2.6.6 毒性試験の概要文

目次

2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.1.1 PGE_2 8
2.6.6.1.2 親水性ポリマー 9
2.6.6.1.3 ポリエステル製取り出し用ネット 10
2.6.6.2 単回投与毒性試験 10
2.6.6.2.1 PGE_2 10
2.6.6.2.1.1 ラットにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の単回経腟投与毒性試験［添付資料4.2.3.1-1］ 10
2.6.6.2.1.2 イヌにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の単回経腟投与毒性試験［添付資料4.2.3.1-2］ 11
2.6.6.2.1.3 イヌにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の単回経腟投与毒性試験（低用量）［添付資料4.2.3.1-3］ 11
2.6.6.2.2 親水性ポリマー 11
2.6.6.2.3 ポリエステル製取り出し用ネット 11
2.6.6.2.3.1 マウスにおけるペッサリー取り出し用ネットRSIIIの抽出液の急性全身毒性試験［添付資料4.2.3.1-4］ 11
2.6.6.3 反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1 PGE_2 12
2.6.6.3.1.1 ラットにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の2週間経腟投与毒性試験［添付資料4.2.3.2-1］ 12
2.6.6.3.1.2 イヌにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の2週間経腟投与毒性試験［添付資料4.2.3.2-2］ 12
2.6.6.3.2 親水性ポリマー 13
2.6.6.3.3 ポリエステル製取り出し用ネット 13
2.6.6.4 遺伝毒性試験 13
2.6.6.4.1 PGE_2 13
2.6.6.4.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-1］ 13
2.6.6.4.1.2 チャイニーズハムスター肺（CHL）線維芽細胞を用いる染色体異常試験［添付資料4.2.3.3.1-2］ 14
2.6.6.4.1.3 マウスにおける小核試験［添付資料4.2.3.3.2-1］ 14
2.6.6.4.2 親水性ポリマー 14
2.6.6.4.2.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の復帰突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-3］ 14
2.6.6.4.2.2 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・塩酸緩衝液（pH 2）抽出液の復帰突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-4］ 15
2.6.6.4.2.3 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・リン酸緩衝液（pH 8）抽出液の復帰突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-5］ 15
2.6.6.4.2.4 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の復帰突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-6］ 16
2.6.6.4.2.5 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・ジメチルスルホキシド（DMSO）抽出液の復帰突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-7］ 16

2.6.6.4.2.6 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の染色体異常試験［添付資料4.2.3.3.1-8］ 17
2.6.6.4.2.7 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の染色体異常試験［添付資料4.2.3.3.1-9］ 17
2.6.6.4.2.8 マウスリンフォーマL5178Y細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・水性抽出液の突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-10］ 18
2.6.6.4.2.9 マウスリンフォーマL5178Y細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・アセトン抽出液の突然変異試験［添付資料4.2.3.3.1-11］ 19

2.6.6.5 がん原性試験 19

2.6.6.6 生殖発生毒性試験 20
2.6.6.6.1 PGE_2 20
2.6.6.6.1.1 ラットにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の周産期経腟投与によ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［添付資料4.2.3.5.3-1］ 20
2.6.6.6.2 親水性ポリマー 20
2.6.6.6.3 ポリエステル製取り出し用ネット 20

2.6.6.7 局所刺激性試験 20
2.6.6.7.1 PGE_2 20
2.6.6.7.1.1 ウサギにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の単回腟粘膜刺激性試験［添付資料4.2.3.6-1］ 20
2.6.6.7.2 親水性ポリマー 21
2.6.6.7.3 ポリエステル製取り出し用ネット 21
2.6.6.7.3.1 ウサギにおけるポリエステル製取り出し用ネットRSIII抽出液の腟刺激試験［添付資料4.2.3.6-4］ 21
2.6.6.7.3.2 ウサギにおけるポリエステル製取り出し用ネットRSIII抽出液の皮内反応性試験［添付資料4.2.3.6-5］ 21

2.6.6.8 その他の毒性試験 22
2.6.6.8.1 PGE_2 22
2.6.6.8.2 親水性ポリマー 22
2.6.6.8.3 ポリエステル製取り出し用ネット 22
2.6.6.8.3.1 ポリエステル製取り出し用ネットRSIII抽出液の溶血性試験［添付資料4.2.3.7-1］ 22
2.6.6.8.3.2 ウサギにおけるポリエステル製取り出し用ネットRSIII抽出液の発熱性試験［添付資料4.2.3.7-2］ 22
2.6.6.8.3.3 モルモットにおけるポリエステル製取り出し用ネットRSIIIの皮膚感作性［添付資料4.2.3.7-3］ 23
2.6.6.8.3.4 *In vitro*培養細胞におけるポリエステル製取り出し用ネットRSIIIの細胞毒性試験［添付資料4.2.3.7-4］ 23
2.6.6.8.4 PGE_2含有ペッサリー・親水性ポリマー・取り出し用ネット 24
2.6.6.8.4.1 黄色ブドウ球菌の増殖並びに毒素性ショック症候群毒素-1、溶血活性及びヒアルロン酸リアーゼの産生に及ぼす取り出し用ネットを含むPGE_2含有ペッサリー製剤の作用［添付資料4.2.3.7-5］ 24

2.6.6.9 考察及び結論 24

2.6.6.10 図表 25

2.6.6.11　参考文献.....25

表の目次

表 2.6.6- 1　毒性試験一覧 7

略号・用語の定義一覧

略号・用語	省略していない表現又は定義	
CHL	Chinese hamster lung	チャイニーズハムスター肺
CPA	Cyclophosphamide	シクロホスファミド
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
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
NQO	Nitro-quinoline 1-oxide	ニトロキノリン-1-オキシド
MRC-5	Medical Research Council cell strain 5	正常二倍体線維芽細胞, 胎児肺由来
PCV	Packed cell volume	赤血球容積比率（ヘマトクリット）
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PGE_2	Prostaglandin E_2	プロスタグランジン E_2
S9	Liver microsomal enzyme activation system	肝ミクロソーム酵素活性化系
TTS	Toxic shock syndrome	毒素性ショック症候群
TSST-1	Toxic shock syndrome toxin-1	毒素性ショック症候群毒素-1
Tk	Thymidine kinase	チミジンキナーゼ

2.6.6.1 まとめ

本剤は、有効成分としてプロスタグランジン E_2（PGE_2）10 mg を含有する親水性ポリマーと腟からの除去を容易にするポリエステル製取り出し用ネットで構成されている。

PGE_2 は生体内物質であり、日本では経口剤として、単回投与、反復投与及び生殖発生毒性等の毒性評価が行われている。PGE_2 の経腟投与による毒性評価のため、単回経腟投与毒性試験、14 日間反復経腟投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（周産期毒性試験）及び腟粘膜刺激性試験を行い、経腟投与における PGE_2 の毒性を評価した。

新添加剤である親水性ポリマーは、ポリエチレングリコール（PEG）8000、1,2,6-ヘキサントリオール（HT）及びジシクロヘキシルメタン-4,4'-ジイソシアネート（DMDI）のモノマーを 1:1.2:2.8 の分子比で含むものを出発原料とし合成される熱硬化性の架橋型親水性ポリマーである。本剤並びに新添加剤とミソプロストールからなる分娩誘発剤は世界で販売されているが、国内において新添加剤の使用実績はない。

本剤の新添加剤（親水性ポリマー）は熱硬化性のポリマーであり、新添加剤の吸収・分布を評価した ^{14}C 放射性標識を用いたラット全身オートラジオグラフィ試験（経口）の結果、新添加剤の放射能は消化管中のみに存在し、新添加剤は経口投与により組織に吸収されないことが確認された。また、新添加剤は架橋熱硬化性ポリウレタンであり、その硬化中に多官能基間の反応により無限の三次元ネットワーク構造が形成された分子量無限の化合物であることから、経腟においても経口投与と同様に、体内に吸収されないと考えた。

これらのことから、新添加剤の経腟投与により全身毒性が問題となる可能性は低いと判断し、本剤の新添加剤の安全性については、ラット反復投与試験（経腟）、イヌ反復投与試験（経腟）、ウサギ腟粘膜刺激性試験（経腟）に基づき、投与局所の毒性を評価した。

また、僅かではあるが新添加剤の水溶性抽出物が認められることから、水溶性抽出物を含む新添加剤の各種溶媒の抽出物を用いて、復帰突然変異試験、染色体異常試験及びマウスリンフォーマ試験を行い、新添加剤の遺伝毒性を評価した。

本剤の取り出し用ネット（RSIII）はポリエステル製である。取り出し用ネットの安全性については、ポリエステル製取り出し用ネットの抽出液を用いて、マウス単回投与毒性試験、ウサギ皮内反応試験、ウサギ腟粘膜刺激性試験を行い、評価を行った。加えて、ポリエステル製取り出し用ネット抽出液を用いた *in vitro* 細胞毒性試験（MRC-5 細胞）、ヒト血液溶血性試験、ウサギ発熱性試験、モルモット皮膚感作性試験を実施した。さらに、取り出し用ネット及び本剤が毒素性ショック症候群毒素-1（TSST-1）の産生の可能性を検討する *in vitro* 試験を実施した。

腟投与システムは、臨床用はおおよそ縦 30 mm、横 10 mm、厚さ 0.8 mm である。非臨床試験用腟投与システムについては、ラット用システムは、PGE_2 を 0、0.08、0.17、0.34、0.68 又は 0.83 mg 含有する親水性ポリマーから成る円板であった（直径 3 mm、厚さ 0.8 mm）。イヌの試験では臨床用システムと同じ大きさのシステム（おおよそ縦 30 mm、横 10 mm、厚さ 0.8 mm）を用い、PGE_2 含有量は、0、0.1、0.3、1、3、10、15 及び 30 mg であった。ウサギを用いた局所刺激性試験では、臨床用システムの縦横をそれぞれ半分に切断し、PGE_2 を 2.5 mg 含む 1/4 切片を用いた。

本剤について実施した毒性試験を、以下の表に示した。

表 2.6.6- 1　毒性試験一覧

Type and Period of Study	Route of Administration	Species/Test System	Test Article
Single Dose Toxicity Studies			
Single[a,]	Intravaginal	Rat	Pessary containing PGE_2
Single[a,]	Intravaginal	Dog	Pessary containing PGE_2
Single[a,]	Intravaginal	Dog	Pessary containing PGE_2
Single[b]	Intravenous/Intraperitoneal	Mouse	Extract solution of the polyester retrieval net
Repeated Dose Studies			
14-day[a,]	Intravaginal	Rat	Pessary containing PGE_2
14-day[a]	Intravaginal	Dog	Pessary containing PGE_2
Genotoxicity Studies			
Reverse mutation[a,]	*in vitro*	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	PGE_2
Chromosomal aberration[a,]	*in vitro*	Chinese hamster fibroblast	PGE_2
Micronucleus[a]	Intraperitoneal	Mouse	PGE_2
Reverse mutation[b]	*in vitro*	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	Extract solution of the hydrogel polymer
Chromosomal aberration[b]	*in vitro*	Human lymphocyte	Extract solution of the hydrogel polymer
Mutation[b]	*in vitro*	L5178Y mouse lymphoma cell	Extract solution of the hydrogel polymer
Reproductive and Developmental Toxicity Studies			
Pre- and post-natal development and maternal function[a]	Intravaginal	Rat	Pessary containing PGE_2
Local Tolerance Tests			
24-hour[a,]	Intravaginal	Rabbit	Pessary containing PGE_2 and hydrogel polymer
14-day[b]	Intravaginal	Rabbit	Extract solution of the polyester retrieval net
Single dose[b]	Intradermal	Rabbit	Extract solution of the polyester retrieval net
Other Studies			
Haemolysis	*in vitro*	Human red blood cell	Extract solution of the polyester retrieval net
Pyrogenicity	Intravenous	Rabbit	Extract solution of the polyester retrieval net
Skin sensitisation[b]	Sensitisation: Intradermal/topical application Challenge: Topical application	Guinea pig	Extract solution of the polyester retrieval net
Cytotoxicy[b]	*in vitro*	Human lung fibroblast	Extract solution of the polyester retrieval net
Toxic shock	*in vitro*	*Staphylococcus aureus*	Pessary containing PGE_2/Hydrogel polymer/polyester retrieval net

a　Conducted in accordance with Japanese MHW Ordinance 21 (26 March, 1997) “Ministerial Ordinance on Good Laboratory Practice for Nonclinical Safety Studies of Drugs”

b　GLP-compliant studies

2.6.6.1.1 PGE_2

ラットにおいて、PGE_2含有ペッサリーを 約 1.3、2.5 及び 6.1 mg/kg の用量で 24 時間にわたって単回経腟投与し、毒性試験を実施した。被験薬投与による症状は、最高用量群の投与後 4 時間で認められたのみであり、これらは投与後 6 時間までに消失した。回収したペッサリーの分析より、投与した PGE_2 の 99%超が 24 時間の曝露期間中に放出されたことが示された。この試験での無毒性量は約 2.5 mg/kg であり、これはヒト臨床用量の 10 倍以上に相当した。

