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)

2.6.6　毒性試験の概要文

杏林製薬株式会社

目次

略語及び専門用語一覧表 3
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 6
2.6.6.4 遺伝毒性試験 8
2.6.6.5 がん原性試験 10
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 12
2.6.6.7 局所刺激性試験 14
2.6.6.8 その他の毒性試験 15
2.6.6.9 考察及び結論 16
2.6.6.10 図表 19
2.6.6.11 参考文献 19

表一覧

表 2.6.6.1-1 毒性試験一覧 4
表 2.6.6.2-1 単回投与毒性試験のまとめ 5
表 2.6.6.3-1 反復投与毒性試験のまとめ 6
表 2.6.6.4-1 遺伝毒性試験のまとめ 8
表 2.6.6.5-1 がん原性試験のまとめ 10
表 2.6.6.6-1 生殖発生毒性試験のまとめ 12
表 2.6.6.7-1 局所刺激性試験のまとめ 14
表 2.6.6.8-1 その他の毒性試験のまとめ 15

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
BBN	0.05% *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine
DMS	Dimethyl sulfide：ジメチルスルフィド
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
$DMSO_2$	Dimethyl sulfone：ジメチルスルホン 又は Methylsulfonylmethane：メチルスルホニルメタン
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
LD_{50}	50% Lethal dose：50% 致死量
RIMSO-50	50% DMSO を含む間質性膀胱炎治療薬(米国及び加国で承認済み)
SD 系ラット	Sprague Dawley 系ラット

単位換算：DMSO の比重を 1.1 として算出、例) mL/kg × 1.1→ g/kg

2.6.6.1　まとめ

ジメチルスルホキシド(DMSO)の単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性及びその他の毒性について、公表論文及びガイドライン等をもとに評価・検討を行った(表 2.6.6.1-1)。本剤の臨床投与経路は膀胱内投与であるが、膀胱内投与以外の投与経路についても、投与による影響が見られていること及び薬物動態学的に全身曝露されていること(2.6.4)から毒性評価の対象とした。

表 2.6.6.1-1　毒性試験一覧

試験の種類	試験系	投与経路	用量又は濃度	投与期間	GLP [a] 適用	資料番号
単回投与毒性試験	マウス	経口	16.5～24.6 g/kg	単回	不適	4.2.3.1-1
	ラット	経口	17.4～28.3 g/kg	単回	不適	4.2.3.1-1
	イヌ	膀胱内	8.3～82.5 g/body	単回	不適	4.2.3.1-2
	イヌ	経口	10 g/kg	単回	不適	4.2.3.1-1
反復投与毒性試験	ラット	経口	1.1～9.9 g/kg/日	18 箇月間	不適	4.2.3.2-1
	イヌ	膀胱内	0.5 g/kg	6 箇月間 (2 回/週)	不適	4.2.3.2-2
	イヌ	経口	1.1～9.9 g/kg/日	2 年間	不適	4.2.3.2-1
	サル	経口	1.0～8.9 g/kg/日	18 箇月間	不適	4.2.3.2-3
		経皮	1.0～8.9 g/kg/日	18 箇月間	不適	4.2.3.2-3
遺伝毒性試験						
遺伝子突然変異	*S typhimurium*	*in vitro*	～1.4×10^6 nmol/plate	-	不適	4.2.3.3.1-1
	マウスリンパ腫 L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	*in vitro*	55～93 mg/mL	-	不適	4.2.3.3.1-2
染色体異常	マウスリンパ腫 L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	*in vitro*	55～93 mg/mL	-	不適	4.2.3.3.1-2
In vitro 小核	マウスリンパ腫 L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	*in vitro*	55～93 mg/mL	-	不適	4.2.3.3.1-2
In vivo 小核	ラット	腹腔内	0.2～5 g/kg	5 日間	適	4.2.3.3.2-1
がん原性試験						
長期がん原性	マウス	皮下	1.8 g/kg [b]	76 週間	不適	4.2.3.4.1-1
	ラット	経口	1.1～9.9 g/kg/日	18 箇月間	不適	4.2.3.2-1
二段階発がん性(イニシエーション)	マウス	経皮	3.7 g/kg [b]	DMSO を 5 週間投与後にプロモーター投与	不適	4.2.3.4.3-1
二段階発がん性(プロモーション)	マウス	経皮	3.7 g/kg [b]	イニシエーター投与後に DMSO を 400 日間 (3 回/週)	不適	4.2.3.4.3-2
	ラット	経口 (飲水)	50 ppm	イニシエーター投与後に DMSO を 18 箇月	不適	4.2.3.4.3-3
	マウス	膀胱内	1.8～3.7 g/kg [b]	イニシエーター投与後に DMSO を 8～10 週間 (1 回/週)	不適	4.2.3.4.3-4

a：公表論文に GLP 適用と記載されていた場合に、「適」とした。
b：マウスの体重を 30 g として換算

表 2.6.6.1-1　毒性試験一覧(2/2)

試験の種類	試験系	投与経路	用量又は濃度	投与期間	GLP [a] 適用	資料番号
生殖発生毒性試験						
受胎能及び着床までの初期胚発生、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	ラット	経口	0.1～1 g/kg/日	交配前 2 週間～授乳期 21 日	適	4.2.3.3.2-1
胚・胎児発生	ラット	経口	1～10 g/kg/日	妊娠 6～15 日	適	4.2.3.3.2-1
	ラット	経口	0.2～5 g/kg/日	妊娠 6～15 日	適	4.2.3.3.2-1
	ウサギ	経口	0.2～5 g/kg/日	妊娠 7～28 日	不適	4.2.3.3.2-1
	ウサギ	経口	0.1～1 g/kg/日	妊娠 7～28 日	適	4.2.3.3.2-1
局所刺激性試験						
皮膚	ウサギ	経皮	100% DMSO	4 時間継続塗布	適	4.2.3.3.2-1
眼	ウサギ	点眼	100% DMSO	単回	不適	4.2.3.3.2-1
その他の毒性試験						
感作性	モルモット	皮内→経皮	100% DMSO	各 1 回	不適	4.2.3.7.2-1
代謝物に関する試験 ($DMSO_2$)						
反復投与毒性試験	ラット	経口	1.5 g/kg/日	90 日間	適	4.2.3.7.3-1
In vivo 小核	マウス	経口	1.25～5 g/kg	単回	不適	4.2.3.7.3-2
胚・胎児発生	ラット	経口	0.05～1 g/kg/日	妊娠 6～20 日	適	4.2.3.7.3-3
代謝物に関する試験 (DMS)						
反復投与毒性試験	ラット	経口	0.0025～0.25 g/kg/日	14 週間	不適	4.2.3.7.3-4
In vivo 小核	マウス	経口	1.25～5 g/kg	単回	適	4.2.3.7.3-5
胚・胎児発生	ラット	経口	0.1～1 g/kg/日	妊娠 5～19 日	適	4.2.3.7.3-5

