重要な試験）	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	26 週間	0, 3, 10, 30 mg/kg/日	適用	[redacted] Harrogate, England	4.2.3.2-3 (2.6.6.3.3 項)	評価
反復投与毒性試験	ラット／CR	i.m., s.c.	6 ヵ月間	0, 250 mg/kg（3 ヵ月間連日筋肉内投与）＋200 mg/kg（3 ヵ月間週 2 回皮下投与）	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.2-4 (2.6.6.3.4 項)	参考
反復投与毒性試験	ウサギ(系統不明)	i.m.	6 ヵ月間	0.8 mg/kg、週 2 回	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.2-5 (2.6.6.3.5 項)	参考
反復投与毒性試験	イヌ／ビーグル	s.c.	4 週間	0, 2, 10, 20 mg/kg/日	適用	[redacted] Ness Ziona, Israel	4.2.1.3-2 (2.6.6.3.6 項)	参考
反復投与毒性試験	イヌ／ビーグル	s.c.	36 日間	10 mg/kg/日	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.2-6 (2.6.6.3.7 項)	参考
反復投与毒性試験	イヌ／ビーグル	s.c.	90 日間	10 mg/kg/日	非適用	[redacted] Rehovot, Israel	4.2.3.2-7 (2.6.6.3.8 項)	参考
反復投与毒性試験	サル／カニクイ	s.c.	28 日間	0, 20, 40, 60 mg/kg/日	適用	[redacted] Harrogate, England	4.2.3.2-8 (2.6.6.3.9 項)	評価
反復投与毒性試験（重要な試験）	サル／カニクイ	s.c.	52 週間	0, 3, 10, 30 mg/kg/日	適用	[redacted] Harrogate, England	4.2.3.2-9 (2.6.6.3.10 項)	評価
遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験）	ネズミチフス菌, 及び大腸菌	NA (in vitro)	NA (in vitro)	～5,000 μg/plate	適用	[redacted] Heslington, England	4.2.3.3.1-1 (2.6.6.4.1.1 項)	評価

表 2.6.7-1　毒性試験：一覧表 (Continued)

試験の種類	試験系 動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	添付資料番号 (概要文の参照箇所)	区分
遺伝毒性試験 (哺乳類細胞を用いる遺伝子突然変異試験)	マウスリンフォーマ L5178Y/TK$^{+/-}$ 細胞	NA (in vitro)	NA (in vitro)	～1,250 μg/mL	適用	[redacted] Heslington, England	4.2.3.3.1-2 (2.6.6.4.2.1 項)	評価
遺伝毒性試験 (哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験)	ヒト末梢血リンパ球 (男性ドナー)	NA (in vitro)	NA (in vitro)	～5,000 μg/mL	適用	[redacted] Heslington, England	4.2.3.3.1-3 (2.6.6.4.2.2 項)	評価
遺伝毒性試験 (哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験)	ヒト末梢血リンパ球 (女性ドナー)	NA (in vitro)	NA (in vitro)	～2,500 μg/mL	適用	[redacted] Heslington, England	4.2.3.3.1-4 (2.6.6.4.2.3 項)	評価
遺伝毒性試験 (小核試験)	マウス／ICR	i.p.	2 日間	0, 35, 70, 140 mg/kg (1 日 2 回)	適用	[redacted] Heslington, England	4.2.3.3.2-1 (2.6.6.4.3.1 項)	評価
がん原性試験	マウス／ICR	s.c.	100 週間	0, 3, 15, 30, 60 mg/kg/日	適用	[redacted], Harrogate, England	4.2.3.4.1-1 (2.6.6.5.1.1 項)	評価
がん原性試験	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	104 週間	0, 3, 7.5, 15, 30 mg/kg/日	適用	[redacted] Harrogate, England	4.2.3.4.1-2 (2.6.6.5.1.2 項)	評価

表 2.6.7-1　毒性試験：一覧表 (Continued)

試験の種類	試験系 動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	添付資料番号 (概要文の参照箇所)	区分
生殖発生毒性試験：受胎能及び一般生殖能試験	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	M：交配 10 週間前から剖検時まで（計 12 週間） F：交配 2 週間前から剖検時（交配後 20 日目、又は出産後 25 日目）まで	0, 1, 6, 36 mg/kg/日	適用	[redacted]Ness Ziona, Israel	4.2.3.5.1-1 (2.6.6.6.1.1 項)	参考
生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	GD 6～15	0, 0.3, 1.5, 7.5, 37.5 mg/kg/日	適用	[redacted]Ness Ziona, Israel	4.2.3.5.2-1 (2.6.6.6.2.1 項)	参考
生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	ウサギ／NZW	s.c.	GD 6～19	0, 0.3, 1.5, 7.5, 37.5 mg/kg/日	適用	[redacted]Ness Ziona, Israel	4.2.3.5.2-2 (2.6.6.6.2.2 項)	参考
生殖発生毒性試験：周産期及び授乳期投与試験	ラット／Sprague-Dawley	s.c.	GD 15～LD 21	0, 1, 6, 36 mg/kg/日	適用	[redacted]Ness Ziona, Israel	4.2.3.5.3-1 (2.6.6.6.3.1 項)	参考

表 2.6.7-1　毒性試験：一覧表 (Continued)

試験の種類	試験系 動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	添付資料番号 (概要文の参照箇所)	区分
その他の試験：抗原性試験	モルモット／Hartley	s.c., i.v.	感作： 反復投与（21日間）又は間欠投与（Day 0, 7, 14, 21） 惹起：最終感作 14 日後に投与又は最終感作 14 日後の血清を皮内投与した未処置モルモットに投与	感作： 0.33 及び 3.3 mg/kg（s.c.） 惹起： 3.3 mg/kg（i.v.）	適用	[redacted] Tokyo, Japan	4.2.3.7.1-1 (2.6.6.8.1.1 項)	参考
その他の試験：抗原性試験	マウス／BALB/c 及び C3H/He	s.c., i.p., i.v.	感作： 反復投与（21日間）又は間欠投与（Day 0, 7, 14, 21） 惹起：最終感作 14 日後の血清を皮内投与した未処置ラットに投与	感作 0.33 及び 3.3 mg/kg（s.c.又は i.p.） 惹起 3.3 mg/kg（i.v.）	適用	[redacted] Tokyo, Japan	4.2.3.7.1-1 (2.6.6.8.1.2 項)	参考

GD = 妊娠日数；i.p. = 腹腔内；i.v. = 静脈内；LD = 授乳日；NA = 該当せず；NZW = ニュージーランド白色種；s.c. = 皮下

表 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

被験物質：グラチラマー酢酸塩

試験の種類	試験系 動物種／系統	投与方法	投与量 (mg/kg／日)	GLP 適用	TK 報告書番号 (添付資料番号)	添付資料番号	概要文の参照箇所	区分
26 週間反復投与毒性試験（重要な試験）	ラット／ Sprague-Dawley	s.c.	0, 3, 10, 30	適用	1028/19-1011 (4.2.2.2-4)	4.2.3.2-3	2.6.6.3.3 項	評価
28 日間反復投与毒性試験	サル／カニクイ	s.c.	0, 20, 40, 60	適用	1028/21-1050 (4.2.3.2-8) (Appendix 2)	4.2.3.2-8	2.6.6.3.9 項	評価

s.c. = 皮下；TK = トキシコキネティクス

表 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

被験物質：グラチラマー酢酸塩

投与量 (mg/kg)	反復投与後の $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg GA 換算値·h/mL)		単回投与後の $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg GA 換算値·h/mL)	
	ラット* (M)	ラット* (F)	サル† (M)	サル† (F)
3	66.94	92.32		
10	280.2	266.3		
20			606.7	691.9
30	787.7	872.0		
40			1513.3	1106.2
60[a]			2323.8	2288.7
60[b]			1880.2	2004.1
投与量 (mg/kg)	反復投与後の C_{max} (μg GA 換算値/mL)		単回投与後の C_{max} (μg GA 換算値/mL)	
	ラット* (M)	ラット* (F)	サル† (M)	サル† (F)
3	5.671	6.925		
10	18.91	21.94		
20			46.67	50.32
30	51.33	60.11		
40			96.39	78.01
60[a]			141.5	138.0
60[b]			133.9	132.8

$AUC_{0\text{-}24h}$ = 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積；C_{max} = 最高血漿中濃度
a – [redacted]溶液として投与（0.9%[redacted]水に溶解）、b – [redacted]溶液として投与（0.45%[redacted]水に溶解）
* ラットでは、GA の非標識体を表示の用量で予め 177 日間連日皮下投与後、同用量の[^{125}I]-GA を単回皮下投与して血漿中総放射能濃度を測定した（4.2.2.2-4）。
† サルでは、未処置の動物に[^{125}I]-GA を単回皮下投与して血漿中総放射能濃度を測定した（添付資料番号 4.2.3.2-8）。

表 2.6.7-4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：グラチラマー酢酸塩

ロット番号	純度（%）*	規格設定された不純物*	添付資料番号	試験の種類
12	NS	NS	4.2.3.1-1	マウスを用いる単回筋肉内投与毒性試験
29028	NS	NS	4.2.3.1-2	ラットを用いる単回皮下投与毒性試験
3	NS	NS	4.2.3.1-3	ラットを用いる単回静脈内投与毒性試験
99016/II, 99020II	NS	NS	4.2.3.1-4	ラットを用いる単回静脈内投与毒性試験
RE 7159/3	NS	NS	4.2.3.1-5	ラットを用いる単回静脈内投与毒性試験
00593, 06492	NS	NS	4.2.3.1-6	ラットを用いる単回静脈内投与毒性試験
4, 5, 7, 8	NS	NS	4.2.3.1-7	イヌを用いる単回皮下／筋肉内投与毒性試験
			4.2.3.2-6	イヌを用いる 36 日間反復皮下投与毒性試験
			4.2.3.2-7	イヌを用いる 90 日間反復皮下投与毒性試験
242905994, CN242900795	NS	NS	4.2.3.2-1	マウスを用いる 13 週間反復皮下投与毒性試験
RE 6285, ZG 63, RE 6323	NS	NS	4.2.3.2-2	ラットを用いる 4 週間反復皮下投与毒性試験
03992	NS	NS	4.2.3.2-3	ラットを用いる26週間反復皮下投与毒性試験(重要な試験)
36	NS	NS	4.2.3.2-4	ラットを用いる6ヵ月間反復皮下／筋肉内投与毒性試験
6	NS	NS	4.2.3.2-5	ウサギを用いる6ヵ月間反復筋肉内投与毒性試験
RE 6551/I, RE 6551/II	NS	NS	4.2.1.3-2	イヌを用いる 4 週間反復皮下投与毒性試験
00593	NS	NS	4.2.3.2-8	サルを用いる 28 日間反復皮下投与毒性試験

表 2.6.7-4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 (Continued)