イヌにおいて、PGE_2含有ペッサリーを 約 1.0、1.5 及び 3.0 mg/kg の用量で 8 時間にわたって単回経腟投与し、毒性試験を実施した。PGE_2投与に関連する症状及び投与部位における反応が全ての用量で認められたが、これら全ての所見は投与後 4 時間までに消失した。回収したペッサリーの分析より、投与した PGE_2の 99%超が 8 時間の曝露期間中に放出されたことが示された。この試験では無毒性量は確認できなかったため、より低用量での試験を追加実施した。追加試験では、PGE_2を約 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg 相当の用量で 8 時間にわたって経腟投与した。低用量（0.3 mg/匹、約 0.03 mg/kg）では全身的な毒性は観察されず、この用量を無毒性量とした。

ラットにおいて、PGE_2含有ペッサリーを約 0、1.2、2.4 及び 6.0 mg/kg の用量で 24 時間/日で 14 日間反復経腟投与し、毒性試験を実施した。放出速度のデータより、用いた用量での PGE_2の放出速度はそれぞれ約 0、0.052、0.105 又は 0.256 mg/kg/時間であり、ヒト臨床での放出速度の約 10.4、21.0 及び 51.2 倍であることが示された。2.4 及び 6.0 mg/kg/日では、体重増加の減少、胃の症状及び病理組織学的変化が認められた。用いた最低用量（1.2 mg/kg）において被験薬投与による所見が認められなかったことから、この用量を無毒性量とした。

イヌにおいて、PGE_2含有ペッサリーを約 0、0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/日の用量で 8 時間/日で 14 日間反復経腟投与し、毒性試験を実施した。放出速度のデータより、用いた用量での PGE_2の放出速度はそれぞれ 0、0.0075、0.025 及び 0.075 mg/kg/時間であった。中・高用量では、いくつかの症状や血液学的検査の変化などが認められたが、低用量では認められず、0.03 mg/kg/日をこの試験の無毒性量とした。

復帰突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験の 3 つの遺伝毒性試験を実施した。復帰突然変異試験及び小核試験では、遺伝毒性は認められなかった。染色体異常試験では染色体の構造異常がみられたが、これらが認められたのは、報告されているヒト羊水中の PGE_2の生理的濃度（約 10 ng/mL）の数千倍の非常に高い濃度（75～800 µg/mL）においてのみであった。

ラットにおけ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では、PGE_2含有ペッサリーの用量を 0.212、0.451 及び 0.897 mg/kg/日とし、妊娠 17 日目から分娩まで妊娠ラットに経腟投与した。未処置の F_1雄と雌を交配させ、生殖能を評価した。被験薬投与による明らかな変化は、高用量投与群の母動物における体重増加及び摂餌量のわずかな減少のみであった。母動物の無毒性量は 0.451 mg/kg/日であり、生殖パラメータの無毒性量は 0.897 mg/kg/日であった。

ウサギにおいて、2.5 mg/匹（約 0.6 mg/kg）の用量で 24 時間にわたって経腟投与し、単回投与による腟粘膜刺激試験を実施した。自然発生的及び／又は実験手技により発生したウサギ腟粘膜の細胞浸潤及び浮腫は、PGE_2投与によりわずかに増悪した。

2.6.6.1.2　　親水性ポリマー

ラットにおいて、PGE_2 を含有しないペッサリー及び PGE_2 を含有するペッサリー（約 1.2、2.4 及び 6.0 mg/kg/日）を用いて、24 時間/日の 14 日間経膣投与による反復投与毒性試験を実施した。PEG_2 を含有しないペッサリーを投与した群において、軽度の炎症性細胞浸潤が 9/10 例に、軽度の出血が 4/10 例に、軽度のびらんが 3/10 例に認められた。膣粘膜に暗赤色の斑点が 1/10 例に認められたが、軽度の出血によるものであった。これらの炎症性変化については、試験薬の投与行為による機械的な刺激によるものであると考えられた。

イヌにおいて、PGE_2 を含有しないペッサリー及び PGE_2 含有するペッサリー（約 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/日）を用いて、8 時間/日の 14 日間経膣投与による反復投与毒性試験を実施した。PEG_2 を含有しないペッサリーを投与した群において、膣の軽度の腫脹が 1/3 例に認められた。また、投与部位及び膣において軽度のびまん性炎症が 3/3 例及び 2/3 例に認められ、軽度の浮腫が 2/3 例及び 1/3 例に認められた。これらは試験薬の投与行為による物理的な刺激によるものと考えられた。

ウサギにおいて、PGE_2 を含有しないペッサリー及び PGE_2 を含有するペッサリー（約 2.5 mg/匹）を用いて、単回経膣投与による（24 時間留置）粘膜刺激性試験を実施した。PEG_2 を含有しないペッサリーを投与した群において、粘膜上皮並びに辺縁粘膜において細胞浸潤が投与 1 日目に 3/3 例に認められ、投与 4 日目に 2/3 例に認められた。これらの変化は、試験薬挿入時に用いたシリコンカテーテルによる物理的な刺激によるものと考えられた。

復帰突然変異試験（S9 非存在下、存在下の両条件）は、新添加剤の水性抽出液、塩緩衝液抽出液（pH2）、リン酸緩衝液抽出液（pH8）、アセトン抽出液及び DMSO 抽出液を用い、ネズミチフス菌 4 株及び大腸菌 2 株により評価したが、新添加剤はいずれの抽出液においても、細菌に対する突然変異を誘発しなかった。

染色体異常試験（S9 非存在下、存在下の両条件）は、新添加剤の水性抽出液及びアセトン抽出液を用い、培養ヒト・リンパ球により評価した。新添加剤はヒト・リンパ球の培養細胞において染色体異常を誘発しなかった。

マウスリンフォーマ試験（S9 非存在下、存在下の両条件）は、新添加剤水性抽出液及びアセトン抽出液を用い、マウスリンフォーマ L5178Y 細胞により評価した。新添加剤は、マウスリンフォーマ細胞において突然変異を誘発しなかった。

新添加剤はその特性から水にほとんど溶けず安定であるが、水溶性抽出物が僅かに検出されており、これらは、未反応の PEG8000 及びそのオリゴマー、並びに DMDI とその分解物である DMDA（ジシクロヘキシルメタン-4,4’-ジイソシアネートアミン）であった[添付資料 3.2.P.2.2.1.4]。PEG8000 及びそのオリゴマーはその分子量から膣等から全身に吸収されないと考えられ、別の水溶性抽出物である DMDI 及び DMDA の量は、それぞれ 0.01 µg/製品以下、0.18 µg/製品以下であり、ICH M7 「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン」で規制する濃度、TTC（Threshold of Toxicological Concern）の 1.5 µg/日を下回るものであった。

これらのことから、熱硬化性の架橋型親水性ポリマーである新添加剤は、その分子量の大きさから体内に吸収されず全身毒性が懸念されることはないと考えること、また、局所における毒性評価においても問題となる毒性所見は観察されず、更に僅かに認められた新添加剤の水溶性抽出物が新たな毒性を発現させる可能性は低いと考えられることから、海外における新添加剤の使用経験を踏まえ、新添加剤の臨床上の使用における安全性の問題はないと考えた。

2.6.6.1.3 ポリエステル製取り出し用ネット

マウスでの単回毒性試験では、取り出し用ネットシステムの抽出液を単回静脈内又は腹腔内投与したが、変化は認められなかった。ウサギにおける腟忍容性試験では、取り出し用ネットの生理食塩水抽出液 1 mL を 14 日間毎日腟内に注入したが、剖検及び病理組織学的検査においても変化は認められなかった。

一連の標準的な溶媒によるポリマーの抽出液を用いたウサギでの皮内注射試験では、取り出し用ネットに起因するいかなる変化も認められなかった。

溶血性試験、発熱性物質試験及び MRC-5 細胞を用いた *in vitro* 細胞毒性試験、皮膚感作性試験では親水性ポリマー抽出液は毒性を示さなかった。

これらの試験の結果から、本剤の取り出し用ネットの使用は安全性上問題ないと考えた。

PGE_2 含有ペッサリー製剤の毒性ショック症について

本製剤は経腟投与製剤であるため、毒素性ショック症候群毒素-1（TSST-1）に関する *in vitro* 試験を実施した。その結果、PGE_2 含有ペッサリーが毒性ショック症候群を引き起こす可能性は低いと考えた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 PGE_2

2.6.6.2.1.1 ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の単回経腟投与毒性試験［添付資料 4.2.3.1-1］

雌 SD 系ラット（7 匹／群）に、0、0.17、0.34 又は 0.83 mg の PGE_2 を含有するペッサリーを 2 個（総投与量＝0、0.34、0.68 又は 1.66 mg/匹、体重あたり約 1.3、2.5 又は 6.1 mg/kg に相当）を単回経腟投与した。投与開始 24 時間後にペッサリーを取り出した。投与開始後 14 日までラットの一般状態を観察した。最高用量（1.66 mg/匹; 6.1 mg/kg）において投与開始後 4 時間に自発運動低下、眼瞼下垂及び軟便／下痢がみられたが、これらは投与開始後 6 時間までに消失した。ペッサリーの分析から、24 時間の曝露期間中に PGE_2 の 99%超がラット腟内に放出されたことが示された。本試験の無毒性量は 0.68 mg/匹（約 2.5 mg/kg）であり、ヒト臨床用量の 10 倍以上であった。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.2.1.2 イヌにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の単回経腟投与毒性試験［添付資料 4.2.3.1-2］

雌ビーグル犬（2 匹／群）に 0、10、15 又は 30 mg の PGE_2 を含有するペッサリーを単回経腟投与した。投与開始 8 時間後にペッサリーを取り出した。これらの投与量は体重あたり約 0、1.0、1.5 又は 3.0 mg/kg に相当する。全ての用量において投与開始後 30 分以内に活動低下、下痢及び嘔吐などの被験薬投与による一般状態の変化や一過性の振戦もみられた。被験薬投与群のイヌには、外陰部の腫脹及び水様性の腟分泌物もみられたが、全ての一般状態の変化は投与開始後 4 時間までに消失した。ペッサリーの分析から、8 時間の曝露期間中に PGE_2 の 99%超が放出されたことが示された。投与開始後 24 時間の血液学的検査及び血液生化学的検査では、一部の被験薬投与群のイヌのいくつかのパラメータにわずかな変化が認められたが、いずれも 14 日間の観察期間終了時までに回復した。これらの結果から、本試験の無毒性量は 10 mg/動物（1.0 mg/kg）未満であると判断した。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.2.1.3 イヌにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の単回経腟投与毒性試験（低用量）［添付資料 4.2.3.1-3］

上記のイヌにおける試験［2.6.6.2.1.2］では無毒性量が確認できなかったため、より低用量での追加試験を実施した。雌ビーグル犬（2 匹／群）に 0、0.3、1 又は 3 mg の PGE_2 を含有するペッサリー（体重あたり約 0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg に相当）を単回経腟投与した。投与開始 8 時間後にペッサリーを取り出し、放出速度の近似値を計算した。他の試験で腟内に挿入後、最初の 4 時間で大部分の PGE_2 が放出されたため［2.6.4.8.1.2］本試験で用いた 3 用量の放出速度は 0.0075、0.025 及び 0.075 mg/kg/時間であると推定された。これらの放出速度は、臨床用ペッサリーからの PGE_2 の放出速度の約 1.5、5 及び 15 倍に相当する。一般状態の変化として、低用量（0.03 mg/kg）群では、投与開始後約 1 時間に排便姿勢がみられた。中用量（0.1 mg/kg）及び高用量（0.3 mg/kg）では、活動低下、舌舐めずり及び嘔吐が観察され、0.3 mg/kg の 1 匹では後肢の振戦が認められた。全ての一般状態の変化は投与開始後 3 時間までに消失し、被験薬投与群のその他の全ての検査項目は、14 日間の観察期間終了時まで正常であった。本試験では、低用量（0.3 mg/匹、約 0.03 mg/kg 又は 0.0075 mg/kg/時間）で全身毒性は観察されず、本用量が無毒性量であると判断した。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.2.2 親水性ポリマー

本剤に用いた新添加剤（親水性ポリマー）に関する単回投与毒性試験は実施していない。

2.6.6.2.3 ポリエステル製取り出し用ネット

2.6.6.2.3.1 マウスにおけるペッサリー取り出し用ネット RSIII の抽出液の急性全身毒性試験［添付資料 4.2.3.1-4］

本試験（GLP 適合）は、ペッサリー取り出し用ネット RSIII の抽出液をマウスに単回静脈内又は腹腔内投与し、その全身毒性を評価するために実施した。CFLP（ICI strain-1）系マウス（5 匹／群）に抽出液及び各溶媒を単回投与した後、投与開始後 72 時間まで観察し、4 日目に剖検を実施した。被験材料の