a：公表論文に GLP 適用と記載されていた場合に、「適」とした。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

単回投与毒性試験のまとめを表 2.6.6.2-1 に示した。

表 2.6.6.2-1　単回投与毒性試験のまとめ

試験系	投与経路	用量	LD_{50}	主な所見
マウス [1)]	経口	16.5～24.6 g/kg	16.5 g/kg	死亡動物： 振戦、運動失調、筋無力症、自発運動の減少、緩徐呼吸、血色素尿 生存動物： 自発運動の減少、強烈な硫黄臭の呼気
ラット [1)]	経口	17.4～28.3 g/kg	17.4 g/kg	マウスと同様な変化に加えて、多飲及び多尿
イヌ [2)]	膀胱内	8.3～82.5 g/body	-	膀胱に用量に関連した浮腫又は炎症性細胞反応
イヌ [1)]	経口	10 g/kg	-	嘔吐以外に明らかな変化なし

各動物種における LD_{50} は、マウスでは経口投与で 16.5 g/kg[1)]であり、ラットでは経口投与で 17.4 g/kg[1)]であった。一般状態では、マウス及びラットで振戦、自発運動の減少及び緩徐呼吸などの急性毒性で見られる変化が認められた。イヌの膀胱内投与では 82.5 g/body(100% DMSO を 3 時間保持)[2)]まで、経口投与では 10 g/kg[1)]まで投与しても死亡は認められなかった。また、両投与経路ともに、一般状態に変化は見られなかったが、膀胱内投与では、膀胱に浮腫又は炎症性細胞反応が認められた。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

反復投与毒性試験のまとめを表 2.6.6.3-1 に示した。

表 2.6.6.3-1　反復投与毒性試験のまとめ

試験系	投与経路	用量	投与期間	無毒性量 /最小毒性量	主な所見
ラット	経口	1.1～ 9.9 g/kg/日	18 箇月間	1.1 g/kg/日 (無毒性量)	全群： 一般状態の変化(腹部の不快兆候に関連する背彎姿勢)、体重増加量減少 9.9 g/kg/群： ヘモグロビン及びヘマトクリット値の軽度の減少、水晶体に若干の屈折率の変化
イヌ	膀胱内	0.5 g/kg	6 箇月間 (2 回/週)	0.5 g/kg (無毒性量)	なし
	経口	1.1～ 9.9 g/kg/日	2 年間	1.1 g/kg/日 (最小毒性量)	全群：眼の変化 3.3 及び 9.9 g/kg の群： 尿量の増加、尿比重の低値及び飲水量の増加、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値及び赤血球数の軽度の増加
サル	経口	1.0～ 8.9 g/kg/日	18 箇月間	3.0 g/kg/日 (無毒性量)	8.9 g/kg 群：死亡、流涎、嘔吐、体重減少
	経皮	1.0～ 8.9 g/kg/日	18 箇月間	8.9 g/kg/日 (無毒性量)	全群：塗布部(皮膚)の皮膚の鱗屑及び剥離

2.6.6.3.1　ラット 18 箇月間(78 週間)反復経口投与毒性試験 [3)]

雌雄 SD 系ラット(各群 50 匹)に 50% DMSO を用いて、投与量として 1.1、3.3 及び 9.9 g/kg/日を 18 箇月間(78 週間、5 日/週)、反復経口投与した。各群 10 匹は投与 52 週間後に、各群の残りは投与 78 週間後に屠殺した。本試験では、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科検査、血液学的検査及び尿検査を実施した。

試験の結果、DMSO 投与に関連した死亡は認められなかった。一般状態では、全ての投与群で投与後に腹部の不快兆候に関連すると思われる背彎姿勢が散見されたが、重篤な変化ではないと考えられた。体重では、1.1 g/kg 群の雄を除く雌雄全ての投与群で、投与量に関連した体重増加量の低値が認められたが、摂餌量の変化は見られなかった。血液学的検査では、9.9 g/kg 群の雄でヘモグロビン及びヘマトクリット値の軽度の減少が認められた。眼科検査では、9.9 g/kg 群の 50 匹中 3 匹で水晶体核部の屈折率に軽度の変化が見られた。その他の検査では、投与に関連した明らかな変化は認められなかった。

以上、本試験では少数例の眼の軽度の変化以外に明らかな毒性は認められなかった。1.1 g/kg 群での体重増加量の低値は片性のみであり、他の検査では投与による影響がなかったことから重篤な変化ではないと考えられたため、本試験における DMSO の無毒性量は 1.1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.3.2　イヌ 6 箇月間反復膀胱内投与毒性試験 [4)]

雑種のイヌ 8 頭を用いて、50% DMSO を 13.8 g/body(0.5 g/kg)、麻酔下で週 2 回 30 分間保持、最長 6 箇月間、膀胱内に投与した。投与開始 2 及び 3 箇月後に各 2 頭、6 箇月後に 4 頭を剖検し、膀胱については病理組織学的検査を実施した。本試験では、投与前及び投与 1 箇月毎に血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、尿培養、バイオプシーによる膀胱検査及び細隙灯顕微鏡検査を含む眼科検査を実施したが、それらの検査で変化は認められなかった。また、剖検及び膀胱の病理組織学的検査においても DMSO 投与による影響は認められなかった。

