第２部（モジュール２）
CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

鳥居薬品株式会社

2.4 の略号及び用語の定義一覧

略号	
FcγR	Fcγ receptor Fcγ 受容体
IgA	Immunoglobulin A 免疫グロブリン A
IgE	Immunoglobulin E 免疫グロブリン E
IgG	Immunoglobulin G 免疫グロブリン G
IgG4	Immunoglobulin G4 免疫グロブリン G4
IFN-γ	Interferon-γ インターフェロン γ
IL-4	Interleukin-4 インターロイキン 4
IL-5	Interleukin-5 インターロイキン 5
IL-10	Interleukin-10 インターロイキン 10
IL-12	Interleukin-12 インターロイキン 12
JAU	Japanese allergy units 日本アレルギー学会アレルゲン検討委員会で規定したアレルゲン活性単位
SCIT	Subcutaneous immunotherapy 皮下注射によるアレルゲン免疫療法
SLIT	Sublingual immunotherapy 舌下投与によるアレルゲン免疫療法
TGF-β	Transforming growth factor-β トランスフォーミング増殖因子 β
TK	Toxicokinetics トキシコキネティクス
Th1 細胞	T helper type 1 cell 1 型ヘルパーT 細胞
Th2 細胞	T helper type 2 cell 2 型ヘルパーT 細胞
Treg 細胞	Regulatory T cell 制御性 T 細胞

用語の定義	
既存スギ花粉エキス製剤	鳥居薬品株式会社が製造販売する SCIT 用製剤で，治療用標準化アレルゲンエキス皮下注「トリイ」スギ花粉 200 JAU/mL 及び同 2,000 JAU/mL の 2 品目がある。
シダトレン®	鳥居薬品株式会社が製造販売する SLIT 用製剤で，シダトレン®スギ花粉舌下液 200 JAU/mL ボトル，同 2,000 JAU/mL ボトル及び同 2,000 JAU/mL パックの 3 品目がある。
日本アレルギー学会	一般社団法人日本アレルギー学会（Japanese society of allergology）
Cry j 1	スギ花粉中に存在する主要アレルゲンの一つである糖たん白質
Cry j 2	スギ花粉中に存在する主要アレルゲンの一つであるたん白質
TO-194SL	シダトレン® 3 品目の原薬及び製剤の開発コード
TO-206	原薬及び製剤の開発コード
TO-206 原薬	スギ花粉から[redacted]を使用して抽出した液の[redacted]
TO-206 錠	TO-206 原薬から凍結乾燥法により製造された速溶性の SLIT 用錠剤で，添加物としてゼラチン，マンニトール及び pH 調節剤を含む。
[^{125}I]Cry j 1	^{125}I で標識した Cry j 1

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

(1) 背景

TO-206 錠は，(1) シダトレン®と同一のスギ花粉を原料とした，(2) シダトレン®の 2,000 JAU よりも高力価の 5,000 JAU，10,000 JAU を含有することが可能となった，(3) 速溶性の凍結乾燥錠（舌下投与後，口腔底で速やかに溶解する）で，(4) 室温で長期保存が可能となった利便性の高い，スギ花粉舌下錠である。

当社は 1963 年 4 月より各種アレルゲンの SCIT 用製剤を販売しており，2000 年 1 月に「治療用標準化アレルゲンエキス皮下注「トリイ」スギ花粉 2,000 JAU/mL，同 200 JAU/mL」の販売を開始した。しかしながら，SCIT は，頻度は低いもののアナフィラキシーショック等の重篤な副作用が発現する可能性があること，注射による疼痛が持続すること及び長期間定期的な通院が必要であり患者への負担が大きいこと，さらに薬剤調製と準備に手間がかかることなどが課題であった。そこで当社は，SCIT より安全性が高いとされており，投与に際して患者への負担も少ない SLIT 用スギ花粉エキス製剤（開発コード：TO-194SL）の開発に着手し，「シダトレン®スギ花粉舌下液」として 2014 年 10 月より販売するに至った。

しかし，液剤であるシダトレン®は，製剤上の理由から 2,000 JAU/mL より高濃度の製剤を供給することが困難であったこと，シダトレン®開発当時，国内では「治療用標準化アレルゲンエキス皮下注「トリイ」スギ花粉 2,000 JAU/mL」を転用した SLIT の臨床研究において，2,000 JAU の有効性及び安全性が示唆されていたこと [1), 2)]から，開発時には維持用量を 2,000 JAU に固定した第 III 相臨床試験における有効性の検証及び安全性の確認にとどまり，2,000 JAU よりも高用量での検討ができなかった。

このような背景を踏まえて，シダトレン®と比べてより高力価で，さらに，利便性に優れた SLIT 用製剤の開発に着手し，シダトレン®2,000 JAU と同力価の錠剤，さらに高力価の 5,000 JAU 及び 10,000 JAU を含有する，室温保存が可能な速溶錠の製剤化に成功した。

以上より，TO-206 錠の開発においては，シダトレン®開発時（TO-194SL 第 III 相臨床試験）には実施できなかった「スギ花粉舌下製剤」としての用量反応関係の検討も含めることとして，独立行政法人医薬品医療機器総合機構と協議を重ねながら，臨床開発を 20[redacted] 年 [redacted] 月から開始した。

非臨床試験の実施項目は，平成 17 年 3 月 31 日薬食発第 0331015 号「医薬品の承認申請について」を参考にしたが，スギ花粉抽出物であるシダトレン®の有効性及び安全性プロファイルが確認されていること，スギ花粉は天然に存在し，毎年春の飛散時期にヒトは大量のスギ花粉に曝露されるが花粉症以外の有害事象が報告されていないことを考慮し，選定した。