ロット番号	純度（%）*	規格設定された不純物*	添付資料番号	試験の種類
02093, 04493, 01394	NS	NS	4.2.3.2-9	サルを用いる 52 週間反復皮下投与毒性試験（重要な試験）
19007/1	NS	NS	4.2.3.3.1-1	細菌を用いる復帰突然変異試験
			4.2.3.3.1-3	哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
19035/A	NS	NS	4.2.3.3.1-2	哺乳類培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験
			4.2.3.3.1-4	哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
			4.2.3.3.2-1	マウスを用いる腹腔内投与小核試験
242903195, 242953295, 242955495, 242956495, 242956695, 242952796, 242954096, 242954496, 242954696, 242956596	NS	NS	4.2.3.4.1-1	マウスを用いる 100 週間皮下投与がん原性試験
242905994, 242900795, 242901695, 242903195, 242953295, 242955495, 242956495, 242956695, 242952796, 242954096, 242954496, 242954696	NS	NS	4.2.3.4.1-2	ラットを用いる 104 週間皮下投与がん原性試験
09005, 09008	NS	NS	4.2.3.5.1-1	ラットを用いる受胎能及び一般生殖能試験
99026/2	NS	NS	4.2.3.5.2-1	ラットを用いる胚・胎児発生に関する試験
09015	NS	NS	4.2.3.5.2-2	ウサギを用いる胚・胎児発生に関する試験
09005	NS	NS	4.2.3.5.3-1	ラットを用いる周産期及び授乳期投与試験
123099	NS	NS	4.2.3.7.1-1	モルモットを用いる抗原性試験
123099	NS	NS	4.2.3.7.1-1	マウスを用いる抗原性試験

i.m. = 筋肉内；i.p. = 腹腔内；i.v. = 静脈内；NS = 特定せず；s.c. = 皮下
*各ロットの不純物データは第 3 部（モジュール 3）の 3.2.S.3.2 項に示す。

表 2.6.7-5　単回投与毒性試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩

動物種 (系統)	投与方法	投与期間	動物数／ 性別／群	投与量 (mg/kg)	特記すべき所見	添付資料番号 (GLP 適用状況)； 概要文の参照箇所
マウス (ICR)	i.m.	1 日	5M/5F	0, 100, 500, 2,500	雌雄マウスに 2,500 mg/kg までの用量で単回筋肉内投与したときの忍容性は良好であった。	4.2.3.1-1 (GLP 非適用)； 2.6.6.2.1 項
ラット (Sprague-Dawley)	s.c.	1 日	4M/4F	0, 400	投与後 14 日間の観察期間中に死亡例はなく、毒性症状も見られなかった。 投与後 1～7 日目、7～14 日目及び 1～14 日目の各期間の体重増加量は対照群と投与群とで同程度であった。 雌雄ラットに 400 mg/kg を単回皮下投与したときの忍容性は良好であった。	4.2.3.1-2 (GLP 適用)； 2.6.6.2.2 項
ラット (Lewis)	i.v.	1 日	5M/5F	0, 1,500	投与に関連する病理学的変化は見られなかった。 雌雄ラットに 1,500 mg/kg の用量で単回静脈内投与しても病理学的変化は見られなかった。	4.2.3.1-3 (GLP 非適用)； 2.6.6.2.3 項

表 2.6.7-5　単回投与毒性試験 (Continued)

動物種 (系統)	投与方法	投与期間	動物数／ 性別／群	投与量 (mg/kg)	特記すべき所見	添付資料番号 (GLP 適用状況) ； 概要文の参照箇所
ラット (Sprague-Dawley)	i.v.	1 日	5M/5F	0, 40, 200 GA 又はその不純物（臭化誘導体）	標準的なGAロット及びGAの不純物である臭素化誘導体を高濃度に含有するGAロットのどちらも、200 mg/kg を投与した群で死亡例が見られた。死亡例数は、臭素化誘導体の含有率が高いロットを投与した群では雄が 5 例中 3 例、雌が 5 例中 4 例であったのに対し、標準的な出品ロットを投与した群では雄が 5 例中 2 例、雌が 5 例中 0 例であった。 臭素化誘導体が混入した GA ロットは、標準的な GA ロットに比べて毒性が強かった。	4.2.3.1-4 (GLP 適用) ； 2.6.6.2.4 項
ラット (Sprague-Dawley)	i.v.	1 日	5M/5F	40 不純物 [redacted] 誘導体)	GA の不純物である [redacted] 誘導体を高濃度に含有する GA を雌雄ラットに 40 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。	4.2.3.1-5 (GLP 適用) ； 2.6.6.2.5 項

表 2.6.7-5　単回投与毒性試験 (Continued)

動物種 (系統)	投与方法	投与期間	動物数／ 性別／群	投与量 (mg/kg)	特記すべき所見	添付資料番号 (GLP 適用状況)； 概要文の参照箇所
ラット (Sprague-Dawley)	i.v.	1 日	5M/5F	0, 40, 200 GA（標準的な出品ロット）又は GA（不純物を 0.28%含有する不合格ロット）	2 つの GA ロット（標準的な出品ロット及び構造未知の不純物を 0.28%含有する不合格ロット）について検討した。200 mg/kg 群では、どちらのロットを投与した場合にも投与後 2 時間以内に死亡例が見られた。 生存例には中等度の毒性症状、回復性のある体重減少及び対照群と比較して腎重量増加が見られた。2 つのロット間で差が見られたのは雌の体重増加抑制のみであった	4.2.3.1-6 (GLP 適用)； 2.6.6.2.6 項
イヌ (ビーグル)	i.m.及び s.c.	1 日	1M/1F	100（投与量の半分は筋肉内投与し、残りは皮下投与）	死亡例はなく、毒性症状及び剖検時の肉眼的異常所見も見られなかった。また、病理組織学的異常所見も見られなかった。 雌雄ビーグル犬に 100 mg/kg を単回筋肉内・皮下投与したときの忍容性は良好であった。	4.2.3.1-7 (GLP 非適用)； 2.6.6.2.7 項

i.m. = 筋肉内；i.v. = 静脈内；s.c. = 皮下

表 2.6.7-6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

被験物質：グラチラマー酢酸塩

動物種（系統）	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量（mg/kg/日）	NOAEL（mg/kg/日）	特記すべき所見	添付資料番号（GLP 適用状況）；概要文の参照箇所
マウス (ICR)	s.c.	13 週間	12M/12F	0, 20, 40, 60	60（全身毒性）	雄 2 例（対照群 1 例、40 mg/kg/日群 1 例）及び雌 3 例（いずれも 60 mg/kg/日群）が死亡した。いずれの動物も死因は確定していないが、全身毒性を示唆する所見は見られなかった。 投与に関連する体重、摂餌量、器官重量の変化、及び剖検時の肉眼的異常所見は見られなかった。 投与部位には、軽度な炎症及び線維化反応を示す組織学的所見が対照群を含むすべての群で見られた。これらの反応は、GA 投与群の方が発現率が高く、かつ顕著であったが、一貫性のある用量反応相関は見られなかった。 60 mg/kg/日までの用量を投与したときの忍容性は概ね良好であった。	4.2.3.2-1（GLP 適用）；2.6.6.3.1 項

表 2.6.7-6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）(Continued)

動物種（系統）	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量（mg/kg/日）	NOAEL（mg/kg/日）	特記すべき所見	添付資料番号（GLP 適用状況）；概要文の参照箇所
ラット (Sprague-Dawley)	s.c.	4 週間	12M/12F	0, 2, 10, 20, 40	40（全身毒性）	一般状態観察では、皮膚及び耳の一過性の発赤並びに顔面部の腫脹が見られた。いずれの症状も発現から 10 日以内に消失した。 血液学的検査では、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の減少が見られた（すべての用量群の雄及び 20 mg/kg/日以上の群の雌）。血液生化学的検査では、40 mg/kg/日群の雌に ALP 及び ALT の上昇が見られたが、2 及び 40 mg/kg/日群の雄で AST の低下が見られた。 投与部位の病理組織学的検査では、投与による炎症反応の重症度が 2 mg/kg/日群の雌を除き GA 投与群で高かった。40 mg/kg/日群の雄の肝臓で、グリコーゲン野の減少が見られた。 40 mg/kg/日までの用量を投与したときの忍容性は良好であった。	4.2.3.2-2（GLP 適用）；2.6.6.3.2 項

表 2.6.7-6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）(Continued)

動物種（系統）	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量（mg/kg/日）	NOAEL（mg/kg/日）	特記すべき所見	添付資料番号（GLP 適用状況）；概要文の参照箇所
ラット (CR)	i.m.及び s.c.	6 ヵ月間	5M/5F	0, 250 mg/kg（3 ヵ月間連日皮下投与）＋200 mg/kg（3 ヵ月間週 2 回筋肉内投与）	ND	一般状態の観察では、筋肉内投与部位の浮腫が見られ、ほとんどの動物で跛行が見られた。これらの所見は可逆的であった。 投与群では、リンパ球百分率の軽度減少と好中球百分率の増加がみられた。このような顆粒球の増加は、高用量の被験物質投与による局所炎症反応が原因であると考えられた。 投与部位の組織学的検査では、異物性巨細胞反応を特徴とする局所の軽度慢性炎症反応が見られた。 投与群の脾臓では、B 細胞領域の軽度縮小と T 細胞領域の拡大が見られた。これらの所見は、投与部位での持続的な特異的細胞応答に起因したものであると判断された。	4.2.3.2-4（GLP 非適用）；2.6.6.3.4 項
ウサギ（系統不明）	i.m.	6 ヵ月間	4F	0.8 mg/kg 週 2 回	ND	一般状態、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査で異常所見はなかった。	4.2.3.2-5（GLP 非適用）；2.6.6.3.5 項

表 2.6.7-6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）(Continued)

動物種 (系統)	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量 (mg/kg/日)	NOAEL (mg/kg/日)	特記すべき所見	添付資料番号 (GLP 適用状況) ; 概要文の参照箇所
イヌ (ビーグル)	s.c.	4 週間	3M/3F	0, 2, 10, 20	20(全身毒性)	一般状態の観察では、投与部位の掻爬傷及び腫脹が見られた。 体重及び摂餌量には投与による影響は見られなかった。 血液生化学的検査では、ナトリウム、リン、α_1-グロブリン、γ-グロブリンに軽度の変化が見られた。いずれの変化も散発的であった。血液学的検査及び尿検査では変化は見られなかった。 肉眼的異常所見が見られたのは投与部位のみであった。投与群は対照群に比べて皮下浮腫の発現率が高かった。20 mg/kg/日群では局所の脱毛が見られた。 病理組織学的検査での所見は、投与部位の局所的変化のみであった。具体的には、出血、慢性及び急性炎症、浮腫、単核球浸潤並びに多核巨細胞の出現であった。	4.2.1.3-2 (GLP 適用) ; 2.6.6.3.6 項

表 2.6.7-6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）(Continued)

動物種 （系統）	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量 (mg/kg/日)	NOAEL (mg/kg/日)	特記すべき所見	添付資料番号 (GLP 適用状況)； 概要文の参照箇所
イヌ (ビーグル)	s.c.	36 日間	5（M+F; 雌雄の内訳は不明）	10	ND	雌雄各 1 例で体重増加が見られた。 投与部位に腫脹が見られた以外は、肉眼的異常所見は見られなかった。 いずれの組織にも、投与に関連する病理組織学的異常所見は見られなかった。	4.2.3.2-6 (GLP 非適用)； 2.6.6.3.7 項
イヌ (ビーグル)	s.c.	90 日間	1M/2F	10	ND	毒性症状は見られず、剖検時に肉眼的異常所見も見られなかった。 いずれの組織にも、投与に関連する病理組織学的異常所見は見られなかった。	4.2.3.2-7 (GLP 非適用)； 2.6.6.3.8 項

表 2.6.7-6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）(Continued)