以上、本試験における DMSO の無毒性量は 0.5 g/kg と推定された。

2.6.6.3.3 イヌ 2 年間反復経口投与毒性試験 [3)]

4～5 箇月齢の雌雄コーギー犬(各群 5 頭)に 50% DMSO を用いて、投与量として 1.1、3.3 及び 9.9 g/kg/日を 2 年間(5 回/週)、反復経口投与した。各群半数のイヌ(1.1 g/kg 群で雄 2 及び雌 3 頭、3.3 及び 9.9 g/kg 群では雄 3 及び雌 2 頭)に 2 年間投与した。残りのイヌには 18 週間投与し、6 箇月間休薬した。本試験では、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科検査(水晶体の生化学的検査を含む)、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

試験の結果、一般状態では、9.9 g/kg 群で嘔吐が、3.3 及び 9.9 g/kg 群で一過性の首振りが散見されたが、重篤な変化ではないと考えられた。体重及び摂餌量に投与に関連した変化は認められなかった。心電図検査では、投与による明らかな変化は認められなかった。尿検査では、3.3 及び 9.9 g/kg 群で飲水量の増加に関連すると考えられる尿量の増加及び尿比重の低値が見られたが、腎機能への影響は認められなかった。血液学的検査では、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量及び赤血球数に軽度の増加が認められたが、骨髄検査では変化が認められなかった。血液生化学的検査では、投与による明らかな変化は認められなかった。また、剖検及び病理組織学的検査でも、投与による明らかな変化は認められなかった。

眼科検査では投与による影響が認められた。水晶体中心部(核)の屈折率の変化、一過性の密度の濃い白色の水晶体赤道部の混濁、持続性の水晶体のタンパク光(混濁ではない)、硝子体液の変化の順に経時的に変化した。屈折率の変化は、3.3 及び 9.9 g/kg 群で投与 10 週目から、1.1 g/kg 群では投与 31 週から認められたが、休薬により回復する傾向が認められた。水晶体の赤道部の混濁は、9.9 g/kg 群で投与 16 週目から 23 週目までに観察された。混濁の消失後、乳白色のタンパク光が認められた。この変化は 3.3 g/kg 群では、9.9 g/kg 群よりも 10 週遅く(投与 31 週目)観察され、投与終了まで認められた。硝子体液の変化は最後に見られ、3.3 及び 9.9 g/kg 群のイヌで投与 9～10 箇月目から投与終了まで認められたが、休薬及び 1.1 g/kg 群のイヌでは、変化は見られなかった。水晶体の生化学的検査では、全ての投与群で不溶性タンパクの増加、9.9 g/kg 群で可溶性タンパク(α-crystallin の減少に起因しているものと推定)及びグルタチオン量の減少、3.3 及び 9.9 g/kg 群で水分量の減少が見られ、9.9 g/kg 群では休薬後も減少が認められた。なお、網膜は正常であり、レンズ重量及び眼房水量に投与群間の差異は認められなかった。

以上、全ての投与群で眼における影響が認められたことから、本試験における DMSO の無毒性量は決定できず、最小毒性量は 1.1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.3.4 サル 18 箇月間反復経口及び経皮投与試験 [5)]

アカゲザルに 90% DMSO を用いて、投与量として 1.0、3.0 及び 8.9 g/kg/日を 18 箇月間、反復経口及び経皮投与した。両投与経路ともに 1.0 及び 3.0 g/kg 群では雌雄各 2 匹、8.9 g/kg 群では雌雄各 3 匹、水を投与した対照群には、経口投与で雌 2 匹及び雄 1 匹、経皮投与で雄 2 匹及び雌 1 匹を設定した。本試験では、一般状態、体重、摂水量、心電図、神経学的検査(反射)、心拍数、血圧、体温、呼吸数、眼科検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を実施した。

経口投与では、8.9 g/kg 群で全 6 匹が死亡(うち 1 匹は偶発的な死亡)した。一般状態では、嘔吐及び流涎が散発的に観察された。8.9 g/kg 群以外では、投与に関連した変化は見られなかった。これらの変化は、頻度は低いものの対照群にも認められた。8.9 g/kg 群で食欲不振が見られたが、1.0 及び 3.0 g/kg 群では明らかではなかった。全ての投与群の数匹で、皮膚の紅斑が発現した。

経皮投与では、投与初期に、全ての動物で DMSO を塗布した腹部の皮膚の鱗屑及び剥離が認め

られたが、投与群間に明らかな差は見られなかった。また、一部の動物で皮膚の紅斑が発現したものの、用量依存性はなく、散発的な変化であった。その他に、DMSO 投与に関連する有害な行動又は身体上の徴候は認められなかった。

体重では、全ての経皮投与群、並びに 1.0 及び 3.0 g/kg の経口投与群で、試験期間中の平均体重増加量が対照群と比較してわずかに低かった。一方、8.9 g/kg の経口投与群では明らかな体重減少が認められた。特に嘔吐及び摂餌低下が見られた期間で体重減少が顕著であった。また、死亡時の体重は試験開始時より低かった。

摂水量、体温、心電図、血圧、心拍数、呼吸数及び神経学的検査(反射)では、DMSO の経口及び経皮投与に関連した変化は認められなかった。

眼科検査では、水晶体の変化を含め経口及び経皮投与による明らかな眼の変化は認められなかった。また、トロピカミド散瞳への反応性低下も見られなかった。

血液学的検査又は血液生化学的検査項目のいずれも、異常は認められなかった。また、ESR (赤血球沈降速度)、BSP (bromsulphalein)停滞率、クレアチニンクリアランス、尿検査及び器官重量に変化は認められなかった。すなわち、DMSO 8.9 g/kg までの経口又は経皮投与では、サルの血液希釈又は貧血の徴候は見られず､肝毒性及びトランスアミナーゼ上昇の発現も認められなかった。また、全ての動物の骨髄塗抹検査の結果、DMSO 投与に起因する有害な赤血球造血活性は認められなかった。