(2) 医薬品の構造等

1) 開発品

本申請品目に係る有効成分の本質は，スギ（*Cryptomeria japonica* D. Don）の花粉から[redacted]を含む[redacted]にて抽出した液を[redacted]により[redacted]を除去し，[redacted]により[redacted]し，[redacted]することにより得られたアレルゲンを含む[redacted]である。

化学名	なし
一般名	なし（原薬名：スギ花粉エキス原末）
開発コード	TO-206
化学構造式	一定の構造を持たない
分子式	特定できない
分子量	一定の値を持たない

2) 薬理的特性

TO-206 錠は，スギ花粉症の治療を目的とした舌下投与によるアレルゲン免疫療法製剤であり，スギ花粉の主要アレルゲン Cry j 1[3)]及び Cry j 2[4)]を含むアレルゲンたん白質を有効成分の本体とする。

TO-206 錠をスギ花粉症患者に継続的に舌下投与することにより，患者のスギ花粉アレルゲンに対する過敏性を減弱させ，症状を長期寛解あるいは根治させることが期待される。アレルゲン免疫療法の作用機序については未だ明確になっていない。

3) 効能又は効果並びに用法及び用量に関する情報

1. 効能又は効果

スギ花粉症（減感作療法）

2. 用法及び用量

通常，成人及び 5 歳以上の小児には，投与開始後 1 週間は，TO-206 錠 2,000 JAU を 1 日 1 回 1 錠，投与 2 週目以降は，TO-206 錠 5,000 JAU を 1 日 1 回 1 錠，舌下にて 1 分間保持した後，飲み込む。その後 5 分間は，うがいや飲食を控える。

(3) 非臨床試験実施項目

表 2.4.1-1 に示す非臨床試験を実施した。なお，[redacted]は，[redacted]相談（受付日・番号：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日・[redacted]）及び[redacted]相談（受付日・番号：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日・[redacted]）において独立行政法人医薬品医療機器総合機構と合意している。

表 2.4.1-1　　TO-206 開発における非臨床試験一覧

試験項目		試験名 （GLP 試験／非 GLP 試験）	投与物質	実施時期
薬理	効力を裏付ける試験	該当する試験は実施していない		
	副次的薬理・安全性薬理			
	薬力学的薬物相互作用			
薬物動態	吸収	該当する試験は実施していない [a)]		
	分布			
	代謝			
	排泄			
	その他の薬物動態			
毒性	単回投与毒性	該当する試験は実施していない		
	反復投与毒性	ラット 4 週間反復経口投与毒性試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
		ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
		サル 2 週間反復経口投与毒性試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
	遺伝毒性	細菌を用いる復帰突然変異試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
		ほ乳類培養細胞（CHL/IU）を用いる染色体異常試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
		ラット小核試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
	がん原性	該当する試験は実施していない		
	生殖発生毒性	受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない		
		ラット胚・胎児発生に関する試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
		出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施していない		
	局所刺激性	ウサギ 7 日間反復舌下投与局所刺激性試験 （GLP 試験）	TO-206 原薬	20[redacted]年[redacted]月～ 20[redacted]年[redacted]月
	その他の毒性	該当する試験は実施していない		

a) : 平成 26 年 1 月 17 日付承認 シダトレン®の承認申請時に添付した薬物動態試験結果（シダトレン® 承認申請資料，試験番号：[redacted]）を参考資料として添付した。

(4) 個々の非臨床試験計画について

1) 薬理試験

1. 効力を裏付ける試験

TO-206 原薬の有効成分の本体は，スギ花粉の主要アレルゲン Cry j 1 及び Cry j 2 を含むアレルゲンたん白質である。同様のアレルゲンたん白質を含有する既存スギ花粉エキス製剤の舌下投与による臨床研究[1), 2), 5), 6), 7), 8), 9)]及び TO-194SL の第 III 相臨床試験[10)]において，スギ花粉症への有効性は明らかである。したがって，本薬はスギ花粉症に対して有効であると判断し，本薬の効力を裏付ける試験は実施していない。

2. 副次的薬理試験

以下の理由で副次的薬理試験は実施していない。

- 既存スギ花粉エキス製剤を用いた臨床研究及び TO-194SL の第 III 相臨床試験において，スギ花粉由来成分による副次的薬理作用は認められず，ヒトでの副作用が把握されている。
- ラット 26 週間反復経口投与毒性試験を含む本薬の毒性試験において，副次的薬理作用を示唆する変化は認められなかった。

3. 安全性薬理試験

以下の理由で安全性薬理試験は実施していない。

- 既存スギ花粉エキス製剤を用いた臨床研究及び TO-194SL の第 III 相臨床試験において，スギ花粉由来成分による中枢神経，心循環及び呼吸機能への影響は認められていない。
- スギ花粉は天然に存在し，毎年春の飛散時期にヒトは大量のスギ花粉に曝露されるが，スギ花粉由来成分による中枢神経，心循環及び呼吸機能への影響を示唆する報告はない。
- サル 2 週間反復経口投与毒性試験における心電図検査で異常は認められなかった。
- ラット及びサルを用いた毒性試験において，一般状態に異常は認められなかった。

4. 薬力学的薬物相互作用試験

以下の理由で薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

- 本薬の作用に与える影響

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及びサル 2 週間反復経口投与毒性試験において，血清中に主要アレルゲンの一つである Cry j 1 は検出されていない。したがって，Cry j 1 の血清中濃度の変化を追跡する薬物相互作用試験は実施できない。また，β 遮断薬の併用により，アレルゲン製剤によるアレルギー反応が強く現れること[11)]があるが，既に知られている薬物相互作用である。