動物種（系統）	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量（mg/kg/日）	NOAEL（mg/kg/日）	特記すべき所見	添付資料番号（GLP 適用状況）；概要文の参照箇所
サル (カニクイ)	s.c.	28 日間	1M/1F	0, 20, 40, 60 ([redacted]容液）, 60 ([redacted]容液)	ND	死亡例はなかった。 一般状態の観察では、投与部位の軽微な創傷が散発的に見られた。 いずれの動物も投与期間中にBWが維持又は増加した。60 mg/kg/日群の雌 2 例に、摂餌量の軽度減少が見られた。 眼科学的検査、ECG 及び臨床検査には、投与に関連する変化は見られなかった。GA を投与した全動物で抗 GA 抗体が産生された。 器官重量では、投与群の雄で腎重量増加及び甲状腺重量減少が見られた。いずれの変化にも、関連する肉眼的異常所見は見られなかった。 病理組織学的検査では、投与部位の皮下及び皮筋の慢性炎症が見られた。この所見は、蜂窩織炎、筋炎及び血管周囲性細胞浸潤を特徴としており、上層の真皮及び表皮にはほとんど変化が見られなかった。	4.2.3.2-8 （GLP 適用）； 2.6.6.3.9 項

ALP＝アルカリホスファターゼ；ALT＝アラニンアミノトランスフェラーゼ；AST＝アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ；BW＝体重；ECG＝心電図；FC＝摂餌量；GA＝グラチラマー酢酸塩；i.m.＝筋肉内；ND＝未決定；NOAEL＝無毒性量；s.c.＝皮下

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：COP-1：ラットを用いる 26 週間反復皮下投与毒性試験		
動物種／系統：ラット／[redacted]SD[redacted]	投与期間：6 ヵ月間	添付資料番号：4.2.3.2-3
試験開始日齢：40 日齢	休薬期間：なし	概要文の参照箇所：2.6.6.3.3 項
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：連日皮下投与	GLP：適用
特記事項：なし	溶媒／投与形態：0.9 %生理食塩液／溶液、投与液量は 2.0 mL/kg	
NOAEL：30 mg/kg/日（全身）		

投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数（すべての群）	20	20	20	20	20	20	20	20
トキシコキネティクス[1]								
Day 1								
T_{max}（h）	2	2	2	2	2	2	2	2
C_{max}（μg GA 換算値/mL）	5.13	5.54	5.68	6.04	20.08	20.90	54.41	60.92
$AUC_{0\text{-}24h}$（μg GA 換算値*h/mL）	56.30	66.46	69.16	65.74	235.9	258.3	642.3	719.6
$t_{1/2}$（h）	6.77	6.68	9.16	5.88	7.90	6.92	6.65	6.03
Day 29								
T_{max}（h）	2	2	2	2	2	2	2	2
C_{max}（μg GA 換算値/mL）	5.10	6.13	6.07	6.84	18.59	20.06	46.63	57.91
$AUC_{0\text{-}24h}$（μg GA 換算値*h/mL）	65.72	76.61	68.31	79.15	225.3	214.2	661.3	697.6
$t_{1/2}$（h）	8.97	8.21	7.89	6.95	8.41	7.05	9.03	6.50
Day 178								
T_{max}（h）	2	2	2	2	2	2	2	2
C_{max}（μg GA 換算値/mL）	5.48	7.62	5.67	6.93	18.91	21.94	51.33	60.11
$AUC_{0\text{-}24h}$（μg GA 換算値*h/mL）	72.81	101.8	66.94	92.32	280.2	266.3	787.7	872.0
$t_{1/2}$（h）	10.04	9.29	9.69	8.95	16.15	7.91	10.32	12.03

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験） (Continued)

1ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
特記すべき所見								
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重増加量								
Week 0～4（g）	173.2	78.4	174.2	80.5	172.9	81.4	171.3	86.0*
摂餌量（g／匹／週）								
Week 1～4	173.0	133.6	176.7	132.1	176.7	129.5	174.1	134.2
評価動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
血液学的検査								
RBC（10^6/mm^3）	7.04	6.65	7.40	6.84	7.30	6.80	7.02	6.83
Hb（g/dL）	15.0	14.0	15.3	14.0	15.5	14.1	15.0	14.1
Hct（%）	44.5	42.2	47.1	42.7	46.4	42.9	45.2	43.1
WBC（1000/cmm -%）	10.3	11.8	13.7	9.7	13.4	8.9	14.9	9.2
血小板数（1000/cmm）	978	919	1068	989	1012	1001	911	958
血液生化学的検査								
AST（IU/L）	125	98	103	97	104	94	112	100
ALT（IU/L）	65	45	45	42	52	37	56	36
ALP（IU/L）	457	304	493	284	433	284	460	273
ナトリウム（mmol/L）	144	146	145*	148	145	148	143	147
カリウム（mmol/L）	4.0	4.2	4.0	4.1	4.1	3.9	4.2	3.9
クロール（mmol/L）	111	117	112	119*	113	119	112	117
カルシウム（mmol/L）	2.52	2.58	2.54	2.56	2.55	2.51	2.52	2.51**
リン（mmol/L）	2.6	2.2	2.6	2.0	2.7	1.9**	2.6	1.9**
ブドウ糖（mmol/L）	3.6	5.1	3.2	5.9	3.4	5.9	3.5	5.4
尿素（mmol/L）	4.2	5.3	4.2	5.5	4.1	5.1	4.0	5.0
総ビリルビン（umol/L）	2.1	1.9	2.2	2.1	2.0	1.5	2.1	1.9
クレアチニン（umol/L）	61	63	62	70*	64	67	64*	65
総蛋白（g/L）	57	59	58	60	60	58	58	59
アルブミン（g/L）	32	32	32	35	32	33	30	33
α1-グロブリン（g/L）	11	9	10	9	11	8*	10	9
α2-グロブリン（g/L）	7	8	7	7	7	9	8	7

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）(Continued)

1ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
β-グロブリン（g/L）	7	8	8	7	8	7	8	8
γ-グロブリン（g/L）	1	2	1	2	2	2	1	2
アルブミン／グロブリン比	1.3	1.2	1.2	1.4	1.2	1.3	1.1**	1.3
総コレステロール（mmol/L）	1.8	1.9	2.1	1.7	1.8	1.7	1.7	1.8
尿検査								
尿量（mL）	4.9	4.2	4.7	6.4	5.3	5.3	6.7	5.5
比重	1.025	1.038	1.028	1.030	1.031	1.030	1.030	1.033
免疫原性（抗 GA 抗体）								
陽性個体数	0/10	0/10	6/10	9/10	6/10	4/10	9/10	4/10
平均 CPM ± SD	95 ± 29	123 ± 40	458 ± 303	975 ± 740	682 ± 623	505 ± 437	851 ± 755	747 ± 801

3ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
毒性試験期間								
動物数（すべての群）	20	20	20	20	20	20	20	20
特記すべき所見								
死亡及び瀕死殺処分動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
体重増加量（g）								
Week 4～13	156.8	60.8	154.6	65.4	153.2	61.4	150.8	68.6
摂餌量（g／匹／週）								
Week 5～13	178.1	134.3	178.0	130.2	178.2	129.4	174.8	135.0
評価動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
血液学的検査								
RBC（10^6/mm^3）	9.31	8.05	9.30	8.48	8.98	8.27	8.84	8.52
Hb（g/dL）	16.5	15.1	16.4	15.6	16.2	15.1	15.7	15.7
Hct（%）	52.9	47.3	52.7	49.2	51.1	47.8	50.0	49.5
WBC（1000/cmm -%）	14.2	11.0	15.4	9.3	14.7	9.4	16.4	11.7
血小板数（1000/cmm）	1080	983	1147	1071	1042	1042	1140	1157*
血液生化学的検査								
AST（IU/L）	144	108	113	90	101	105	123	105

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）(Continued)

3ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ALT（IU/L）	80	40	55	38	53	48	58	42
ALP（IU/L）	196	107	193	118	189	111	180	120
ナトリウム（mmol/L）	141	140	141	141	140	140	141	141
カリウム（mmol/L）	4.1	3.8	4.1	3.8	3.9	3.8	4.0	3.8
クロール（mmol/L）	111	110	111	111	111	110	111	110
カルシウム（mmol/L）	2.45	2.46	2.40	2.46	2.44	2.48	2.46	2.47
リン（mmol/L）	1.8	1.8	1.8	1.5	1.9	1.6	1.9	1.6
ブドウ糖（mmol/L）	5.2	5.0	4.8	5.2	5.1	5.2	4.5	4.8
尿素（mmol/L）	5.6	7.0	6.3	7.2	5.8	6.8	5.6	7.2
総ビリルビン（umol/L）	3.0	2.4	3.4	2.3	2.6	2.8	3.0	2.5
クレアチニン（umol/L）	52	64	49	63	52	62	52	61
総蛋白（g/L）	62	63	62	64	63	62	61	63
アルブミン（g/L）	33	39	31	39	32	39	30	40
α1-グロブリン（g/L）	13	10	13	11	14	9	12	10
α2-グロブリン（g/L）	7	6	6	5	7	6	7	5
β-グロブリン（g/L）	8	5	9	5	8	6	10	5
γ-グロブリン（g/L）	2	2	3	3	2	2	2	2
アルブミン／グロブリン比	1.2	1.7	1.0	1.7	1.1	1.8	1.0	1.8
総コレステロール（mmol/L）	1.6	1.8	1.8	1.7	1.6	1.9	1.6	1.8
尿検査								
尿量	6.3	4.0	5.1	3.7	4.4	3.8	5.0	4.3
比重	1.030	1.039	1.036	1.041	1.043*	1.037	1.038	1.036
免疫原性（抗 GA 抗体）								
陽性個体数	0/10	0/10	4/10	4/10	6/10	3/10	9/10	5/10
平均 CPM ± SD	116 ± 34	112 ± 26	597 ± 843	669± 916	2105 ± 2010	320 ± 268	1850 ± 1112	1532 ± 1700

6ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
特記すべき所見								

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）(Continued)

6ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
死亡及び瀕死殺処分動物数	1	0	1	0	1	0	0	2
体重増加量（g）								
Week 13～26	99.2	38.4	101.0	32.4	101.5	34.8	96.1	31.3
Week 0～26	429.3	177.6	432.0	178.2	426.5	177.6	418.3	185.2
摂餌量（g／匹／週）								
Week 14～26	171.8	129.5	174.4	127.7	176.3	126.2	169.8	133.7
Week 1～26	174.2	131.8	176.0	129.2	177.0	127.8	172.2	134.2
評価動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
血液学的検査								
RBC（10^6/mm^3）	9.02	7.22	9.15	7.11	8.94	7.14	8.79	7.39
Hb（g/dL）	16.3	14.2	16.3	14.3	16.0	14.0	15.8	14.5
Hct（%）	50.7	43.9	50.9	43.1	50.4	43.0	49.8	44.7
WBC（1000/cmm-%）	10.9	6.6	12.2	7.3	13.4	7.9	11.8	8.5
血小板数（1000/cmm）	966	877	1129	873	1044	868	1072	937
血液生化学的検査								
AST（IU/L）	132	143	135	140	139	223	147	116
ALT（IU/L）	47	49	47	62	44	68	49	41
ALP（IU/L）	137	54	125	67	116	95	115	69
ナトリウム（mmol/L）	140	147	140	146	139	146	140	147
カリウム（mmol/L）	4.3	3.7	4.2	3.9	4.5	4.1	4.3	3.8
クロール（mmol/L）	111	113	111	114	111	113	112	111
カルシウム（mmol/L）	2.37	2.54	2.30	2.54	2.36	2.56	2.29	2.55
リン（mmol/L）	1.6	1.5	1.6	1.4	1.8	1.5	1.7	1.5
ブドウ糖（mmol/L）	4.1	3.5	3.7	4.0	4.0	4.2	4.0	3.4
尿素（mmol/L）	4.7	6.3	5.3	6.6	5.2	6.6	5.0	7.1
総ビリルビン（umol/L）	3.4	3.4	3.3	3.3	3.7	3.3	3.3	3.8
クレアチニン（umol/L）	54	62	54	63	56	64	56	68
総蛋白（g/L）	63	80	62	78	63	74	62	74
アルブミン（g/L）	31	47	31	46	31	45	29	43
α1-グロブリン（g/L）	14	13	13	13	14	11	14	11*
α2-グロブリン（g/L）	6	7	7	6	7	7	8**	7
β-グロブリン（g/L）	10	8	9	9	9	8	9	9

