ジムソ膀胱内注入液 50%

(ジメチルスルホキシド)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.1　緒言

杏林製薬株式会社

2.6.1.1 緒言

KRP-116D (以下、本剤)は 50% (w/w)のジメチルスルホキシド(DMSO)を含む膀胱内注入液である。

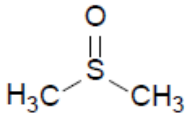
50% (w/w)DMSO 製剤は、米国では 1978 年に間質性膀胱炎治療薬として承認され、長年にわたり使用されており、カナダでの承認も取得している。

本邦では、第 11 回医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議において、医療上の必要性が高いと判断されたことを踏まえて開発企業の公募がなされ [1)]、杏林製薬株式会社が開発を担当することとなった。

一般名：INN　dimethyl sulfoxide
　　JAN　ジメチルスルホキシド(日本名)、Dimethyl Sulfoxide (英名)

化学名：(メチルスルフィニル)メタン(日本名)、(Methylsulfinyl) methane(英名)

構造式：



分子式：C_2H_6OS
分子量：78.13

間質性膀胱炎は膀胱内の慢性的な炎症に起因する疾患と考えられており、頻尿、尿意亢進、尿意切迫感、膀胱痛等の症状を呈し、これらの症状により患者の日常生活に支障を来たし、著しい QOL の低下を招く。

間質性膀胱炎の治療法として、間質性膀胱炎・膀胱痛症候群診療ガイドラインでは保存的治療、薬物治療、膀胱内注入療法、内視鏡的治療等が挙げられているが、確立された治療法は無く、本邦で保険適応を有する治療法は膀胱水圧拡張術のみである。一方、当該ガイドラインでは、DMSO の膀胱内注入療法は、有効性の根拠があり重大な副作用は少ない治療法として推奨グレード B (行うよう勧められる)に位置づけられている [2)]。また、米国泌尿器科学会のガイドラインでは第一選択の保存的治療に続く、第二選択の治療法に位置づけられ、間質性膀胱炎に対する治療効果が記載されている [3)]。

DMSO の作用機序は十分に解明されていないものの、主に抗炎症作用、鎮痛作用及び筋弛緩作用が示されており、これらが総合的に作用することが示唆されている [2)]。本剤の膀胱内注入により疾患部位である膀胱内壁に DMSO が直接曝露され、これらの作用機序が総合的に関与することで、間質性膀胱炎の諸症状に対する治療効果を発揮すると考えられた。

本剤の効能・効果(案)及び用法・用量(案)は以下のとおりである。

効能・効果：
　間質性膀胱炎(ハンナ型)の諸症状(膀胱に関連する慢性の骨盤部の疼痛、圧迫感及び不快感、尿意亢進又は頻尿等の下部尿路症状)の改善

用法・用量：

通常、成人には 50%(w/w)ジメチルスルホキシド溶液を 1 回あたり 1 バイアル 50 mL(ジメチルスルホキシドとして 27 g)、2 週間間隔で 6 回膀胱内に注入する。なお、膀胱内注入後、可能な限り 15 分間以上膀胱内に保持してから排出させる。

2.6.1.2 参考文献

1) 未承認薬・適応外薬の開発企業の募集について．医政研発 0406 第 2 号、薬食審査発 0406 第 2 号、平成 24 年 4 月 6 日

2) 日本間質性膀胱炎研究会/日本泌尿器科学会編集．間質性膀胱炎・膀胱痛症候群診療ガイドライン．2019 年 4 月． [資料番号 4.3-1]

3) Hanno PM, Burks DA, Clemens JQ, Dmochowski RR, Erickson D, FitzGerald MP, et al. Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. American Urological Association Guideline. 2014. [資料番号 4.3-2]

ジムソ膀胱内注入液 50%

(ジメチルスルホキシド)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.2　薬理試験の概要文

杏林製薬株式会社

目次

略語及び専門用語一覧表 3
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 9
2.6.2.3 副次的薬理試験 12
2.6.2.4 安全性薬理試験 13
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 17
2.6.2.6 考察及び結論 17
2.6.2.7 図表 22

表一覧

表 2.6.2.1-1 薬理試験の一覧 5
表 2.6.2.4-1 安全性薬理試験一覧 13

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
APD_{90}	Action potential duration at 90% repolarization : 90%再分極時の活動電位持続時間
ATP	Adenosine 5'-triphosphate：アデノシン 5'-三リン酸
ACh	Acetylcholine：アセチルコリン
Ca^{2+}	Calcium ion：カルシウムイオン
CaM	Calmodulin：カルモジュリン
CCh	Carbachol：カルバコール
$CD4^+$ T 細胞	Cluster of differentiation 4 positive T cell：CD4 陽性 T 細胞
$CD8^+$ T 細胞	Cluster of differentiation 8 positive T cell：CD8 陽性 T 細胞
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C_{max}	Maximum observed drug concentration in blood：最高血漿中薬物濃度
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
E-4031	hERG チャネル阻害薬
FAERS	FDA adverse event reporting system：米国 FDA の有害事象自発報告システム
FDA	U.S. food and drug administration：米国食品医薬品局
ECG	Electrocardiogram：心電図
ED_{50}	Half maximal (50%) effective dose：50%有効用量
fMLP	Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine：ホルミルメチオニルロイシルフェニルアラニン
HEK293	Human embryonic kidney 293 cells：ヒト胎児腎臓由来細胞株
hERG	Human ether-a-go-go-related gene：ヒト急速活性型遅延整流性カリウムチャネル遺伝子
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1：細胞接着分子 1
IFN-γ	Interferon-gamma：インターフェロンγ
I_{CaL}	L type Ca^{2+} current：L 型カルシウム電流
I_{Cl}	Cl^- current：クロライド電流
I_K	Delayed-rectifier K^+ current：緩徐活性型遅延整流性カリウム電流
I_{K1}(in)	Inward current of inward-rectifier K^+ current：内向き整流性カリウム電流の内向き電流
I_{K1}(out)	Outward current of inward-rectifier K^+ current : 内向き整流性カリウム電流の外向き電流
IL-1β	Interleukin-1beta：インターロイキン 1β
IL-2	Interleukin-2：インターロイキン 2
IL-6	Interleukin-6：インターロイキン 6
IL-8	Interleukin-8：インターロイキン 8
I_{Na}	Na^+ current：ナトリウム電流
K^+	Potassium ion：カリウムイオン
KRP-116D	申請薬剤の開発コード、50% DMSO 膀胱内注入液

略語及び専門用語	用語の説明
LDH	Lactate dehydrogenase：乳酸脱水素酵素
LTB_4	Leukotriene B4：ロイコトリエン B4
MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1：単球走化性タンパク質-1
MLC	Myosin light chain：ミオシン軽鎖
MLCK	Myosin light chain kinase：ミオシン軽鎖キナーゼ
mRNA	Messenger ribonucleic acid：メッセンジャーRNA
MTT assay	3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay：細胞増殖・細胞死を測定する比色定量法
Na^+	Sodium ion：ナトリウムイオン
NF-κB	Nuclear factor-kappa B：核内因子 κB
NGF	Nerve growth factor：神経成長因子
OT-I	OVA 特異的 T 細胞受容体
OVA	Ovalbumin：卵白アルブミン
PBS	Phosphate-buffered saline：リン酸緩衝食塩水
PR	PR interval on ECG：心電図の PR 間隔
PTZ	Pentylenetetrazol：ペンチレンテトラゾール
QRS	QRS complex on ECG：心電図の QRS 波間隔
SD 系ラット	Sprague Dawley 系ラット
ST	ST segment on ECG:心電図の S 波終末点(J 点)から T 波開始点までの平坦、等荷な部分
テルフェナジン	hERG チャネル阻害作用を有する抗ヒスタミン薬
t_{max}	Time to maximum observed drug concentrations in blood：最高血漿中薬物濃度到達時間
TNF-α	Tumor necrosis factor-alpha：腫瘍壊死因子 α
URO-OVA	OVA 抗原発現膀胱上皮
V_{max}	Maximum rate of rise：活動電位最大立ち上がり速度

単位換算：DMSO の比重を 1.1(水の密度は 1 g/cm^3)として算出

2.6.2.1　まとめ

ジメチルスルホキシド(DMSO)の非臨床薬理試験成績は全て公表された科学・医学論文などから引用し評価した。安全性薬理試験については、全て非 GLP 適用試験の論文を参考資料として評価に用いたが、効力を裏付ける試験、作用機序及び副次的薬理試験に使用した論文同様、DMSO に関連する総説等に引用されているものが多く、結果に矛盾はないことから信頼性が高いと考えられた。

50% DMSO は 1978 年に間質性膀胱炎の治療薬として FDA に承認されて以来、長期にわたってヒトへの投与が行われており、臨床公表論文を含めてヒトに関する情報が多数得られている。また、信頼性の高い公表論文を用いて評価していることから、新たに効力を裏付ける薬理試験及び安全性薬理試験を追加実施する必要はないと考えられた。なお、[redacted]については医薬品[redacted]相談([redacted])(受付番号：[redacted]、相談記録：1.13.2-1)で確認した。

DMSO の薬理学的特性を明らかにする目的で、以下の内容について評価した。

効力を裏付ける試験として、DMSO の膀胱処置又は臨床投与経路である膀胱内投与により得られた作用及び間質性膀胱炎モデル動物に対する作用について評価した。作用機序として抗炎症作用、鎮痛作用、筋弛緩作用及びコラーゲン分解作用について、また、副次的薬理試験として肥満細胞の脱顆粒作用及び膜透過性亢進作用について評価した。安全性薬理試験では中枢神経、心血管及び呼吸系について評価した。

以下、評価に用いた項目の一覧を表 2.6.2.1-1 に示す。

表 2.6.2.1-1 薬理試験の一覧 (1/2)

試験の種類	投与経路他	試験系	資料番号
効力を裏付ける試験	*in vitro*	ラット摘出膀胱標本を用いた電気刺激収縮に対する DMSO の作用	4.2.1.1-1
	in vitro	ブタ膀胱組織標本を用いた 50% DMSO 処置による影響	4.2.1.1-2
	in vivo (膀胱内投与)	ラット硫酸プロタミン誘発間質性膀胱炎モデルに対する作用	4.2.1.1-3
	in vivo (膀胱内投与)	自己免疫性膀胱炎マウスに対する作用	4.2.1.1-4
	in vivo (膀胱内投与)	膀胱拡張誘発侵害反応に対する DMSO 膀胱内投与による作用	4.2.1.1-5
作用機序	*in vitro*、*ex vivo* 及び *in vivo* (腹腔内投与)	抗炎症作用	4.2.1.1-6 4.2.1.1-7 4.2.1.1-8 4.2.1.1-9 4.2.1.1-10
	ex vivo 及び *in vivo* (浸漬投与、腹腔内投与、静脈内投与)	鎮痛作用	4.2.1.1-11 4.2.1.1-12 4.2.1.1-13

表 2.6.2.1-1 薬理試験の一覧 (2/2)