総表面積と抽出液の比が約 60 cm^2/20 mL となるよう、被験材料を約 5 cm×0.3 cm の細片に細分した。全ての抽出用ボトルを密封し、70℃のオーブンに 24 時間入れた後、冷却し、振とうした。上澄みを注意深く取り出した後、使用時まで最長 24 時間、20～30℃に保った。抽出溶媒は、生理食塩水（静脈内投与）、アルコール性生理食塩水（静脈内投与）、PEG400（腹腔内投与）及び綿実油（腹腔内投与）を使用した。本試験では、全身毒性を示唆する変化はみられなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 PGE_2

2.6.6.3.1.1 ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の 2 週間経腟投与毒性試験［添付資料 4.2.3.2-1］

雌 SD 系ラット（10 匹／群）に、0、0.17、0.34 又は 0.83 mg の PGE_2 を含有するペッサリーを 1 日 2 個反復経腟投与した。曝露が持続するように、ペッサリーは 14 日間の試験期間を通して 24 時間間隔で交換した。したがって、4 投与群の PGE_2 の 1 日用量は、それぞれ 0、0.34、0.68 又は 1.66 mg/匹/日（約 0、1.2、2.4 又は 6 mg/kg/日に相当）であった。放出速度データを基に、この 4 群の PGE_2 曝露速度は約 0、0.052、0.105 又は 0.256 mg/kg/時間と算出された。これらは、ヒト臨床使用時の曝露速度の約 0、10.4、21.0 及び 51.2 倍に相当する。0.68 及び 1.66 mg/匹/日群では、体重増加の軽度減少並びに病理組織学的検査で胃に肥厚、胃小窩の伸展及び粘膜上皮細胞数の増加が被験薬投与に関連した変化として認められた。最高投与量（1.66 mg/匹/日）では、軟便、下痢及び活動低下の一般状態の変化がみられ、試験終了時の肺及び心臓重量が軽度に増加した。試験に用いた最低投与量（0.34 mg/匹/日; 1.2 mg/kg 又は 0.052 mg/kg/時間）では、被験薬投与による変化が認められなかったため、本用量を本試験における無毒性量とした。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.3.1.2 イヌにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の 2 週間経腟投与毒性試験［添付資料 4.2.3.2-2］

雌イヌ（3 匹／群）に 0、0.3、1 又は 3 mg の PGE_2 を含有するペッサリーを 1 日 1 回、14 日間反復経腟投与した。これらの用量は、約 0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg/日の PGE_2 に相当する。最終投与終了後、高用量の 2 匹には、14 日間観察の回復期間を設けた。投与期間中、投与開始 8 時間後にペッサリーを取り出した。放出速度データに基づき、4 群の PGE_2 放出速度は 0、0.0075、0.025 又は 0.075 mg/kg/時間と推定された。本試験では、以下の被験薬投与に関連した変化がみられた。

- 全ての投与群（対照群を除く）で認められた排便姿勢
- 1 又は 3 mg/匹/日における活動減少、嘔吐及び振戦
- 1 又は 3 mg/匹/日におけるプロトロンビン時間の短縮及び血清アルカリホスファターゼの増加
- 3 mg/匹/日における摂餌量及び体重増加の減少を伴う粘液便及び流涎
- 3 mg/匹/日における被験薬投与に関連した変化は 14 日間の回復期間後に回復したが、アルカリホスファターゼの増加は不可逆的変化である可能性があった。

最終投与終了時に、対照群を含む全ての群において、投与手技に関連したいくつかの変化（びまん性炎症及び浮腫を伴う膣腫脹）がみられた。

本試験における無毒性量は、低用量（0.3 mg/匹/日; 0.03 mg/kg/日又は 0.0075 mg/kg/時間）と結論付けた。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.3.2 親水性ポリマー

本剤に用いた新添加剤（親水性ポリマー）による反復投与毒性試験は実施していないが、本剤のラットにおける 2 週間経膣投与毒性試験及びイヌにおける 2 週間経膣投与毒性試験で新添加剤担体が投与された 0 mg 投与群（PGE_2 を含有しない投与群）により評価した

ラットにおける 2 週間経膣投与毒性試験の 0 mg 投与群において、軽度の炎症性細胞浸潤が 9/10 例に、軽度の出血が 4/10 例に、軽度のびらんが 3/10 例に認められた。膣粘膜に暗赤色の斑点が 1/10 例に認められたが、軽度の出血によるものであった。これらの炎症性変化については、試験薬の投与行為による機械的な刺激によるものであると考えられた［添付資料 4.2.3.2-1］。

イヌにおける 2 週間経膣投与毒性試験の 0 mg 投与群において、膣の軽度の腫脹が 1/3 例に認められた。また、投与部位及び膣において軽度のびまん性炎症が 3/3 例及び 2/3 例に認められ、軽度の浮腫が 2/3 例及び 1/3 例に認められた。これらは試験薬の投与行為による物理的な刺激によるものと考えられた［添付資料 4.2.3.2-2］。

2.6.6.3.3 ポリエステル製取り出し用ネット

ポリエステル製取り出し用ネットに関する反復投与毒性試験は実施していない。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 PGE_2

2.6.6.4.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-1］

ネズミチフス菌 4 株（TA100、TA1535、TA98 及び TA1537）及び大腸菌 1 株（WP2uvrA）を用い、代謝活性化のための肝ミクロソーム酵素活性化系（S9）の存在下及び非存在下の両条件下において、PGE_2 の 156、313、625、1250、2500 及び 5000 µg/プレートの濃度で復帰突然変異試験を検討した。

PGE_2 の高濃度（5000 µg/プレート）において TA1535 株の増殖が軽度に阻害されたが、本試験で用いた各濃度では、いずれの株においても復帰突然変異コロニー数の増加はみられなかった。PGE_2 は、本試験で用いた細菌において突然変異を誘発しなかった。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.4.1.2 チャイニーズハムスター肺（CHL）線維芽細胞を用いる染色体異常試験［添付資料 4.2.3.3.1-2］

チャイニーズハムスター肺（CHL）線維芽細胞を用いて、24 時間又は 48 時間の処理（直接法）あるいは S9 分画存在下（代謝活性化）での 6 時間処理により、PGE_2 の染色体異常に対する影響を検討した。PGE_2 の濃度は、24 時間処理では 50、75 又は 100 µg/mL、48 時間処理では 12.5、25 又は 50 µg/mL、及び 6 時間処理（代謝活性化）では 400、600 又は 800 µg/mL とした。24 時間処理において 75 及び 100 µg/mL の濃度で染色体異常の誘発がみられたが、48 時間処理では誘発は認められなかった。6 時間処理において、染色体の構造異常が 600 又は 800 µg/mL で誘発され、600 µg/mL の濃度では S9 画分非存在下で軽度な数的異常がみられた。構造異常は、S9 画分存在下の 800 µg/mL でも認められた。

このように、培養 CHL 細胞において、PGE_2 は染色体の構造的変化を誘発した。しかし、これらの変化は、ヒト羊水中の PGE_2 の生理的濃度（約 10 ng/mL）の数千倍に相当する非常に高い濃度（75～800 µg/ mL）でのみ認められるものであり、ヒトの生体濃度において PGE_2 には染色体異常の誘発はないと判断した。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.4.1.3 マウスにおける小核試験［添付資料 4.2.3.3.2-1］

雌 CD-1 系マウス（各 6 匹／群）に PGE_2 を 6.25、12.5 又は 25 mg/kg の用量で単回腹腔内投与した。投与開始 24 時間後に骨髄を摘出し、小核を有する多染色性赤血球の発現率及び多染色性赤血球の頻度を検討した。PGE_2 は骨髄においていずれの細胞型の増加も起こさず、骨髄に対する毒性がないことが示された。また、*in vivo* における PGE_2 の変異原性又は染色体異常誘発性を示唆する変化は認められなかった。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.4.2 親水性ポリマー

2.6.6.4.2.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-3］

本試験（GLP 適合）では、ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株（WP2 pKM101 及び WP2 uvrA pKM101）を用いて親水性ポリマー・水性抽出液の復帰変異原性を、アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下で、2 回（試験 1 及び 2）実施した。
毒性を示す濃度範囲を検討する最初の試験では TA100 株のみを用い、親水性ポリマー水性抽出液の濃度を 8、40、200、1000 及び 5000 µg/プレートとし、陰性並びに陽性対照を加えて実施した。これらの濃度での被験物質処理は無毒性であり、また同じ濃度範囲でその他の試験菌株で実施した試験 1 においても同様に無毒性であった。したがって、試験 2 では 1000～5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。さらに、S9 存在下での処理のため、プレインキュベーションのステップを採用した。
両試験の全ての試験菌株について、陰性及び陽性対照処理を実施した。陰性対照プレート上の復帰突

然変異コロニー数の平均値は全て許容範囲内に収まり、陽性対照処理では著明に増加した。
親水性ポリマー・水性抽出液は、S9 非存在下又は存在下のいずれの条件においても、また、いずれの試験菌株においても変異原作用を示唆する十分な復帰突然変異体数の増加は認められなかった。

被験物質は、試験したいずれの菌においても突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2.2 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・塩酸緩衝液（pH 2）抽出液の復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-4］

本試験（GLP 適合）では、ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株（WP2 pKM101 及び WP2 uvrA pKM101）を用いて親水性ポリマー・塩酸緩衝液（pH 2）抽出液の復帰変異原性を、アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下で 2 回（試験 1 及び 2）実施した。
毒性を示す濃度範囲を検討する最初の試験では、TA100 株のみを用い、親水性ポリマー水性抽出液の濃度を 8、40、200、1000 及び 5000 µg/プレートとし、陰性並びに陽性対照を含め実施した。これらの濃度の被験物質処理は無毒性であり、同じ濃度範囲でその他の試験菌株で実施した試験 1 においても同様に無毒性であった。したがって、試験 2 では 1000～5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。さらに、S9 存在下での処理のため、プレインキュベーションのステップを採用した。
両試験の全ての試験菌株について、陰性及び陽性対照処理を実施した。陰性対照プレート上の復帰突然変異コロニー数の平均値は全て許容範囲内に収まり、陽性対照処理では著明に増加した。
親水性ポリマー・塩酸緩衝液（pH 2）抽出液は、S9 非存在下又は存在下のいずれの条件においても、また、いずれの試験菌株においても変異原作用を示唆する十分な復帰突然変異体数の増加は認められなかった。

被験物質は、試験したいずれの細菌においても突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2.3 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・リン酸緩衝液（pH 8）抽出液の復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-5］

本試験（GLP 適合）ではヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株（WP2 pKM101 及び WP2 uvrA pKM101）を用いて親水性ポリマー・リン酸緩衝液（pH 8）抽出液の復帰変異原性を、アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下で 2 回（試験 1 及び 2）実施した。
毒性を示す濃度範囲を検討する最初の試験では TA100 株のみを用い、親水性ポリマー水性抽出液の濃度を 8、40、200、1000 及び 5000 µg/プレートとし、陰性並びに陽性対照を含め実施した。これらの被験物質による処理は無毒性であり、同じ濃度範囲でその他の試験菌株で実施した試験 1 においても同様に無毒性であった。したがって、試験 2 では 1000～5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。さらに、S9 存在下での処理のため、プレインキュベーションのステップを採用した。
両試験の全ての試験菌株について、陰性及び陽性対照処理を実施した。陰性対照プレート上の復帰突然変異コロニー数の平均値は全て許容範囲内に収まり、陽性対照処理で著明に増加した。
親水性ポリマー・リン酸緩衝液（pH 8）抽出液は、S9 非存在下又は存在下のいずれの条件においても、また、いずれの試験菌株においても変異原作用を示唆する十分な復帰突然変異体数の増加は認められなかった。

被験物質は、試験したいずれの細菌においても突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2.4 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-6］

本試験（GLP 適合）では、ヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株（WP2 pKM101 及び WP2 uvrA pKM101）を用いて親水性ポリマー・アセトン抽出液の復帰変異原性を、アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下で 2 回（試験 1 及び 2）実施した。
毒性を示す濃度範囲を検討する最初の試験では TA100 株のみで実施し、親水性ポリマー水性抽出液の濃度を 8、40、200、1000 及び 5000 µg/プレートとし、陰性並びに陽性対照を含め実施した。これらの被験物質による処理は無毒性であり、同じ濃度範囲でその他の試験菌株で実施した試験 1 においても同様に無毒性であった。したがって、試験 2 では 1000～5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。さらに、S9 存在下での処理のため、プレインキュベーションのステップを採用した。
両試験の全ての試験菌株について、陰性及び陽性対照処理を実施した。陰性対照プレート上の復帰突然変異コロニー数の平均値は全て許容範囲内に収まり、陽性対照処理では著明に増加した。
独立した 2 試験において、親水性ポリマー・アセトン抽出液による復帰突然変異体数の統計学的に有意な増加に再現性はなかった。試験 2 において S9 非存在下では、TA98 株で統計学的に有意な増加が観察された。しかし、増加の程度は比較的小さく（また、実際には、同時に実施した陰性対照での平均値が低かったことによる可能性が高い）、また、同じ最高濃度まで検討した試験 1 では同様の変化は観察されなかった。観察された増加は単に偶発的な事象であり、得られたデータは被験物質が突然変異誘発能を有することを示すものではないと考えた。