剖検では、DMSO の経口及び経皮投与に関連したと考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、経皮投与において、DMSO 投与群及び対照群で腹部の皮膚に表皮肥厚及び巣状の慢性角化亢進症が認められた。これは溶液を塗布された動物によく見られる所見であった。この投与部位の変化以外には、DMSO 投与に起因した変化は認められなかった。

経口投与 8.9 g/kg 群の死亡動物では、肺気腫及び無気肺が認められた。これは気管吸入又は摂取に伴う吐き戻しが原因であり、DMSO に限らず、揮発性の高い刺激性物質で見られる変化であることから毒性学的意義の低い変化と考えられた。

以上、DMSO 投与によって認められた影響は、経口投与群で嘔吐、流涎及び食欲不振などの消化器症状、経皮投与群では塗布部位皮膚の鱗屑及び剥離のみであるため、本試験における無毒性量は、経口投与では 3.0 g/kg/日、経皮投与では 8.9 g/kg/日と推定された。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

遺伝毒性試験のまとめを表 2.6.6.4-1 に示した。

表 2.6.6.4-1　遺伝毒性試験のまとめ

試験名	試験系	用量、投与期間	結果
遺伝子 突然変異	*S typhimurium*	～1.4×10^6 nmol/plate	陰性
	マウスリンパ腫 L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	55～93 mg/mL	陰性
染色体異常	マウスリンパ腫 L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	55～93 mg/mL	陽性(軽度)
In vitro 小核	マウスリンパ腫 L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	55～93 mg/mL	陰性
In vivo 小核	ラット	0.2～5 g/kg、5 日間	陰性

2.6.6.4.1　*In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 [6)]

S. typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 の 5 菌株を用いて、プレート法に

より、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で DMSO の遺伝子突然変異誘発能を評価した。代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株も 1.4×10^6 nmol/plate (109.4 mg/plate)まで復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上、本試験では、DMSO は細菌に対して遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.1.2 ほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ試験 [7)]

マウスリンパ腫細胞(L5178Y/$TK^{+/-}$ -3.7.2C)を用いて、DMSO の遺伝子突然変異誘発能を評価した。代謝活性化系の非存在下で 55～93 mg/mL の DMSO を 4 時間曝露した結果、総変異出現率の増加は認められなかった。

以上、本試験では、DMSO はほ乳類培養細胞に対して遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.1.3 ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 [7)]

マウスリンパ腫細胞(L5178Y/$TK^{+/-}$ -3.7.2C)に代謝活性化系の非存在下で 55～93 mg/mL の DMSO を 4 時間曝露した。構造異常細胞出現頻度及び細胞生存率は、溶媒対照群でそれぞれ 4 及び 100%、55 mg/mL 群で 4 及び 40%、77 mg/mL 群で 5 及び 37%、88 mg/mL 群で 6 及び 18%、93 mg/mL 群で 8 及び 8%であった。強い細胞毒性が見られた 93 mg/mL では、溶媒対照群と比較し、染色体構造異常出現率のわずかな増加傾向が認められた。

以上、本試験では、DMSO はほ乳類培養細胞に対して軽度の染色体異常誘発作用を示した。

2.6.6.4.1.4 ほ乳類培養細胞を用いる *in vitro* 小核試験 [7)]

マウスリンパ腫細胞(L5178Y/$TK^{+/-}$ -3.7.2C)を用いて、DMSO の小核誘発能を評価した。代謝活性化系の非存在下において 55～93 mg/mL の DMSO を 4 時間曝露した結果、小核出現頻度に変化は認められなかった。

以上、本試験では、DMSO はほ乳類培養細胞に対し小核誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 ラットの腹腔内投与による小核試験 [8)]

Wistar 系ラット(各群雌雄 6 匹)に 0.2、1 及び 5 g/kg/日の DMSO を 5 日間反復腹腔内投与し、最終投与後 24 時間の骨髄細胞における小核誘発能を評価した。その結果、いずれの投与量でも小核出現頻度に変化は認められなかった。

以上、本試験では、DMSO はラット骨髄細胞に対し小核誘発作用を示さなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

がん原性試験のまとめを表 2.6.6.5-1 に示した。

表 2.6.6.5-1　がん原性試験のまとめ

試験種	試験系	投与経路	用量	方法	結果
長期がん原性	マウス	皮下	1.8 g/kg [a]	76 週間	がん原性なし
	ラット	経口	1.1～9.9 g/kg/日	18 箇月間	がん原性なし
二段階発がん性(イニシエーション)	マウス	経皮	3.7 g/kg [a]	DMSO を 5 週間投与後にプロモーター投与	イニシエーション作用なし
二段階発がん性(プロモーション)	マウス	経皮	3.7 g/kg [a]	イニシエーター投与後に DMSO を 400 日間(3 回/週)	プロモーション作用なし
	ラット	経口(飲水)	50 ppm	イニシエーター投与後に DMSO を 18 箇月	プロモーション作用なし
	マウス	膀胱内	1.8～3.7 g/kg [a]	イニシエーター投与後に DMSO を 8～10 週間(1 回/週)	プロモーション作用あり

a：マウスの体重を 30 g として換算

マウスでは、100% DMSO を 76 週間反復皮下投与(1 回/週、0.05 mL/body(1.8 g/kg))[9]、52 週間反復経皮投与(2 回/週、0.1 mL/body(3.7 g/kg))[10]、又は 400 日間(57 週間)反復経皮投与(3 回/週、0.1 mL/body(3.7 g/kg))[11]した結果、投与部位に腫瘍性の変化は認められなかった。ラットでは、18 箇月間(78 週間)反復経口投与毒性試験(投与量：1.1、3.3 及び 9.9 g/kg/日)[3]において、腫瘍性の変化は認められなかった(一般状態観察)。更に、非げっ歯類の長期反復投与試験では、イヌの 2 年間反復経口投与毒性試験(投与量：1.1、3.3 及び 9.9 g/kg/日)[3]及びアカゲザルの 18 箇月間反復経口及び経皮投与毒性試験(投与量：1.0、3.0 及び 8.9 g/kg/日)[5]のいずれにおいても DMSO 投与に関連した腫瘍性変化は認められなかった。