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）(Continued)

6ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	**対照**		**3（低用量）**		**10（中用量）**		**30（高用量）**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
γ-グロブリン（g/L）	2	4	2	4	3	4	2	4
アルブミン／グロブリン比	1.0	1.5	1.0	1.4	1.0	1.5	0.9	1.4
総コレステロール（mmol/L）	1.8	2.1	2.1	2.1	1.8	2.1	1.7	2.0
尿検査								
尿量（mL）	5.5	3.3	4.9	4.6	4.6	2.6	4.2	2.8
比重	1.030	1.053	1.032	1.037	1.036	1.035*	1.035	1.040
免疫原性（抗 GA 抗体）								
陽性個体数	0/10	0/10	3/9	3/10	6/9	1/10	7/10	4/9
平均 CPM ± SD	107 ± 10	107 ± 24	216 ± 195	309 ± 342	633 ± 697	131 ± 53	691 ± 572	506 ± 569
評価動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
器官重量（絶対重量, g）								
体重（剖検時）	586.8	316.4	593.6	316.3	591.2	312.4	574.8	330.0
副腎	0.055	0.065	0.057	0.068	0.056	0.069	0.054	0.069
腎臓	2.622	1.804	2.828*	1.766	2.764	1.751	2.743	1.802
脾臓	0.882	0.611	0.975	0.571	0.947	0.574	0.974	0.613
肝臓	12.232	7.659	12.436	7.578	11.887	7.552	12.443	7.621
心臓	1.477	0.992	1.507	0.980	1.512	1.006	1.520	1.000
脳	2.223	2.067	2.273	2.014	2.203	2.059	2.182	2.060
下垂体	0.015	0.019	0.015	0.016	0.014	0.019	0.014	0.019
甲状腺	0.026	0.020	0.025	0.019	0.022	0.019	0.024	0.019
前立腺	1.143	-	1.172	-	1.218	-	1.194	-
精巣及び精巣上体	5.451	-	5.849	-	5.843	-	5.849	-
卵巣	-	0.028	-	0.028	-	0.023	-	0.027
病理組織学的検査（発生数／評価動物数）								
投与部位 #1								
炎症細胞集簇	3/20	3/20	4/20	0	4/20	3/20	6/20	3/20
肉芽腫	0	0	0	0	0	0	0	1/20
皮膚炎	0	0	0	1/20	1/20	2/20	1/20	1/20
筋炎	0	4/20	1/20	0	0	0	0	1/20
蜂窩織炎	0	0	1/20	0	0	0	0	0
線維化	4/20	1/20	1/20	5/20	2/20	2/20	7/20	6/20
血管炎	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）(Continued)

6ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
泡沫組織球	0	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮嚢胞	0	0	0	0	0	0	1/20	0
投与部位 #2								
炎症細胞集簇	1/20	1/20	4/20	1/20	3/20	1/20	4/20	1/20
肉芽腫	0	2/20	1/20	0	0	0	0	2/20
皮膚炎	2/20	0	0	0	0	3/20	0	0
筋炎	0	1/20	0	0	0	2/20	1/20	3/20
蜂窩織炎	0	0	0	0	0	0	1/20	0
線維化	4/20	5/20	3/20	2/20	0	4/20	5/20	4/20
血管炎	0	0	0	0	0	0	1/20	0
泡沫組織球	0	0	0	0	0	0	1/20	0
扁平上皮嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	0
投与部位 #3								
炎症細胞集簇	2/20	5/20	7/20	2/20	6/20	1/20	4/20	5/20
肉芽腫	1/20	4/20	2/20	4/20	3/20	1/20	3/20	7/20
皮膚炎	0	0	0	0	0	1/20	0	0
筋炎	1/20	2/20	2/20	3/20	1/20	2/20	6/20	8/20
蜂窩織炎	0	0	0	0	1/20	1/20	0	3/20
線維化	7/20	2/20	10/20	13/20	14/20	15/20	20/20	20/20
血管炎	0	0	0	0	0	0	0	0
泡沫組織球	0	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	0
投与部位 #4								
炎症細胞集簇	2/20	5/20	6/20	8/20	7/20	4/20	8/20	10/20
肉芽腫	4/20	3/20	1/20	2/20	2/20	1/20	4/20	1/20
皮膚炎	0	0	0	0	0	0	1/20	0
筋炎	0	0	1/20	2/20	9/20	5/20	7/20	10/20
蜂窩織炎	0	0	2/20	0	3/20	1/20	5/20	2/20
線維化	10/20	5/20	10/20	12/20	16/20	15/20	19/20	20/20
血管炎	0	0	0	0	0	0	0	0
泡沫組織球	0	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮嚢胞	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2.6.7-7A　反復投与毒性試験（重要な試験）(Continued)

ALP = アルカリホスファターゼ；ALT = アラニンアミノトランスフェラーゼ；AST = アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ；CPM = 1 分あたりのカウント数；GA = グラチラマー酢酸塩；Hb = ヘモグロビン；Hct = ヘマトクリット値；NOAEL = 無毒性量；RBC = 赤血球数；SD = 標準偏差；WBC = 白血球数　*$p \leq 0.05$；**$p \leq 0.01$

[1] 対照群の TK 評価用の動物には、溶媒（生理食塩水）を 1、28、又は 177 日間投与後、[^{125}I]-GA（3 mg/kg）を Day 1、Day 29 又は Day 178 に単回投与した。低用量群、中用量群及び高用量群の TK 評価用の動物には、GA を 28 又は 177 日間投与後、[^{125}I]-GA を Day 1、Day 29 又は Day 178 に単回投与した。

表 2.6.7-7B　反復投与毒性試験（重要な試験）

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：COP-1：サルを用いる 52 週間反復皮下投与毒性試験		
動物種／系統：サル／カニクイ	投与期間：12 ヵ月間	添付資料番号：4.2.3.2-9
試験開始年齢：約 2 歳	休薬期間：なし	概要文の参照箇所：2.6.6.3.10 項
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：連日皮下投与	GLP：適用
特記事項：なし	溶媒／投与形態：0.9%生理食塩液／溶液、投与液量は 1.5 mL/kg	
NOAEL（全身）：10 mg/kg/日		

3 ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数（すべての群）	4	4	4	4	4	4	4	4
特記すべき所見								
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重増加量								
Week -1～4（kg）	0.10	0.16	0.15	0.14	0.16	0.19	0.09	0.13
Week 4～13（kg）	0.11	0.14	0.16	0.08	0.15	-0.10	0.16	0.08
一般状態								
投与部位の肥厚	–	–	–	++	+	++	+++	+++
評価動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
血液生化学的検査								
AST（IU/L）	58	61	57	66	58	63	72*	69
ALT（IU/L）	56	52	57	54	50	73	68	52
免疫原性（抗 GA 抗体）								
Week 4：陽性個体数	0/4	0/4	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4	3/4
Week 4：平均値 ± SD（1:5000）	261 ± 57	703 ± 355	6880 ± 2926	7084 ± 6103	5112 ± 4351	10650 ± 5163	2610 ± 1224	6326 ± 4406
Week 13：陽性個体数	2/4	0/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
Week 13：平均値 ± SD（1:5000）	1658 ± 1560	1022 ± 368	16047 ± 3715	18765 ± 6760	13465 ± 7437	13511 ± 5565	12334 ± 8872	13712 ± 7565

表 2.6.7-7B　反復投与毒性試験（重要な試験）（Continued）

6ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
毒性試験期間								
動物数（すべての群）	4	4	4	4	4	3	4	4
特記すべき所見								
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0	0	1	0	0
体重増加量								
Week 13～24（kg）	0.18	0.13	0.23	0.11	0.15	0.17	0.13	0.06
一般状態								
投与部位の肥厚	–	–	–	+	+++	+++	+++	+++
評価動物数	4	4	4	4	4	3	4	4
血液生化学的検査								
AST（IU/L）	59	45	55	58	50	55	64	63*
ALT（IU/L）	52	41	46	37	46	49	58	51
免疫原性（抗 GA 抗体）								
Week 26：陽性個体数	2/4	0/4	4/4	4/4	4/4	3/3	4/4	4/4
Week 26：平均値 ± SD（1:5000）	687 ± 294	1156 ± 642	9403 ± 4184	15803 ± 6429	5534 ± 4073	7312 ± 6366	9539 ± 11083	9191 ± 6762
Week 39：陽性個体数	2/4	1/4	4/4	4/4	4/4	3/3	4/4	4/4
Week 39：平均値 ± SD（1:5000）	714 ± 211	1395 ± 871	8901 ± 2147	12052 ± 912	7031 ± 2990	7186 ± 1181	7613 ± 6063	8509 ± 4858

12ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	対照		3（低用量）		10（中用量）		30（高用量）	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	4	4	4	4	4	3	4	4
特記すべき所見								
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重増加量								
Week 24～52（kg）	0.50	0.38	0.54	0.19	0.45	0.28	0.19*	0.25
Week -1～52（kg）	0.89	0.80	1.08	0.51	0.91	0.60	0.56	0.51
一般状態								
投与部位の肥厚	–	–	–	–	–	+	+++	+
評価動物数	4	4	4	4	4	3	4	4

表 2.6.7-7B　反復投与毒性試験（重要な試験）（Continued）

12 ヵ月後の結果								
投与量（mg/kg/日）	**対照**		**3（低用量）**		**10（中用量）**		**30（高用量）**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
血液生化学的検査								
AST（IU/L）	52	50	52	58	50	52	83***	63*
ALT（IU/L）	48	41	46	42	49	49	75*	53
免疫原性（抗 GA 抗体）								
Week 52：陽性個体数	2/4	0/4	4/4	4/4	4/4	3/3	4/4	4/4
Week 52：平均値 ± SD（1:5000）	717 ± 194	1053 ± 293	10527 ± 3305	17073 ± 5134	7814 ± 3080	10014 ± 1758	8111 ± 6525	10571 ± 8603
評価動物数	4	4	4	4	4	3	4	4
病理組織学的検査（発生数／評価動物数）								
投与部位 #1								
線維化を伴う慢性炎症	3/4	4/4	4/4	4/4	4/4	3/3	4/4	4/4
出血	0	0	0	0	0	0	1/4	0
浮腫	0	0	0	1/4	0	1/3	2/4	0
投与部位 #2								
線維化を伴う慢性炎症	2/4	4/4	4/4	4/4	3/4	3/3	4/4	4/4
出血	0	0	1/4	0	1/4	0	2/4	0
浮腫	1/4	1/4	1/4	0	2/4	0	2/4	0
投与部位 #3								
線維化を伴う慢性炎症	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4	3/3	4/4	4/4
出血	0	0	0	0	1/4	0	1/4	0
浮腫	0	1/4	2/4	1/4	3/4	1/3	3/4	0
投与部位 #4								
線維化を伴う慢性炎症	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4	3/3	4/4	4/4
出血	1/4	0	0	0	2/4	0	0	0
浮腫	0	1/4	0	1/4	3/4	2/3	2/4	0
投与部位 #5								
線維化を伴う慢性炎症	0	0	0	0	2/4	1/2	4/4	3/4