被験物質は、いずれの細菌においても突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2.5 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・ジメチルスルホキシド（DMSO）抽出液の復帰突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-7］

本試験（GLP 適合）ではヒスチジン要求性ネズミチフス菌 4 株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性大腸菌 2 株（WP2 pKM101 及び WP2 uvrA pKM101）を用いて親水性ポリマー・ジメチルスルホキシド（DMSO）抽出液の復帰変異原性を、アロクロール 1254 誘導ラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下で 2 回（試験 1 及び 2）実施した。
毒性を示す濃度範囲を検討する最初の試験では TA100 株のみで実施し、親水性ポリマー水性抽出液の濃度を 8、40、200、1000 及び 5000 µg/プレートとし、陰性並びに陽性対照を含め実施した。これらの被験物質による処理は無毒性であり、同じ濃度範囲でその他の試験菌株で実施した試験 1 においても同様に無毒性であった。したがって、試験 2 では 1000～5000 µg/プレートの範囲の 5 濃度で実施した。さらに、S9 存在下での処理のため、プレインキュベーションのステップを採用した。
両試験の全ての試験菌株について、陰性及び陽性対照処理を実施した。陰性対照プレート上の復帰突然変異コロニー数の平均値は全て許容範囲内に収まり、陽性対照処理では著明に増加した。
親水性ポリマー・DMSO 抽出液は、S9 非存在下又は存在下のいずれの条件においても、また、いずれの試験菌株においても復帰突然変異体数の変化は小さく、変異原作用を誘発しなかった。

被験物質は、いずれの細菌においても突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2.6 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の染色体異常試験［添付資料 4.2.3.3.1-8］

本試験（GLP 適合）では、男性及び女性のドナーから得たヒト・リンパ球の培養細胞を用い、親水性ポリマー・水性抽出液の *in vitro* における染色体異常試験を 2 回（試験 1 及び 2、各 2 回測定）実施した。用いた最高濃度は *in vitro* 試験の許容上限である 5000 µg/mL とした。被験物質処理は、アロクロール 1254 で誘導したラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下において、小幅な濃度間隔で広範囲の濃度で実施した。
試験 1 では、S9 非存在下で 20 時間連続処理した（20+0 時間処置）。S9 存在下での処理は 3 時間のみとし、その後の 17 時間後に回収した（3+17 時間処置）。染色体分析のための被験物質濃度は、有糸分裂指数に対する水性抽出液の作用を評価して決定した。染色体異常は連続する 3 濃度で分析した。分析のために選択された最高濃度である 5000 µg/mL において、S9 非存在下及び存在下での有糸分裂阻害は、それぞれ、約 35%及び 0%であった。試験 2 では、サンプリング時間を遅らせた試験及びパルス処理（3+17 時間処置）を S9 非存在下で実施した試験も実施した。染色体異常は、連続する 3 用量において、S9 非存在下で 20+0 時間処置した細胞及び S9 存在下で 3+17 時間処理した細胞で検討した。分析のために選択した最高濃度は試験 1 と同じ 5000 µg/mL であったが、この濃度では有糸分裂阻害を誘発しなかった。この濃度（S9 存在下及び非存在下）での作用を、遅延したサンプリング時間（44 時間）及び S9 非存在下で 3+17 時間処置後に検討した。
各処理条件において、適切な陰性対照を試験系に含めた。陰性対照における構造異常を伴う細胞の割合は、過去の陰性対照の範囲内であった。両試験において、肝 S9 非存在下 20+0 時間処理及び肝 S9 存在下 3+17 時間処理の陽性対照化学物質として、それぞれ、4-ニトロキノリン 1-オキシド（NQO）及びシクロホスファミド（CPA）を用いた。両化合物は、構造異常を伴う細胞の割合を統計学的に有意に増加させた。
S9 非存在下及び存在下のいずれの条件下でも、水性抽出液で処理した培養細胞における構造異常を伴う細胞の発現頻度は、同時に実施した陰性対照の頻度と同等であった。しかし、試験 1 において S9 非存在下において中間的濃度で処理し 20 時間にサンプリングした培養細胞では異常を伴う細胞がわずかではあるが統計的に有意に増加した。44+0 時間処理における 2 回測定のうちの 1 回で異常を伴う細胞の数が正常範囲を超えた。これらの所見は、いずれの場合も異常を伴う細胞の数が過去の陰性対照範囲外ではなく、統計学的に有意な増加ではないため、生物学的に意義のある所見ではないと考えた。その他、全ての条件において処理後に観察された異常を伴う細胞の頻度は、同時に実施した対照で見られた頻度と有意差はなく、過去の陰性対照の範囲内であった。

被験物質は、ヒト・リンパ球の培養細胞において染色体異常を誘発しないと結論付けた。

2.6.6.4.2.7 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の染色体異常試験［添付資料 4.2.3.3.1-9］

本試験（GLP 適合）では、男性及び女性のドナーから得たヒト・リンパ球の培養細胞を用い、親水性ポリマー・アセトン抽出液の *in vitro* における染色体異常試験を 2 回実施（試験 1 及び 2、各 2 回測定）した。用いた最高濃度は *in vitro* 試験の許容上限である 5000 µg/mL とした。被験物質処理は、アロクロール 1254 で誘導したラット肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下の両条件下において、小幅な濃度間隔で広範囲の濃度で実施した。
試験 1 では、S9 非存在下で 20 時間連続処理した（20+0 時間処置）。S9 存在下での処理は 3 時間のみとし、その後の 17 時間後に回収した（3+17 時間処置）。染色体分析のための被験物質濃度は、有糸分

裂指数に対するアセトン抽出液の作用を評価して決定した。染色体異常は連続する 3 濃度で分析した。分析のために選択された最高濃度である 5000 µg/mL において、S9 非存在下及び存在下のいずれの条件下においても有糸分裂阻害は認められなかった。試験 2 では、サンプリング時間を遅らせた試験及びパルス処理（3+17 時間処置）を S9 非存在下で実施した試験も実施した。染色体異常は、連続する 3 用量において、S9 非存在下で 20+0 時間処置した細胞及び S9 存在下で 3+17 時間処理した細胞で検討した。分析のために選択した最高濃度は試験 1 と同じ 5000 µg/mL であったが、この濃度では有糸分裂阻害を誘発しなかった。この濃度（S9 存在下及び非存在下）での作用を、遅延したサンプリング時間（44 時間）及び S9 非存在下で 3+17 時間処置後に検討した。
各処理条件において、適切な陰性対照を試験系に含めた。試験 1 において、陰性対照の構造異常を伴う細胞の割合は、過去の陰性対照の範囲をわずかに逸脱した。これは、アセトンを溶媒として用いる場合に時々みられる作用である。しかし、その作用は非常に軽微であり、試験不成立とするほどの変化とは考えられなかった。両試験において、肝 S9 非存在下 20+0 時間処理及び肝 S9 存在下 3+17 時間処理の陽性対照として、それぞれ、4-NQO 及び CPA を用いた。両化合物は、構造異常を伴う細胞の割合を統計学的に有意に増加させた。
S9 非存在下及び存在下のいずれの条件下でも、アセトン抽出液で処理した培養細胞において構造異常を伴う細胞の発現頻度は、同時に実施した陰性対照の頻度と同等であり有意差はなかった。試験 1 の S9 非存在下におけるアセトン抽出液 20 時間処理後の構造異常を伴う細胞の発現頻度はわずかではあるが、正常範囲を超えるまで増加した。この変化はおそらく溶媒に起因するものであり、被験物質に起因するものではないと考えた。

被験物質は、ヒト・リンパ球の培養細胞において染色体異常を誘発しないと結論付けた。

2.6.6.4.2.8 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・水性抽出液の突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-10］

本試験（GLP 適合）では、マウスリンフォーマのチミジンキナーゼ（tk）遺伝子座（5-トリフルオロチミジン耐性）を指標とする親水性ポリマー・水性抽出液の突然変異誘発性を評価した。本試験は、細胞毒性の濃度範囲を検討した後、アロクロール 1254 誘導ラットの肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下で独立した 2 試験（試験 1 及び 2）を実施した。
用量設定試験では、細胞障害性を示す濃度について、広範囲の濃度（156.25～5000 µg/mL）を公比 2 の間隔で検討したが、全ての抽出液の濃度で細胞の生存がみられ、最高濃度における S9 非存在下及び存在下での生存率は、それぞれ 75.9%及び 91.0%であった。
これに基づき、試験 1 では、625～5000 µg/mL の範囲を公比 2 の間隔で 4 濃度を設定した。プレートを各濃度で処理後 2 日目に生存率及び 5-トリフルオロチミジン耐性を測定した。最高濃度（5000 µg/mL）において、S9 非存在下及び存在下での生存率は、それぞれ、109.7%及び 107.4%であった。試験 2 では、2000～5000 µg/mL の範囲の 4 濃度とした。この試験で用いられた最高用量は、試験 1 と同じ 5000 µg/mL であり、S9 非存在下及び存在下での生存率は、それぞれ 83.7%及び 102.9%であった。
全株の S9 非存在下及び存在下での試験ごとに、陰性及び陽性対照処理を含めた。陰性対照処理による変異頻度は正常範囲内であり、陽性対照である 4-ニトロキノリン 1-オキシド（S9 非存在下）及びベンゾ（a）ピレン（S9 存在下）では、統計学的に有意な突然変異の増加が誘発され、本試験の妥当性を確認した。
試験 1 及び 2 の S9 非存在下及び存在下において、親水性ポリマー・水性抽出液による統計学的に有意な突然変異頻度の増加はみられなかった。

被験物質は、マウスリンフォーマ細胞において突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2.9 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・アセトン抽出液の突然変異試験［添付資料 4.2.3.3.1-11］

本試験（GLP 適合）では、マウスリンフォーマの tk 遺伝子座（5-トリフルオロチミジン耐性）を指標とする親水性ポリマー・アセトン抽出液の突然変異誘発性を評価した。本試験は、細胞毒性の濃度範囲を検討した後、アロクロール 1254 誘導ラットの肝 S9 による代謝活性化の非存在下及び存在下で独立した 2 試験（試験 1 及び 2）を実施した。
用量設定試験では、細胞障害性を示す濃度範囲について、広範囲の濃度（156.25～5000 µg/mL）を公比 2 の間隔で検討したが、全ての抽出液の濃度で細胞の生存がみられ、最高濃度における S9 非存在下及び存在下での生存率は、それぞれ 65.1%及び 131.7%であった。
これに基づき、試験 1 では、625～5000 µg/mL の範囲で公比 2 の間隔で 4 濃度を設定した。プレートを各濃度で処理後 2 日目に生存率及び 5-トリフルオロチミジン耐性を測定した。最高濃度（5000 µg/mL）において、S9 非存在下及び存在下での生存率は、それぞれ 97.8%及び 82.1%であった。試験 2 では、2000～5000 µg/mL の範囲の 4 濃度とした。この試験で用いられた最高用量は、試験 1 と同じ 5000 µg/mL であり、S9 非存在下及び存在下で生存率は、それぞれ 88.6%及び 83.6%であった。
全株の S9 非存在下及び存在下での試験ごとに、陰性及び陽性対照処理を含めた。陰性対照処理による変異頻度は正常範囲内であり、陽性対照である 4-ニトロキノリン 1-オキシド（S9 非存在下）及びベンゾ（a）ピレン（S9 存在下）では、統計学的に有意な突然変異の増加が誘発され、本試験の妥当性を確認した。
S9 非存在下では、試験 1 及び 2 のいずれにおいても、親水性ポリマーのアセトン抽出液処理による統計学的に有意な突然変異頻度の増加はみられなかった。

S9 存在下では、試験 1 において 1250、2500 及び 5000 µg/mL のアセトン抽出液で突然変異頻度の有意な増加が用量に相関して認められた。しかし、これらの濃度では、生存率が対照群よりも低く、このことが作用の一因であった。試験 2 では、試験した抽出液のいずれの濃度においても突然変異頻度の有意な増加はみられなかった。したがって、試験 1 の所見には再現性がなく、認められた増加は偶発的な作用に起因したものである。

被験物質は、マウスリンフォーマ細胞において、突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

本剤は単回投与で急性使用の適応であることから、PGE_2 含有ペッサリー、本剤に用いた新添加剤（親水性ポリマー）、ポリエステル製取り出し用ネットに関するがん原性試験は必要ないと判断した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 PGE_2