2.6.6.5.1　がん原性試験：イニシエーション作用 [10]

雌性 CD-1 系マウス(20 匹)を用いて、100% DMSO 0.1 mL(3.7 g/kg)を週 2 回、5 週間、反復経皮投与した後、12-*O*-tetradecanoyl phorbol-13-acetate 2.5 μg(0.1 mL)を週 2 回、47 週間、反復経皮投与した二段階発がん性試験で腫瘍は認められなかった。なお、本試験では 100% DMSO のみ(0.1 mL/body、3.7 g/kg)を 52 週間(5 週間及び 47 週間)反復経皮投与した群も設定しており、この群でも腫瘍は認められなかった。

2.6.6.5.2　がん原性試験：プロモーション作用

雌性 ICR/Ha Swiss 系マウス(20 匹)を用いて、20 μg の 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)を単回経皮投与した後に、100% DMSO 0.1 mL(3.7 g/kg)を 400 日間(3 回/週)反復経皮投与した試験では、塗布部位に腫瘍の発生は認められなかった [11]。

雌性 SD 系ラット(各群 50 匹)を用いて、20 mg の DMBA を単回経口投与した後に、18 箇月間 DMSO を飲水させた。1 群は DMBA 投与の 3 日前から 0.005% (50 ppm)の DMSO を、2 群は DMBA 投与の 3 日後から 0.005% (50 ppm)の DMSO を、3 群は DMSO を飲水させていない陰性対照群とした。各群で乳腺に腺がんが発生したが、DMBA による腫瘍の発生時期に差異はなく、腫瘍発生動物数及び死亡率に有意差は見られなかったが、18 箇月目における腫瘍総数は陰性対照群と比較して DMSO 投与群(1 群及び 2 群)の方が減少傾向を示した [12]。

雌性 C3H/He 系マウス(実験 1：各群 25 匹、実験 2：各群 18～28 匹)を用いて、0.05% *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN)を飲水で投与し、その後に DMSO を膀胱内投与した。

実験 1 では、BBN を飲水で 8 週間投与し、100% DMSO 0.1 mL/body(3.7 g/kg)をネンブタール麻酔下で週 1 回、10 週間(計 10 回)膀胱内投与(少なくとも 30 分間保持)する群及び膀胱内投与を行わない群(対照群)を設定した。BBN 投与開始 30 週後に両群を比較した結果、DMSO を膀胱内投与した群の膀胱がんの発生匹数は 15/16 匹(93.7%)であり、対照群の発生頻度は 6/22 匹(27.3%)であった。実験 2 では、0.05% BBN を 5 週間飲水(1～3 群)及び BBN を飲水しない群(4 及び 5 群)を設定し、1 及び 4 群では 100% DMSO 0.05 mL/body(1.8 g/kg)をネンブタール麻酔下で週 1 回、8 週間(計 8 回投与)膀胱内投与し、2 群では 0.05 mL の水を 1 群と同様に膀胱内投与(8 回)し、3 及び 5 群は麻酔のみを実施(投与なし)した。BBN 投与開始 14 及び 30 週後にマウスを剖検し、病理組織学的検査を実施した。投与 14 及び 30 週後の膀胱がんの合計発生匹数は、1 群(BBN→DMSO)で 6/25 匹(24.0%)、2 群(BBN→水)で 0/22 匹(0%)、3 群(BBN→投与なし)で 0/25 匹(0%)、4 群(BBN なし→DMSO)で 0/19 匹(0%)、5 群(BBN なし→投与なし)で 0/18 匹(0%)であった。以上、BBN を投与した後に DMSO を膀胱内投与した群では膀胱がんの発生率が高かった [13)]。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験のまとめを表 2.6.6.6-1 に示した。

表 2.6.6.6-1　生殖発生毒性試験のまとめ

試験種	試験系	投与経路	用量	投与期間	無毒性量	主な所見
受胎能及び着床までの初期胚発生、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	ラット	経口	0.1～1 g/kg/日	交配前 2 週間～授乳期 21 日	親動物及び次世代：1 g/kg/日	なし
胚・胎児発生	ラット	経口	1～10 g/kg/日	妊娠 6～15 日	母動物及び胚・胎児：1 g/kg/日 催奇形性(外表)：10 g/kg/日	母動物(5 及び 10 g/kg 群)：体重増加量及び摂餌量の低値 胚･胎児(5 及び 10 g/kg 群)：早期吸収胚率及び着床後死亡胚数の高値、生存胎児率の低値、胎児体重の低値
			0.2～5 g/kg/日	妊娠 6～15 日	母動物及び胚・胎児：1 g/kg/日 催奇形性：5 g/kg/日	母動物(5 g/kg 群)：体重増加量及び摂餌量の低値 胚・胎児(5 g/kg 群)：胎児体重の低値、肋骨の骨化遅延
	ウサギ	経口	0.2～5 g/kg/日	妊娠 7～28 日	母動物及び胚・胎児：1 g/kg/日 催奇形性(外表)：1 g/kg/日	母動物(5 g/kg 群)：死亡、体重増加量、摂餌量及び摂水量の低値 胚・胎児(5 g/kg 群)：着床後死亡数の高値
			0.1～1 g/kg/日	妊娠 7～28 日	母動物：0.3 g/kg/日 胚・胎児：1 g/kg/日 催奇形性：1 g/kg/日	母動物(1 g/kg 群)：体重増加量及び摂餌量の低値 胚・胎児：なし