- 併用薬の作用に与える影響

これまでにアレルゲンエキス製剤が併用薬（アレルギー治療薬）の作用に影響を与えるという報告はない。

2) 薬物動態試験

TO-206 原薬の有効成分の本体は，スギ花粉の主要アレルゲン Cry j 1 及び Cry j 2 を含むアレルゲンたん白質である。舌下に投与されたアレルゲンたん白質は，舌下粘膜下の樹状細胞による取り込み及び断片化を経て，T 細胞に抗原提示されることが報告されている[12]とともに，口腔粘膜を介した血液への受動拡散による吸収効率は極めて低いことが知られている[13),14)]。以上のことから，本薬の舌下投与によるアレルゲンたん白質の循環血中への移行性は検出できないと判断し，薬物動態試験を実施していない。

なお，シダトレン®の承認申請時に添付した薬物動態試験（シダトレン® 承認申請資料，試験番号：[redacted]）により，ラットにおける[^{125}I]Cry j 1 皮下及び舌下投与後の薬物動態プロファイルが明らかとなっている。当該試験結果から，本薬の主要アレルゲンである Cry j 1 及び Cry j 2 の薬物動態について考察した。

3) 毒性試験

TO-206 原薬の毒性評価を目的に，反復投与毒性試験（ラット 4 週間反復経口投与毒性試験，ラット 26 週間反復経口投与毒性試験，サル 2 週間反復経口投与毒性試験），遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験，ラット小核試験），生殖発生毒性試験（ラット胚・胎児発生に関する試験）及び局所刺激性試験（ウサギ 7 日間反復舌下投与局所刺激性試験）を GLP 試験として実施した。なお，単回投与毒性試験は実施しなかったが，小核試験において，ラットに TO-206 原薬の高用量を経口投与した時の急性毒性兆候に関して評価した。

1. 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施していないが，ラット小核試験の結果から，TO-206 原薬の高用量（100 mg/kg）をラットに 2 回経口投与した後の急性毒性兆候について検討した。なお，当該用量の臨床用量比は，予定されている最大臨床用量 5,000 JAU に対し，成人で約 23,200 倍，小児で約 6,960 倍に相当する。

2. 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験として，げっ歯類を用いた 2 試験（ラット 4 週間反復経口投与毒性試験，ラット 26 週間反復経口投与毒性試験）及び非げっ歯類を用いた 1 試験（サル 2 週間反復経口投与毒性試験）を実施した。ラット 4 週間反復経口投与毒性試験及びサル 2 週間反復経口投与毒性試験の高用量（6 mg/kg）の臨床用量比は，予定されている最大臨床用量 5,000 JAU に対し，成人で約 1,390 倍，小児で約 420 倍，ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の高用量（7.5 mg/kg）では，成人で約 1,470 倍，小児で約 440 倍に相当する。

3. 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験として，細菌を用いる復帰突然変異試験，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びラット小核試験を実施した。ラット小核試験の高用量（100 mg/kg）の臨床用

量比は, 予定されている最大臨床用量 5,000 JAU に対し, 成人で約 23,200 倍, 小児で約 6,960 倍に相当する。

4. がん原性試験

以下の理由でがん原性試験は実施していない。

- スギ花粉は天然に存在し，毎年春の飛散時期にヒトは大量のスギ花粉に曝露されるが，スギ花粉由来成分のがん原性を示唆する報告はない。
- 本薬と同様のスギ花粉由来のアレルゲンたん白質を含有する既存スギ花粉エキス製剤を用いた SCIT での臨床使用経験及び SLIT での臨床研究，並びに TO-194SL 臨床試験において，スギ花粉由来成分のがん原性を示唆する報告はない。
- 遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験，ラット小核試験）の結果はすべて陰性であり，本薬に遺伝毒性はないと判断した。

5. 生殖発生毒性試験

- 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラット 26 週間反復経口投与毒性試験及びサル 2 週間反復経口投与毒性試験における雌雄の生殖器及び副生殖器の病理組織学的検査で異常は認められなかったことから，TO-206 原薬の生殖機能に及ぼす影響はないと考え，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

- 胚・胎児発生に関する試験

ラット胚・胎児発生に関する試験を実施した。高用量（7.5 mg/kg）の臨床用量比は，予定されている最大臨床用量 5,000 JAU に対し，成人で約 1,470 倍に相当する。

- 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

TO-194SL の第 III 相臨床試験及び TO-206 の第 II/III 相臨床試験における妊娠症例の転帰及びアレルゲン免疫療法に関する文献情報より，本剤によるアレルゲン免疫療法が生殖発生に影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断し，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。

6. 局所刺激性試験

TO-206 原薬を用いたウサギ 7 日間反復舌下投与局所刺激性試験を実施した。高用量（10 mg/site）の臨床用量比は，予定されている最大臨床用量 5,000 JAU の約 46 倍に相当する。

7. その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施しなかった。

2.4.2 薬理試験

効力を裏付ける試験，副次的薬理試験，安全性薬理試験及び薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

アレルゲン免疫療法は，アレルギー性鼻炎や喘息に代表されるアレルギー疾患に対して，疾患の原因となるアレルゲンを直接治療に用いる療法である。アレルゲン免疫療法は対症療法とは異なり，アレルギー疾患を長期寛解あるいは根治させる可能性のある唯一の治療法であるとされる。SLIT の作用発現機序は未だ十分に解明されていないが，公表文献により以下のように考察される。