2.6.6.6.1.1 ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の周産期経膣投与によ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［添付資料 4.2.3.5.3-1］

本試験では、妊娠雌 SD 系ラット（22 匹／群）に、0、0.08、0.17 又は 0.34 mg の PGE_2 を含有するペッサリーを、妊娠 17 日目から分娩日までラットの膣内に挿入した。これらの投与量は 0、0.212、0.451 又は 0.897 mg/kg/日、若しくは 0、0.022、0.048 又は 0.095 mg/kg/時間の放出速度に相当する（投与後 9 時間にわたって放出速度が一定と仮定し、妊娠 17 日目の体重に基づき算出）。母動物は分娩させ、その同腹新生児を離乳まで哺育させた。離乳時に 1 腹につき雌雄各 1 匹を F_1 世代より選抜し，生殖能力を評価するために F_1 世代の雄と雌を交配させる性成熟期まで飼育した。この試験で観察された明らかな被験薬投与に関連した変化は、高用量（0.34 mg/匹/日）における投与期間中の母動物の体重増加及び摂餌量の軽度な減少であった。出生時の死亡児数は、対照群よりも被験薬投与群で多かったが、用量相関性は明らかではなく毒性学的な意義は不明である。F_1 児のその後の発達、成長率、行動及び感覚機能の発達並びに生殖能力は、F_0 母動物への投与によって影響されなかった。

これらのデータより、母動物に対する無毒性量は 0.17 mg/匹/日（0.451 mg/kg/日、0.048 mg/kg/時間）、また、生殖パラメータに対しては 0.34 mg/匹/日（0.897 mg/kg/日、0.095 mg/kg/時間）と判断した。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.6.2 親水性ポリマー

本剤に用いた新添加剤（親水性ポリマー）に関する生殖発生毒性試験は実施していない。

2.6.6.6.3 ポリエステル製取り出し用ネット

ポリエステル製取り出し用ネットに関する生殖発生毒性試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 PGE_2

2.6.6.7.1.1 ウサギにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の単回膣粘膜刺激性試験［添付資料 4.2.3.6-1］

本試験では、ヒト臨床用の PGE_2 含有ペッサリーを元のサイズの 4 分の 1 に切断し、ウサギへの投与に用いた。ウサギ 1 匹あたりの投与量は 2.5 mg であった。ペッサリー切片は、日本白色種ウサギ（n=6）の膣内に 24 時間留置した。曝露期間後に回収したペッサリー中に残留した PGE_2 の分析より、処理したウサギでの曝露速度は 0.013 mg/kg/時間と推定された。この試験では、3 群、すなわち無処置群、プラセボ・ペッサリー（PGE_2 を含まない）投与群、及び 2.5 mg PGE_2 を含有するペッサリー切片投与群を設定した。局所刺激性は、ペッサリー切片挿入後 1 日目及び 4 日目に、膣の肉眼観察及び膣粘膜の病理組織学的検査の両方により評価した。
挿入後 1 日目においては、いずれの投与群でも肉眼的病変はみられなかった。膣の病理組織学的検査

では、無処置群を含む全ての群で、腟粘膜における細胞浸潤及び浮腫が認められ、その程度は PGE_2 投与群でわずかに強かった。挿入後 4 日目においては、ウサギ腟に肉眼的病変はみられなかった。軽度の細胞浸潤及び浮腫は、4 日目に回復する傾向を示し、PGE_2 投与群と対照群との差は小さくなった。

本試験は、日本の厚生労働省令第 21 号（1997 年 3 月 26 日）「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」に準拠して実施した。

2.6.6.7.2 親水性ポリマー

本剤に用いた新添加剤（親水性ポリマー）による局所刺激性試験は実施していないが、本剤のウサギにおける単回腟粘膜刺激性試験で新添加剤担体が投与された 0 mg 投与群により評価した［添付資料 4.2.3.6-1］。

ウサギにおける単回腟粘膜刺激性試験の 0 mg 投与群において、粘膜上皮並びに辺縁粘膜において細胞浸潤が投与 1 日目に 3/3 例に認められ、投与 4 日目に 2/3 例に認められた。これらの変化は、試験薬挿入時に用いたシリコンカテーテルによる物理的な刺激によるものと考えられた。

2.6.6.7.3 ポリエステル製取り出し用ネット

2.6.6.7.3.1 ウサギにおけるポリエステル製取り出し用ネット RSIII 抽出液の腟刺激試験［添付資料 4.2.3.6-4］

本試験（GLP 適合）では、ポリエステル製取り出し用ネットの生理食塩水抽出液（約 60 cm^2/20 mL 生理食塩水の抽出比で調製）のウサギ腟における局所刺激作用を評価した。

雌ニュージーランドホワイト種ウサギ（6 匹／群）を 2 群に分け、1 日に 1 mL の生理食塩水あるいは被験抽出液のいずれかを毎日 14 日間腟内に投与した。一般状態及び死亡を観察し、体重測定を実施した。試験終了時に動物を屠殺し、全身の剖検を実施した。さらに、腟及び子宮頸部の病理組織学的検査を実施した。被験抽出液又は対照の生理食塩水のいずれの投与でも、一部のウサギの子宮頸部及び／又は腟の上皮／下皮に軽微な炎症が観察されたが、被験材料の抽出液に関連する有害作用は観察されなかった。

2.6.6.7.3.2 ウサギにおけるポリエステル製取り出し用ネット RSIII 抽出液の皮内反応性試験［添付資料 4.2.3.6-5］

本試験（GLP 適合）は、ポリエステル製取り出し用ネットの抽出液をウサギの皮内に注射して、その局所炎症を評価するために実施した。総表面積が約 60 cm^2/20 mL 抽出液となるよう、被験材料を約 5 cm×0.3 cm の細片に切断した。
以下の溶媒を抽出に用いた：

- 注射用生理食塩水 0.9%w/v
- エタノール 99.86% v/v（生理食塩水で 1:20 に希釈）
- PEG400（抽出後に 7.4 倍の生理食塩水で希釈）
- 綿実油

抽出液は 20～30℃に維持し、抽出完了後 24 時間を経過する前に注入した。

本試験は、ニュージーランド白色種ウサギの 2 匹に生理食塩水抽出液及びその対照、アルコール抽出液及びその対照、また別の 2 匹のウサギに PEG 抽出液及びその対照、綿実油抽出液及びその対照を皮内注射した。各動物の剪毛した背部左側の 5 ヵ所に 0.2 mL/部位で被験抽出液を、また右側の 5 ヵ所に対応する対照を 0.2 mL/部位で皮内注射した。24、48 及び 72 時間後に動物を検査し、注射部位の炎症性変化を調べた。
生理食塩水抽出液及び生理食塩水で希釈したアルコール抽出液では、被験抽出液又は対照を投与した部位のいずれにおいても皮膚反応はみられなかった。PEG 抽出液では、24 時間後の評価においてのみ、被験抽出液の 3 ヵ所の投与部位、対照の 1 ヵ所でごく軽度な紅斑が観察された。綿実油抽出液では、24 時間後から 72 時間後の間、ごく軽度及び／又は明確な紅斑及び浮腫が全ての被験抽出液及び対照の投与部位で観察された。観察された反応は、それぞれの溶媒対照によって誘発されたものと同一又は非常に類似しており、被験抽出液に関連する有害作用はみられなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 PGE_2

PGE_2 に関するその他の毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.2 親水性ポリマー

本剤に用いた新添加剤（親水性ポリマー）に関するその他の毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.3 ポリエステル製取り出し用ネット

2.6.6.8.3.1 ポリエステル製取り出し用ネット RSIII 抽出液の溶血性試験［添付資料 4.2.3.7-1］

本試験では、ヘパリン添加ヒト新鮮血液を用い、ポリエステル製取り出し用ネット RSIII の生理食塩水抽出液の溶血性を評価した。生理食塩水抽出液は、60 cm^2/20 mL の抽出媒体比で 70℃、24 時間抽出して調製した。

新鮮なヘパリン添加ヒト血液に 10 mL の抽出液、蒸留水（陽性対照）又は生理食塩水（陰性対照）を加え（各 3 サンプル調製）、インキュベーションした。インキュベーション後の懸濁液を 1500 rpm で 5～10 分間遠心した。その上澄みの 545 nm における吸光度を分光光度計で比較した。

被験抽出液で認められたヘモグロビン値は非常に低く、陰性対照で得られた値と同等であり、溶血性は認められなかった。

本試験の GLP 遵守の状況は不明である。

2.6.6.8.3.2 ウサギにおけるポリエステル製取り出し用ネット RSIII 抽出液の発熱性試験［添付資料 4.2.3.7-2］

本試験では、ポリエステル製取り出し用ネット RSIII の抽出液の発熱性を検討した。生理食塩水抽出液は、60 cm^2/20 mL 抽出液の比で 70℃、24 時間抽出して調製した。3 匹のウサギを用いて被験抽出液を

投与した後の中心直腸温度の変動を評価した。投与前と投与後の温度差は 0.1～0.3℃であり、抽出液は発熱性を示さなかった。

本試験の GLP 対応の状況は不明である。

2.6.6.8.3.3 モルモットにおけるポリエステル製取り出し用ネット RSIII の皮膚感作性［添付資料 4.2.3.7-3］

本試験（GLP 適合）では、アルビノモルモットを用いポリエステル製取り出し用ネット RSIII の皮膚感作性を検討した。使用したモルモットの系統の感受性は、試験適合性を確認するため、既知の感作性物質であるホルマリンで定期的にチェックされている。動物は以下のように 4 群に分けた。

- 溶媒対照－食塩水（n=10）
- 生理食塩水抽出液（n=20）
- 溶媒対照－流動パラフィン（n=10）
- 流動パラフィン抽出液（n=20）

各抽出液の感作誘導は、モルモット背部・肩甲骨領域（4×6 cm）への皮内注射で実施した。各抽出液の注射液は、フロイント完全アジュバント／注射用水（50:50）、無希釈の抽出液又は無希釈の抽出液／フロイント完全アジュバント（50:50）として調製した。生理食塩水及び流動パラフィン抽出液については、3 対の皮内注射を実施した。その 6 日後に無希釈の生理食塩水及び流動パラフィン抽出液を 48 時間、同領域に局所適用した。対照動物は対照溶液を用いて同様に処置した。
次に、局所誘導適用の 2 週間後、モルモット左脇に無希釈の生理食塩水又は流動パラフィンとの 50% v/v 溶液により対照及び被験抽出液を投与した動物に局所惹起を実施した。惹起用の試験溶液は、被験抽出液を投与した動物及び対照動物の同領域に 24 時間、局所適用した。惹起部位は、パッチを除去後、24、48 及び 72 時間後に評価した。

本試験において、取り出し用ネットは、皮膚感作又は遅延型の接触過敏のいずれの変化も起こさなかった。

2.6.6.8.3.4 *In vitro* 培養細胞におけるポリエステル製取り出し用ネット RSIII の細胞毒性試験［添付資料 4.2.3.7-4］

本試験（GLP 適合）は、Elution 試験法を用い、ポリエステル製取り出し用ネットの細胞傷害性を、二倍体胎児ヒト肺線維芽細胞（ATCC CCL 171）の MRC-5 線維芽細胞株由来の培養細胞を用いて検討した。
ポリマーを小片に切断し、約 1 g/10.1 mL の溶出比で細胞培養用の培地中で溶出させ、溶出液を調製した。陰性対照（シリコンゴム）は 1 g/5 mL の比で、陽性対照（0.57%ジブチルスズジマレートを含有する PVC ディスク）は 3 枚のディスクを 15 mL の培地に溶出させて調整した。溶出ボトルは、5%CO_2 で pH 7.2～7.4 に調整し、オービタルシェーカー上で 37℃、24 時間インキュベーションした。
本試験では、2×10^5 細胞/mL を含有する MRC-5 線維芽細胞液を、24 穴組織培養プレートにピペットで移し、コンフルエントな単層を得るため、5% CO_2 下湿潤環境中で 37℃、24 時間インキュベーションした。次いで、各試料について 3 回測定となるよう、3 つのウェルのそれぞれの培地を新しく調製した

溶出液又は希釈した溶出液 1 mL と交換した。24 時間インキュベーション後、細胞を固定して検査した。

ポリマーの無希釈溶出液は、この試験条件下において、MRC-5 細胞に対して細胞毒性を示さなかった。

2.6.6.8.4 PGE_2 含有ペッサリー・親水性ポリマー・取り出し用ネット

2.6.6.8.4.1 黄色ブドウ球菌の増殖並びに毒素性ショック症候群毒素-1、溶血活性及びヒアルロン酸リアーゼの産生に及ぼす取り出し用ネットを含む PGE_2 含有ペッサリー製剤の作用［添付資料 4.2.3.7-5］