試験の種類	投与経路他	試験系	資料番号
作用機序	*in vitro*	筋弛緩作用	4.2.1.1-14
	in vitro 及び *in vivo* (経皮、浸漬及び皮下投与)	コラーゲン分解作用	4.2.1.1-15 4.2.1.1-16 4.2.1.1-17 4.2.1.1-18
副次的薬理試験	*in vivo* (皮内投与)	肥満細胞の脱顆粒促進作用	4.2.1.2-1
	in vitro	膜透過性亢進作用	4.2.1.2-2 4.2.1.2-3 4.2.1.2-4
安全性薬理試験	中枢神経系		
	in vivo (経口､腹腔内、皮下、脳室内投与)	マウスを用いた中枢神経系に対する影響	4.2.1.3-1 4.2.1.3-2 4.2.1.3-3 4.2.1.3-4 4.2.1.3-5
	in vivo (経口、腹腔内投与)	ラットを用いた中枢神経系に対する影響	4.2.1.3-6 4.2.1.3-7 4.2.1.3-8
	心血管系		
	in vitro	hERG 電流に対する作用	4.2.1.3-9
		モルモットを用いた活動電位及び各種電流に対する作用	4.2.1.3-10
	in vivo (腹腔内投与)	覚醒マウスを用いたテレメトリー試験	4.2.1.3-11
	in vivo (経口、経皮、静脈内投与)	アカゲザルを用いた心血管系に対する影響	4.2.3.2-3 4.2.1.3-12
	呼吸系		
	in vivo (腹腔内投与)	覚醒マウスを用いたプレチスモグラフ試験	4.2.1.3-13
	in vivo (静脈内投与)	アカゲザルを用いた呼吸系に対する影響	4.2.1.3-14 4.2.1.3-12

2.6.2.1.1 薬効薬理試験

2.6.2.1.1.1 効力を裏付ける試験(*in vitro*)

ラット摘出膀胱標本に DMSO を 7 分間処置し洗浄後の電気刺激による収縮において、30%及び 35% DMSO は可逆的な収縮抑制作用を示したが、40%及び 50% DMSO では収縮を完全に抑制し、回復しなかった。

ブタの摘出膀胱標本の管腔表面に 50% DMSO を 15 分間処置したところ、処置中の溶液に ATP 及び ACh の強い遊離が観察されたが、洗浄後の溶液には観察されなかった。また、DMSO 処置中の溶液には LDH の遊離も観察された。15 分間 50% DMSO で事前処置した排尿筋、尿路上皮/粘膜固有層及びこれらを分割していない膀胱(intact)標本では KCl 及び ATP の収縮反応に、また、排尿筋標本では CCh 収縮反応にも影響しなかったが、尿路上皮/粘膜固有層及び intact 標本における CCh 収縮は最大収縮を増強させ、排尿筋標本では DMSO 処置後の電気刺激による収縮を頻度依存的かつ有意に増強した。

2.6.2.1.1.2 効力を裏付ける試験(*in vivo*)

ラット硫酸プロタミン誘発間質性膀胱炎モデルにおいて、膀胱内に投与した 50% DMSO (200 μL、30 分間保持)は膀胱組織の浮腫及び血管充血スコアの増加を抑制し、多形核白血球数及びリンパ単核球数を有意に減少させ、好中球数を減少させた。

OT-I トランスジェニックマウスの脾臓細胞に *in vitro* で OVA 刺激を加えて活性化させた T 細胞を自己免疫性膀胱炎症 URO-OVA トランスジェニックマウスに移入して作製した急性膀胱炎症モデルにおいて、50% DMSO の膀胱内投与(50 μL、1 時間保持、膀胱内投与は細胞移入 1 日後、4 日後及び 7 日後に実施)は膀胱組織への $CD8^+$T 細胞浸潤、浮腫及び充血などの炎症を抑制し、膀胱組織の IFN-γ、MCP-1、NGF、TNF-α 及び IL-6 の mRNA 増加を抑制した。10 週齢以上で膀胱炎症が自然発症する自己免疫性膀胱炎症 URO-OVA/OT-I トランスジェニックマウスを用いた慢性膀胱炎症モデルにおいて、50% DMSO の膀胱内投与(50 μL、1 時間保持、1 回/週、3 週間)は膀胱組織の炎症スコアの増加を抑制した。慢性膀胱炎症マウスにナイーブ T 細胞を移入して生じる重篤な急性膀胱炎症は、DMSO の最終処置 7 日後に移入しても観察されなかった。また、*in vitro* で DMSO はエフェクターT 細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを増加させた。

除脳したラットにおいて、膀胱内投与した 50% DMSO (0.5 mL、30 分間保持)は膀胱拡張により得られた脊髄後角ニューロンの活動増大を抑制した。

2.6.2.1.1.3 作用機序

0.5%及び 1% DMSO はヒト軟骨細胞株で IL-6 及び IL-8 産生を抑制した。ヒト末梢血単核球で 1%及び 2% DMSO はリンパ球の増殖を抑制し、5%及び 10% DMSO は総リンパ球、$CD4^+$及び $CD8^+$ リンパ球による IL-2、IFN-γ 及び TNF-α の産生を抑制した。140 mmol/L DMSO は化学誘引物質(fMLP 及び LTB_4)刺激によるラット白血球接着を抑制し、ザイモサン活性化血清刺激によるヒト白血球の遊走を抑制した。また、ラット敗血症モデルで腹腔内投与した 6.6 g/kg DMSO は血清中 TNF-α 量、肝臓中 ICAM-1 mRNA の発現及び NF-κB 結合活性を抑制した。

ラットを用いたホットプレート法及びテールフリック法における侵害刺激に対し、DMSO は浸漬投与、5.5 g/kg 腹腔内投与及び静脈内投与において鎮痛作用を示した。麻酔ネコの腓腹神経を用いた C 線維の神経活動に対する検討で、9%～50% DMSO は活動電位の振幅を、5%～10% DMSO は神経伝導速度を減少させた。ネコの橈骨神経を用いた C 線維及び Aδ 線維への検討で、75% DMSO は C 線維及び Aδ 線維の神経伝導を完全に抑制した。

ウサギ摘出排尿筋標本を用いたメカニズムの検討で、DMSO は細胞内 Ca^{2+}濃度に影響すること

なく高 K^+及び CCh による膀胱の収縮を抑制した。また、DMSO は無細胞評価系において、Ca^{2+}及び CaM 存在下の MLC リン酸化反応を有意に抑制した。

2.6.2.1.1.4 副次的薬理試験

肥満細胞の脱顆粒促進作用の検討において、モルモットの耳介に皮内投与した 100% DMSO は、耳介の有意な肥厚及び重量増加を示した。

膜透過性亢進作用の検討において、DMSO は膜を薄くし疎水性中心の流動性を増加させ、脂質二重膜の端で親水性頭部が疎水性尾部を保護し、一過性に水分子の導管を作製して、水分子の膜内への透過性を亢進させた。

2.6.2.1.2 安全性薬理試験

中枢神経系作用に関して、マウスでは 2.5 g/kg 以上の DMSO の単回腹腔内投与又は 11.0 g/kg の単回経口投与により自発運動の減少が、1.25 g/kg 以上の単回腹腔内投与によりヘキソバルビタール誘発睡眠時間の延長が観察され、さらに 1.25 g/kg 以上の単回経口投与により PTZ 誘発強直性痙攣閾値低下・死亡までの時間短縮が観察された。ラットでは 0.4 g/kg/日以上の DMSO の 10 日間反復腹腔内投与で一般行動及び握力に影響しなかったが、アロデニアが観察された。また、6 g/kg の単回腹腔内投与で体温低下が、0.8 g/kg 以上の単回腹腔内投与で睡眠に対して浅い眠りの延長及び深い眠りの短縮が観察された。

2% DMSO は hERG 電流に対するテルフェナジン及び E-4031 の電流抑制作用を増強しなかった。モルモット乳頭筋の活動電位及び単一心室筋細胞のイオン電流に対しそれぞれ DMSO の 1%～10%及び 0.1%～10%濃度で影響が観察され、10% DMSO では活動電位の持続時間を延長し、V_{max}を減少させ、振幅を増大させ、I_Kを顕著に抑制し、Na^+ポンプ電流、I_{Na}及び I_{Cl}を中程度抑制した。

心血管及び呼吸系作用に関して、マウスに 2.5 g/kg/日の DMSO を反復腹腔内投与(5 日/週、3 週間)、アカゲザルに 8.9 g/kg/日を反復経口投与(朝夕 2 回に分けて 7 日/週、18 箇月)又は 8.9 g/kg/日を皮膚に反復塗布投与(朝夕 2 回に分けて 7 日/週、18 箇月)しても、血圧、心拍数、呼吸数及び ECG パラメータに影響を与えなかったが、マウスに 5 g/kg/日を反復腹腔内投与(5 日/週、3 週間)した場合には、徐脈及び不整脈が観察された。

アカゲザルに 2 g/kg の DMSO を単回静脈内投与した場合、呼吸数は増加したが、毎分換気量は投与 1 分後に一過性に減少し、投与 3 分後には増加が観察された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

「間質性膀胱炎･膀胱痛症候群診療ガイドライン」[1]及び総説[2]によると、DMSO は抗炎症、鎮痛、筋弛緩、コラーゲンの分解及び肥満細胞の脱顆粒などの作用を有するが、その作用機序は十分に解明されていないと示されている。

本項では、DMSO の膀胱処置又は臨床投与経路である膀胱内投与で得られた作用及び間質性膀胱炎モデル動物に対する作用並びに DMSO の作用機序と推察されている抗炎症、鎮痛、筋弛緩及びコラーゲン分解作用について示した。

2.6.2.2.1 効力を裏付ける試験(*in vitro*)

2.6.2.2.1.1 ラット摘出膀胱標本を用いた電気刺激収縮に対する DMSO の作用[3]

雄性 SD ラット(約 250 g)より膀胱を摘出後、Krebs-Henseleit 溶液を含むバスに懸垂し、フィールド電気刺激により収縮を取得した。膀胱組織を DMSO 溶液中(最終濃度 25%～50%)で 7 分間処置し、Krebs-Henseleit 溶液で洗浄した 7 分後から繰り返しフィールド電気刺激を行い DMSO 添加前後のベース収縮及び収縮高を比較した。30% DMSO 処置した標本では 120 mmol/L KCl(高 K^+)及び 5×10^{-6} mol/L ACh における収縮も DMSO の洗浄 7 分後に添加し検討した。膀胱のコンプライアンス(標本の長さと張力を解析)は 30%及び 50% DMSO 処置で検討した。

その結果、25% DMSO は収縮に影響しなかった。30% DMSO では処置初期に収縮の減少(処置前の 40%)が認められたが、30 分以内にほぼ完全な回復を示した。35% DMSO は収縮を抑制したが、洗浄後 1 時間以内に最初の収縮の 50%まで回復した。40%及び 50% DMSO では収縮は完全に抑制され、洗浄 1 時間後も回復しなかった。30% DMSO 処置後の高 K^+及び ACh による収縮も DMSO 処置前の収縮力に比較して、それぞれ 39%及び 78%に抑制した。摘出標本における膀胱のコンプライアンスは未処置と比較して 30%及び 50% DMSO 処置により 2.4 倍及び 4.6 倍低下した。

2.6.2.2.1.2 ブタ膀胱組織標本を用いた 50% DMSO 処置による影響[4]

ブタの摘出膀胱標本を用いて管腔表面に 50% DMSO を処置することで、臨床投与経路である膀胱内投与と同様な状態を作製し DMSO の膀胱における影響を検討した。

ブタ(6 箇月齢)の摘出膀胱標本の管腔表面に 50% DMSO を 15 分間処置したところ、この処置中の溶液には有意な ATP 及び ACh の強い遊離が観察されたが、洗浄後の溶液には観察されなかった。また、DMSO 処置中の溶液には LDH の遊離も観察された。

15 分間 50% DMSO で事前に処置した排尿筋、尿路上皮/粘膜固有層及びそれらを分割していない膀胱(intact)標本では KCl 及び ATP の収縮反応に、また、排尿筋標本では CCh の反応にも影響しなかったが、尿路上皮/粘膜固有層及び intact 標本における CCh 収縮は、DMSO 無処置の control 群の標本に比較して最大収縮を増強させた。排尿筋標本では DMSO 処置後の電気刺激(5、10 及び 20 Hz)において頻度依存的かつ有意な収縮の増強が観察された。