(1) 抗原提示細胞によるアレルゲンの捕捉

SLIT の作用発現機序の起点は，舌下粘膜下の樹状細胞によるアレルゲンたん白質の捕捉と考えられている。舌下に投与されたアレルゲンたん白質は，樹状細胞により取り込まれ断片化された後，主要組織適合遺伝子複合体と結合し所属リンパ節にて T 細胞に抗原提示される。

(2) アレルギー反応の抑制

アレルゲンたん白質を取り込んだ樹状細胞による T 細胞への抗原提示により，以下に示す免疫応答が誘導され，アレルギー反応が抑制されると考えられている[15), 16), 17), 18)]。

1) Th2 細胞増加の抑制及び Th1 細胞の増加

Th1 細胞から I 型サイトカイン（IFN-γ，IL-12）の分泌が増加し，II 型サイトカイン（IL-4，IL-5）の分泌が抑制される。また，Th2 細胞増加は抑制され，相対的に Th1 細胞が増加する。

2) Treg 細胞の誘導

抑制性サイトカイン IL-10 及び TGF-β を分泌する Treg 細胞が増加する。IL-10 及び TGF-β は，B 細胞の IgE 産生を抑制し，さらに抗原特異的 IgG 及び IgA の産生を促進する。

3) 抗原特異的 IgG 及び IgA の増加

抗原特異的 IgG 及び IgA が増加する。抗原特異的 IgG（特に IgG4）は，抗原特異的 IgE と競合し，IgE を介した肥満細胞からの脱顆粒を抑制し，また，肥満細胞及び好塩基球の抑制性受容体 FcγRIIb を介して炎症性物質の分泌を抑制する。なお，抗原特異的 IgA は単球や鼻粘膜からの IL-10 の産生を促進することで炎症を抑制する。

2.4.3 薬物動態試験

TO-206 原薬を用いた薬物動態試験は新たに実施していないが，シダトレン®開発時に主要アレルゲンである Cry j 1 の薬物動態試験（試験表題： [^{125}I]Cry j 1 のラットにおける薬物動態試験，試験番号：[redacted]，シダトレン®承認申請資料）を実施した。その結果，舌下投与された[^{125}I]Cry j 1 由来の血中放射能濃度は皮下投与に比べて極めて低いこと，及び血中に未変化体の[^{125}I]Cry j 1 は検出されないことが確認された。また, 舌下投与された[^{125}I]Cry j 1 由来の放射能が，舌下に隣接する顎下リンパ節に比較的多く分布したことから，舌下免疫療法の有効性に関して，顎下リンパ節が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

一方，シダトレン®及び既存スギ花粉エキス製剤と同様に本薬は Cry j 1 と共に主要アレルゲンとして Cry j 2 を含有する [4]。Cry j 2 のアミノ酸配列に Cry j 1 との相同性は認められないが，ほぼ同程度のアミノ酸数より成り，分子量（Cry j 1 : 41 kDa, 46 kDa, Cry j 2 : 45 kDa）や等電点（Cry j 1 : pI 8.9，pI 9.2，Cry j 2 : pI 9.5）は大きく異ならない [3), 4)]。一般にたん白質やペプチドなどの口腔粘膜からの吸収は受動拡散によるとされ，分子量や荷電状態に依存するとされている [19)]ものの，1) 吸収が可能な分子量の閾値は 0.5~1.0 kDa と考えられている [20)]こと，2) カベイラクサの主要アレルゲンの一つである Par j 1（10 kDa）及びヤケヒョウヒダニの主要アレルゲンの一つである Der p 2（15 kDa）の ^{123}I 標識体をヒトに舌下投与したとき，未変化体のアレルゲンたん白質は血漿中に検出されなかったとの報告 [13), 14)]から，Cry j 1 と同様，Cry j 2 も舌下部位から未分解のまま循環血中に移行する可能性は極めて低く，Cry j 2 も Cry j 1 と類似した生体内挙動を示すと考えられる。

2.4.4　毒性試験

TO-206 錠の開発における毒性試験の概略を表 2.4.4-1 に示す。いずれの試験においても，被験物質として TO-206 原薬を用いた。また媒体として，本剤の賦形剤成分であるゼラチン及び D-マンニトールの混合溶液を用いた。反復投与毒性試験，小核試験及び胚・胎児発生に関する試験では，ラット及びサルにおける反復舌下投与方法が十分に確立していないこと，並びに臨床における用法が舌下に保持後飲み込むことから，本薬の毒性を評価する投与方法としては強制経口投与でも十分評価できると考え，強制経口投与法を選択した。