本試験は、ペッサリーを使用する女性に対して、TSST-1 を促進すると予測される作用をペッサリーがもたないことを確認するために実施した。PGE_2 含有ペッサリー、取り出し用ネット単独、親水性ポリマー及び取り出し用ネットなしのペッサリーで実施した。溶血活性はウサギの新鮮血を用いて測定した。ヒアルロン酸リアーゼ活性は、基質にヒアルロン酸を用い、比色定量法により二糖類の放出を測定することで酵素学的に求めた。

黄色ブドウ球菌 FR1 1187 株は、バッチ培養での増殖中に TSST-1 溶血活性及びヒアルロン酸リアーゼを産生した。いずれの被験物質の存在下でも黄色ブドウ球菌の増殖に大きな影響はなかった。黄色ブドウ球菌による TSST-1 産生は、全ての被験物質について、試験の変動範囲内であり、対照群と同等であった。ペッサリー製剤には、使用者の毒素性ショック症候群を生じるリスクを高める可能性はないと考えられた。

本試験の GLP 遵守の状況は不明である。

2.6.6.9 考察及び結論

本剤を構成する有効成分である PGE_2、新添加剤である親水性ポリマー及び膣からの除去を容易にするポリエステル製取り出し用ネットについて毒性試験を行い、本剤の安全性評価を行った。

PGE_2 のラット及びイヌにおける単回膣内投与毒性試験及び 2 週間反復膣内投与毒性試験では、高用量群で PGE_2 の薬理学的作用に関連すると考えられる活動性の低下や下痢等の変化がみられたが、毒性学的に問題となる新たな所見は認められなかった。

PGE_2 を用いた遺伝毒性試験として、ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞を用いた染色体異常試験、マウスを用いた腹腔内投与による小核試験を実施し、染色体異常試験において非常に高い濃度において染色体の構造異常の増加が認められたが、本剤の臨床使用において問題となる遺伝毒性を示唆する結果ではなかった。

PGE_2 の生殖発生毒性試験（周産期毒性試験）において、高用量群においてのみ母動物に軽微な体重増加の抑制、摂餌量の低下が認められたが問題となる変化ではなかった。また出生児への明らかな影響は認められなかった。

ウサギの局所刺激性試験では、投与 1 日目に、無処置群を含む全ての群で腟粘膜における細胞浸潤及び浮腫が認められ、その程度は PGE_2 投与群でわずかに強かったものの、投与 4 日目にほぼ回復した。

PGE_2 は様々な生理学的作用を示す生体内物質であり、日本では陣痛誘発並びに陣痛促進剤（経口）として承認され、単回投与、反復投与及び生殖発生毒性の毒性試験により、経口投与による PEG_2 の安全性評価が行われている。PGE_2 の経口投与及び経腟投与の第 I 相試験の結果から、本剤の臨床用量における経腟投与の曝露量は、既承認の経口投与の曝露量を超えるものではなかった 1)。また、PGE_2 である本薬は生体内では肺循環を通ると血管内皮細胞に摂取され、90%以上が 15-hydroxy-PG 脱水素酵素で速やかに代謝され失活することが知られている 2) 3)。これらのことから、PGE_2 の経腟投与により、既承認の経口投与以上の新たな安全性上の懸念が生じる可能性は低いものと考えた。

新添加剤は、PEG8000、HT 及び DMDI からなる熱硬化性の架橋型親水性ポリマーであり、その分子量の大きさから体内に吸収されず全身毒性が懸念されることはないと考えた。新添加剤の局所における安全性を評価するため、ラット反復投与試験（経腟）、イヌ反復投与試験（経腟）、ウサギ腟粘膜刺激性試験（経腟）を行ったが、試験薬の投与行為による機械的な刺激によるものと考えられる炎症性変化を認めたものの、新添加物が原因と考えられる毒性変化は認められなかった。

新規の取り出し用ネットは、医療用として保証されたポリエステルから製造されている。取り出し用ネットシステムの安全性を評価するため、ネットの抽出液を用いたマウス単回毒性試験（単回静脈内又は腹腔内投与）、ウサギ腟忍容性試験、ウサギでの皮内注射試験を行ったが、ネットに起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上より、本剤を構成する PGE_2、新添加剤（親水性ポリマー）及びポリエステル製取り出し用ネットの安全性評価の結果、本剤の臨床使用において、安全性上の問題が生じる可能性は低いと判断した。

2.6.6.10 図表

表は本文中の該当箇所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1) Bremme K et.al., 15-Keto-13,14-dihydroprostaglandin E2- and F2 alpha-metabolite levels in blood from men and women given prostaglandin E2 orally. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. Sep; 37(3):169-76. 1989

2) 鹿取　信, プロスタグランジン　その生体内における位置づけと全体像 ; 日薬理誌　94, 159-171, 1989

3) 山本 尚三, プロスタグランジンとトロンボキサン 新図解ホルモンのすべて 化学・分泌・作用・代謝, ホルモンと臨床 1980

2.6.7 毒性試験概要表

目次

2.6.7.1 毒性試験一覧表 5
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 9
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
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 10
2.6.7.5.1 単回投与毒性試験 10
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験 11
2.6.7.6.1 PGE_2 11
2.6.7.6.1.1 反復投与試験：ラットにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の2週間経腟投与毒性試験 11
2.6.7.6.1.2 反復投与試験：イヌにおけるPGE_2含有ペッサリー製剤の2週間経腟投与毒性試験 13
2.6.7.7 遺伝毒性試験 15
2.6.7.7.1 PGE_2 15
2.6.7.7.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験：*in vitro* 15
2.6.7.7.1.2 チャイニーズハムスター肺（CHL）線維芽細胞を用いる染色体異常試験：*in vitro* 16
2.6.7.7.1.3 マウスにおける小核試験：*in vivo* 17
2.6.7.7.2 親水性ポリマー 18
2.6.7.7.2.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の復帰突然変異試験：*in vitro* 18
2.6.7.7.2.2 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・塩酸緩衝液（pH 2）抽出液の復帰突然変異試験：*in vitro* 19
2.6.7.7.2.3 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・リン酸緩衝液（pH 8）抽出液の復帰突然変異試験：*in vitro* 20
2.6.7.7.2.4 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の復帰突然変異試験： *in vitro* 21
2.6.7.7.2.5 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・ジメチルスルホキシド（DMSO）抽出液の復帰突然変異試験 ：*in vitro* 22
2.6.7.7.2.6 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の染色体異常試験：*in vitro* 23
2.6.7.7.2.7 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の染色体異常試験：*in vitro* 24
2.6.7.7.2.8 マウスリンフォーマL5178Y細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・水性抽出液の突然変異試験：*in vitro* 25
2.6.7.7.2.9 マウスリンフォーマL5178Y細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・アセトン抽出液の突然変異試験：*in vitro* 26
2.6.7.8 がん原性試験 27
2.6.7.9 生殖発生毒性試験 28
2.6.7.9.1 PGE_2 28

2.6.7.9.1.1 ラットにおけるPGE$_2$含有ペッサリー製剤の周産期経腟投与によ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 28
2.6.7.9.2 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 30
2.6.7.9.3 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 30
2.6.7.10 新生児を用いた試験 30
2.6.7.11 局所刺激性試験 31
2.6.7.11.1 PGE$_2$含有親水性ポリマー及び親水性ポリマーの局所刺激性試験 31
2.6.7.11.2 ポリエステル製取り出し用ネットの局所刺激性試験 32
2.6.7.12 その他の毒性試験 33
2.6.7.12.1 PGE$_2$含有親水性ポリマー及びポリエステル製取り出し用ネットに関するその他の毒性試験 33

略号・用語の定義一覧

略号・用語	省略していない表現又は定義	
CHL	Chinese hamster lung	チャイニーズハムスター肺
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
n/a	Not applicable	該当なし
NZW	New Zealand	ニュージーランド
PEG	Polyethylene glycol	ポリエチレングリコール
PGE_2	Prostaglandin E_2	プロスタグランジン E_2
S9	Liver microsomal enzyme activation system	肝ミクロソーム酵素活性化系
tk	Thymidine kinase	チミジンキナーゼ
USP	United States Pharmacopeia	米国薬局方

2.6.7.1 毒性試験一覧表

Test article: Dinoprostone / Hydrogel Polymer / Polyester Polymer		Toxicology Overview						
Type of Study	**Species and Strain**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location in CTD**
Single-Dose Toxicity								
PGE_2	Sprague-Dawley Rat	Intravaginal	Single	1.3, 2.5, 6.1	Yes	[redacted], Japan	B-3692 [a]	[4.2.3.1-1]
PGE_2	Beagle dog	Intravaginal	Single	1.0, 1.5, 3.0	Yes	[redacted] Japan	19713 [a]	[4.2.3.1-2]
PGE_2	Beagle dog	Intravaginal	Single	0.03, 0.1, 0.3	Yes	[redacted] Japan	19722 [a]	[4.2.3.1-3]
Polyester polymer	CFLP-ICI Mouse	Intravenous and Intraperitoneal	Single	Extracts at 20 mL/60 cm^2 material injected at 50 mL/kg	Yes	[redacted], UK	91138D/ COP3/AC	[4.2.3.1-4]
Repeat-Dose Toxicity								
PGE_2	Sprague-Dawley rat	Intravaginal	14 days	0.34,0.68,1.66 mg/animal/day	Yes	[redacted], Japan	B3708 [a]	[4.2.3.2-1]
PGE_2	Beagle dog	Intravaginal	14 days	0.03, 0.1, 0.3 mg/animal/day	Yes	[redacted] Japan	19725 [a]	[4.2.3.2-2]

Genotoxicity								
PGE_2	*S. typhimurium* + *E. coli*	*In vitro* - Ames test	n/a	156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	[redacted] Japan	19705 [a]	[4.2.3.3.1-1]
PGE_2	CHL fibroblast cells	Chromosome aberration test	6, 24, 48 h	50, 75, 100 µg/mL (24 h) 12.5, 25, 50 µg/mL (48 h) 400, 600, 800 µg/mL (6 h)	Yes	[redacted] Japan	K06-0604 [a]	[4.2.3.3.1-2]
PGE_2	CD-1 Mice	Ip micronucleus test	24 h	6.25, 12.5, 25	Yes	[redacted] Japan	19711 [a]	[4.2.3.3.2-1]
Hydrogel polymer	*S. typhimurium* + *E. coli*	*In vitro* - Ames test:						
		Aqueous extract	n/a	5 mg/plate	Yes	[redacted], UK	530/6	[4.2.3.3.1-3]
		Acid pH 2 extract	n/a	5 mg/plate	Yes	[redacted], UK	530/7	[4.2.3.3.1-4]
		Buffer pH 8 extract	n/a	5 mg/plate	Yes	[redacted], UK	530/8	[4.2.3.3.1-5]
		Acetone extract	n/a	5 mg/plate	Yes	[redacted], UK	530/9	[4.2.3.3.1-6]
		DMSO extract	n/a	5 mg/plate	Yes	[redacted], UK	530/10	[4.2.3.3.1-7]
Hydrogel polymer	Human lymphocytes	Chromosome aberration test:						
		Aqueous extract	n/a	5 mg/mL	Yes	[redacted], UK	530/12	[4.2.3.3.1-8]
		Acetone extract	n/a	5 mg/mL	Yes	[redacted], UK	530/13	[4.2.3.3.1-9]
Hydrogel polymer	L5178Y cells	Mouse lymphoma TK assay:						
		Aqueous extract	n/a	5 mg/mL	Yes	[redacted], UK	530/14	[4.2.3.3.1-10]
		Acetone extract	n/a	5 mg/mL	Yes	[redacted], UK	530/15	[4.2.3.3.1-11]

Carcinogenicity	**No applicable reports**							
Reproductive and Developmental Toxicity								
PGE_2	Sprague- Dawley CD Rat	Intravaginal	Day 17 of gestation until delivery	0.08, 0.17, 0.34 mg/rat/day	Yes	[redacted], Japan	R-688 [a]	[4.2.3.5.3-1]
Local Tolerance								
PGE_2	Japanese White Rabbits	Intravaginal	24 h exposure	2.5 mg/animal	Yes	[redacted], Japan	B-3893 [a]	[4.2.3.6-1]
Polyester polymer	Rabbit/NZW	Vaginal - saline extract of RSIII	Daily for 14 days	Extracts at 20 mL/60 cm^2 material - 1.0 mL/rabbit/day	Yes	[redacted], UK	91318D/ COP 2/SE	[4.2.3.6-4]
Polyester polymer	Rabbit/NZW	Intracutaneous - saline, alcoholic saline, PEG 400 and cotton seed oil extracts of RSIII	Single dose	Extracts at 20 mL/60 cm^2 material injected at 0.2 mL/site (five sites)	Yes	[redacted], UK	91139D/ COP 4/AC	[4.2.3.6-5]