DMSO 処置中の溶液に LDH も観察されたことから、DMSO は ATP 及び ACh 遊離を増強するのではなく、膀胱上皮膜を透過してこれらメディエーターを含む細胞質成分を漏出させた可能性が考えられた。

2.6.2.2.2 効力を裏付ける試験(*in vivo*)

2.6.2.2.2.1 間質性膀胱炎モデル動物に対する作用

2.6.2.2.2.1.1 ラット硫酸プロタミン誘発間質性膀胱炎モデルに対する作用[5]

ラットを用いて膀胱上皮のバリア機能を傷害する硫酸プロタミン誘発間質性膀胱炎モデルを作製し、膀胱内投与した 50% DMSO による抗炎症作用を検討した。

キシラジン-ケタミン麻酔下、雌性 Wistar ラット(180～200 g、各群 5 例)に尿道カニューレを留置した。硫酸プロタミンの 10 mg/200 µL 溶液を膀胱内に投与し、30 分間保持した後、カニューレから排出させた。200 µL の生理食塩水で膀胱内を洗浄後、麻酔から回復させた。硫酸プロタミン処置 6 時間後に 50% DMSO 200 µL を膀胱内投与し 30 分間保持した。Control 群には生理食塩水を膀胱内投与した。硫酸プロタミン投与 1 日後及び 7 日後に膀胱組織標本を作製し、浮腫及び血管充血スコアによる評価と炎症部位の多形核白血球数、肥満細胞数及びリンパ単核球数を計測した。また、1 日後と 7 日後の 24 時間の尿を採取した。

その結果、硫酸プロタミン投与 1 日後及び 7 日後に認められた膀胱組織の浮腫及び血管充血スコアの増加を 50% DMSO は有意に抑制した。また、硫酸プロタミン投与 1 日後に増加した多形核白血球数及びリンパ単核球数を 50% DMSO は有意に減少させ、硫酸プロタミン処置で増加した尿中ヒアルロン酸量を有意に減少させた。組織学的検討では、DMSO 投与により好中球数減少が観察された。

2.6.2.2.2.1.2 自己免疫性膀胱炎症マウスに対する作用 [6)]

自己免疫性膀胱炎症トランスジェニックマウス(急性膀胱炎症マウス(URO-OVA マウス)及び慢性膀胱炎症マウス(URO-OVA/OT-I マウス)、各群 4-5 例)を用いて DMSO の抗炎症作用を検討した。

2.6.2.2.2.1.2.1 急性膀胱炎症マウス [6)]

急性膀胱炎症モデルは OT-I マウスから摘出した脾臓細胞を *in vitro* で OVA 刺激して T 細胞を活性化させ、URO-OVA マウスに静脈内投与により細胞移入して作製した。キシラジン-ケタミン麻酔下のマウスに尿道カニューレを介して 50% DMSO を 50 µL 膀胱内投与し、1 時間保持した。Control 群には PBS を膀胱内投与した。

急性膀胱炎症モデルにおける炎症のピークは 7～14 日である。DMSO の膀胱内投与は細胞を移入した 1 日後、4 日後及び 7 日後に実施し、10 日後に HE 染色で膀胱の組織学的評価を行い、$CD8^+$ T 細胞数をフローサイトメーターで評価し、炎症関連因子の mRNA を RT-PCR で評価した。膀胱の組織学的評価は炎症スコアを用いて、1+；軽度炎症で浮腫なし又は軽度な浮腫あり、2+；中程度の炎症で中程度の浮腫あり、3+；中程度から重度炎症で重度浮腫ありと評価した。

その結果、急性膀胱炎症を生じた URO-OVA マウスの膀胱組織学的評価における control 群のスコアは 3+を示したが、DMSO の投与により細胞浸潤、浮腫及び充血がスコア< 1+に減少した。また、膀胱炎症組織の $CD8^+$ T 細胞の浸潤を DMSO は有意に抑制し、この膀胱炎症組織における IFN-γ、MCP-1、NGF、TNF-α 及び IL-6 の mRNA 増加を抑制した。

2.6.2.2.2.1.2.2 慢性膀胱炎症マウス [6)]

慢性膀胱炎症モデルとして、10 週齢以上で膀胱炎症が自然発症する URO-OVA/OT-I マウスを用いた。キシラジン-ケタミン麻酔下のマウスに尿道カニューレを介して 50% DMSO を 50 µL 膀胱内投与し、1 時間保持した。Control 群には PBS を膀胱内投与した。10 週齢より DMSO 処置を 1 回/週、3 週間行い、最後の処置の 3 日後に膀胱組織標本を作製し、HE 染色で炎症スコアによる組織学的評価を行った。また、DMSO が内因性エフェクターT 細胞に対し、膀胱内で影響する可能性を検討するため 5×10^6 個のナイーブ OT-1 脾臓細胞を DMSO 最終処置 7 日後に移入し、その 3 日後に組織学的評価を行った。さらに、DMSO が直接 OT-I 脾臓組織由来のエフェクターT 細胞に影響するかを検討するために、*in vitro* で DMSO 濃度 1.563%～75%におけるエフェクターT 細胞の増殖及びアポトーシスに対する作用をそれぞれ 24 時間及び 2 時間 DMSO とインキュベートすることにより評価した。細胞増殖は MTT assay により、また、アポトーシスはアネキシン V 及

びヨウ化プロピジウムのダブル染色でフローサイトメトリーを用いて評価した。

その結果、慢性膀胱炎症マウスの膀胱組織学的評価において、control 群は炎症スコア 2+を示したが、DMSO 群の膀胱では評価を実施した 4 週目の炎症スコアは< 1+であり、4 週間にわたって作用を保持した。また、慢性膀胱炎症マウスにナイーブ T 細胞を移入すると control 群の膀胱組織では、より重篤な急性膀胱炎症を示し炎症スコア 3+が観察されたが、DMSO 群の膀胱組織の炎症スコアは 1+が観察されるのみであった。

In vitro で OT-I 脾臓組織由来のエフェクターT 細胞の増殖を 1.563%～75% DMSO は有意に抑制し、50%濃度で最大抑制作用を示した。また、エフェクターT 細胞のアポトーシスは control 群 7.2%に比較して 1.563%～25%の DMSO は濃度依存的に 21.2%～71%に増加させた。

2.6.2.2.2.2 膀胱拡張誘発侵害反応に対する DMSO 膀胱内投与による作用 [7)]

ラットを用いて膀胱拡張による脊髄後角ニューロンの活動(侵害反応)に対する 10%及び 50% DMSO の膀胱内投与による作用を検討した。

除脳した雌性 SD ラット(250～300 g、各群 11-13 例)を用いて膀胱拡張(20～80 mmHg、20 sec)により得られた脊髄後角ニューロンの活動増加に対する 10%及び 50% DMSO 膀胱内投与による作用を、投与 2 時間後に脊髄に配置した電極により細胞外単一ユニット記録法で測定した。DMSO は膀胱に留置した経尿道カニューレより 0.5 mL を投与し、30 分間保持した後、膀胱内(経尿道)カニューレより自然に排泄させた。また、比較のために頭皮に 50% DMSO を 0.5 mL 皮下投与した。

その結果、膀胱拡張による神経活動の増大に対し 10% DMSO はいずれの拡張圧においても影響しなかったが、50% DMSO では 60 及び 80 mmHg の拡張圧において有意な抑制作用を示した。また、頭皮に皮下投与した DMSO は膀胱拡張による神経活動の増大に影響を与えなかった。

2.6.2.2.3 作用機序

2.6.2.2.3.1 抗炎症作用

ヒト軟骨細胞株 C-28/I2 において、0.5%及び 1% DMSO は培養上清中の IL-6 及び IL-8 産生量、並びに DMSO 存在下の IL-1β 刺激による IL-6 及び IL-8 産生量を濃度依存的かつ有意に抑制した [8)]。

ヒト末梢血単核球において、1%及び 2% DMSO はリンパ球の増殖を濃度依存的に抑制し、2.5%～10% DMSO は総リンパ球、CD^{4+}及び CD^{8+}リンパ球による IL-2 産生を、5%及び 10% DMSO は IFN-γ 産生及び TNF-α 産生を濃度依存的かつ有意に抑制した [9)]。DMSO は活性化リンパ球数を減少させることにより抗炎症作用を生じるものと考えられた。

ラットの遠位結腸を用いた消化管微小循環において、2.5～140 mmol/L DMSO (140 mmol/L は 1%に相当)は fMLP 刺激による白血球接着を濃度依存的かつ有意に抑制した。同様に、14 mmol/L DMSO は LTB_4 刺激による白血球接着を有意に抑制した [10)]。また、1.4～280 mmol/L DMSO はザイモサン活性化血清刺激によるヒト白血球遊走を濃度依存的かつ有意に抑制した [11)]。

ラット敗血症モデル(各群 5 例)において、100% DMSO (6 mL/kg、腹腔内投与：6.6 g/kg)は血清中 TNF-α 量、肝臓中 ICAM-1 mRNA 発現及び NF-κB 結合活性を有意に低下させた [12)]。

DMSO の抗炎症作用には上記因子への作用が関与していると考えられた。

2.6.2.2.3.2 鎮痛作用

ラット(各群 4-40 例)を用いたホットプレート法及びテールフリック法における侵害刺激に対し、DMSO は局所投与(ラットの四肢を浸漬)、5.5 g/kg の腹腔内投与及び静脈内投与において鎮痛作用

を示した[13]。DMSO の鎮痛作用はナロキソンで抑制されないことから、内因性オピオイド系を介した作用ではないと考えられた。

麻酔ネコの腓腹神経を用いた C 線維(一次侵害受容ニューロン、無髄神経線維)の神経活動に対する検討で、9%～50% DMSO は活動電位の振幅を減少させた。また、DMSO は一過性であるが、自発的な活動電位の発火を生じさせた。神経活動波形の潜時を 5%～10% DMSO は有意に延長し、神経伝導速度を減少させた[14]。また、ネコの橈骨神経を用いた C 線維及び Aδ 線維(一次侵害受容ニューロン、有髄神経線維)への検討で、75% DMSO は C 線維及び Aδ 線維の神経伝導を完全に抑制した[15]。これらのことから DMSO の鎮痛作用には末梢神経活動の抑制が関与すると考えられた。

2.6.2.2.3.3 筋弛緩作用[16]

ウサギ摘出排尿筋標本(膀胱粘膜上皮を物理的に除去)で 10% DMSO は 60 mmol/L K^+又は 10 μmol/L CCh の収縮に対し有意な抑制作用を示したが、細胞内 Ca^{2+}濃度には影響しなかった。また、排尿筋組織を用いた 60 mmol/L K^+又は CCh 刺激による MLC リン酸化の増加を DMSO は有意に抑制した。無細胞評価系で Ca^{2+}及び CaM 存在下の MLC リン酸化反応条件下において、DMSO はこのリン酸化を有意に抑制したが、Ca^{2+}及び CaM を除き活性化 MLCK を用いた反応は抑制しなかった。すなわち、DMSO は MLCK を直接抑制するのではなく、Ca^{2+}-CaM を介した MLCK の活性化を抑制することが示唆された。

2.6.2.2.3.4 コラーゲン分解作用

ウサギの皮膚断片に 100% DMSO を添加した検討で、DMSO 添加 24 時間後のコラーゲン量は添加前に比較して有意な減少を示した[17]。

強皮症患者において DMSO を塗布投与前及び投与後の皮膚生検の標本観察で、DMSO 投与によるコラーゲン分解作用が認められたが、弾性線維に影響はなかった[18]。また、強皮症患者に DMSO を局所投与(塗布、浸漬及び皮下投与)すると尿中にヒドロキシプロリン(コラーゲン分解物)の増加が確認された[19]。DMSO を塗布及び浸漬投与したヒトケロイド皮膚の生検で組織学的改善が観察された[20]。