2.6.6.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験：ラットの経口投与による一世代試験(生殖 I+II 試験)[8)]

生殖 I 試験(受胎能及び着床までの初期胚発生試験)及び生殖 II 試験(出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験)を一世代試験にて評価した。

雌雄 SD 系ラット(各群 12 匹)を用いて、0.1、0.3 及び 1 g/kg/日の DMSO を反復経口投与した。雄は交配前の 2 週間、交配期間(2 週間)及び交配終了後の計画殺まで、雌は交配前の 2 週間、交配期間(2 週間)、妊娠期間(3 週間)及び授乳期間(21 日間)に反復経口投与し、親動物(雌雄ラット)及び出生児に対する影響を評価した。本試験では、一般状態、体重、摂餌量、交尾率、受胎率、妊娠期間、分娩、哺育、出生児(生存率、外表観察、一般状態観察、体重及び性)及び病理関連(親動物：臓器重量、剖検及び病理組織学的検査。出生児：剖検)について検査又は観察を実施した。

試験の結果、全ての検査において DMSO 投与による影響は認められなかった。よって、本試験

では親動物における DMSO の一般毒性学的影響、生殖能(交尾、受胎、妊娠、分娩及び哺育)、並びに次世代への影響に対する無毒性量は、1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験(用量設定試験)[8)]

雌性 SD 系ラット(各群 7 匹)を用いて、1、5 及び 10 g/kg/日の DMSO を妊娠 6～15 日に反復経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。

母動物において、一般状態及び剖検における変化、死亡及び流産は認められなかった。5 及び 10 g/kg 群では、体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。胚・胎児では、5 及び 10 g/kg 群で、早期吸収胚率及び着床後胚死亡数の高値、生存胎児率の軽度の低値が認められた。また、胎児体重では、軽度から中程度の低値が認められ、母動物の摂餌量及び体重増加量の低値に関連した変化と考えられた。胎児の外表異常は認められなかった。

以上、本試験における DMSO の母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.6.2.2 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 [8)]

雌性 SD 系ラット(各群 25 匹)を用いて、0.2、1 及び 5 g/kg/日の DMSO を妊娠 6～15 日に反復経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。

母動物において、一般状態及び剖検における変化、死亡及び流産は認められなかった。5 g/kg 群では、投与期間中に母動物で体重増加量の軽度の低値及び摂餌量の低値が認められた。胚・胎児では、5 g/kg 群で胎児体重の低値が認められたが、母動物の摂餌量及び体重増加量の低値に関連した変化と考えられた。外表異常及び内臓検査に影響は認められなかった。骨格検査では、変異及び異常は見られなかったが、5 g/kg 群で肋骨の骨化遅延が認められ、胎児体重の低値に関連した変化と考えられた。催奇形性は、5 g/kg まで投与しても認められなかった。

以上、本試験における DMSO の母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.6.2.3 ウサギの経口投与による胚・胎児発生に関する試験(用量設定試験)[8)]

雌性ニュージーランド白色種ウサギ(各群 6 匹)を用いて、0.2、1 及び 5 g/kg/日の DMSO を妊娠 7～28 日に反復経口投与し、妊娠 29 日に帝王切開を実施した。

母動物において、5 g/kg 群で 1 匹の死亡が認められた。一般状態及び剖検における変化、流産は認められなかった。5 g/kg 群では、著しい体重増加量及び摂餌量の低値、並びに中程度の摂水量の低値が認められた。胚・胎児では、5 g/kg 群で着床後死亡数(総吸収胚数)の高値が見られた。なお、0.2 及び 1 g/kg 群で外表異常は認められなかった。

以上、本試験における DMSO の母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量は 1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.6.2.4 ウサギの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 [8)]

雌性ニュージーランド白色種ウサギ(各群 24 匹)を用いて、0.1、0.3 及び 1 g/kg/日の DMSO を妊娠 7～28 日に反復経口投与し、妊娠 29 日に帝王切開を実施した。

母動物で投与に関連した死亡、一般状態及び剖検に変化は見られなかった。0.3 g/kg 群で摂餌量の減少が投与開始後の 2 日間に認められたが軽度の変化であった。1 g/kg 群では、中程度の体重増加量及び摂餌量の低値が投与初期に認められた。胚・胎児では、催奇形性を含め、投与によ

る影響は認められなかった。

以上、本試験における DMSO の母動物に対する無毒性量は 0.3 g/kg/日、胚・胎児発生に対する無毒性量は 1 g/kg/日と推定された。

2.6.6.6.3 新生児を用いた試験

該当試験なし

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性試験のまとめを表 2.6.6.7-1 に示した。

表 2.6.6.7-1 局所刺激性試験のまとめ

試験種(部位)	試験系	投与経路	方法	結果
皮膚	ウサギ	経皮	4 時間 継続塗布	刺激性あり(軽微)
眼	ウサギ	点眼	単回	刺激性あり(軽度)

2.6.6.7.1 ウサギにおける皮膚刺激性試験 [8)]

ニュージーランド白色種ウサギを用いて、皮膚刺激性試験を実施した。100% DMSO 0.5 mL を、1 匹のウサギに 3 分間(左側横腹前部)、1 時間(右側横腹前部)及び 4 時間(右側横腹後部)塗布し、更に別の 2 匹のウサギには 4 時間塗布のみを実施した。その後、1、24、48 及び 72 時間後に皮膚を評価した。3 分間及び 1 時間塗布では、皮膚反応は見られなかった。4 時間塗布では、24 時間後に全てのウサギで非常に軽微な又は明らかな紅斑が認められた。48 及び 72 時間後では各々2/3 及び 1/3 匹のウサギに紅斑が見られたが、投与 4 日後には、皮膚反応は消失した。以上の結果、DMSO は皮膚に対し、回復性を有する軽微な刺激性を示したと考えられた。

2.6.6.7.2 ウサギにおける眼刺激性試験 [8)]