表 2.4.4-1　　TO-206 の毒性試験の概略

試験の内容／被験物質	投与経路	投与量 a)	投与量（JAU 換算）b)	臨床用量比 小児 c)	臨床用量比 成人 c)	成績
反復投与毒性試験						
ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	強制経口	0.6, 2, 6 mg/kg/day	約 14,000, 約 46,000, 約 139,000 JAU/kg/day	約 40 倍 約 140 倍 約 420 倍	約 140 倍 約 460 倍 約 1,390 倍	TO-206 原薬に起因した死亡例及び毒性変化は認められなかった。 無毒性量は 6 mg/kg/day と判断した。
ラット 26 週間反復経口投与毒性試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	強制経口	0.75, 2.5, 7.5 mg/kg/day	約 15,000, 約 49,000, 約 147,000 JAU/kg/day	約 40 倍 約 150 倍 約 440 倍	約 150 倍 約 490 倍 約 1,470 倍	TO-206 原薬に起因した死亡例及び毒性変化は認められなかった。 無毒性量は 7.5 mg/kg/day と判断した。
サル 2 週間反復経口投与毒性試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	強制経口	0.6, 2, 6 mg/kg/day	約 14,000, 約 46,000, 約 139,000 JAU/kg/day	約 40 倍 約 140 倍 約 420 倍	約 140 倍 約 460 倍 約 1,390 倍	TO-206 原薬に起因した死亡例及び毒性変化は認められなかった。 無毒性量は 6 mg/kg/day と判断した。
遺伝毒性試験						
細菌を用いる復帰突然変異試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	*in vitro*	156~ 5,000 µg/plate				TO-206 原薬に復帰突然変異原性はないと判断した。
ほ乳類培養細胞(CHL/IU)を用いる染色体異常試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	*in vitro*	125~ 500 µg/mL				TO-206 原薬に染色体異常誘発性はないと判断した。
ラット小核試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	強制経口	10, 30, 100 mg/kg/day	約 232,000, 約 696,000, 約 2,320,000 JAU/kg/day	約 700 倍 約 2,090 倍 約 6,960 倍	約 2,320 倍 約 6,960 倍 約 23,200 倍	TO-206 原薬に小核誘発性はないと判断した。
生殖発生毒性試験						
ラット胚・胎児発生に関する試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	強制経口	0.75, 2.5, 7.5 mg/kg/day	約 15,000, 約 49,000, 約 147,000 JAU/kg/day		約 150 倍 約 490 倍 約 1,470 倍	母動物及び胚・胎児発生に TO-206 原薬に起因した影響は認められなかった。 無毒性量は 7.5 mg/kg/day と判断した。
局所刺激性試験						
ウサギ 7 日間反復舌下局所刺激性試験（GLP 試験）／TO-206 原薬	舌下	5, 10 mg/site/day	116,000, 232,000 JAU/site/day	約 23 倍 約 46 倍 （舌下保持時間は臨床の 20 倍）d)		TO-206 原薬に口腔内粘膜刺激性は認められなかった。

a)：投与量は TO-206 原薬重量。

b)：投与量の JAU 換算値の算出は，下記の式を用いた。毒性試験に用いた TO-206 原薬の Cry j 1 含量は，概要表 2.6.7.4 に示した。

[redacted]

c)：局所刺激性試験を除く各毒性試験の TO-206 原薬の臨床用量比の算出は，下記の式を用いた。毒性試験に用いた TO-206 原薬の Cry j 1 含量は，概要表 2.6 7 4 に示し，成人の体重を 50 kg，小児の体重を 15 kg として算出した。

[redacted]

d)：局所刺激性試験では，投与部位換算で算出。

(1) 単回投与毒性試験

ラット小核試験において TO-206 原薬の高用量（100 mg/kg）をラットに 2 回経口投与して本薬の急性毒性兆候について検討した。ラットに本薬 10, 30 及び 100 mg/kg を経口投与（24 時間間隔で 2 回）し，一般状態観察及び体重測定を実施した。その結果，いずれの投与群においても，死亡例はなく，一般状態の変化も認められなかった。また，陰性対照と比較して本薬投与群の体重推移に差は認められなかった。

以上，本薬のラットに対する概略の致死量は 100 mg/kg を超える用量と判断した。

(2) 反復投与毒性試験

1) ラット 4 週間反復経口投与毒性試験

ラットに TO-206 原薬 0.6, 2 及び 6 mg/kg を 4 週間反復経口投与して本薬の毒性学的影響を検討した。また，6 mg/kg 群では，TK 測定用としてサテライト群を設け，投与 1 日目及び最終投与日（投与 28 日目）に採血し，血清中の Cry j 1 濃度を測定した。その結果，雌雄いずれの投与群においても，本薬に起因する変化は認められなかった。また 6 mg/kg 投与群の雌雄の平均血清中 Cry j 1 濃度は，初回投与時及び最終投与時ともに定量下限未満であった。なお，雄 1 例で，最終投与時に Cry j 1 が投与前及び投与 24 時間まで検出されたが，定量下限付近の低値であった。

以上，本試験条件下における本薬の無毒性量は，6 mg/kg/day と判断した。

2) ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

ラットに TO-206 原薬 0.75, 2.5 及び 7.5 mg/kg を 26 週間反復経口投与して本薬の毒性学的影響を検討した。また，対照群を含む各群に TK サテライト群を設け，投与 1 日，13 週及び 26 週に採血し，血清中 Cry j 1 濃度を測定した。その結果，雌雄いずれの投与群においても，本薬に起因する変化は認められなかった。また投与 26 週における低用量群の雌 1 例を除き，いずれの投与群の雌雄の血清中 Cry j 1 濃度は定量下限を下回った。

以上，本試験条件下における本薬の無毒性量は，7.5 mg/kg/day と判断した。

3) サル 2 週間反復経口投与毒性試験

サルに TO-206 原薬 0.6, 2 及び 6 mg/kg を 2 週間反復経口投与して本薬の毒性学的影響を検討した。また，投与 1 日，14 日に採血し，血清中 Cry j 1 濃度を測定した。その結果，雌雄いずれの投与群においても，本薬に起因する変化は認められなかった。なお，投与 1 日及び投与 14 日において，6 mg/kg 投与群の雌雄の血清中 Cry j 1 濃度は，定量下限値未満であった。

以上，本試験条件下における本薬の無毒性量は，雌雄ともに 6 mg/kg/day と判断した。

(3) 遺伝毒性試験

1) *In vitro* 試験

細菌を用いる復帰突然変異試験において，TO-206 原薬の遺伝子突然変異誘発性の有無を *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537)及び *Escherichia coli* (WP2*uvrA*)を用い