2.6.2.3 副次的薬理試験

本項では DMSO が有する肥満細胞の脱顆粒及び膜透過性亢進作用について示した。

2.6.2.3.1 肥満細胞の脱顆粒促進作用[21]

モルモット(各群 10 例)に生理食塩水又は抗ヒスタミン薬を皮下投与した 30 分後、耳介に 100% DMSO 50 μL を皮内投与し、対側耳を無処置 control にした。耳介の肥厚及び重量は DMSO 投与 30 分後に測定した。DMSO 投与により有意な肥厚及び重量増加を示した。また、この増加は抗ヒスタミン薬により抑制され、組織学的検討により DMSO で肥満細胞の脱顆粒が観察された。

2.6.2.3.2 膜透過性亢進作用

DMSO は膜を薄くし疎水性中心の流動性を増加させ[22]、脂質二重膜の端で親水性頭部が疎水性尾部を保護し、一過性に水分子の導管を作製して、水分子の膜内へ透過性を亢進させると報告された[22),23)]。また、生体膜を用いた試験でも同現象が確認された[24)]。

2.6.2.4　安全性薬理試験

以下、評価に用いた試験項目の一覧を表 2.6.2.4-1 に示す。

表 2.6.2.4-1 安全性薬理試験一覧 (1/3)

試験の種類		動物種 (系統)	性 動物数/ 群	投与量 [換算量 g/kg] (投与経路)	主な結果	文献 番号
中枢神経系	自発運動量	マウス (CD2F1)	雄 8-12 匹	1%[0.1]、2%[0.2]、 4%[0.4]、8%[0.9]、 16%[1.8]、32%[3.5]、 64%[7.0] (腹腔内投与)	3.5 g/kg：移動距離抑制(投与後 10-75 分) 7.0 g/kg：移動距離抑制(投与後 5 分～6 時間) ED_{50}(投与後 1 時間)：27.0%(3.0 g/kg) ED_{50}(投与後 2 時間)：32.3%(3.6 g/kg)	25
		マウス (CD1)	雄 7 匹	100% DMSO 10 mL/kg [11.0] (経口投与) 100% DMSO 5 µL[5.5 mg]/マウス (脳室内投与) 25% DMSO 20 µL[5.5 mg]/後肢 100% DMSO 20 µL[22 mg]/後肢 (皮下投与)	経口投与 11.0 g/kg：立ち上がり数抑制(投与後 15～30 分) 脳室内投与 5.5 mg/マウス：立ち上がり数抑制(投与後 15～30 分)及び移動区画数抑制(投与後 5～30 分) 皮下投与 5.5 mg/後肢：影響なし 22 mg/後肢：影響なし	26
	回転かご式自発運動量	マウス (Swiss Webster)	雄 不明	1.25、2.5 及び 5 g/kg (腹腔内投与)	1.25 g/kg：影響なし 2.5 及び 5 g/kg：運動抑制	27
		マウス (不明)	不明 10 匹	5.5 g/kg (腹腔内投与)	5.5 g/kg：運動抑制	28
	ヘキソバルビタール誘発睡眠	マウス (Swiss Webster)	雄 不明	1.25、2.5 及び 5 g/kg (腹腔内投与) DMSO 投与 30 分後にヘキソバルビタール腹腔内投与	1.25、2.5 及び 5 g/kg：睡眠時間延長	27
	ペンチレンテトラゾール(PTZ)誘発痙攣	マウス (不明)	雄 12-140 匹	1.25、2.5、5、10 及び 20 g/kg (経口投与) DMSO 投与 30 分後に PTZ を尾静脈より持続静脈内投与	1.25、2.5、5、10 及び 20 g/kg：間代性痙攣の閾値に影響なし、強直性痙攣の閾値低下、死亡までの時間短縮	29
	脳波による睡眠/覚醒	ラット (Wistar)	雄 不明/群 合計 20 匹	5%[0.3]、10%[0.6]、 15%[0.8]及び 20%[1.1] (腹腔内投与)	0.3 及び 0.6 g/kg：影響なし 0.8 及び 1.1 g/kg：浅い眠り増加、深い眠り減少	30
	体温調節	ラット (SD)	雄 6-24 匹	0.5、2 及び 6 g/kg (腹腔内投与)	0.5 g/kg：影響なし 2 g/kg：O_2 消費量低下 6 g/kg：体温低下、O_2 消費量及び甲状腺機能の低下、呼吸商に影響なし	31
	一般行動・運動・感覚に対する試験	ラット (SD)	雄 7 匹	1.8%[0.2]、3.6%[0.4]及び 7.2%[0.8] (10 日間反復腹腔内投与)	0.2、0.4 及び 0.8 g/kg/日：一般行動、握力試験及び機械刺激疼痛試験 (paw pressure test)に影響なし 0.4 及び 0.8 g/kg/日：アロデニア誘発(投与 9 日目)	32

表 2.6.2.4-1 安全性薬理試験一覧 (2/3)

試験の種類		動物種 (系統)	性 動物数/群	投与量 [換算量 g/kg] (投与経路)	主な結果	文献 番号
心血管系	hERG 電流	hERG 発現 HEK293 細胞 *in vitro*	n=3-5	キネティクス評価：1% テルフェナジン及び E-4031 と併用試験：0.1%、0.3%、0.5%、1%及び 2%	1%：活性化曲線及び活性化曲線を陽性電位側にシフト テルフェナジンとの併用 0.1%～2%：影響なし E-4031 との併用 0.1%～1%：影響なし 2%：E-4031 の 3×10^{-9} mol/L 濃度のみ hERG 電流増加	33
	活動電位及び各種電流に対する作用	モルモット乳頭筋標本及び心室筋細胞 *in vitro*	雄 n=3-8	乳頭筋標本の活動電位に対する作用：0.3%、1%、3%、5%及び 10% 心室筋細胞のイオン電流に対する作用：0.1%、1%、5%及び 10%	1%： V_{max} 3%抑制、静止膜電位 1.2mV 過分極側シフト 3%：APD_{90} を 4%以上 15%未満延長、V_{max} 3%以上 14%未満抑制、静止膜電位 1.2 mV 以上 3.1mV 未満過分曲側にシフト 5%：APD_{90} を 15%延長、V_{max} を 3%以上 14%未満抑制、静止膜電位 3.1mV 過分曲側にシフト 10%：APD_{90} を 33%延長、V_{max}14%抑制、静止膜電位 4.5mV 過分極側にシフト、振幅を 3～5mV 増加 0.1%：I_K を 9%抑制 1%：I_{Cl} を 8%抑制、I_K を 23%抑制 5%：I_{CaL} 及び I_{K1}(in)をわずかに抑制、I_{K1}(out)を 10%増加、I_{Na} を 21%抑制、I_{Cl} を 15%抑制、 I_K を 56%抑制、細胞容積量 9%減少 10%：I_{CaL} 及び I_{K1}(in)を 10%及び 16%抑制、 I_{K1}(out)を 17%増加、Na^+ポンプ電流 42%抑制、I_{Na} を 40%抑制、I_{Cl} を 24%抑制、I_K を 78%抑制、細胞容積量 13%減少	34
	覚醒マウステレメトリー	マウス (Balb/c)	雄 3-5 匹	50%[2.5]、100%[5.0] (5 日/週、腹腔内投与、3 週間)	2.5 g/kg/日：行動及び ECG に影響なし 5.0 g/kg/日：ST 間隔の増加、QRS 及び PR セグメントの波形形状に変化示すが、心拍数に影響なし 但し、心拍数が突然低下した動物は翌日死亡	35
	アカゲザル心血管系	アカゲザル	経口対照群： 雄 1 雌 2 塗布対照群： 雄 2 雌 1 DMSO 投与群： 雄 3 雌 3	90%(0、1、3 及び 9 mL/kg)[1.0、3.0 及び 8.9] (朝夕 2 回に分けて胃内投与又は腹部全体の皮膚に塗布、反復投与 18 箇月) 測定日：1、4、7、12、24、37、51 及び 73 週後	1.0、3.0 及び 8.9 g/kg/日：平均収縮期血圧、心拍数、呼吸数、体温、48 時間飲水量、神経反射及び ECG に影響なし	CTD 2.6.6.3.4

表 2.6.2.4-1 安全性薬理試験一覧 (3/3)

試験の種類		動物種 (系統)	性 動物数/群	投与量 [換算量 g/kg] (投与経路)	主な結果	文献番号
心血管及び呼吸系	アカゲザル反復毒性試験	アカゲザル	雄 1-4 頭	40%[2.0 及び 3.0] (9 日間反復静脈内投与)	2.0 及び 3.0 g/kg/日：呼吸数増加、心拍数に影響なし	36
呼吸系	覚醒マウスプレチスモグラフ	マウス (C57BL/6)	雄 7 匹	1 時間間隔で累積用量 0.5、1.5、3.5、7.5 及び 15.5 g/kg を累積腹腔内投与	3.5 g/kg まで：呼吸機能に影響なし 7.5 g/kg 以上：正常酸素及び低酸素(7%O2 濃度)状態において呼吸不全	37
	アカゲザル呼吸系	アカゲザル	不明 2 頭	50%[2.0] (静脈内投与)	2.0 g/kg：投与 1 分後の呼吸数平均 16%増加時に毎分換気量を平均 54%に低下、投与 3 分後には呼吸数平均 49%増加と同時に毎分換気量を平均 295%に増加	38

2.6.2.4.1 中枢神経系

2.6.2.4.1.1 マウスを用いた中枢神経系に対する影響

マウスの自発運動に対する評価で DMSO (1%、2%、4%、8%、16%、32%及び 64%溶液を 10 mL/kg)を単回腹腔内投与した。32% (3.5 g/kg)及び 64% DMSO (7.0 g/kg)は有意な自発運動抑制作用を示し、その ED_{50} 値は投与 1 時間後で 27.0% (3.0 g/kg)、2 時間後では 32.3% (3.6 g/kg)であった [25]。100% DMSO (10 mL/kg、11.0 g/kg)の単回経口投与及び単回脳室内投与(5 µL (5.5 mg)/マウス)で自発運動抑制作用が観察された [26]。また、マウスの回転かごを用いた自発運動においても 2.5、5 及び 5.5 g/kg DMSO は単回腹腔内投与により有意な運動抑制作用を示した [27),28)]。

マウスのヘキソバルビタール(100 mg/kg 腹腔内投与)による睡眠時間を DMSO (1.25、2.5 及び 5 g/kg、単回腹腔内投与)は有意に延長し [27)]、PTZ (10 mg/mL を 0.2 mL/分で 180 秒間持続静脈内投与)誘発痙攣に対し DMSO (1.25、2.5、5、10 及び 20 g/kg、単回経口投与)は、間代性痙攣に影響することなく強直性痙攣の閾値低下及び死亡までの時間を有意に短縮させた [29)]。

ヘキソバルビタール誘発睡眠試験では、DMSO の腹腔内投与 30 分後にヘキソバルビタールを同じ腹腔内へ投与しており、得られた睡眠時間の延長作用には DMSO の膜透過性亢進作用が影響を与えた可能性も考えられた。