6 匹のニュージーランド白色種ウサギを用いて、眼刺激性試験を実施した。方法は、100% DMSO を 0.1 mL、1 回点眼し、投与 7 日後まで Draize's score により評価した。その結果、結膜の紅斑が投与 1 時間後～3 日後まで認められた。また、結膜浮腫が投与 4 時間後まで、虹彩炎が投与 48 時間後まで、角膜混濁が投与 24 時間後に認められた。投与 4 日後以降では変化は見られなかった。認められた変化は、全て軽度であった。以上の結果、DMSO は眼に対して軽度の可逆的な刺激性を有すると考えられた。

2.6.6.8　その他の毒性試験

その他の毒性試験のまとめを表 2.6.6.8-1 に示した。

表 2.6.6.8-1　その他の毒性試験のまとめ

試験種	試験系	投与経路	用量	投与期間	主な所見又は結果
感作性	モルモット	皮内 →経皮	100% DMSO 使用	各 1 回	感作性なし
代謝物に関する試験 ($DMSO_2$)					
反復投与毒性試験	ラット	経口	1.5 g/kg/日	90 日間	主な所見：なし 無毒性量：1.5 g/kg/日
In vivo 小核	マウス	経口	1.25～5 g/kg	単回	陰性
胚・胎児発生	ラット	経口	0.05～1 g/kg/日	妊娠 6～20 日	主な所見：なし 無毒性量(母動物、胚・胎児及び催奇形性)： 1 g/kg/日
代謝物に関する試験 (DMS)					
反復投与毒性試験	ラット	経口	0.0025 ～0.25 g/kg/日	14 週間	主な所見：なし 無毒性量：0.25 g/kg/日
In vivo 小核	マウス	経口	1.25～5 g/kg	単回	陰性
胚・胎児発生	ラット	経口	0.1～1 g/kg/日	妊娠 5～19 日	主な所見：なし 無毒性量(母動物、胚・胎児及び催奇形性)： 1 g/kg/日

2.6.6.8.1　光毒性

太陽光の波長内(290～700 nm)に光毒性を誘起する光の吸収を認めなかったため、該当しない(4.2.3.7.1-1)。

2.6.6.8.2　皮膚感作性試験 [14)]

10 匹の Hartley 系モルモットを用いて、皮膚感作性試験を実施した。方法は、100% DMSO を皮内投与し、21 日後に 100% DMSO をオープンパッチ法により側腹に 24 時間塗布(惹起)した。惹起の 48 時間後に感作性をグレード法により評価した。その結果、感作されたモルモットは認められず、DMSO は皮膚感作性を示さないと考えられた。

2.6.6.8.3　代謝物の毒性試験

2.6.6.8.3.1　$DMSO_2$ (ジメチルスルホン又はメチルスルホニルメタン)

2.6.6.8.3.1.1　ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験 [15)]

雌雄 Wistar 系ラット(各群 20 匹)を用いて、$DMSO_2$ 1.5 g/kg/日を 90 日間反復経口投与した。本試験では、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査(腎臓)を実施したが、投与による影響は認められなかった。

以上、本試験における $DMSO_2$ の無毒性量は 1.5 g/kg/日と考えられた。

2.6.6.8.3.1.2　マウスの経口投与による小核試験 [16)]

マウス(各群 6 匹(系統、性別不明))を用いて、$DMSO_2$ 1.25、2.5 及び 5 g/kg を単回経口投与し、投与 48 時間後の骨髄細胞における小核誘発能を評価した。その結果、いずれの投与量でも小核発現頻度に有意な増加が認められなかった。

以上、本試験では、$DMSO_2$はマウス骨髄細胞に対して小核誘発作用を示さなかった。

2.6.6.8.3.1.3 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 [17)]

雌性 SD 系ラット(各群 24 又は 25 匹)を用いて、$DMSO_2$ 0.05、0.5 及び 1 g/kg/日を妊娠 6～20 日に反復経口投与し、妊娠 21 日に帝王切開を実施した。

母動物では、全ての投与群で一般状態、体重、摂餌量及び生殖機能に投与による影響は認められなかった。胚・胎児では、全ての投与群で催奇形性を含め投与による影響は認められなかった。

以上、本試験における $DMSO_2$ の母動物及び胚・胎児発生の無毒性量は、1 g/kg/日と考えられた。

2.6.6.8.3.2 DMS (ジメチルスルフィド)

2.6.6.8.3.2.1 ラットの 14 週間反復経口投与毒性試験 [18)]

雌雄 Wistar 系ラット(各群 15 匹)を用いて、DMS 0.0025、0.025 及び 0.25 g/kg/日を 14 週間反復経口投与した。本試験では、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を実施したが、投与による明らかな影響は認められなかった。

以上、本試験における DMS の無毒性量は 0.25 g/kg/日と考えられた。

2.6.6.8.3.2.2 マウスの経口投与による小核試験 [19)]

雌雄 ICR 系マウス(各群 5 匹)を用いて、DMS 1.25、2.5 及び 5 g/kg の投与量を単回経口投与し、投与 24、48 及び 72 時間後の骨髄細胞における小核誘発能を評価した。その結果、いずれの投与量でも小核発現頻度に変化は認められなかった。

以上、本試験では、DMS はラット骨髄細胞に対して小核誘発作用を示さなかった。

2.6.6.8.3.2.3 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 [19)]

雌性 SD 系ラット(各群 25 匹)を用いて、DMS 0.1、0.5 及び 1 g/kg/日を妊娠 5～19 日に反復経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。

母動物では、全ての投与群で、一般状態、体重、摂餌量及び生殖機能に投与による影響は認められなかった。胚・胎児では、全ての投与群で、催奇形性を含め、投与による影響は認められなかった。

以上、本試験における DMS の母動物及び胚・胎児発生の無毒性量は、1 g/kg/日と考えられた。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 単回投与毒性試験