Other Toxicity Studies								
Polyester polymer - Haemolysis testing	Fresh heparinised human blood	*In vitro* - extracts of RS III prepared in saline	60 minute incubation	60 cm^2/20 mL saline extract	Unknown	[redacted], UK	91129D/ COP 6/AC	[4.2.3.7-1]
Polyester polymer - Pyrogenicity	Rabbit/NZW	Intravaginal saline extract of RSIII	Single dose	60 cm^2/20 mL saline at 10 mL/kg	Unknown	[redacted], UK	91158D/ COP 5/AC	[4.2.3.7-2]
Polyester polymer - Sensitisation	Dunkin-Hartley Guinea Pig	Intradermal / topical (induction and challenge)	Induction on Days 1 and 8 - challenge 2 weeks later	Saline or liquid paraffin extracts of RSIII - 0.1 mL/site for induction, 0.2 mL/site for challenge	Yes	[redacted], UK	91222D/ COP 7/SS	[4.2.3.7-3]
Polyester polymer - cytotoxicity	MRC-5 human lung fibroblasts	*In vitro* - extracts of RS III prepared in culture medium	24 h incubation	6 cm^2/mL medium	Yes	[redacted], UK	COP9/ 91244	[4.2.3.7-4]
Product, Hydrogel polymer and Polyester polymer - Toxic Shock Screening Study	*S. aureus*	*In vitro* - incubation with *S aureus* cultures	24 h	Performed on pessary, pessary without retrieval system, placebo pessary and retrieval system alone	Unknown	[redacted] UK	Report of Prof. [redacted] 19[redacted]	[4.2.3.7-5]
Antigenicity	No applicable reports							
Impurities	No applicable reports							

a: Study sponsored by [redacted]
n/a: No applicable

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

該当なし。

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

該当なし。

2.6.7.4　　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

該当なし。

2.6.7.5 単回投与毒性試験

2.6.7.5.1 単回投与毒性試験

Test article: Dinoprostone / Polyester Polymer							
Species/ Strain	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and No per Group**	**Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)**	**Approximate Lethal Dose (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
PGE_2							
Sprague-Dawley Rat	Intravaginal	1.3, 2.5, 6.1	Female 7 per group	n/a	n/a	Non-toxic dose ~2.5 mg/kg	B-3692
Beagle dog	Intravaginal	1.0, 1.5, 3.0	Female 2 per group	n/a	n/a	Non-toxic dose < 1.0 mg/kg	19713
Beagle dog	Intravaginal	0.03, 0.1, 0.3	Female 2 per group	n/a	n/a	Non-toxic dose 0.03 mg/kg	19722
Polyester polymer							
CFLP-ICI Mouse	Intravaginal and Intraperitoneal	Extracts at 20 mL/60 cm^2 material injected at 50 mL/kg	5 per group Gender not stated	n/a	n/a	No signs of systemic toxicity	91138D/COP3 /AC

n/a: No applicable

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.6.1 PGE_2

2.6.7.6.1.1 反復投与試験：ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の 2 週間経腟投与毒性試験

Report Title:	Two Week Repeat Dose Intravaginal Toxicity Study of [redacted]-63 in Rats	**Test Article:**	Dinoprostone pessary		
Species/Strain:	Sprague-Dawley rat	**Duration of Dosing:**	14 days	**Study No.** B-3708	
Initial Age:	11 weeks	**Duration of Postdose:**	None	**Location in CTD:** [4.2.3.2-1]	
Date of First Dose:	18[redacted] 19[redacted]	**Method of Administration:**	Intravaginal		
		Vehicle/Formulation:	Pessary	**GLP Compliance:** Yes	
Special Features:	None				

No Observed Adverse Effect Level:	Non-toxic dose level 0.34 mg/animal/day (1.2 mg/kg/day)							
Daily Dose	**0 (Untreated/Control)**		**0.34 mg/animal/day**		**0.68 mg/animal/day**		**1.66 mg/animal/day**	
Number of Animals	M: 0	F: 10/10	M: 0	F: 10	M: 0	F: 10	M: 0	F: 10
Release rate (mg/kg/h)	n/a	0	n/a	0.052	n/a	0.105	n/a	0.256
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0
Body Weight	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Food Consumption	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Water Consumption	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Clinical Observations Decrease in spontaneous movement Ptosis Soft faeces Diarrhoea	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	 ++ ++ + +

2.6.7.6.1.1 反復投与試験：ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の 2 週間経腟投与毒性試験（続き）

Daily Dose	**0 (Untreated/Control)**		**0.34mg/animal/day**		**0.68 mg/animal/day**		**1.66 mg/animal/day**	
Number of Animals	M: 0	F: 10/10	M: 0	F: 10	M: 0	F: 10	M: 0	F: 10
Serum Chemistry	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Urinalysis	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Organ Weights (%)[a] Lung	n/a	 -	n/a	 -	n/a	 -	n/a	 +8%**[a]
Gross Pathology	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Histopathology Thickening of gastric border edge Extended gastric pit Mucosal epithelial cells	n/a	 - - -	n/a	 - - -	n/a	 + + +	n/a	 + + +

a: Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.
* $p<0.05$ ** $p<0.01$
- No noteworthy findings. + Mild ++ Moderate +++ Marked;
n/a: No applicable

2.6.7.6.1.2 反復投与試験：イヌにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の 2 週間経腟投与毒性試験

Report Title:	Two Week Repeat Dose Intravaginal Toxicity Study of [redacted]-63 in Dogs	**Test Article:**	Dinoprostone pessary		
Species/Strain:	Beagle dog	**Duration of Dosing:**	8 h/day for 14 days	**Study No**. 19725	
Initial Age:	20-21 months	**Duration of Postdose:**	None	**Location in CTD:** [4.2.3.2-2]	
Date of First Dose:	27 [redacted] 19[redacted]	**Method of Administration:**	Intravaginal		
		Vehicle/Formulation:	Pessary	**GLP Compliance:** Yes	
Special Features:	None				

No Observed Adverse Effect Level:	Non-toxic dose level 0.3 mg/animal/day (0.03 mg/kg/day)							
Daily Dose	**0 (Control)**		**0.3 mg/animal/day**		**1 mg/animal/day**		**3 mg/animal/day**	
Number of Animals	M: 0	F: 3	M: 0	F: 3	M: 0	F: 3	M: 0	F: 3
Release rate (mg/kg/h)	n/a	0	n/a	0.0075	n/a	0.025	n/a	0.075
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0
Body Weight	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Food Consumption	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Water Consumption	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Clinical Observations Decrease in spontaneous movement Vomiting and tremors Mucous stools Salivation	n/a	-	n/a	-	n/a	 + +	n/a	 ++ ++ + +

2.6.7.6.1.2 反復投与試験：イヌにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の 2 週間経腟投与毒性試験（続き）

Daily Dose	0 (Control)		0.3 mg/animal/day		1 mg/animal/day		3 mg/animal/day	
Number of Animals	M: 0	F: 3	M: 0	F: 3	M: 0	F: 3	M: 0	F: 3
Haematology Shortening of PT time	n/a	-	n/a	-	n/a	+	n/a	+
Serum Chemistry Increase in ALP	n/a	-	n/a	-	n/a	+	n/a	+
Urinalysis	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Organ Weights	n/a	-	n/a	-	n/a	-	n/a	-
Gross Pathology Vagina: slight swelling	n/a	+	n/a	+	n/a	+	n/a	+
Histopathology Vagina: diffuse inflammation/slight oedema	n/a	+	n/a	+	n/a	+	n/a	+

* $p<0.05$ ** $p<0.01$
- No noteworthy findings. + Mild ++ Moderate +++ Marked;
n/a: No applicable

2.6.7.7 遺伝毒性試験

2.6.7.7.1 PGE_2

2.6.7.7.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験：*in vitro*

Report Title:	Reverse Mutation Test in *Salmonella typhymurium* and *Escherichia coli* (Ames test)	**Test Article:**	PGE_2	
Test for Induction of:	Reverse mutations	**No. of Independent Assays:**	2	**Study No.** 19705
Strains:	TA100, TA1535, TA98, TA1537, WP2uvrA	**No. of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-1]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	n/a	
Vehicles: For Test Article: DMSO **For positive Controls:** DMSO				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	48 h treatment time 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate			**Date of Treatment:** 11[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	No significant increases in the number of revertant colonies at any dose, therefore data not presented			
Genotoxic Effects:	None, therefore data not presented			

n/a: No applicable

2.6.7.7.1.2　チャイニーズハムスター肺（CHL）線維芽細胞を用いる染色体異常試験：*in vitro*

Report Title:	Chromosome Aberration Test with Mammalian Cells in Culture	**Test Article:**	PGE_2	
Test for Induction of:	Chromosomal aberrations	**No. of Independent Assays:**	2	**Study No.** K06-0604
Strains:	CHL fibroblasts	**No. of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD:**
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	100 (200 for incidence of aberrant cells)	[4.2.3.3.1-2]
Vehicles: For Test Article: DMSO **For positive Controls:** DMSO				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(A) Direct method: 24 h (50, 75, 100 µg/mL) and 48 h (12.5, 25, 50 µg/mL) (B) Metabolic activation method: 6 h (400, 600, 800 µg/mL)			**Date of Treatment:** 23[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	(A) PGE_2 induced 50% growth inhibition at about 90 µg/mL in 24 h treatment and 43 µg/mL in 48 h treatment (B) PGE_2 induced 50% growth inhibition at 500 (-S9) and 580 (+S9) µg/mL			
Genotoxic Effects:	(A) Structural aberrations were seen at 75 and 100 µg/mL after 24 h but after 48 h treatment (B) Structural aberrations were seen at 600 and 800 µg/mL -S9 and at 800 µg/mL +S9			
Additional information:	The chromosomal aberrations induced occurred at a non-physiological dose level - as changes were noted at several thousand times the physiological concentration of PGE_2 recorded in human amniotic fluid, approximately 10 ng/mL. Therefore data are not presented			

2.6.7.7.1.3 マウスにおける小核試験：*in vivo*

Report Title:	**Micronucleus Test in Mice**		**Test Article:**	**PGE_2**
Test for Induction of:	Incidence of micronucleated polychromatic erythrocytes for mutagenicity and bone marrow toxicity	**Treatment Schedule:**	Single injection	**Study No.** 19711
Species/Strain:	Mice CD-1 (ICR)	**Sampling Time:**	24 h	**Location in CTD:** [4.2.3.3.2-1]
Age:	9 weeks	**Method of Administration:**	Intraperitoneal	
Cells Evaluated:	Not known	**Vehicle/Formulation:**	2% Tween 80	**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Analyzed/Animal:	6 animals per group			**Date of Dosing:** 24 [redacted] 19 [redacted]
Special Features:	None			
Treatment	6.25, 12.5, 25 mg/kg			
Toxic/Cytotoxic Effects:	PGE_2 did not show bone marrow toxicity at any dose level			
Genotoxic Effects:	No evidence to support mutagenic or clastogenic effects of PGE_2 *in vivo*			
Evidence of Exposure:	Not stated			

2.6.7.7.2 親水性ポリマー

2.6.7.7.2.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の復帰突然変異試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of an Aqueous Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutation in Four Histidine-requiring Strains of *S typhimurium* and Two Tryptophan-requiring Strains of *Escherichia coli*		**Test Article:**	Hydrogel polymer - Aqueous extract
Test for Induction of:	Reverse mutations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/6
Strains:	TA98, TA100, TA1535 TA1537, WP2 pKM101, WP2 uvrA pKM101	**No. of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-3]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	n/a	
Vehicles: For Test Article: Water **For positive Controls:** DMSO (Water for NaN_3)				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 8, 40, 200, 1000, 5000 µg/plate (2) 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/plate			**Date of Treatment:** 6 [redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			
Genotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			

n/a: No applicable

2.6.7.7.2.2 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・塩酸緩衝液（pH 2）抽出液の復帰突然変異試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of a Chloride Buffer (pH 2) Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutation in Four Histidine-requiring Strains of *S typhimurium* and Two Tryptophan-requiring Strains of *Escherichia coli*		**Test Article:**	Hydrogel polymer - a Chloride Buffer (pH 2) extract
Test for Induction of:	Reverse mutations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/7
Strains:	TA98, TA100, TA1535 TA1537, WP2 pKM101, WP2 uvrA pKM101	**No. of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-4]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	n/a	
Vehicles: For Test Article: Chloride Buffer (pH 2) **For positive Controls:** DMSO (Water for NaN_3)				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 8, 40, 200, 1000, 5000 µg/plate (2) 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/plate			**Date of Treatment:** 6 [redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			
Genotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			