2.6.2.4.1.2 ラットを用いた中枢神経系に対する影響

ラットの脳波における睡眠/覚醒状態に対し 5%及び 10% DMSO (5 mL/kg、単回腹腔内投与、0.3 及び 0.6 g/kg)は影響しなかったが、15%及び 20% DMSO (0.8 及び 1.1 g/kg)は浅い眠りを有意に増加させ、深い眠りを有意に減少させた [30)]。ラットの体温に対し 21°C～25°C の環境下、0.5 及び 2 g/kg DMSO の単回腹腔内投与は影響しなかったが、6 g/kg DMSO では体温低下が確認された。2 g/kg DMSO では O_2 消費量低下が、さらに、6 g/kg DMSO では O_2 消費量及び甲状腺機能の低下も観察されたが、呼吸商には影響しなかった [31)]。また、10 日間反復腹腔内投与において 1.8%、3.6% 及び 7.2% DMSO (10 mL/kg/日、0.2、0.4 及び 0.8 g/kg/日)はラットの一般行動及び握力に影響しなかったが、3.6%以上でアロデニア(von Frey test；投与 9 日目の試験)が観察された [32)]。

2.6.2.4.2 心血管系

2.6.2.4.2.1 *In vitro*

2.6.2.4.2.1.1 hERG 電流に対する作用 [33)]

hERG チャネルを安定発現させた HEK293 細胞を用いて測定した hERG 電流に対し、溶液の浸透圧変化の影響を除いた試験系において 1% DMSO は hERG 電流の活性化曲線及び不活性化曲線を陽性電位側にシフトさせ、電流電圧曲線をわずかに増加させた。0.1%～2% DMSO はテルフェナジンの hERG 電流抑制における濃度作用曲線にほとんど影響を与えなかった。一方、2% DMSO は E-4031 の 3×10^{-9} mol/L (hERG 電流にほとんど影響しない濃度)のみで有意な hERG 電流増加作用を示し、それ以上の E-4031 濃度における抑制には影響しなかった。

2.6.2.4.2.1.2 モルモットを用いた活動電位及び各種電流に対する作用 [34)]

モルモットの乳頭筋標本において、1%～10% DMSO は V_{max} を濃度依存的に抑制し(≦14%)、静止膜電位を濃度依存的に過分極側にシフトさせ(1% DMSO：1.2 mV、5% DMSO：3.1 mV、10% DMSO：4.5 mV)、3%～10% DMSO は活動電位持続時間 APD_{90} を濃度依存的に延長し(5% DMSO：15%、10% DMSO：33%)、10% DMSO は活動電位の振幅をわずかに(3～5 mV)増加させた。

単一心室筋細胞において、5%及び 10% DMSO は I_{CaL} 及び I_{K1}(in)を有意に抑制し(10% DMSO の I_{CaL} 及び I_{K1}(in)抑制率：10%及び 16%)、I_{Na} をそれぞれ 21%及び 40%抑制した。10% DMSO は Na^+ ポンプ電流を 42%抑制し、1%～10% DMSO は I_{Cl} を 8%～24%抑制し、0.1%～10% DMSO は I_K (末尾電流)を顕著に 9%～78%抑制した。また、5%及び 10% DMSO は I_{K1}(out)をそれぞれ 10%及び 16%増加させ、さらに、細胞水分量(容積量)のそれぞれ 9%及び 13%減少させた。

2.6.2.4.2.2 *In vivo*

2.6.2.4.2.2.1 覚醒マウスを用いたテレメトリー試験 [35)]

覚醒下のマウスを用いたテレメトリー試験において 50% DMSO (4.5 mL/kg/日、週に 5 日間を 3 週間、腹腔内投与：2.5 g/kg/日)は、行動及び ECG のパラメータに影響しなかった。一方、100% DMSO (5.0 g/kg/日)は ST 間隔の有意な増加と、QRS 及び PR セグメントの形状変化が反復投与の 1 週間以内に観察され、ECG 波形に劇的な変化を示した動物はその数時間以内に死亡した。いずれの DMSO 投与群でも心拍数に影響は認められなかったが、100% DMSO 投与群で突然心拍数が低下した動物は、翌日死亡した。

2.6.2.4.2.2.2 アカゲザルを用いた心血管系に対する影響

アカゲザルを用いて 90% DMSO (0、1、3 及び 9 mL/kg を 2 回に分けて朝夕投与：0、1.0、3.0 及び 8.9 g/kg/日)を 1 週間に 7 日、18 箇月、経口投与又は腹部全体の皮膚に塗布(経皮)投与した結果、1、4、7、12、24、37、51 及び 73 週後の測定で DMSO は、平均収縮期血圧、心拍数、呼吸数、体温、48 時間飲水量、神経反射及び ECG に影響を与えなかった(2.6.6.3.4)。また、アカゲザルに 2 又は 3 g/kg (40% DMSO)を 9 日間反復静脈内投与後の心拍数は投与前と比較してほとんど変化しなかった [36)]。

2.6.2.4.3 呼吸系

2.6.2.4.3.1 覚醒マウスを用いたプレチスモグラフ試験 [37)]

覚醒下のマウスを用いたプレチスモグラフ試験において、1 時間間隔で DMSO を累積腹腔内投与(累積用量として 0.5、1.5、3.5、7.5 及び 15.5 g/kg)した。7.5 g/kg 以上の DMSO は正常酸素及び

低酸素(7% O_2 濃度)状態において呼吸不全を示したが、3.5 g/kg までの用量は呼吸機能に影響を与えなかった。

2.6.2.4.3.2 アカゲザルを用いた呼吸系に対する影響

アカゲザルの毎分換気量及び呼吸数に対し 2 g/kg DMSO (50% DMSO、単回静脈内投与)は投与 1 分後の毎分換気量を平均 54%に低下させたが、投与 3 分後には平均 295%に増加させた。呼吸数は投与 1 分後に平均 16%とわずかに増加させ、投与 3 分後には平均 49%増加させた [38]。呼吸数増加作用(pre 値との比較で有意)は 2 又は 3 g/kg/日を 9 日間反復静脈内投与したアカゲザルにおいても観察された [36]。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

該当資料なし

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 薬理試験

間質性膀胱炎・膀胱痛症候群(interstitial cystitis/bladder pain syndrome：IC/BPS)は膀胱に関連する慢性の骨盤部の疼痛、圧迫感又は不快感があり、尿意亢進や頻尿などの下部尿路症状を伴い、混同しうる疾患がない状態と定義されている [1]。間質性膀胱炎の病因はいまだに十分に解明されていないが、自己免疫、膀胱上皮の機能不全、肥満細胞の活性化、神経炎症及び神経活性化、末梢及び/又は中枢神経性過敏、感染などの多くの因子が、膀胱における炎症反応開始の原因として考えられている [39]。

間質性膀胱炎の原因の 1 つと考えられる膀胱上皮の機能不全は、膀胱表面を覆っているグリコサミノグリカン層などの異常で生じると考えられている [40]。硫酸プロタミン誘発モデルは、この膀胱上皮の機能不全を主体にしたモデルであり、膀胱上皮の透過性を増加させ、尿刺激により炎症を引き起こすと報告されている [41]。膀胱内投与した 50% DMSO は、この硫酸プロタミン誘発モデルにおいて膀胱組織の浮腫及び血管充血スコアの増加を抑制し、増加した多形核白血球数及びリンパ単核球数を抑制した。また、組織学的検討でも DMSO 投与により好中球数減少が観察された(2.6.2.2.2.1.1)。

自己免疫性膀胱炎症トランスジェニックマウスである URO-OVA マウスに活性化した OVA 特異的 T 細胞を移入して生じる膀胱の炎症は、病理組織学的に顕著な細胞浸潤、間質浮腫及び粘膜充血を示した。これは間質性膀胱炎のようなヒト膀胱炎症疾患の急性期の組織変化に類似しており、これら組織変化を生じる前に肥満細胞や神経炎症性因子である TNF-α、NGF 及び substance P の増加も観察されている [42]。また、慢性膀胱炎症を示す URO-OVA/OT-1 マウスでは、細胞浸潤及び膀胱上皮の異常増殖を示す病理組織学的変化が報告されており [42]、間質性膀胱炎患者の慢性期に類似している [39]。このように自己免疫性膀胱炎症トランスジェニックマウスは、前述した因子のうち、自己免疫、肥満細胞の活性化及び神経炎症・神経活性化が関与したモデルと考えられる。急性膀胱炎症を生じた URO-OVA マウスの膀胱組織学的評価では、膀胱内投与した 50% DMSO により細胞浸潤、浮腫及び充血が減少し、急性膀胱炎症組織の $CD8^+$T 細胞浸潤を抑制し、この膀胱炎症組織の IFN-γ、MCP-1、NGF、TNF-α 及び IL-6 の mRNA 増加を抑制した(2.6.2.2.2.1.2.1)。慢性膀胱炎症マウスの膀胱組織学的評価では、膀胱内投与した 50% DMSO は膀胱の炎症スコアを改善した(2.6.2.2.2.1.2.2)。この組織学的改善作用は試験期間である 4 週間保持されていたこと、また、*in vitro* 試験で観察されたように DMSO はエフェクターT 細胞に対する増殖抑制及びアポトーシス増加作用を有していること、さらに慢性膀胱炎症マウスにナイーブ T 細胞を移入して生じるより

重篤な急性膀胱炎症は、DMSO 最終処置 7 日後のマウスに移入しても観察されなかったことから、DMSO の投与による内因性自己免疫 OT-1 $CD8^+$ T 細胞の除去が推察された [6]。

以上のことから、50% DMSO の膀胱内投与は間質性膀胱炎において有効性を示すと考えられた。

2.6.2.6.1.1 抗炎症作用

間質性膀胱炎患者の膀胱組織又は尿中において、炎症性サイトカイン(IL-6、TNF-α、IFN-γ、NGF など)[43)-45)]、NF-κB 活性化 [46)]、接着分子(ICAM-1 など)[47),48)]、好中球遊走能 [49)]及びケモカイン(CXCL-1、CXCL-10 及び IL-8)[44),45)]の増大が報告されている。

DMSO は先に述べたように(2.6.2.6.1)硫酸プロタミン誘発膀胱炎モデルの膀胱の炎症を抑制し、炎症細胞である多形核白血球数及びリンパ単核球数を抑制した。また、URO-OVA マウスでは膀胱組織で炎症性因子の mRNA 発現を抑制し、$CD8^+$傷害性 T 細胞の浸潤を抑制した。急性膀胱炎症を生じた URO-OVA マウス及び慢性膀胱炎症モデルの URO-OVA/OT-I マウスの膀胱病理組織学的評価において、DMSO は浮腫及び血管充血を指標にした炎症スコアを低下させ、*in vitro* においてエフェクターT 細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導した。また、DMSO は自発的な白血球のローリングには影響せずに、化学誘引物質(fMLP 及び LTB_4)による白血球の粘着及びザイモサン誘発ヒト白血球遊走を濃度依存的に抑制し、敗血症モデルにおいて ICAM-1 mRNA の増大、TNF-α 及び IL-6 をはじめとする炎症性サイトカイン産生の活性化、転写因子 NF-κB の結合活性を抑制した(2.6.2.2.3.1)。

これらのことから、DMSO の抗炎症作用は、白血球が炎症部位へ動員されるときの血管内皮細胞への接着及び遊走、炎症部位での炎症関連因子(サイトカイン)の産生抑制、NF-κB 結合の抑制、また、炎症部位で認められる好中球、リンパ球及びマクロファージなどの炎症細胞の動員を抑制して膀胱の炎症を抑制すると考えられた。DMSO は強力なヒドロキシラジカルスカベンジャーであり、これら抗炎症作用にはフリーラジカル消去作用の関与が考えられている [50)]。上記に述べた好中球の遊走抑制作用に関しては、実際に DMSO を投与した間質性膀胱炎患者と投与していない患者の尿検体を用いた好中球の遊走活性比較が行われており、50% DMSO の膀胱内投与により好中球の遊走活性は健常人レベルまで抑制されたと報告されている [49)]。