て，プレインキュベーション法により S9 mix 存在下及び非存在下で検討した。5,000 μg/plate を最高用量とし，以下公比 2 で希釈し，156 μg/plate までの 6 段階を設定した。その結果，S9 mix の存在下，非存在下に関わらず，いずれの試験菌株においても本薬処理群における復帰変異コロニー数は溶媒対照値の 2 倍未満を示し，本薬に変異原性はないと判断した。

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において，チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株（CHL/IU 細胞）を用いた本薬の染色体異常誘発性を検討した。試験は短時間処理法（6 時間，S9 mix 存在下及び非存在下）及び連続処理法（24 時間）により実施し，構造的異常細胞の出現率及び数的異常細胞の出現率をもって染色体異常誘発性を検討した。500 μg/mL を最高濃度とし，以下公比 2 で 250 及び 125 μg/mL の 3 用量を設定した。その結果，いずれの処理条件下，いずれの本薬処理群においても構造的異常及び数的異常細胞の出現頻度は 5%未満（陰性）であり，本薬に染色体異常誘発性はないと判断した。

2) *In vivo* 試験

ラットに TO-206 原薬 10，30 及び 100 mg/kg を経口投与（24 時間間隔で 2 回）し，最終投与 24 時間後に骨髄細胞を採取して小核を有する幼若赤血球の出現頻度を検討した。また，投与前後に採血し，血清中 Cry j 1 濃度を測定した。その結果，各本薬投与群における小核を有する幼若赤血球の出現頻度は，陰性対照群と比較して有意な増加はなかった。また，本薬 10 mg/kg 投与群の 1 例を除き，すべての血清中 Cry j 1 濃度は定量下限未満であった。以上，本薬にラットの骨髄細胞に対する染色体異常誘発性（小核誘発性）はないと判断した。

(4) 生殖発生毒性試験

1) ラット胚・胎児発生に関する試験

妊娠ラットに TO-206 原薬 0.75, 2.5 及び 7.5 mg/kg を着床から硬口蓋閉鎖期にあたる期間（妊娠 7～17 日），1 日 1 回経口投与し，母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響を検討した。また，対照群を含む各群に TK サテライト群を設け，妊娠 7 及び 17 日の血清中 Cry j 1 濃度を測定した。その結果，母動物及び胚・胎児に関して本薬投与の影響は認められなかった。なお，投与 7 及び 17 日において，いずれの投与群の血清中 Cry j 1 濃度は，定量下限値以下であった。以上，本試験条件下における本薬の母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は，いずれも 7.5 mg/kg/day と判断した。

2) スギ花粉類薬の生殖発生毒性に関する疫学的情報

これまでに妊婦を対象にしたスギ花粉又はスギ花粉由来類薬の安全性に関する研究報告はないが，以下のように TO-194SL の第 III 相臨床試験及び TO-206 の第 II/III 相臨床試験において数例の妊娠症例及び当症例での正常出産が確認されている。

1. TO-194SL の第 III 相臨床試験における妊娠症例

TO-194SL の第 III 相臨床試験において，実薬（維持用量：2,000 JAU／日）投与群の女性被験者 3 例，及び男性被験者 1 例の配偶者に妊娠が確認された。女性被験者 2 例は妊娠確認（胎児齢 6 週又は 8 週）後，投与を中止した。これら 2 例はいずれも満産期出産で母子

ともに問題ないことを確認した。女性被験者 1 例は治験薬の最終投与まで終了していたため治験を完了した。この被験者は，出産の意志はなく，胎児齢 5 週で人工中絶を受けた。なお，男性被験者の配偶者は満産期帝王切開で出産し，母子共に問題がないことを確認した。

2. TO-206 の第 II/III 相臨床試験における妊娠症例

TO-206 の第 II/III 相臨床試験において，実薬投与群の 2 群（維持用量：5,000 及び 10,000 JAU／日）において女性被験者各 1 例に妊娠が確認された。維持用量 5,000 JAU／日投与群の女性被験者は妊娠確認（胎児齢 6 週）後に，維持用量 10,000 JAU／日投与群の女性被験者は妊娠確認（胎児齢 5 週）後に治験を中止した。これら 2 例はいずれも満産期出産で母子共に問題がないことを確認した。

妊娠前に維持用量に到達しているスギ花粉症の妊娠患者に対する SCIT は継続可能であることがスギ花粉症におけるアレルゲン免疫療法の手引き[21]並びに複数の文献[22),23),24),25),26)]により報告されている。実際，妊娠希望者等の薬物療法不能例を，既存スギ花粉エキス製剤を用いた SCIT の適応対象としている医療機関が報告されている[27)]。これらのことから，妊婦への既存スギ花粉エキス製剤による減感作療法の国内施行例が既に存在することが示唆されるが，当該製剤による明らかな有害事象は報告されていない。

また，国外の減感作療法のガイドライン[28),29)]においても，妊娠前に維持用量に到達している場合は妊婦への減感作療法は継続可能であることが示されていること，妊婦に対する SCIT 及び SLIT の施行による顕著な有害事象は確認されなかったこと[30),31),32)]が示されており，スギ花粉以外の減感作療法においても妊婦に対する有害事象は認められない。

以上，TO-194SL 及び本剤の第 III 相臨床試験結果並びに文献情報から，スギ花粉由来類薬によるアレルゲン免疫療法が生殖発生に影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断し，妊婦に対する本剤の安全性に大きな懸念はないと考える。