n/a: No applicable

2.6.7.7.2.3 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・リン酸緩衝液（pH 8）抽出液の復帰突然変異試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of a Phosphate Buffer (pH 8) Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutation in Four Histidine-requiring Strains of *S typhimurium* and Two Tryptophan-requiring Strains of *Escherichia coli*		**Test Article:**	Hydrogel polymer - Phosphate Buffer (pH 8) extract
Test for Induction of:	Reverse mutations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/8
Strains:	TA98, TA100, TA1535 TA1537, WP2 pKM101, WP2 uvrA pKM101	**No. of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-5]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	n/a	
Vehicles: For Test Article: Phosphate Buffer (pH 8) **For positive Controls:** DMSO (Water for NaN_3)				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 8, 40, 200, 1000, 5000 µg/plate (2) 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/plate			**Date of Treatment:** 6 [redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			
Genotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			

n/a: No applicable

2.6.7.7.2.4 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の復帰突然変異試験： *in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of an Acetone Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutation in Four Histidine-requiring Strains of *S typhimurium* and Two Tryptophan-requiring Strains of *Escherichia coli*		**Test Article:**	Hydrogel polymer - Acetone Extract
Test for Induction of:	Reverse mutations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/9
Strains:	TA98, TA100, TA1535 TA1537, WP2 pKM101, WP2 uvrA pKM101	**No. of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-6]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	n/a	
Vehicles: For Test Article: Acetone **For positive Controls:** DMSO (Water for NaN_3)				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 8, 40, 200, 1000, 5000 μg/plate (2) 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 μg/plate			**Date of Treatment:** 6[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	No evidence of the ability of the test article to product mutations, therefore no data are presented			
Genotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented			

n/a: No applicable

2.6.7.7.2.5 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた親水性ポリマー・ジメチルスルホキシド（DMSO）抽出液の復帰突然変異試験 ：*in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of a DMSO Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutation in Four Histidine-requiring Strains of *S typhimurium* and Two Tryptophan-requiring Strains of *Escherichia coli*		**Test Article:**	Hydrogel polymer - DMSO extract	
Test for Induction of:	Reverse mutations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/10	
Strains:	TA98, TA100, TA1535 TA1537, WP2 pKM101, WP2 uvrA pKM101	**No. of Replicate Cultures:**	3	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-7]	
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	n/a		
Vehicles: For Test Article: DMSO **For positive Controls:** DMSO (Water for NaN_3)				**GLP Compliance:** Yes	
Treatment:	(1) 8, 40, 200, 1000, 5000 μg/plate (2) 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 μg/plate			**Date of Treatment:** 6[redacted] 19[redacted]	
Cytotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented				
Genotoxic Effects:	None at any dose, therefore no data are presented				

n/a: No applicable

2.6.7.7.2.6 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・水性抽出液の染色体異常試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Evaluate the Chromosome Damaging Potential of an Aqueous Extract of Hydrogel Polymer by its Effects on Cultured Human Lymphocytes using and *in vitro* Cytogenetics Assay		**Test Article:**	Hydrogel polymer - Aqueous extract
Test for Induction of:	chromosome aberrations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/12
Strains:	Human lymphocytes	**No. of Replicate Cultures:**	4	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-8]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	100	
Vehicles: For Test Article: Water **For positive Controls:** DMSO				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 3-44 h: 43.75, 67.31, 103.6, 159.3, 245.1, 377.1, 580.1, 892.5, 1373, 2113, 3250, 5000 µg/mL (2) 3-44 h: 288.2, 411.8, 588.2, 840.4, 1201, 1715, 2450, 3500, 5000 µg/mL			**Date of Treatment:** 15[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None			
Genotoxic Effects:	The test article was unable to induce chromosome aberrations under the conditions tested, therefore no data are presented			

2.6.7.7.2.7 培養ヒト・リンパ球を用いた親水性ポリマー・アセトン抽出液の染色体異常試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Evaluate the Chromosome Damaging Potential of an Acetone Extract of Hydrogel Polymer by its Effects on Cultured Human Lymphocytes using and *in vitro* Cytogenetics Assay		**Test Article:**	Hydrogel polymer - Acetone extract
Test for Induction of:	chromosome aberrations	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/13
Strains:	Human lymphocytes	**No. of Replicate Cultures:**	4	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-9]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	100	
Vehicles: For Test Article: Acetone **For positive Controls:** DMSO				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 3-44 h: 43.75, 67.31, 103.6, 159.3, 245.1, 377.1, 580.1, 892.5, 1373, 2113, 3250, 5000 µg/mL (2) 3-44 h: 840.4, 1201, 1715, 2450, 3500, 5000 µg/mL			**Date of Treatment:** 17[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None			
Genotoxic Effects:	The test article was unable to induce chromosome aberrations under the conditions tested, therefore no data are presented			

2.6.7.7.2.8 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・水性抽出液の突然変異試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of an Aqueous Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutations at the Thymidine Kinase Locus in Mouse Lymphoma L5178Y Cells using a Fluctuation Assay		**Test Article:**	Hydrogel polymer - aqueous extract
Test for Induction of:	Mutations at the tk locus	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/14
Strains:	Mouse lymphoma L5178Y	**No. of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-10]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	Not known	
Vehicles: For Test Article: Water **For positive Controls:** DMSO				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 2 days: 625, 1250, 2500, 5000 µg/mL (2) 2 days: 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL			**Date of Treatment:** 5[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None			
Genotoxic Effects:	No statistically significant increases in mutant frequency were observed, therefore no data are presented			

2.6.7.7.2.9 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座における親水性ポリマー・アセトン抽出液の突然変異試験：*in vitro*

Report Title:	Study to Determine the Ability of an Acetone Extract of Hydrogel Polymer to Induce Mutations at the Thymidine Kinase Locus in Mouse Lymphoma L5178Y Cells using a Fluctuation Assay		**Test Article:**	Hydrogel polymer - acetone extract
Test for Induction of:	Mutations at the tk locus	**No. of Independent Assays:**	Not known	**Study No.** 530/15
Strains:	Mouse lymphoma L5178Y	**No. of Replicate Cultures:**	2	**Location in CTD:** [4.2.3.3.1-11]
Metabolizing System:	Rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:**	Not known	
Vehicles: For Test Article: Acetone **For positive Controls:** DMSO				**GLP Compliance:** Yes
Treatment:	(1) 2 days: 625, 1250, 2500, 5000 µg/mL (2) 2 days: 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL			**Date of Treatment:** 5[redacted] 19[redacted]
Cytotoxic Effects:	None			
Genotoxic Effects:	The test article failed to fulfil the criteria for a mutagenic compound, therefore no data are presented			

2.6.7.8 がん原性試験

該当なし。

2.6.7.9 生殖発生毒性試験

2.6.7.9.1 PGE_2

2.6.7.9.1.1 ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の周産期経腟投与によ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

Report Title:	Study of Peri-natal Intravaginal Administration to Rats on Pre- and Post-natal Development and Maternal Function with [redacted]-63			**Test Article:**	PGE_2
Design similar to ICH 4.1.2	S5A, S5B	**Duration of Dosing:**	Day 17 of gestation until delivery		**Study No.** R-688
Species/Strain:	Sprague-Dawley CD Rat	**Day of Mating:**	Day 0		**Location in CTD:** [4.2.3.5.3-1]
Initial Age:	10 weeks	**Method of Administration:**	Intravaginal		
Date of First Dose:	12[redacted] 19[redacted]	**Vehicle/Formulation:**	Pessary		**GLP Compliance:** Yes
Special Features:	None	**Litters Culled/Not Culled:**	> 8 per litter culled		

No Observed Adverse Effect Level:	
F_0 Females:	Non-toxic dose: 0.17 mg/rat/day
F_1 Males:	0.34 mg/rat/day
F_1 Females:	0.34 mg/rat/day

Daily Dose	**0 (Control)**	**0.08 mg/rat**	**0.17 mg/rat**	**0.34 mg/rat**
F_0 Females:				
No. Pregnant	21	19	20	18
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Res. of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight (mg)	402.9	405.8	405.0	401.3
Lactation Body Weight (mg [a])	313.5	322.6	323.4	315.3
Gestation Food Consumption (mg [a])	18.3	16.9	16.1	15.3
Lactation Food Consumption (mg [a])	71.1	71.2	71.3	74.9
Mean Duration of Gestation (days)	22.2	22.3	22.2	22.1
Abnormal Parturition	-	-	-	-

2.6.7.10.1.1　　ラットにおける PGE_2 含有ペッサリー製剤の周産期経腟投与によ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（続き）

Daily Dose		0 (Control)	0.08 mg/rat	0.17 mg/rat	0.34 mg/rat
F_1 Litters: (Preweaning)	**No. Litters Evaluated**	21	19	19	18
	Mean No. of Implantations/Litters	16.1	16.4	15.8	16.4
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	14.1	12.1	12.7	13.6
	Stillborn Pups (%)	3.7	16.9	13.3	9.0
	Postnatal Survival to Day 4	12.0	10.6	11.3	12.4
	Postnatal Survival to Weaning	7.4	7.3	7.6	8.0
	No. of Total Litter Losses	0	0	1	0
	Change in Pup Body Weights (g) M Change in Pup Body Weights (g) F	47.6 45.8	48.5 46.9	47.3 45.9	48.9 46.3
	Pup Sex Ratios (M:F)	1.04	1.04	0.85	1.05
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-

a: At end of gestation or lactation. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
From weaning to mating.
At end of postweaning period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
* $p<0.05$　** $p<0.01$
- No noteworthy findings.　　+ Mild　　++ Moderate　　+++ Marked

2.6.7.9.2　　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

該当なし。

2.6.7.9.3　　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当なし。

2.6.7.10　　新生児を用いた試験

該当なし。

2.6.7.11 局所刺激性試験

2.6.7.11.1 PGE_2含有親水性ポリマー及び親水性ポリマーの局所刺激性試験

Test Article PGE_2 / Hydrogel polymer						
Species/ Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
PGE_2						
Japanese White Rabbits	Intravaginal	24 h exposure	2.5 mg/animal	Female 6 per group	PGE_2 slightly exacerbated the spontaneous and/or procedure-related findings of cellular infiltration and oedema in the rabbit vaginal mucosa	B-3893

2.6.7.11.2 ポリエステル製取り出し用ネットの局所刺激性試験

Polyester polymer						
Rabbit/NZW	Vaginal - saline extract of RSIII	Daily for 14 days	Extracts at 20 mL/60 cm^2 material - 1.0 mL/rabbit/ day	Female 6 per group	Minimal epithelial/sub-epithelial inflammation was observed in the cervix and/or vagina in a proportion of rabbits receiving both the test article and the saline control. No treatment- related adverse effects were therefore observed.	91318D/ COP 2/SE
Rabbit/NZW	Intracutaneous - saline, alcoholic saline, PEG 400 and cotton seed oil extracts of RSIII	Single dose	Extracts at 20 mL/60 cm^2 material injected at 0.2 mL/site (five sites)	2 per group Gender not stated	The reactions observed were identical to or very similar to those elicited by the respective control media, and therefore no treatment-related adverse effects were seen.	91139D/ COP 4/AC

2.6.7.12 その他の毒性試験

2.6.7.12.1 PGE_2含有親水性ポリマー及びポリエステル製取り出し用ネットに関するその他の毒性試験

Test Article PGE_2 / Polyester polymer						
Species/ Strain	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses**	**Gender and No. per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Polyester polymer						
Fresh heparinised human blood	*In vitro* - extracts of RS III prepared in saline	60 minute incubation	60 cm^2/20 mL saline extract	n/a	The very low Hb values for the test article were equivalent to those obtained with the negative control, and indicate a very low level of haemolysis.	91129D/ COP 6/AC
Rabbit/NZW	Intravaginal saline extract of RSIII	Single dose	60 cm^2/20 mL saline at 10 mL/kg	3 rabbits Gender not stated	The extract is not pyrogenic.	91158D/ COP 5/AC
Dunkin-Hartley Guinea Pig	Intradermal / topical (induction and challenge)	Induction on Days 1 and 8 - challenge 2 weeks later	Saline or liquid paraffin extracts of RSIII - 0.1 mL/site for induction, 0.2 mL/site for challenge	2 groups of 10 and 2 groups of 20 Gender not stated	The retrieval system did not produce any evidence of skin sensitisation or delayed contact hypersensitivity.	91222D/ COP 7/SS
MRC-5 fetal human lung fibroblasts (ATCC CCL171)	*In vitro* - eluate of RSIII in growth medium	24 h incubation	6.0, 3.0, 1.5, 0.75, 0.38 cm^2/mL	n/a	The neat eluate was non-cytotoxic	COP9/ 91244
Product, Hydrogel polymer and Polyester polymer - Toxic Shock Screening Study (PGE_2含有親水性ポリマーの毒素性ショックスクリーニング試験)						
S. aureus	*In vitro* - incubation with *S aureus* cultures	24 h	Performed on pessary, pessary without retrieval system, placebo pessary and retrieval system alone	n/a	The production of TSST-1 by S. aureus was the same as the control, within the limits of the experiment, for all test substances. The pessary product should have no capacity to enhance the risk of the user acquiring TSS.	Prof [redacted], [redacted], [redacted] 19[redacted]

n/a: No applicable