2.6.2.6.1.2 鎮痛作用

間質性膀胱炎患者の主な症状の 1 つに膀胱痛が挙げられる。50% DMSO では臨床において疼痛の改善が報告されており [51)]、DMSO のメカニズムの 1 つに鎮痛作用が考えられる。

組織損傷に伴う刺激に応じる受容器は侵害受容器と呼ばれ、痛覚を伝える求心性神経には細い有髄の Aδ 線維と無髄の C 線維がある。DMSO はホットプレート及びテールフリック試験による疼痛を抑制したが、この鎮痛作用はオピオイド拮抗薬であるナロキソンにより抑制されなかった(2.6.2.2.3.2)。また、DMSO は Aδ 及び C 線維の活動(伝導)を抑制し、*in vivo* 膀胱拡張により生じる脊髄後角ニューロン活動の増大を膀胱内投与により抑制した(2.6.2.2.2.2)。これらは間質性膀胱炎患者で認められる DMSO の鎮痛作用が、内因性オピオイドに関連したものではなく、痛覚を伝える求心性神経 Aδ 線維及び C 線維の活動を抑制することで生じることを示しており、臨床使用濃度(50% DMSO)で膀胱の求心性神経活動を抑制して鎮痛作用を生じると考えられた。また近年、間質性膀胱炎を含む内臓疼痛に、粘膜上皮伸展による ATP の放出と感覚神経(C 線維)のプリン受容体を介した機構の関与が考えられている [52)]。DMSO は間質性膀胱炎患者から得られた膀胱上皮細胞の伸展刺激による ATP 遊離を抑制すると報告されていることから [53)]、この機構も C 線維の活動を抑制する DMSO のメカニズムの可能性の 1 つと考えられた。

DMSO 処置後の C 線維の神経活動に一過性の興奮(発火)も観察された(2.6.2.2.3.2)。同様な神経

の興奮作用は Birder ら [54]からも報告されており、著者らは膀胱内投与した DMSO が骨盤遠心性神経活性の頻度を増加させること、また、脊髄領域でカプサイシン感受性膀胱求心性神経活性化後に発現する c-Fos の増加を確認しており、DMSO の作用の一部にカプサイシン感受性求心性神経の活性化が関与していることを示した。カプサイシンによる一過性の神経興奮は、膀胱のカプサイシン感受性神経の活性化による興奮-脱感作反応の初期(興奮時)と解釈されており、DMSO の鎮痛作用の一部に侵害神経経路の脱感作も関与している可能性が考えられた。

2.6.2.6.1.3 筋弛緩作用

ラット摘出膀胱標本の電気刺激による収縮を 30～50% DMSO は濃度依存的に抑制した(2.6.2.2.1.1)。ウサギ摘出排尿筋標本においても、高 K^+及び CCh による収縮を 10% DMSO はほぼ完全に抑制したが、増加した細胞内 Ca^{2+}濃度に影響を与えなかった(2.6.2.2.3.3)。収縮を抑制する濃度でも細胞内 Ca^{2+}濃度に影響を与えなかったことから、DMSO の膀胱平滑筋弛緩は細胞内 Ca^{2+}濃度の感受性低下により生じていると考えられ、MLC リン酸化経路に作用している可能性が考えられた。実際、DMSO は膀胱組織の MLC リン酸化を抑制し、無細胞評価系において活性化 MLCK を用いた条件でなく、Ca^{2+}及び CaM 存在下でのみ MLC リン酸化に抑制作用を示した。これらのことから、DMSO の Ca^{2+}感受性低下作用は MLCK を直接抑制するのではなく、Ca^{2+}-CaM を介した MLCK 活性化の抑制が関与していると考えられた。よって、このようなメカニズムを介して DMSO は膀胱平滑筋の弛緩を生じ、間質性膀胱炎患者の膀胱平滑筋の攣縮及びそれに伴う痛みを改善している可能性が考えられた。

ブタの摘出膀胱組織を用いて、管腔表面から臨床使用と同様な処置により 50% DMSO を適用した後の排尿筋、尿路上皮/粘膜固有層及び intact 膀胱標本では、KCl 及び ATP の収縮反応には影響しなかったが、CCh による最大収縮の増強、電気刺激による収縮の頻度依存的な増強が確認されており(2.6.2.2.1.2)、ラット及びウサギの摘出膀胱標本で観察されている影響とは異なる結果が得られた。ラット及びウサギの試験から DMSO が排尿筋への直接作用により筋弛緩を生じた可能性が考えられ、ブタの試験からは、DMSO の尿路上皮への一部組織傷害(上皮の構造的な変化)により影響を生じた可能性が考えられた。臨床において DMSO は管腔表面に適用されるが、間質性膀胱炎患者の膀胱組織においてはハンナー病変等の粘膜傷害を有している場合が多数あり、50% DMSO 処置がどの程度組織に影響を与えるかは不明である。

DMSO の組織傷害に関連しては硫酸プロタミンを用いたモデルの論文で興味深い内容も述べられている。硫酸プロタミン誘発間質性膀胱炎モデルに対する DMSO の作用は前述したとおり(2.6.2.2.2.1.1、2.6.2.6.1)であるが、硫酸プロタミンを投与していない正常ラットの膀胱に 50% DMSO を膀胱内投与すると浮腫グレードの増加、多形核白血球数及び肥満細胞数の増加が観察され、粘膜に軽度炎症を生じたと報告されている [5]。このことから膀胱組織の状態によって DMSO が有する複数作用のうち、いずれの作用が強く観察されるかが異なる可能性が考えられた。

ラットの摘出膀胱組織における 50% DMSO の 7 分間処置で膀胱組織に傷害(上皮組織の裏層の消失及び筋層の染色不全、空胞化した平滑筋細胞の存在)[3]が、ブタの摘出膀胱組織の管腔表面に 50% DMSO を 15 分間処置すると組織学的検討において膀胱上皮層の傷害(膀胱上皮の厚さ減少及び膀胱上皮/粘膜固有層のひだ状構造の消失)[4]が観察されたと報告されている。ハンナー病変を有する間質性膀胱炎患者の病変部位をレーザーで処置すると膀胱症状及び骨盤痛に対して 6～19 箇月間有益であったと報告されており [55]、治療後長期間痛みを再発しないのは膀胱上皮細胞のターンオーバーが非常に長く約 200 日かかることに関係している可能性が述べられている [56]。50% DMSO の膀胱内投与はハンナー病変を有する患者に有効であること [51),57]、また、DMSO による治療効果はレーザー治療同様に長期間継続する場合があることから [51),58),59]、膀胱内投与による病的

な膀胱上皮の除去がDMSOのメカニズムの1つとして間質性膀胱炎の治療効果を発現しているとも推察される。

2.6.2.6.1.4 肥満細胞の脱顆粒

モルモットの耳介へ DMSO を皮内投与すると腫脹を生じさせ、肥満細胞の脱顆粒を誘発した(2.6.2.3.1)。皮膚に投与した DMSO が腫脹又はフレアを生じさせ、肥満細胞からヒスタミンを遊離させ、血管拡張作用を示すことは古くから知られている [60]。間質性膀胱炎患者の膀胱壁及び粘膜上皮に肥満細胞の増加が観察されており [48),61)]、DMSO により肥満細胞から遊離したヒスタミンや他の血管拡張物質が、一部の患者で報告されている投与初期の膀胱及び排泄時の尿道の強い痛みに関与している可能性が考えられている [62]。しかし、その一方で DMSO を間質性膀胱炎患者に膀胱内注入しても尿中ヒスタミン量及びヒスタミン/クレアチニン割合のいずれにも影響せず、肥満細胞の脱顆粒を示さないとも報告されている [63]。また、DMSO は *in vitro* で、抗原が誘発する肥満細胞からのヒスタミン遊離に対して抑制作用を示す [64]が、抗原刺激のない自然な肥満細胞からのヒスタミン遊離には影響しないとも報告されている(5%以下の DMSO)[64),65)]。このように間質性膀胱炎患者の肥満細胞に対する DMSO の作用については、いまだ統一した見解は得られていない。なお、皮膚感作性試験において DMSO は感作性を示さないことが確認されている(2.6.6.8.2)。

臨床論文で一部患者に観察されている投与初期の痛みに関しては、上記(2.6.2.6.1.2)カプサイシン感受性神経を介した一過性の興奮が関与している可能性があり、肥満細胞の脱顆粒以外によって生じている可能性も考えられた。

2.6.2.6.1.5 膜透過性亢進作用

DMSO は膜に障害を生じることなく膜を浸透し、また、DMSO に溶解した各種薬剤の浸透性を上昇させ、吸収性を増加させるため、DMSO は難溶解性化合物の媒体として汎用されている。近年、DMSO の膜への作用メカニズムが解明され、DMSO は膜を薄くし疎水性中心の流動性を増加させ、脂質二重膜の端で親水性頭部が疎水性尾部を保護し、一過性に水分子の導管を作製して、水分子の膜内への透過性を亢進させると報告された(2.6.2.3.2)。また、生体膜を用いた試験でも同現象が確認された。DMSO のこの性質を利用した抗がん剤(膀胱ガン)投与の研究も動物レベルであるが報告されている [66]。

以上のように DMSO は膜透過性を亢進させる作用を有しているため、他の薬剤が DMSO と同時に膀胱内注入される場合には、組織内及び血中への吸収を促進する可能性が考えられた。

2.6.2.6.1.6 薬理試験のまとめ

膀胱上皮の機能不全を主体にした硫酸プロタミン誘発モデルで、膀胱内投与した 50% DMSO は膀胱組織の浮腫及び血管充血スコアの増加を抑制し、増加した多形核白血球数及びリンパ単核球数を抑制した。また、組織学的検討でも DMSO 投与により好中球減少が観察された(2.6.2.2.2.1.1)。

自己免疫、肥満細胞の活性化及び神経炎症・神経活性化が関与した自己免疫性膀胱炎トランスジェニックマウスを用いた検討では、急性膀胱炎症マウスにおいて膀胱内投与した 50% DMSO は細胞浸潤、浮腫及び充血を減少させ、$CD8^+$T 細胞浸潤を抑制した。また、膀胱炎組織の IFN-γ、MCP-1、NGF、TNF-α 及び IL-6 の mRNA 増加を抑制した。慢性膀胱炎症マウスにおいて膀胱内投与した 50%DMSO は膀胱の炎症スコアを改善し、さらにナイーブ T 細胞を移入して生じる重篤な急性膀胱炎症は観察されなかった(2.6.2.2.2.1.2)。

DMSO の間質性膀胱炎に対する作用機序は主に、1. 抗炎症作用として活性化リンパ球数の抑制、白血球の血管内皮接着抑制、好中球遊走抑制、ICAM-1 の発現抑制、転写因子 NF-κB の結合抑制

及び炎症部位での炎症性サイトカイン(TNF-α、IL-6、NGF、IL-8 等)の産生抑制(2.6.2.2.2.1、2.6.2.2.3.1)、2. 鎮痛作用として神経活動の抑制(2.6.2.2.2.2)(C 線維及び Aδ 神経の伝導抑制(2.6.2.2.3.2))、3. 筋弛緩作用(2.6.2.2.1.1、2.6.2.2.3.3)[16]が示されており、これらが総合的に作用することによって DMSO の間質性膀胱炎への作用が発揮されると考えられた。また、50% DMSO は先に述べたように FDA の承認を受けて以来、米国で長期にわたり臨床使用されており、有効性を示唆する臨床報告[51),58),59),62)]も多数存在する。