ALT = アラニンアミノトランスフェラーゼ；AST = アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ；GA = グラチラマー酢酸塩；NOAEL = 無毒性量；SD = 標準偏差
– = 特記すべき所見なし；+ = ごく一部の動物で発生；++ = 多数の動物で発生；+++ = ほとんど又はすべての動物で発生
*$p \leq 0.05$；**$p \leq 0.01$；***$p \leq 0.001$

表 2.6.7-8A　遺伝毒性試験：In Vitro

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株を用いて COP-1 の突然変異誘発能を検討する試験		
試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験	**独立して実施した試験数**：3	**添付資料番号**：4.2.3.3.1-1
菌株：ネズミチフス菌及び大腸菌	**プレート数**：3	**概要文の参照箇所**：2.6.6.4.1.1 項
代謝活性化系：アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9（10% v/v）	**分析細胞数／培養**：1 プレートあたりの総コロニー数	**GLP**：適用
溶媒（被験物質用）：滅菌蒸留水	**溶媒（陽性対照用）**：滅菌蒸留水あるいは DMSO（dimethyl sulphoxide）	**処理年月**：19[redacted]年[redacted]～[redacted]月
処理：3 日間		**追記**：なし
細胞毒性：両試験ともなし		**遺伝毒性**：なし

初回試験

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	平均復帰コロニー数（SD）					
			TA98	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 pKM101**	**WP2 uvrA-pKM101**
代謝活性化系（S9）非存在下	溶媒	0	15.3 (4.2)	130.4 (8.9)	9.2 (5.5)	7.8 (2.8)	32.2 (8.8)	144.8 (11.6)
	GA	4 (8)[a]	15.3 (3.1)	130.7 (18.1)	9.5 (0.7)	8.7 (5.5)	29.7 (5.1)	135.0 (6.2)
		20 (40)[a]	17.5 (0.7)	135.7 (7.1)	11.5 (3.5)	8.0 (3.6)	29.7 (14.0)	142.3 (33.6)
		100 (200)[a]	18.7 (3.8)	124.0 (15.9)	8.0 (2.6)	11.0 (1.7)	26.3 (14.4)	149.7 (16.3)
		500 (1000)[a]	16.3 (1.5)	98.7 (4.9)	9.3 (3.8)	8.0 (1.7)	24.7 (2.1)	136.3 (21.4)
		2500 (5000)[a]	11.7 (8.5)	13.3 (3.1)	10.3 (5.1)	4.0 (1.7)	12.7 (3.1)	23.0 (3.6)
	2-ニトロフルオレン	50	1672.7 (227.3)	NA	NA	NA	NA	NA
	アジ化ナトリウム	2	NA	520.7 (28.0)	346.0 (14.7)	NA	NA	NA
	9-アミノアクリジン	50	NA	NA	NA	905.3 (85.4)	NA	NA
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	2	NA	NA	NA	NA	52.3 (6.7)	955.0 (19.5)
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	21.0 (6.2)	144.2 (9.0)	26.6 (9.6)	7.0 (2.0)	58.6 (12.3)	148.2 (5.2)
	GA	4 (8)[a]	22.0 (1.7)	150.0 (3.6)	22.7 (1.2)	7.3 (3.1)	74.3 (2.9)	172.3 (12.4)
		20 (40)[a]	19.0 (4.0)	149.0 (9.5)	23.3 (3.1)	4.0 (2.0)	73.0 (10.4)	157.7 (20.6)
		100 (200)[a]	20.3 (4.2)	139.3 (4.0)	27.0 (5.6)	7.5 (0.7)	53.0 (9.5)	184.3 (26.5)
		500 (1000)[a]	23.3 (6.8)	120.7 (10.8)	27.0 (1.0)	4.7 (0.6)	68.0 (4.4)	176.7 (8.3)
		2500 (5000)[a]	21.0 (2.6)	72.7 (21.0)	22.7 (2.1)	3.0 (2.0)	41.7 (5.9)	62.0 (7.9)
	2-アミノアントラセン	5	1178.0 (2.6)	1606.7 (37.1)	191.7 (15.2)	275.0 (20.7)	NA	NA

表 2.6.7-8A　遺伝毒性試験：In Vitro (Continued)

報告書の題名：ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株を用いて COP-1 の突然変異誘発能を検討する試験								
2 回目に実施した独立した試験								
代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	平均復帰コロニー数（SD）					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 pKM101	WP2 uvrA-pKM101
代謝活性化系（S9）非存在下	溶媒	0	28.6 (6.1)	155.4 (10.5)	16.2 (4.0)	12.4 (3.6)	27.6 (8.0)	146.2 (10.3)
	GA	156.25	28.0 (7.9)	162.0 (13. 1)	14.7 (2.3)	12.0 (1.0)	27.7 (3.5)	121.3 (17.4)
		312.5	25.0 (5.2)	143.3 (8.1)	19.7 (5.7)	13.7 (2.5)	15.7 (4.7)	108.3 (11.2)
		625	27.3 (6.8)	137.3 (4.5)	19.3 (4.7)	14.7 (4.0)	12.3 (3.5)	93.0 (12.2)
		1250	22.0 (2.6)	112.3 (11.0)	12.3 (2.1)	16.3 (3.1)	9.0 (2.6)	63.0 (4.6)
		2500	28.7 (4.0)	93.3 (21.5)	14.0 (2.0)	10.7 (2. 1)	5.3 (2. 1)	14.7 (3.2)
	2-ニトロフルオレン	50	1728.7 (142.9)	NA	NA	NA	NA	NA
	アジ化ナトリウム	2	NA	529.7 (39.0)	472.7 (44.5)	NA	NA	NA
	9-アミノアクリジン	50	NA	NA	NA	1103.7 (249.2)	NA	NA
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	2	NA	NA	NA	NA	66.7 (11.9)	796.3 (18. 1)
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	29.8 (4.2)	194.8 (19.3)	27.0 (5.8)	15.6 (3.0)	43.0 (7.4)	113.8 (3.7)
	GA	156.25	37.3 (6.7)	189.3 (5.9)	22.0 (2.6)	18.3 (1.5)	36.3 (3.1)	129.0 (7.2)
		312.5	43.0 (0.0)	180.0 (5.2)	21.7 (1.2)	13.7 (1.2)	33.7 (6.5)	127.7 (10. 0)
		625	28.7 (2.1)	169.3 (17.6)	31.3 (5.9)	18.3 (2.1)	29.0 (3.0)	111 .3 (4.2)
		1250	30.7 (4.2)	175.0 (13. 1)	24.3 (4.0)	14.7 (0.6)	12.0 (5.0)	94.7 (12. 1)
		2500	34.0 (5.0)	158.3 (9.7)	24.7 (6.0)	20.7 (2. 1)	5.7 (3.2)	29.7 (4.0)
	2-アミノアントラセン	5	936.3 (6.4)	840.3 (288.2)	NA	NA	NA	NA
3 回目に実施した独立した試験								
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	16.8 (2.2)	NA	NA	NA	NA	NA
	GA	100	21.0 (5.3)	NA	NA	NA	NA	NA
		200	18.0 (4.6)	NA	NA	NA	NA	NA
		300	11.0 (3.6)	NA	NA	NA	NA	NA
		400	14.7 (2.1)	NA	NA	NA	NA	NA
		500	17.0 (7.0)	NA	NA	NA	NA	NA
	2-アミノアントラセン	5	1060.0 (120.1)	NA	NA	NA	NA	NA

GA＝グラチラマー酢酸塩；NA＝該当せず；[a]＝TA100

表 2.6.7-8B　遺伝毒性試験：In Vitro

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：マウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ（tk）遺伝子座に対する COP-1 の突然変異誘発能を検討する彷徨変異試験		
試験の種類：遺伝子突然変異試験	独立して実施した試験数：2	添付資料番号：4.2.3.3.1-2
系統：マウスリンパ腫細胞	プレート数：2/4	概要文の参照箇所：2.6.6.4.2.1 項
代謝活性化系：アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9	分析細胞数／培養：2×10^5 個	GLP：適用
溶媒（被験物質用）：生理食塩液	溶媒（陽性対照用）：DMSO（dimethyl sulphoxide）	処理年月：19[redacted]年[redacted]～[redacted]月
処理：3 時間の処理後、2 日間発現		追記：なし
細胞毒性：1000 μg/mL 以上で毒性あり		
遺伝毒性：なし		

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（相対生存率［%］）		突然変異頻度（合計）	
			試験 1	試験 2	試験 1	試験 2
代謝活性化系（S9）非存在下	溶媒	0	100	100.0	220.65	175.96
	GA	31.25*	92.5	NA	NA	NA
		62.5	87.4	NA	185.85	NA
		125	84.3	NA	173.45	NA
		250	72.2	35.8	158.92	214.74
		500	25.3	15.3	198.90	120.83
		750	NA	5.1	NA	196.48
		1000	1.9	0.6	286.69	110.64
		1250	NA	0.4	NA	159.16
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	0.05	78.9	73.6	959.85	624.03
		0.1	53.5	74.6	2E+03	822.98
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	100.0	100.0	231.09	223.54
	GA	125	77 .4	NA	NA	NA
		250	69.0	57.2	175.78	202.90
		500	55.4	38.6	169.36	230.70
		750	28.1	19.8	252.12	259.15
		1000	17.2	5.2	237.61	183.63
		1250	4.9	3.1	253.68	117.96
	ベンゾ(a)ピレン	2	76.3	81.4	1E+03	824.41
		3	63.1	74.6	2E+03	1E+03

*生存率／5-TFT 耐性評価用のプレートは作製しなかった。　GA = グラチラマー酢酸塩；NA = 該当せず

表 2.6.7-8C　遺伝毒性試験：In Vitro

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：培養ヒトリンパ球における COP-1 の染色体損傷誘発能を検討する in vitro 染色体異常試験		
試験の種類：染色体異常試験	**独立して実施した試験数**：1	**添付資料番号**：4.2.3.3.1-3
系統：培養ヒトリンパ球（男性）	**プレート数**：2	**概要文の参照箇所**：2.6.6.4.2.2 項
代謝活性化系：アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9	**分析細胞数／培養**：200 個（陽性対照：50 個）	**GLP**：適用
溶媒（被験物質用）：生理食塩液	**溶媒（陽性対照用）**：滅菌 DMSO（dimethyl sulphoxide）	**処理年月**：19[redacted]年[redacted]月
処理：S9 非存在下に 20 時間及び 44 時間処理（処理直後に細胞を播種）、並びに S9 存在下に 3 時間処理し、17 時間又は 41 時間の回復期間をおいたのち播種		**追記**：なし
細胞毒性：580 μg/mL（S9-）、1373 μg/mL（S9＋）以上で毒性あり		
遺伝毒性：なし		

S9 非存在下、20 時間

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（分裂指数）	異常細胞（%）
代謝活性化系（S9）非存在下	溶媒	0	7.0	1.5
	GA	245.1	5.0	2.0
		377.1	5.1	2.0
		580.1	3.2	0.5
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	5	NA	34.0**

S9 存在下、20 時間

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（分裂指数）	異常細胞（%）
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	3.8	0.5
	GA	580.1	3.5	1.5
		892.5	2.5	1.0
		1373	1.6	3.5*
	シクロホスファミド	25	NA	32.0**

S9 非存在下、44 時間

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（分裂指数）	異常細胞（%）
代謝活性化系（S9）非存在下	溶媒	0	7.5	2.5
	GA	580.1	3.3	3.5

S9 存在下、44 時間

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（分裂指数）	異常細胞（%）
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	4.9	1.5
	GA	1373	3.6	1.5