(5) 局所刺激性試験

1) ウサギ 7 日間反復舌下局所刺激性試験

ウサギに TO-206 原薬 5 及び 10 mg/site/day（0.2 mL/site/day）を 1 日 1 回，7 日間反復舌下投与し，その刺激性について検討した。舌下における保持時間は臨床での保持時間（1 分）の 20 倍である 20 分間とした。その結果，投与部位の肉眼的観察では，投与期間を通して全例で刺激反応は認められず，病理組織学的検査においても，いずれの動物にも異常所見は認められなかった。以上，本薬はウサギの口腔粘膜に対して刺激性を示さないと判断した。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 薬理試験

TO-206 原薬はスギ花粉から[redacted]を使用して抽出した液の[redacted]であり，その有効成分の本体はシダトレン®及び既存スギ花粉エキス製剤と同様に主要アレルゲン Cry j 1 及び Cry j 2 を含むアレルゲンたん白質である。シダトレン®のスギ花粉症に対する有効性は TO-194SL 第 III 相臨床試験において確認されていることから，TO-206 錠のスギ花粉症に対する有効性も示唆される。なお，その作用発現機序は十分に解明されていないが，舌下粘膜下の樹状細胞によるアレルゲンたん白質の捕捉を起点として，免疫反応が誘導されると考えられている。免疫反応として，Th2 細胞増加の抑制及び Th1 細胞の増加，Treg 細胞の誘導，抗原特異的 IgG 及び IgA の増加が報告されており，その結果としてアレルギー症状の発現を抑制するものと推察されている。

副次的薬理及び安全性薬理については，シダトレン®と同様に，本剤のアレルゲン性に起因する口腔アレルギー症状の発現が推測されるが，TO-194SL の第 III 相臨床試験結果から，本剤のヒトでの安全性に特段の懸念はないと判断した。

2.4.5.2 薬物動態試験

TO-206 原薬はスギ花粉から[redacted]を使用して抽出した液の[redacted]であり，その有効成分の本体はシダトレン®及び既存スギ花粉エキス製剤と同様に主要アレルゲン Cry j 1 及び Cry j 2 を含むアレルゲンたん白質である。一般に，舌下に投与されたアレルゲンたん白質は，舌下粘膜下の樹状細胞による取り込み及び断片化を経て，種々の免疫担当細胞に抗原提示されること，並びに口腔粘膜を介した血液への受動拡散による吸収効率は極めて低いことが知られている。また，シダトレン®開発時に実施したラットにおける[^{125}I]Cry j 1 皮下及び舌下投与後の薬物動態試験から，舌下投与された[^{125}I]Cry j 1 の放射能を指標とした血中への移行は皮下投与に比べて極めて低いこと，血中に[^{125}I]Cry j 1 は検出されないことが確認されている。

一方，Cry j 2 は Cry j 1 と同程度のアミノ酸数より成り，分子量及び等電点は大きく異ならず，Cry j 1 と同様，Cry j 2 も舌下部位から未分解のまま循環血中に移行する可能性は低く，Cry j 2 も Cry j 1 と類似した生体内挙動を示すと考えられる。

以上のことから，本剤の舌下投与後の Cry j 1 及び Cry j 2 は，口腔粘膜において未分解の状態で循環血中に移行する可能性は極めて低く，飲み込み後は消化管中で消化酵素により速やかに分解されると推察する。

2.4.5.3 毒性試験

TO-206 原薬を用いた毒性試験として，反復投与毒性試験（ラット 4 週間反復経口投与毒性試験，ラット 26 週間反復経口投与毒性試験，サル 2 週間反復経口投与毒性試験），遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験，ラット小核試験），生殖発生毒性試験（ラット胚・胎児発生に関する試験）及び局所刺激性試験（ウサギ 7 日間反復舌下投与局所刺激性試験）を実施した。いずれの試験についても，最高用量まで本薬に起因する毒性所見は認められず，本剤の臨床使用に特段の懸念はないと判断した。

参考文献

1) Okubo K, Gotoh M, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Morikawa H, et al. A randomized double-blind comparative study of sublingual immunotherapy for cedar pollinosis. Allergol Int. 2008;57:265-75（4.3 参考文献 3)）

2) Horiguchi S, Okamoto Y, Yonekura S, Okawa T, Yamamoto H, Kunii N, et al. A randomized controlled trial of sublingual immunotherapy for Japanese cedar pollinosis. Int Arch Allergy Immunol. 2008;146:76-84（4.3 参考文献 4)）

3) Yasueda H, Yui Y, Shimizu T, Shida T. Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (Cryptomeria japonica) pollen. J Allergy Clin Immunol. 1983;71:77-86（4.3 参考文献 1)）

4) Sakaguchi M, Inouye S, Taniai M, Ando S, Usui M, Matuhasi T. Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. Allergy. 1990;45:309-12（4.3 参考文献 2)）

5) スギ花粉症の舌下減感作療法の臨床研究報告書. 2009;10 月 東京都福祉保健局発行（4.3 参考文献 5)）

6) 阪口雅弘, 岡本美孝, 中山俊憲, 大久保公裕, 安枝浩, 斎藤三郎 他. スギ花粉症およびダニアレルギーに対する新しい免疫療法の開発, 舌下免疫療法における臨床試験および作用機序の解析に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）総合研究報告書. 2009;54-64（4.3 参考文献 6)）

7) 湯田厚司, 宮本由起子, 萩原仁美, 服部玲子, 大久保公裕. 小児スギ花粉症に対する抗原特異的舌下免疫療法. アレルギー 2009;58:124-32（4.3 参考文献 7)）