2.6.2.6.2 安全性薬理試験

DMSO の腹腔内投与 1 時間後におけるマウス自発運動抑制作用の ED_{50} は 3.0 g/kg であり、11.0 g/kg の経口投与でも自発運動抑制作用が観察された。さらに、5.5 μg/マウスの脳室内投与においても自発運動抑制が観察されたことから、この作用は中枢を介して生じている可能性が考えられた。また、マウスの回転かごを用いた運動において 2.5 g/kg 以上の DMSO は腹腔内投与により有意な運動抑制を示した(2.6.2.4.1.1)。ラットに 0.4 g/kg/日以上の DMSO を 10 日間反復腹腔内投与するとアロデニアが観察されたが、0.8 g/kg/日の反復投与でも握力及び運動には影響を与えなかった。また、ラットの体温に対し 6 g/kg の腹腔内投与は 21～25°C の環境において体温低下及び O_2 消費量の低下作用を示したが、呼吸商には影響しなかった。甲状腺の機能が低下したことから、DMSO の体温調節作用には甲状腺が関与している可能性が考えられた。また、ラットの睡眠に対し 0.8 g/kg 及び 1.1 g/kg の腹腔内投与は浅い眠りを増加させ、深い眠りを減少させるように睡眠状態に影響を与えた(2.6.2.4.1.2)。

以上のように、DMSO は経口及び腹腔内投与を用いた各種中枢神経系試験で影響が観察された。自発運動抑制作用は脳室内投与でも観察され、また、組織内分布試験(2.6.4.4.1)において脳に分布すると示されていることから、投与量によっては中枢神経系を介した影響を発現する可能性が考えられた。

溶液の浸透圧変化の影響を除いた試験系において 1% DMSO は hERG 電流の活性化曲線及び不活性化曲線を陽性電位側にシフトさせたが、2% DMSO でもテルフェナジン及び E-4031 の hERG 電流抑制作用を増強するような影響は観察されなかった(2.6.2.4.2.1.1)。

モルモット乳頭筋を用いた検討で 10% DMSO は活動電位の持続時間を延長し、V_{max} を中程度減少させ、静止膜電位をわずかに脱分極させ、活動電位の振幅を増大させた。心室筋細胞を用いたイオン電流に対する検討では、I_{CaL} 及び I_{K1} に殆ど影響を与えなかったが、Na^+ポンプ電流、I_{Na} 及び I_{Cl} を中程度抑制し、I_K を顕著に抑制した(2.6.2.4.2.1.2)。V_{max} の低下は I_{Na} の抑制が、活動電位持続時間の延長には I_K の抑制が関与しているものと考えられた。また、細胞の水分量の減少(shrinkage)が観察されており、これら各チャネルへの DMSO の影響は、DMSO による直接作用なのか、細胞水分量を変化させたことによる間接的な作用なのかは不明と考察されている[34)]。

DMSO をマウスに腹腔内投与(2.5 g/kg/日、3 週間)、アカゲザルに胃内投与(8.9 g/kg/日、18 箇月)又は皮膚へ塗布(8.9 g/kg/日、18 箇月)を反復投与した場合は、血圧、心拍数、呼吸数及び ECG パラメータに影響を与えなかったが(2.6.6.3.3)、マウスに 5 g/kg/日の反復腹腔内投与(3 週間)した場合には ST 間隔の有意な増加と、QRS 及び PR セグメントの形状変化が反復投与の 1 週間以内に観察され、ECG 波形に劇的な変化を示した動物はその数時間以内に死亡した(2.6.2.4.2.2.1)。また、アカゲザルに 2 g/kg DMSO の用量を単回静脈内投与した場合、呼吸数及び毎分換気量を増加させた(2.6.2.4.3.2)。静脈内投与で観察された呼吸数増加作用に関しては、呼吸中枢を刺激することで生じると考察されている[36),38)]。麻酔下のイヌを用いて、0.005～10 g/kg (25% DMSO)を累積静脈内投与した際の心血管及び呼吸への影響を検討した論文では、5 g/kg で呼吸数及び呼吸深度の増加、

10 g/kg で血圧、心拍数、呼吸数及び呼吸深度の増加等の循環器系パラメータへの影響も観察されたが、その変化は DMSO の直接作用というよりも高浸透圧溶液を投与したことによる変化ではないかと考察されている [67]。また、同様な心血管器系への変化は、麻酔下のイヌに 2 g/kg を 10 分間持続静脈内投与(50% DMSO、1.86 mL/kg、5 mL/min)した論文においても観察された [68]。

中枢神経、心血管及び呼吸系試験では DMSO の投与に起因した多くの変化が認められた。KRP-116D は 50% DMSO、50 mL の製剤であり、ヒト 50 kg で換算すると 0.5 g/kg に相当する。安全性薬理試験では様々な投与経路が用いられているが、投与量 0.5 g/kg で観察された現象は反復腹腔内投与 9 日目の試験における神経過敏(アロデニア)のみであり、万一、本製剤が他の投与経路で投与されたとしても臨床上重篤な副作用を生じる可能性は低いと考えられた。また、ヒトに 1～1.5 g/kg 静脈内投与した報告 [69),70)]でも、50% DMSO を間質性膀胱炎患者に使用した臨床公表論文 [62),71)]の副作用情報、FAERS(2.7.4.6.2.1)及び臨床試験(2.7.4.2 及び 2.7.4.4)でも中枢神経、心血管及び呼吸系に関連した変化は認められていない。よって、申請する投与経路、用法用量においては非臨床安全性薬理試験で評価した中枢、心血管及び呼吸系変化が、臨床上問題となる可能性はほとんどないと考えられた。

2.6.2.7 図表

表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1) 間質性膀胱炎・膀胱痛症候群診療ガイドライン 日本間質性膀胱炎研究会/日本泌尿器科学会編集 2019 年 日本間質性膀胱炎研究会

[資料番号 4.3-1]

2) Jacob SW, Herschler R. Pharmacology of DMSO. Cryobiology. 1986 ;23:14-27.

[資料番号 4.3-3]

3) Melchior D, Packer CS, Johnson TC, Kaefer M. Dimethyl sulfoxide: does it change the functional properties of the bladder wall? J Urol. 2003;170:253-258.

[資料番号 4.2.1.1-1]

4) Smith KJ, Chess-Williams R, McDermott C. Luminal DMSO: effects on detrusor and urothelial/lamina propria function. Biomed Res Int. 2014;2014:347616.

[資料番号 4.2.1.1-2]

5) Soler R, Bruschini H, Truzzi JC, Martins JR, Camara NO, Alves MT, et al. Urinary glycosaminoglycans excretion and the effect of dimethyl sulfoxide in an experimental model of non-bacterial cystitis. Int Braz J Urol. 2008;34:503-511, discussion 511.

[資料番号 4.2.1.1-3]

6) Kim R, Liu W, Chen X, Kreder KJ, Luo Y. Intravesical dimethyl sulfoxide inhibits acute and chronic bladder inflammation in transgenic experimental autoimmune cystitis models. J Biomed Biotechnol. 2011;2011:937061. Epub 2010 Nov 11.

[資料番号 4.2.1.1-4]

7) Castroman PJ, Ness TJ. Spinal neurophysiologic correlates of the analgesic actions of intravesical dimethyl sulfoxide and capsaicin in the rat. J Pain. 2002;3:394-400.

[資料番号 4.2.1.1-5]

8) Kloesch B, Liszt M, Broell J, Steiner G. Dimethyl sulphoxide and dimethyl sulphone are potent

inhibitors of IL-6 and IL-8 expression in the human chondrocyte cell line C-28/I2. Life Sci. 2011;89:473-478.

[資料番号 4.2.1.1-6]

9) de Abreu Costa L, Henrique Fernandes Ottoni M, Dos Santos MG, Meireles AB, Gomes de Almeida V, de Fátima Pereira W, et al. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) decreases cell proliferation and TNF-α, IFN-γ, and IL-2 cytokines production in cultures of peripheral blood lymphocytes. Molecules. 2017;22:1789.

[資料番号 4.2.1.1-7]

10) Sekizuka E, Benoit JN, Grisham MB, Granger DN. Dimethylsulfoxide prevents chemoattractant-induced leukocyte adherence. Am J Physiol. 1989;256:H594-H597.

[資料番号 4.2.1.1-8]

11) Antony VB, Sahn SA, Repine JE. Dimethyl sulfoxide inhibits phagocyte influx into infected pleural spaces and phagocyte locomotion in vitro. Inflammation. 1983;7:377-385.

[資料番号 4.2.1.1-9]

12) Chang CK, Llanes S, Schumer W. Inhibitory effect of dimethyl sulfoxide on nuclear factor-kappa B activation and intercellular adhesion molecule 1 gene expression in septic rats. J Surg Res. 1999 ;82:294-299.

[資料番号 4.2.1.1-10]

13) Haigler HJ, Spring DD. DMSO (dimethyl sulfoxide), morphine and analgesia. Life Sci. 1981;29:1545-1553.

[資料番号 4.2.1.1-11]

14) Evans MS, Reid KH, Sharp JB Jr. Dimethylsulfoxide (DMSO) blocks conduction in peripheral nerve C fibers: a possible mechanism of analgesia. Neurosci Lett. 1993;150:145-148.

[資料番号 4.2.1.1-12]

15) Becker DP, Young HF, Nulsen FE, Jane JA. Physiological effects of dimethyl sulfoxide on peripheral nerves: possible role in pain relief. Exp Neurol. 1969;24:272-276.

[資料番号 4.2.1.1-13]

16) Shiga KI, Hirano K, Nishimura J, Niiro N, Naito S, Kanaide H. Dimethyl sulphoxide relaxes rabbit detrusor muscle by decreasing the Ca^{2+} sensitivity of the contractile apparatus. Br J Pharmacol. 2007;151:1014-1024.

[資料番号 4.2.1.1-14]

17) Gries G, Bublitz G, Lindner J. The effect of dimethyl sulfoxide on the components of connective tissue. (Clinical and experimental investigations). Ann N Y Acad Sci. 1967;141:630-637.

[資料番号 4.2.1.1-15]

18) Scherbel AL, Mccormack LJ, Poppo MJ. Alteration of Collagen in Generalized Scleroderma (Progressive Systemic Sclerosis) After Treatment with Dimethyl Sulfoxide: Preliminary Report. Cleve Clin Q. 1965;32:47-56.

[資料番号 4.2.1.1-16]

19) Scherbel AL, McCormack LJ, Layle JK. Further observations on the effect of dimethyl sulfoxide in patients with generalized scleroderma. (Progressive systemic sclerosis). Ann N Y Acad Sci. 1967;141:613-629.

[資料番号 4.2.1.1-17]

20) Engel MF. Indications and contraindications for the use of DMSO in clinical dermatology. Ann N Y

Acad Sci 1967;141:638-645.

[資料番号 4.2.1.1-18]

21) Swanston DW, Gleadle RI, Colgrave HF, Marrs TC. Cutaneous histamine-releasing activity of dimethylsulphoxide (DMSO) in guinea pigs. Toxicol Lett. 1982;10:87-90.

[資料番号 4.2.1.2-1]

22) Gurtovenko AA, Anwar J. Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide. J Phys Chem B. 2007;111:10453-10460.

[資料番号 4.2.1.2-2]

23) Gurtovenko AA, Anwar J. Ion transport through chemically induced pores in protein-free phospholipid membranes. J Phys Chem B. 2007;111:13379-13382.

[資料番号 4.2.1.2-3]

24) He F, Liu W, Zheng S, Zhou L, Ye B, Qi Z. Ion transport through dimethyl sulfoxide (DMSO) induced transient water pores in cell membranes. Mol Membr Biol. 2012;29:107-113.