GA＝グラチラマー酢酸塩；NA＝該当せず；* $p<0.05$；** $p<0.01$

表 2.6.7-8D　遺伝毒性試験：In Vitro

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：培養ヒトリンパ球における COP-1 の染色体損傷誘発能を検討する in vitro 染色体異常試験		
試験の種類：染色体異常試験	**独立して実施した試験数：**1	**添付資料番号：**4.2.3.3.1-4
系統：培養ヒトリンパ球（女性）	**プレート数：**2	**概要文の参照箇所：**2.6.6.4.2.3 項
代謝活性化系：アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9	**分析細胞数／培養：**200 個（陽性対照：50 個）	**GLP：**適用
溶媒（被験物質用）：生理食塩液	**溶媒（陽性対照用）：**滅菌 DMSO（dimethyl sulphoxide）	**処理年月：**19[redacted]年[redacted]月
処理：S9 存在下で 3 時間処理後、17 時間の回復時間		**追記：**なし
細胞毒性：419.4 μg/mL（S9-）、524.3 μg/mL（S9＋）で毒性あり		
遺伝毒性：なし		

S9 非存在下、20 時間

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（分裂指数）	異常細胞（%）
代謝活性化系（S9）非存在下	溶媒	0	4.8	1
	GA	268.4	4.2	1
		335.5	3.8	0.5
		419.4	1.8	1.05
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	5	NA	62.0**

S9 存在下、20 時間

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞毒性（分裂指数）	異常細胞（%）
代謝活性化系（S9）存在下	溶媒	0	5.8	0.5
	GA	335.5	2.2	1
		419.4	2.0	1.82
		524.3	2.2	3.49*
	シクロホスファミド	25	NA	28.0**

GA = グラチラマー酢酸塩；NA = 該当せず；* $p<0.05$；** $p<0.01$

表 2.6.7-9　遺伝毒性試験：In Vivo

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：CD-1 マウス多染性赤血球における COP-1 の小核誘発能を検討する試験		
試験の種類：骨髄細胞の小核試験	**処理計画**：連続 2 日間	**添付資料番号**：4.2.3.3.2-1
動物種／系統：マウス／ICR	**計測時間**：24 時間後及び 48 時間後	**概要文の参照箇所**：2.6.6.4.3.1 項
日齢：34～42 日齢	**投与方法**：腹腔内	GLP：適用
評価した細胞：多染性赤血球	**溶媒／投与形態**：0.9%(w/v) 生理食塩液／溶液、投与液量は 25 mL/kg	**投与年月**：19[redacted]年[redacted]月
分析細胞数／動物：多染性赤血球約 2000 個		**追記**：雌雄マウス
特記事項：なし		
毒性／細胞毒性：70 mg/kg（2 日間）以上の用量で毒性あり		**曝露証明**：本試験では未評価
遺伝毒性：なし		

被験物質	投与量(mg/kg/日; 2 日投与)	動物数（雄/雌）	PCE/NCE （平均値, 雄/雌）	MN-PCE（群平均値, 雄/雌）
24 時間後の計測時点				
溶媒	0	5 / 5	1.36 / 1.23	1.29 / 0.90
GA	35	5 / 5	1.00 / 1.35	0.60 / 0.70
	70	5 / 5	1.27 / 1.29	0.40 / 0.99
	140	5 / 5	1.34 /1.38	0.30 / 0.60
シクロホスファミド	40*	5 / 5	1.04 / 1.09	19.99 / 9.99
48 時間後の計測時点				
溶媒	0	5 / 5	0.94 / 1.29	0.48 /0.60
GA	35	5 / 5	1.27 / 1.13	0.70 / 0.79
	70	5 / 5	1. 52 / 1.32	0.70 / 1.27
	140	5 (+4**) / 5 (+5**)	1.11 / 1.37	0.50 / 0.40
シクロホスファミド	NA	NA / NA	NA / NA	NA / NA

*単回投与；** 同投与群の動物死亡時の追加マウス

GA＝グラチラマー酢酸塩；MN-PCE＝観察した多染性赤血球 2,000 個のうち小核を有する細胞の数；NA＝該当せず；NCE＝正染性赤血球；PCE＝多染性（未成熟）赤血球

表 2.6.7-10A　がん原性試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：マウスを用いる 100 週間皮下投与がん原性試験		
動物種／系統：マウス／[redacted]CR[redacted]	**投与期間：**100 週間	**添付資料番号：**4.2.3.4.1-1
試験開始週齢：6 週齢（投与開始時）	**投与方法：**連日皮下投与	**概要文の参照箇所：**2.6.6.5.1.1 項
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	**溶媒／投与形態：**0.9 %生理食塩液／溶液、投与液量は 10 mL/kg	**GLP：**適用
高用量の設定根拠：マウスを用いた先行試験で得られた毒性学的評価	**対照群の処理：**0.9%生理食塩液（溶媒対照 I 及び II）	
特記事項：第 4 週までの死亡例は予備動物で置き換えた		

投与量（mg/kg/日）	**溶媒対照 I**		**溶媒対照 II**		**3**		**15**		**30**		**60**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
トキシコキネティクス：	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
動物数：												
開始時	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡／瀕死による殺処分	42	29	40	24	42	39	43	35	30	36	38	41
最終剖検例数	18	31	20	36	18	21	17	25	30	24	22	19
生存率（%）	37	55	39	65	35	38	32	42	53	43	45	35
体重増加量（g） †	13.1	15.4	12.0	15.4	12.5	12.9	14.2	13.6	13.6	13.0	12.9	14.0
評価動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
腫瘍性病変が見られた動物数：												
皮膚：肉腫	4	1	1	0	4	0	6	2	6	1	10	1
血管肉腫	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1
その他の皮膚＋皮下組織	1	0	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0
乳腺	0	2	0	1	0	1	0	1	0	4	0	4
肝臓：肝細胞腺腫	15	1	11	1	10	1	11	1	15	1	11	1
血管腫	1	0	1	0	2	0	2	1	2	0	0	0
肝細胞がん	3	0	2	0	1	0	3	0	3	0	3	0
組織球性肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
膵臓	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
副腎	0	0	0	1	0	0	2	0	2	0	1	2
卵巣	0	1	0	7	0	2	0	1	0	5	0	7
子宮	0	8	0	10	0	7	0	8	0	6	0	11
肺：細気管支腺／肺胞上皮腫	3	10	8	9	8	2	9	6	14	1	9	7
細気管支腺／肺胞上皮癌	5	1	0	2	3	2	0	1	5	0	2	2
甲状腺	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0

表 2.6.7-10A　がん原性試験 (Continued)

投与量（mg/kg／日）	溶媒対照 I		溶媒対照 II		3		15		30		60	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
腫瘍性病変が見られた動物数：												
血液／リンパ／細網組織：組織球肉腫	0	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0
リンパ腫	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
リンパ球性リンパ腫	1	10	0	9	4	6	4	8	3	3	2	5
混合型リンパ腫	0	4	1	5	1	5	4	9	1	9	1	1
リンパ球性白血病	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
形質細胞性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
顆粒球性白血病	0	0	1	0	1	1	2	0	1	0	1	1
ハーダー腺	0	1	1	0	2	0	0	1	2	0	1	0
骨	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
特記すべき所見：												
評価動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
肉眼的所見	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
病理組織学的検査－非腫瘍性病変												
投与部位：筋膜炎／線維化	56	55	54	59	56	56	56	54	60	58	60	60
皮筋のミオパチー	18	9	17	5	16	8	31	9	47	23	55	41
皮筋の肥大	5	1	2	2	3	0	5	2	10	2	30	11

ND＝未実施；N＝投与に関連した所見なし

† Week 0～96 の値（統計解析では両対照群を併合して使用）

表 2.6.7-10B　がん原性試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：ラットを用いる 104 週間皮下投与がん原性試験		
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	**投与期間：**97 週間（雌）；104 週間（雄）	**添付資料番号：**4.2.3.4.1-2
試験開始週齢：約 7 週齢（投与開始時）	**投与方法：**連日皮下投与	**概要文の参照箇所：** 2.6.6.5.1.2 項
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	**溶媒／投与形態：**0.9%生理食塩液／溶液、投与液量は 2.0 mL/kg	**GLP：**適用
高用量の設定根拠：ラットを用いた先行試験で得られた毒性学的評価	**対照群の処理：**0.9%生理食塩水（溶媒対照 I 及び II）	
特記事項：6、12 及び 18 ヵ月目の免疫組織化学的検査用及び電子顕微鏡学的検査用として、下記以外に 1 群あたり雌雄各 5 例を使用した。		

投与量（mg/kg／日）	**溶媒対照 I**		**溶媒対照 II**		**3**		**7.5**		**15**		**30**	
	雄	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**
トキシコキネティクス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
動物数：												
開始時	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡／瀕死による殺処分	26	34	25	32	25	28	24	34	28	34	34	33
最終剖検例数	20	16	25	18	25	22	22	16	22	16	16	17
生存率（%）	40	32	50	38	54	48	44	34	44	32	32	36
体重増加量（g）†	582.1	331.4	559.2	310.6	554.9	334.2	568.1	336.9	520.8	323.1	489.6	293.5
評価動物数	46	50	50	50	50	50	46	50	50	50	50	50
腫瘍性病変が見られた動物数：												
副腎：　良性褐色細胞腫	2	2	3	0	5	0	1	0	2	0	8	1
悪性褐色細胞腫	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	1
特記すべき所見：												
肉眼的所見												
腎臓：　肥大	3	1	3	1	3	2	2	0	10	4	11	0
精嚢：　小	3	-	1	-	6	-	4	-	6	-	9	-
病理組織学的検査－非腫瘍性病変												
慢性進行性腎症												
軽微	15	13	16	10	15	18	13	11	12	14	19	17
軽度	9	6	7	8	7	8	15	5	8	7	11	2
中等度	2	0	4	4	3	1	1	1	4	1	2	1
中等度～重度	0	0	2	0	1	0	6	3	8	1	1	0
重度	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0

表 2.6.7-10B　がん原性試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩（続き）

投与部位： 筋膜炎／線維化	44	48	46	50	50	49	44	49	49	50	50	50
筋炎	13	10	8	6	20	24	25	31	26	41	42	42

ND = 未実施；N = 投与に関連した所見なし
† 雄は Week 0～104 の値、雌は Week 0～96 の値（統計解析では両対照群を併合して使用）

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：Cop-1：ラットの受胎能及び一般生殖能に対する影響（Segment I-III）				
試験計画 ICH S5A 4.1.1：非適用	**投与期間：** M：交配前 10 週から F1 児の離乳時まで F：交配前 2 週から妊娠 20 日、あるいは分娩後 25 日（F1 児の離乳時）まで		**添付資料番号**：4.2.3.5.1-1	
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley			**概要文の参照箇所**：2.6.6.6.1.1 項	
試験開始週齢：7～8 週齢 **交尾成立日**：Day 0	**帝王切開日**：交配 20 日		**GLP**：適用	
初回投与年月日：M - 19[redacted]年[redacted]月[redacted]日 F - 19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	**投与方法**：連日皮下投与			
特記事項：なし	**溶媒／投与形態**：0.9 %塩化ナトリウム／水溶液、投与液量は 2.0 mL/kg			
無毒性量 **生殖毒性に関するパラメータ：** **F_0雄**：36 mg/kg/日 **F_0雌**：36 mg/kg/日 **F_1出生児**：36 mg/kg/日 **生殖毒性以外のパラメータ：** **F_0雄**：6 mg/kg/日 **F_0雌**：6 mg/kg/日				
投与量（mg/kg/日）	**対照**	**1**	**6**	**36**
F_0雄				
評価動物数	30	30	30	30
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0
一般状態（動物数）：				
血尿	0	1	0	0
脱毛	4	3	8	4
創傷	1	2	6[a]	4
眼周囲被毛汚染	0	0	0	1
眼の出血	0	1	0	0
血液学的検査：				
ヘマトクリット（%）	50.3	49.4	49.1	48.1[b]
ヘモグロビン（g %）	15.7	15.5	15.5	15.1[b]
肉眼的所見：				
投与部位のうっ血／出血	1	2	2	7[a]