8) 藤枝重治, 野口恵美子, 牧野友香, 湯田厚司. リアルタイムモニター飛散数の情報のあり方の研究と舌下ペプチド・アジュバント療法の臨床研究, 舌下免疫療法における網羅的蛋白解析と経年的効果の検討. 厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）総合研究報告書. 2009;183-6（4.3 参考文献 8)）

9) 岡本美孝, 藤村孝志, 稲嶺絢子, 米倉修二. スギ花粉症に対する舌下免疫療法の有効性，効果予測法の確立研究, スギ花粉エキスによる舌下免疫療法の有効性とバイオマーカーの検討. 厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）総括・分担研究報告書 2010;12-4（4.3 参考文献 9)）

10) 平成 26 年 1 月 17 日付承認 シダトレンスギ花粉舌下液　審議結果報告書及び審査報告書(4.3 参考文献 10))

11) Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ. World Health Organization Position Paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. Geneva:January 27-29 1997. Allergy. 1998; 53(44 Suppl): 1-42（4.3 参考文献 16)）

12) Moingeon P, Batard T, Fadel R, Frati F, Sieber J, Van Overtvelt L. Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immunotherapy. Allergy. 2006;61:151-65（4.3 参考文献 11)）

13) Bagnasco M, Mariani G, Passalacqua G, Motta C, Bartolomei M, Falagiani P, et al. Absorption and distribution kinetics of the major Parietaria judaica allergen (Par j 1) administered by noninjectable routes in healthy human beings. J Allergy Clin Immunol. 1997;100:122-9（4.3 参考文献 19)）

14) Bagnasco M, Altrinetti V, Pesce G, Caputo M, Mistrello G, Falagiani P, et al. Pharmacokinetics of Der p 2 allergen and derived monomeric allergoid in allergic volunteers. Int Arch Allergy Immunol. 2005;138:197-202（4.3 参考文献 20)）

15) Canonica GW, Bousquet J, Casale T, Lockey RF, Baena-Cagnani CE, Pawankar R, et al. Sub-Lingual Immunotherapy World Allergy Organization Position Paper 2009. WAO Journal. 2009; 233-81（4.3 参考文献 12)）

16) Cappella A, Durham SR. Allergen immunotherapy for allergic respiratory diseases. Hum Vaccin Immunother. 2012; 8: 1499-512（4.3 参考文献 13)）

17) Bahceciler NN, Cobanoglu N. Subcutaneous versus sublingual immunotherapy for allergic rhinitis and/or asthma. Immunotherapy. 2011; 3: 747-56（4.3 参考文献 14)）

18) Allam JP, Novak N. Local immunological mechanisms of sublingual immunotherapy. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2011; 11: 571-8（4.3 参考文献 15)）

19) Rojanasakul Y, Wang LY, Bhat M, Glover DD, Malanga CJ, Ma JKH. The transport barrier of epithelia: a comparative study on membrane permeability and charge selectivity in the rabbit. Pharm Res. 1992;9:1029-34（4.3 参考文献 17)）

20) Merkle HP, Wolany G. Buccal delivery for peptide drugs. J Control Release. 1992;21:155-64（4.3 参考文献 18)）

21) 一般社団法人日本アレルギー学会, スギ花粉症におけるアレルゲン免疫療法の手引き . 2013, 一般社団法人日本アレルギー学会ホームページ（http://www.jsaweb.jp/）（4.3 参考文献 21)）

22) 石井豊太. 減感作療法（特集 スギ花粉症 ’97 年診療ガイド）. 治療 1997;79:668-71（4.3 参考文献 22)）

23) 今中政支. 妊婦および妊娠希望者への対応（特集 花粉症治療の最前線）. アレルギーの臨床 2004;24:120-3（4.3 参考文献 23)）

24) 樋渡直，榎本雅夫. 抗アレルギー点鼻薬で花粉症をコントロールできない妊婦に経口薬を使用できる？ 薬局 2006;57:2628-32（4.3 参考文献 24)）

25) 仲野公一，石原靖章. 妊娠，授乳中の患者の治療：どんな薬が使えるか？注意点は？ 治療 2006;88:263-9（4.3 参考文献 25)）

26) 大久保公裕. 妊婦，授乳婦と花粉症. 日本産婦人科医会報 2006;58:10-1（4.3 参考文献 26)）

27) 竹中洋．アレルギー性鼻炎に対する免疫療法の位置づけ．日本耳鼻咽喉科学会会報 2007;110:768-71（4.3 参考文献 27)）

28) Cox L, Nelson H, Lockey R, Calabria C, Chacko T, Finegold I, et al. Allergen immunotherapy: A practice parameter third update. J Allergy Clin Immunol. 2011;127: S1-55（4.3 参考文献 28)）

29) Walker SM, Durham SR, Till SJ, Roberts G, Corrigan CJ, Leech SC, et al. Immunotherapy for allergic rhinitis. Clin Exp Allergy. 2011;41:1177-200（4.3 参考文献 29)）

30) Metzger WJ, Turner E, Patterson R. The safety of immunotherapy during pregnancy. J Allergy Clin Immunol. 1978;61:268-72（4.3 参考文献 30)）

31) Shaikh WA. A retrospective study on the safety of immunotherapy in pregnancy. Clin Exp Allergy. 1993;23:857-60（4.3 参考文献 31)）

32) Shaikh WA, Shaikh SW. A prospective study on the safety of sublingual immunotherapy in pregnancy. Allergy. 2012;67:741-3（4.3 参考文献 32)）