[資料番号 4.2.1.2-4]

25) Castro CA, Hogan JB, Benson KA, Shehata CW, Landauer MR. Behavioral effects of vehicles: DMSO, ethanol, Tween-20, Tween-80, and emulphor-620. Pharmacol Biochem Behav. 1995;50:521-526.

[資料番号 4.2.1.3-1]

26) Colucci M, Maione F, Bonito MC, Piscopo A, Di Giannuario A, Pieretti S. New insights of dimethyl sulphoxide effects (DMSO) on experimental in vivo models of nociception and inflammation. Pharmacol Res. 2008;57:419-425.

[資料番号 4.2.1.3-2]

27) Braude MC, Monroe RR. Dimethylsulfoxide: Interactive effects with alphaglucochloralose. Curr Ther Res Clin Exp. 1965;7:502-509.

[資料番号 4.2.1.3-3]

28) Kocsis JJ, Harkaway S, Snyder R. Biological effects of the metabolites of dimethyl sulfoxide. Ann N Y Acad Sci. 1975;243:104-109.

[資料番号 4.2.1.3-4]

29) Braude MC, Monroe RR. Effects of dimethyl sulfoxide and alphaglucochloralose on pentylenetetrazol convulsive thresholds in mice. Ann N Y Acad Sci 1967;141:248-253.

[資料番号 4.2.1.3-5]

30) Cavas M, Beltrán D, Navarro JF. Behavioural effects of dimethyl sulfoxide (DMSO): changes in sleep architecture in rats. Toxicol Lett. 2005;157:221-232.

[資料番号 4.2.1.3-6]

31) Orlando MM, Panuska JA. Dimethylsulfoxide and thermoregulation: studies on body temperature, metabolic rate and thyroid function. Cryobiology. 1972;9:198-204.

[資料番号 4.2.1.3-7]

32) Authier N, Dupuis E, Kwasiborski A, Eschalier A, Coudoré F. Behavioural assessment of dimethylsulfoxide neurotoxicity in rats. Toxicol Lett. 2002;132:117-121.

[資料番号 4.2.1.3-8]

33) Du X, Lu D, Daharsh ED, Yao A, Dewoody R, Yao JA. Dimethyl sulfoxide effects on hERG channels expressed in HEK293 cells. J Pharmacol Toxicol Methods. 2006;54:164-172.

[資料番号 4.2.1.3-9]

34) Ogura T, Shuba LM, McDonald TF. Action potentials, ionic currents and cell water in guinea pig ventricular preparations exposed to dimethyl sulfoxide. J Pharmacol Exp Ther. 1995;273:1273-1286.

[資料番号 4.2.1.3-10]

35) Kramer K, Van Acker SA, Grimbergen JA, van den Berg DJ, Van der Vijgh WJ, Bast A. Effect of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the electrocardiogram (ECG) in freely moving male Balb/c mice. Gen Pharmacol. 1995;26:1403-1407.

[資料番号 4.2.1.3-11]

36) de la Torre JC, Surgeon JW, Ernest T, Wollmann R. Subacute toxicity of intravenous dimethyl sulfoxide in rhesus monkeys. J Toxicol Environ Health. 1981;7:49-57.

[資料番号 4.2.1.3-12]

37) Takeda K, Pokorski M, Sato Y, Oyamada Y, Okada Y. Respiratory Toxicity of Dimethyl Sulfoxide. Adv Exp Med Biol. 2016;19:89-96.

[資料番号 4.2.1.3-13]

38) de la Torre JC, Rowed DW. DMSO: a new respiratory stimulant? J Clin Pharmacol 1974;14:345-353.

[資料番号 4.2.1.3-14]

39) Grover S, Srivastava A, Lee R, Tewari AK, Te AE. Role of inflammation in bladder function and interstitial cystitis. Ther Adv Urol. 2011;3:19-33.

[資料番号 4.3-4]

40) Parsons CL. The role of the urinary epithelium in the pathogenesis of interstitial cystitis/prostatitis/urethritis. Urology. 2007;69:9-16.

[資料番号 4.3-5]

41) Soler R, Bruschini H, Freire MP, Alves MT, Srougi M, Ortiz V. Urine is necessary to provoke bladder inflammation in protamine sulfate induced urothelial injury. J Urol. 2008;180:1527-1531.

[資料番号 4.3-6]

42) Liu W, Evanoff DP, Chen X, Luo Y. Urinary bladder epithelium antigen induces CD8+ T cell tolerance, activation, and autoimmune response. J Immunol. 2007;178:539-546.

[資料番号 4.3-7]

43) Lamale LM, Lutgendorf SK, Zimmerman MB, Kreder KJ. Interleukin-6, histamine, and methylhistamine as diagnostic markers for interstitial cystitis. Urology. 2006;68:702-706.

[資料番号 4.3-8]

44) Abdel-Mageed AB, Bajwa A, Shenassa BB, Human L, Ghoniem GM. NF-kappaB-dependent gene expression of proinflammatory cytokines in T24 cells: possible role in interstitial cystitis. Urol Res. 2003;31:300-305. Erratum in Urol Res. 2004;32:133.

[資料番号 4.3-9]

45) Tyagi P, Killinger K, Tyagi V, Nirmal J, Chancellor M, Peters KM. Urinary chemokines as noninvasive predictors of ulcerative interstitial cystitis. J Urol. 2012;187:2243-2248.

[資料番号 4.3-10]

46) Abdel-Mageed AB, Ghoniem GM. Potential role of rel/nuclear factor-kappaB in the pathogenesis of interstitial cystitis. J Urol. 1998;160:2000-2003.

[資料番号 4.3-11]

47) Corcoran AT, Yoshimura N, Tyagi V, Jacobs B, Leng W, Tyagi P. Mapping the cytokine profile of

painful bladder syndrome/interstitial cystitis in human bladder and urine specimens. World J Urol. 2013;31:241-246.

[資料番号 4.3-12]

48) Green M, Filippou A, Sant G, Theoharides TC. Expression of intercellular adhesion molecules in the bladder of patients with interstitial cystitis. Urology. 2004;63:688-693.

[資料番号 4.3-13]

49) Elgebaly SA, Allam ME, Walzak MP Jr, Oselinsky D, Gillies C, Yamase H. Urinary neutrophil chemotactic factors in interstitial cystitis patients and a rabbit model of bladder inflammation. J Urol. 1992;147:1382-1387.

[資料番号 4.3-14]

50) Repine JE, Eaton JW, Anders MW, Hoidal JR, Fox RB. Generation of hydroxyl radical by enzymes, chemicals, and human phagocytes in vitro. Detection with the anti-inflammatory agent, dimethyl sulfoxide. J Clin Invest. 1979;64:1642-1651.

[資料番号 4.3-15]

51) Peeker R, Haghsheno MA, Holmäng S, Fall M. Intravesical bacillus Calmette-Guerin and dimethyl sulfoxide for treatment of classic and nonulcer interstitial cystitis: a prospective, randomized double-blind study. J Urol. 2000;164:1912-1915; discussion 1915-1916.

[資料番号 4.3-16]

52) Burnstock G. Purinergic mechanosensory transduction and visceral pain. Mol Pain. 2009;30;5:69.

[資料番号 4.3-17]

53) Sun Y, Chai TC. Effects of dimethyl sulphoxide and heparin on stretch-activated ATP release by bladder urothelial cells from patients with interstitial cystitis. BJU Int. 2002;90:381-385.

[資料番号 4.3-18]

54) Birder LA, Kanai AJ, de Groat WC. DMSO: effect on bladder afferent neurons and nitric oxide release. J Urol. 1997;158:1989-1995.

[資料番号 4.3-19]

55) Rofeim O, Hom D, Freid RM, Moldwin RM. Use of the neodymium: YAG laser for interstitial cystitis: a prospective study. J Urol. 2001;166:134-136.

[資料番号 4.3-20]

56) Birder LA, Ruggieri M, Takeda M, van Koeveringe G, Veltkamp S, Korstanje C, et al. How does the urothelium affect bladder function in health and disease? Neurourol Urodyn. 2012;31:293-299.

[資料番号 4.3-21]

57) Tomoe H. In what type of interstitial cystitis/bladder pain syndrome is DMSO intravesical instillation therapy effective? Transl Androl Urol. 2015;4:600-604.

[資料番号 4.3-22]

58) Stewart BH, Shirley SW. Further experience with intravesical dimethyl sulfoxide in the treatment of interstitial cystitis. J Urol. 1976;116:36-38.

[資料番号 4.3-23]

59) Ek A, Engberg A, Frödin L, Jönsson G. The use of dimethyl-sulfoxide (DMSO) in the treatment of interstitial cystitis. Scand J Urol Nephrol. 1978;12:129-131.

[資料番号 4.3-24]

60) Kligman AM. Topical pharmacology and toxicology of dimethyl sulfoxide. 1. JAMA. 1965;193:796-804.

[資料番号 4.3-25]

61) Yamada T, Murayama T, Mita H, Akiyama K. Subtypes of bladder mast cells in interstitial cystitis. Int J Urol. 2000;7:292-297.

[資料番号 4.3-26]

62) Sant GR. Intravesical 50% dimethyl sulfoxide (Rimso-50) in treatment of interstitial cystitis. Urology. 1987;29: Suppl 17-21.

[資料番号 4.3-27]

63) Stout L, Gerspach JM, Levy SM, Yun SK, Lad PM, Leach GE, Zimmern PE. Dimethyl sulfoxide does not trigger urine histamine release in interstitial cystitis. Urology. 1995;46:653-656.

[資料番号 4.3-28]

64) Koo N, Kim KM. Distinct effects on M2-type pyruvate kinase are involved in the dimethylsulfoxide-induced modulation of cellular proliferation and degranulation of mast cells. Arch Pharm Res. 2009;32:1637-1642.

[資料番号 4.3-29]

65) Nielsen EH, Johansen T. Effects of dimethylsulfoxide (DMSO), nocodazole, and taxol on mast cell histamine secretion. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh). 1986;59:214-219.

[資料番号 4.3-30]

66) See WA1, Xia Q. Regional chemotherapy for bladder neoplasms using continuous intravesical infusion of doxorubicin: impact of concomitant administration of dimethyl sulfoxide on drug absorption and antitumor activity. J Natl Cancer Inst. 1992;84:510-515.

[資料番号 4.3-31]

67) Peterson CG, Robertson RD. A pharmacodynamic study of dimethyl sulfoxide. Ann N Y Acad Sci. 1967;141:273-276.

[資料番号 4.3-32]

68) Hameroff SR, Otto CW, Kanel J, Weinstein PR, Blitt CD. Acute cardiovascular effects of dimethyl sulfoxide. Ann N Y Acad Sci. 1983;411:94-99.

[資料番号 4.3-33]

69) Bennett WM, Muther RS. Lack of nephrotoxicity of intravenous dimethylsulfoxide. Clin Toxicol 1981;18:615-618.

[資料番号 4.3-34]

70) Yellowlees P, Greenfield C, McIntyre N. Dimethylsulphoxide-induced toxicity. Lancet. 1980;2:1004-1006.

[資料番号 4.3-35]

71) Rössberger J, Fall M, Peeker R. Critical appraisal of dimethyl sulfoxide treatment for interstitial cystitis: discomfort, side-effects and treatment outcome. Scand J Urol Nephrol 2005;39:73-77.

[資料番号 4.3-36]

ジムソ膀胱内注入液 50%

(ジメチルスルホキシド)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.3　薬理試験概要表

杏林製薬株式会社

ジメチルスルホキシドの薬理試験成績は、全て公表論文を使用して評価した。公表論文に示された情報は限られているため、薬理試験概要表は作成していない。薬理試験の概要は 2.6.2 に記載した。