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 (Continued)

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
投与部位の膿瘍	0	0	0	1
頚部リンパ節うっ血	1	0	0	1
頚部リンパ節腫大	1	0	0	1
精巣軟化	1	1	0	1
精巣小	0	1	0	2
脱毛	1	0	0	0
四肢の腫脹	0	0	1	0
器官重量				
体重（剖検時）	573.1 g	586.6 g	558.0 g	547.9 g
精巣（絶対重量, g）	3.711	3.778	3.815	3.449
精巣（比体重値）	3.70	3.75	3.83	3.48
体重－投与 10 週（%） †	528.6 g	+3.2	–2.7	–4.6
摂餌量–投与 10 週（%） †	210.7 g/週	–0.6	–2.9	–5.9
平均交配所要日数	2.1	2.9	2.1	2.3
F0 雌				
平均交配所要日数	2.1	2.9	2.1	2.3
交尾動物数	30	30	30	30
妊娠動物数	28	30	29	29
評価動物数	30	30	30	30
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0
一般状態－交配期間終了まで：	–	–	–	–
一般状態－妊娠期間：				
尾の切創	0	0	1	0
ケージトレイ内の血液痕	0	2	1	1
脱毛	0	0	1	0
壊死	0	1	0	0
外生殖器周囲の被毛汚染	0	0	0	1
体重–交配前期間終了時（%） †	257.5 g	+0.8	+1.3	+0.7
体重–妊娠 20 日（%） †	434.0 g	+0.7	0.0	+0.7
摂餌量 – 交配前期間終了時（%） †	143.4 g/週	–0.5	+1.4	–1.2
摂餌量 – 妊娠 19-20 日（%） †	34.6 g/日	–0.3	+1.7	–2.0

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 (Continued)

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
平均交配所要日数	2.1	2.9	2.1	2.3
交尾動物数	30	30	30	30
妊娠動物数	28	30	29	29
妊娠率（妊娠動物数／交尾動物数）(%)	93	100	97	97
受胎率（妊娠動物数／交配実施動物数）（%）	93	100	97	97
F0 雌　帝王切開グループ				
評価母体数（妊娠動物数）	13	15	15	14
流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
血液学的検査	–	–	–	–
剖検所見：				
投与部位のうっ血／出血	0	1	0	8[c]
眼球突出、混濁	0	1	0	1
頚部リンパ節蒼白化	0	0	2	2
頚部リンパ節うっ血	0	1	0	2
頚部リンパ節腫大	0	0	2	2
腸間膜リンパ節蒼白化	1	2	2	0
腸間膜リンパ節腫大	1	2	2	0
肝臓の退色巣	0	0	0	1
ハーダー腺のうっ血及び腫大	0	0	0	1
脾臓腫大	0	0	2	0
脾臓実質内に及ぶ退色巣	0	0	1	0
空腸の暗色内容物	0	0	1	0
器官重量				
体重（剖検時）	438.8 g	437.1 g	433.8 g	440.7 g
卵巣（絶対重量、 mg）	140	145	139	138
卵巣（比体重値）	139.5	145.4	139.6	137.8
平均黄体数	17.1	18.1	17.3	18.0
平均着床数	16.8	17.3	15.7	16.0
平均着床前胚死亡率（%）	4.2	5.8	4.1	5.5
胎盤重量	–	–	–	–
平均生存胎児数	15.1	16.2	15.1	15.5

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 (Continued)

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
平均吸収胚数	1.2	0.9	0.9	1.4
死亡胎児数	0	0	0	0
平均着床後死亡率（%）	7.8	5.8	5.8	7.7
平均胎児体重－雄／雌（g）	3.99／3.83	4.11／3.89	3.87／3.69	3.96／3.78
胎児の性比（雄／雌）	1.01	0.82	0.94	1.04
F0 雌　分娩グループ				
評価動物数（妊娠動物数）	15	15	14	15
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0
一般状態(授乳期間)	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–
剖検所見				
投与部位のうっ血／出血	2	0	2	3
子宮留水症	2	0	0	1
脱毛	1	0	0	0
尾の切創	0	0	1	0
腫瘍	0	0	1	0
器官重量				
体重（剖検時）	327.8 g	332.1 g	336.7 g	339.2 g
卵巣（絶対重量、mg）	115	121	119	120
卵巣（比体重値）	117.2	120.6	117.4	118.7
授乳時体重－分娩後 25 日（%） [†]	329.9 g	+0.5	+3.8	+3.0
授乳時摂餌量－分娩後 20 日（%） [†]	99.7 g／日	–4.0	–0.5	–7.6
平均妊娠期間（日数）	21.4	21.5	21.2	21.2
異常分娩数	0	0	0	0
平均着床数	16.8	17.3	15.7	16.0
出生率（%）	92.4	92.6	93.1	92.6
F1 出生児（離乳前）				
評価母体数	15	15	14	15
平均出生児数／腹	15.6	16.0	14.8	14.9
出生時生存率（%） [d)]	94.7	94.9	97.2	98.1
生後 4 日生存率（%） [e)]	97.7	96.4	95.5	97.8
生後 21 日生存率（%） [f)]	97.6	97.2	94.2	96.2

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 (Continued)

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
出生児体重（雄）–出生 21 日（g）	50.81 g	–1.8	+0.4	–3.6
投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
出生児体重（雌）–出生 21 日（g）	49.57 g	–3.3	–1.5	–7.4
出生児性比（雄／雌）	1.07	1.16	1.20	1.01
出生児一般状態	–	–	–	–
F1 雄（離乳後）				
離乳後評価動物数	15	15	15	15
死亡及び瀕死屠殺動物数	1	0	0	0
一般状態	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–
器官重量				
体重（剖検時）	594.8 g	568.1 g	604.7 g	605.3 g
精巣（絶対重量、g）	3.913	3.862	3.793	3.714
精巣（比体重値）	3.91	3.90	3.77	3.70
体重 – 交配前期間終了時（%）†	425.2 g	–2.8	+1.8	–0.3
摂餌量 – 交配前期間終了時（%）†	242.8 g/週	–1.9	+3.9	+0.6
行動検査				
正向反射	–	–	–	–
聴覚性驚愕反射	–	–	–	–
瞳孔反射	–	–	–	–
交配実施動物数	15	15	15	15
平均交配所要日数	2.5	2.8	2.9	2.6
交尾動物数	15	15	15	14
妊娠動物数	15	15	14	14
交尾率（交尾動物数／交配実施動物数）（%）	100	100	100	93
妊娠率（妊娠動物数／交尾動物数）（%）	100	100	93	100
受胎率（妊娠動物数／交配実施動物数）（%）	100	100	93	93
F1 雌（離乳後）				
離乳後評価動物数	15	15	15	15
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態	–	–	–	–

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 (Continued)

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
血液学的検査	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–
器官重量				
体重－剖検時	378.9 g	364.2 g	365.2 g	374.7 g
卵巣（絶対重量、mg）	127	117	131	126
卵巣（比体重値）	124.3	118.6	133.0	125.5
体重 – 交配前期間終了時（%） †	263.8 g	–3.4	–2.3	+1.7
体重 – 妊娠 20 日（%） †	466.7 g	–5.5	–1.8	+0.6
体重–分娩後 21 日（%） †	378.9 g	–3.9	–3.6	+0.3
摂餌量 – 交配前期間終了時（雌 4 例）（%） †	169.2 g/週	–1.2	–7.2	+1.4
摂餌量–妊娠 19 日（%） †	38.6 g/日	–7.3	–1.6	–2.8
摂餌量–分娩後 21 日（%） †	90.2 g/日	–0.1	+6.7	+1.4
行動検査				
正向反射	–	–	–	–
聴覚性驚愕反射	–	–	–	–
瞳孔反射	–	–	–	–
平均妊娠期間（日数）	21.5	21.6	21.7	21.4
平均着床数	18.8	17.3	15.9	16.6
出生率（%）	86.6	89.5	89.5	87.6

表 2.6.7-11　生殖発生毒性試験–受胎能及び一般生殖能試験 (Continued)

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
F2 出生児（離乳前）				
評価母体数	14	15	13	13
平均出生児数／腹	17.7	15.9	15.9	15.8
出生時生存率（%） [d)]	96.3	95.5	96.6	95.5
生後 4 日生存率（%） [e)]	96.9	97.2	97.7	95.6
生後 21 日生存率（%） [f)]	96.6	96.0	96.0	97.1
出生児体重（雄）－出生 21 日（g）	50.98 g	−1.6	+4.4	+2.3
出生児体重（雌）－出生 21 日（g）	46.97 g	+2.4	+8.5[a]	+7.3
出生児性比（雄／雌）	1.11	1.07	0.96	1.14
一般状態	−	−	−	−
剖検所見	−	−	−	−

ND＝未実施、－＝投薬の影響なし

[†]対照群の値は群平均値。投与群の値は、対照群の値に対する割合（%）

[a,b,c]対照群との間に有意差あり（[a]: $p < 0.05$, [b]: $p < 0.001$, [c]: $p < 0.01$）

d): 出生時生存率（%）：出生 0.5 日生存児数 / 全出生児数×100 を Freeman-Tukey 逆正弦変換した値

e): 生後 4 日生存率（%）：出生 4 日生存児数（児数調整前）/ 出生 0.5 日生存児数×100 を Freeman-Tukey 逆正弦変換した値

f): 生後 21 日生存率（%）：出生 21 日生存児数 /出生 4 日生存児数（児数調整後）×100 を Freeman-Tukey 逆正弦変換した値

表 2.6.7-12A　生殖発生毒性試験–胚・胎児発生に対する影響

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：Cop-1：ラットを用いる催奇形性試験					
試験計画 ICH S5A 4.1.3：適用	投与期間：妊娠 6～15 日		添付資料番号：4.2.3.5.2-1		
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	帝王切開日：妊娠 20 日		概要文の参照箇所：2.6.6.6.2.1 項		
試験開始週齢：8～11 週齢 交尾成立日：妊娠 0 日	投与方法：連日皮下投与		GLP：適用		
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	溶媒／投与形態：0.9%塩化ナトリウム／水溶液、投与液量は 2.0 mL/kg				
無毒性量： F_0雌：37.5 mg/kg/日 F_1出生児：37.5 mg/kg/日	特記事項：なし				
投与量（mg/kg/日）	対照	0.3	1.5	7.5	37.5
母動物					
トキシコキネティクス	ND	ND	ND	ND	ND
妊娠動物数	22	22	22	21	22
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0	0
流産又は全胚吸収母体数	0	0	0	0	0
一般状態（動物数）：					
軟便	0	1	0	0	0
腹部脱毛	1	0	0	2	0
四肢脱毛	2	0	2	1	0
眼周囲被毛汚染	0	0	0	1	0
膣口出血	0	0	0	1	2
体重（%）- 妊娠 20 日†	437.3 g	-1.3	-0.9	-1.7	+0.4
体重増加（%）- 妊娠 0~6 日†	27.4 g	-6.2	-4.7	-21.2	-16.1
体重増加（%）- 妊娠 6~15 日†	52.2 g	0.6	1.5	4.0	11.5
体重増加（%）- 妊娠 15~20 日†	82.0 g	-4.6	-3.8	-4.8	0.1
摂餌量（%）- 妊娠 17～20 日†	34.2 g／日	-5.3	-1.8	-6.4	-3.5
平均黄体数	16.5	17.3	17.0	17.0	17.0
平均着床数	16.2	16.6	16.0	16.5	16.6
平均着床前胚損失率（%）	3.7	4.2	6.0	2.8	3.3

表 2.6.7-12A　生殖発生毒性試験–胚・胎児発生に対する影響 (Continued)

投与量（mg/kg／日）	対照	0.3	1.5	7.5	37.5
胎児					
評価母体数	22	22	22	21	22
生存胎児数	331	343	326	327	347
平均吸収胚数／腹	1.1	1.0	1.1	1.0	0.8
死亡胎児数	0	0	0	0	0
平均着床後胚損失率（%）	7.5	7.1	6.7	6.6	5.6
平均胎児体重（g）	3.63	3.65	3.61	3.63	3.63
胎児の性比（雄／雌）	1.0	1.08	1.0	1.23	1.06
胎児の異常					
外表異常	–	–	–	–	–
剖検時の内部所見（骨格観察用胎児）					
尿管拡張					
胎児数（%）	3 (1.8)	6 (3.5)	7 (4.3)	4 (2.4)	9 (5.2)
母体数（%）	2 (1.9)	5 (3.8)	5 (4.7)	2 (2.1)	6 (5.3)
内部異常（内臓詳細観察用胎児）					
尿管拡張					
胎児数（%）	1 (0.6)	2 (1.2)	1 (0.6)	1 (0.6)	7 (4.0)
母体数（%）	1 (0.6)	2 (1.2)	1 (0.6)	1 (0.7)	4 (3.7)
水尿管					
胎児数（%）	0	1 (0.6)	0	0	2 (1.1)
母体数（%）	0	1 (0.6)	0	0	2 (1.1)
水腎症					
胎児数（%）	0	1 (0.6)	0	0	4 (2.3)
母体数（%）	0	1 (0.6)	0	0	3 (2.1)
骨格異常	–	–	–	–	–

ND = 未実施；– = 特記すべき所見なし
† 対照群の値は、体重の群平均値。投与群の値は、対照群の値に対する割合（%）

表 2.6.7-12B　生殖発生毒性試験–胚・胎児発生に対する影響

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：Cop-1：ウサギを用いる催奇形性試験					
試験計画 ICH S5A 4.1.3：適用	投与期間：妊娠 6～19 日			添付資料番号：4.2.3.5.2-2	
動物種／系統：ウサギ／New Zealand White	帝王切開日：妊娠 29 日			概要文の参照箇所：2.6.6.6.2.2 項	
試験開始月齢：4～5 ヵ月齢 交尾成立日：妊娠 0 日	投与方法：連日皮下投与			GLP：適用	
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	溶媒／投与形態：0.9%塩化ナトリウム／水溶液、投与液量は 2.0 mL/kg				
特記事項：なし					
無毒性量： F_0雌：7.5 mg/kg/日 F_1出生児：37.5 mg/kg/日					
投与量（mg/kg/日）	**対照**	**0.3**	**1.5**	**7.5**	**37.5**
母体					
トキシコキネティクス	ND	ND	ND	ND	ND
妊娠動物数	17	16	17	17	16
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	0	0	0
流産又は全胚吸収母体数	0	1	0	0	0
一般状態（動物数）：					
投与部位の壊死／痂皮形成	0	0	0	0	1
体重（%）- 妊娠 29 日†	4091 g	-2.7	+1.3	+0.4	-0.1
体重増加（%）- 妊娠 0~6 日†	89 g	-7.9	-57.3	0.0	-21.3
体重増加（%）- 妊娠 6~19 日†	208 g	-7.2	-15.4	-16.8	-49.5
体重増加（%）- 妊娠 19~29 日†	166 g	-4.2	+16.3	+0.6	+38.6
摂餌量（%）- 妊娠 29 日†	169 g／日	-4.1	+2.4	0	+11.8
平均黄体数	9.6	9.9	9.9	10.4	9.6
平均着床数	8.8	8.7	8.8	9.6	8.6
平均着床前胚損失率（%）	8.7	11.3	10.1	8.3	10.4
胎児					
評価母体数	17	15	17	17	16
平均生存胎児数／腹	8.3	7.9	8.2	8.9	8.1
平均吸収胚数／腹	0.5	0.3	0.6	0.8	0.5
総死亡胎児数	2	0	0	0	0
平均着床後胚損失率（%）	7.9	7.0	7.8	9.1	7.5

表 2.6.7-12B　生殖発生毒性試験–胚・胎児発生に対する影響

投与量（mg/kg/日）	対照	0.3	1.5	7.5	37.5
平均胎児体重（g）	44.3	44.6	46.2	44.3	44.3
胎児の性比（雄／雌）	1.07	1.39	0.84	0.91	0.78
胎児の異常					
外表異常	–	–	–	–	–
内部異常	–	–	–	–	–
骨格異常					
腰椎数変異					
胎児数（%）	45 (31.9)	71[a] (56.3)	63[b] (45.0)	90[a] (59.6)	59[b] (45.4)
母体数（%）	13 (29.9)	14 (52.8)	16 (43.7)	17 (60.5)[c]	14 (41.3)
影響が認められた胎児数（母体数）	45 (13)	71 (14)	63 (16)	90 (17)	59 (14)

– = 特記すべき所見なし、[†]対照群の値は群平均値。投与群の値は、対照群の値に対する割合（%）
[a,b,c] 対照群との間に有意差あり（[a]: $p < 0.001$, [b]: $p < 0.05$, [c]: p , 0.01）

表 2.6.7-13　生殖発生毒性試験–周産期及び授乳期投与試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩

報告書の題名：Cop-1：ラットを用いる周産期及び授乳期投与試験		
試験計画 ICH S5A 4.1.2：適用	**投与期間**：妊娠 15 日～生後 21 日	**添付資料番号**：4.2.3.5.3-1
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	**交尾成立日**：妊娠 0 日	**概要文の参照箇所**：2.6.6.6.3.1 項
試験開始日齢：76～85 日齢	**投与方法**：連日皮下投与	
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	**溶媒／投与形態**：0.9%塩化ナトリウム／水溶液、投与液量は 2.0 mL/kg	
特記事項：F_1の観察は離乳時に終了		
無毒性量： **F_0雌**：36 mg/kg/日 **F_1雄**：1 mg/kg/日 **F_1雌**：6 mg/kg/日		**GLP**：適用

投与量（mg/kg/日）	**対照**	**1**	**6**	**36**
F_0雌				
トキシコキネティクス	ND	ND	ND	ND
妊娠動物数	22	22	22	22
死亡及び瀕死殺処分動物数	0	0	1	0
一般状態	–	–	–	–
剖検	–	–	–	–
妊娠時体重（%）- 妊娠 20 日†	419.5 g	-0.1	-0.6	-1.5
授乳時体重（%）- 授乳 21 日†	368.1 g	-1.4	-0.3	-2.6
妊娠時摂餌量（%）- 妊娠 20 日†	33.4 g／日	+2.4	+1.5	-1.2
授乳時摂餌量（%）- 授乳 21 日†	96.9 g／日	+3.4	+0.9	+3.5
平均妊娠期間（日数）	21.5	21.6	21.4	21.6
異常分娩	–	–	–	–
F_1出生児（離乳前）				
評価母体数	22	22	21	22
平均出生児数／腹	14.3	14.5	15.0	14.4
性比（雄／雌）- 出生 1 日	1.1	0.9	0.8	1.0
平均生存出生児数／腹	14.2	14.4	15.0	14.2
平均死亡出生児数／腹	0.1	0.1	0	0.2
出生 4 日後生存率（%）	98	98	97	98
出生 4 日～離乳時生存率（%）	97	100	100	100

表 2.6.7-13　生殖発生毒性試験–周産期及び授乳期投与試験

投与量（mg/kg/日）	対照	1	6	36
出生児体重（雄）－出生 21 日（g）	53.0	52.1	49.7*	49.1*
出生児体重（雌）－出生 21 日（g）	50.4	49.7	47.7	47.1
F_1出生児（離乳前）				
出生児一般状態	–	–	–	–
出生児剖検	–	–	–	–
F1 雄及び F1 雌（離乳後）				
行動検査				
面及び空中落下正向反射	–	–	–	–
聴覚性驚愕反射	–	–	–	–
瞳孔対光反射	–	–	–	–

– = 特記すべき所見なし
*$p < 0.05$
† 対照群の値は、体重の群平均値。投与群の値は、対照群の値に対する割合（%）

被験物質：グラチラマー酢酸塩

表 2.6.7-14　新生児を用いた試験

該当なし。新生児を用いた毒性試験は実施していない。

被験物質：グラチラマー酢酸塩

表 2.6.7-15　局所刺激性試験

該当なし。局所刺激性試験は実施していない。

表 2.6.7-16　その他の毒性試験

被験物質：グラチラマー酢酸塩

試験の種類	動物種（系統）	投与方法	投与期間	動物数／性別／群	投与量（mg/kg）	特記すべき所見	添付資料番号（GLP 適用状況）；概要文の参照箇所
抗原性試験	モルモット (Hartley)	s.c.及び i.v.	感作： 反復投与（21 日間）又は間欠投与（Day 0, 7, 14, 21） 惹起：最終感作 14 日後に投与又は最終感作 14 日後の血清を皮内投与した未処置モルモットに投与	10M	感作： 0.33 及び 3.3 mg/kg（s.c.） 惹起： 3.3 mg/kg (i.v.)	雄モルモットに対し感作期間中に GA（0.33 又は 3.3 mg/kg）を皮下投与し、次いで GA（3.3 mg/kg）を静脈内投与して惹起したところ、強い急性全身アナフィラキシー反応を示唆する一般症状が見られた。同種アナフィラキシー反応試験では、4 時間の PCA 試験で GA（3.3 mg/kg）による惹起後に採取した血清に PCA 陽性反応が見られたことから、IgG1 抗体が産生されていることが示された。しかし、8 日間の PCA 試験では、いずれの動物にも実質的な PCA 反応が見られなかったことから、IgE 抗体は産生されなかったと考えられる。	4.2.3.7.1-1 （GLP 適用） 2.6.6.8.1.1 項
抗原性試験	マウス (BALB/c 及び C3H/He)	s.c., i.p., 及び i.v.	感作： 反復投与（21 日間）又は間欠投与（Day 0, 7, 14, 21） 惹起：最終感作 14 日後の血清を皮内投与した未処置ラットに投与	6M	感作 0.33 及び 3.3 mg/kg（s.c.又は i.p.） 惹起 3.3 mg/kg（i.v.）	BALB/c マウスに、GA（0.33 又は 3.3 mg/kg）又は GA を水酸化アルミニウムゲルに懸濁して感作期間中に皮下投与又は腹腔内投与したところ、PCA 陽性反応が見られたことより、IgE 抗体が産生されていることが推測された。しかし、C3H/He マウスの血清では PCA 反応が陰性であったことより、この系統のマウスでは IgE 抗体が産生されないと考えられる。	4.2.3.7.1-1 （GLP 適用） 2.6.6.8.1.2 項

GA = グラチラマー酢酸塩；i.p. = 腹腔内；i.v. = 静脈内；s.c= 皮下