マウス及びラットの経口投与では、大量投与により急性毒性の症状を呈し、死亡が認められた。イヌの経口投与及び臨床投与経路である膀胱内投与での死亡は認められなかった。なお、イヌの膀胱内投与では、臨床では使用されることのない濃度(100%)及び保持時間(3 時間)により、浮腫及び炎症性細胞反応が認められた。

2.6.6.9.2 反復投与毒性試験

ラット(経口投与)、イヌ(膀胱内及び経口投与)及びサル(経口及び経皮投与)の反復投与毒性試験について評価した。その結果、一般状態、体重及び摂餌量に変化が認められたが、血液学的及び血液生化学的検査の著明な変化並びに病理検査における変化は見られず、生活及び生命に重篤な影響を及ぼす変化は認められなかった。

反復投与毒性試験における血中濃度については、公表論文で確認できなかった。そのため、第 I 相臨床薬理試験(L101 試験(2.7.2.2.2.1))の実投与量と各動物種の無毒性量の投与量を比較した。実投与量は、本剤 50 mL(DMSO として 27 g 含有)を膀胱内投与後の DMSO の回収率から体内残存量を算出し、更に各症例の体重当たりの値に換算し、0.073 g/kg とした。各動物種の無毒性量は、ラット経口投与で 1.1 g/kg/日、イヌ膀胱内投与で 0.5 g/kg、サル経口及び経皮投与で 3.0 g/kg/日及び 8.9 g/kg/日であった。また、イヌ経口投与での最小毒性量は 1.1 g/kg/日であった。体表面積換算 [20]を行い実投与量と各動物種の無毒性量又は最小毒性量との比(以下、実投与量比)を算出すると、ラットの経口投与では 2.4 倍、イヌの膀胱内及び経口投与では 3.7 倍及び 8.1 倍、サルの経口投与及び経皮投与では 13 倍及び 40 倍であった。なお、臨床使用時の投与頻度は 2 週間に 1 回であるが、非臨床毒性試験では毎日(経口及び経皮)又は週 2 回(膀胱内)で、臨床使用時と比べて頻繁に投与しており、臨床との投与頻度と比較すると 14 倍(経口及び経皮)又は 4 倍(膀胱内)であった。また、臨床では膀胱内に保持する時間が 15 分であり DMSO の曝露量は十分に小さいことから、実際の実投与量比は示した数値以上になると考えられた。

第 III 相検証的試験(L301(2.7.4.2))では、DMSO 投与による因果関係が否定できない重篤な有害事象及び重要な有害事象並びに副作用は認められていない。FAERS[21]では、調査対象とした約 16年間*で重篤な副作用は 1 例のみであった(2.7.4.6.2)。また、臨床使用時よりも投与頻度が高い反復投与毒性試験で明らかな毒性が認められていないことからも、臨床における 2 週間に 1 回の DMSO投与では、重篤な有害事象が発現する可能性は低いと考えられた。

眼への影響について、イヌの反復経口投与毒性試験では眼(水晶体)に明らかな変化が見られたが、反復膀胱内投与毒性試験では認められなかった。ラットの反復経口投与毒性試験では高用量の少数例に軽度の屈折率の変化が認められた。一方、サルでは影響が認められなかったことから、水晶体への影響には種差があり、投与経路も関連すると考えられた。イヌでは、屈折率の変化が最初に見られ、その後に水晶体の変化が認められた。この変化は毎日投与して 10 週目から認められたが、臨床使用時(2 週間に 1 回の投与)よりも高頻度の曝露(1 日 1 回の投与)で発現し、休薬によって回復傾向を示した。なお、水晶体に対する有害事象は臨床試験(2.7.4.2.1.5.1.3)では認められず、FAERS[21]でも水晶体に対する明らかな副作用の報告はなかった。

以上から、米国の添付文書では水晶体への影響について注意喚起がなされているものの [22]、主にイヌの経口投与で認められた水晶体の変化は、種差、臨床で使用される投与量、投与経路及び症例報告を考慮すると臨床使用で発現する可能性は低く、水晶体への影響に関する懸念は小さいと考えられた。

2.6.6.9.3 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いる小核試験及びマウスリンフォーマ試験、並びにラットを用いる骨髄小核試験において全て陰性を示した。なお、*in vitro* の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で染色体構造異常出現率に軽度の増加傾向が見られたが、ラットを用いる骨髄小核試験では陰性を示していることから、DMSO が染色体異常誘発作用を示す可能性は低いと考えられた。

以上から、DMSO が遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9.4 がん原性試験

マウス、ラット、イヌ及びサルにおいて、DMSO の長期反復投与に関連した腫瘍性変化の発現は認められなかった。

DMSO の発がん性との関連性については、古くから研究されている。DMSO については、発が

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

ん抑制因子の活性化、アポトーシスの誘導及び多種のがん細胞増殖抑制作用が報告されている[23),24),25)]。また、DMSO では、ヒドロキシラジカル消去作用によるプロモーション作用の抑制も報告されている[26)]。プロモーション作用に関しては、マウスの経皮若しくはラットの経口投与による二段階発がん試験において腫瘍発生の増加は認められておらず、DMSO はプロモーターではないと報告されている。その一方、膀胱内投与で DMSO がプロモーション作用を有するとの報告もある。DMSO の膀胱内投与は投与液量、濃度及び膀胱内曝露時間に依存して浮腫及び炎症性細胞反応を引き起こすことが示されていることから、当該報告でも、細胞障害性による代償性の細胞増殖が生じ、二次的に発がん性を高めた可能性もあると考えられた。

イニシエーション作用については、マウスの皮膚二段階発がん性試験で腫瘍の増加は認められなかった。

以上、DMSO が遺伝毒性を示す可能性は低く、発がん抑制作用に関する報告もあり、発がん性に関する報告ではイニシエーション作用は認められなかった。なお、プロモーション作用を有するという一部の報告があるものの、DMSO を各動物種に長期投与した報告では、発がんに関連する変化は何ら認められていない。また臨床では、1978 年の米国の製造販売承認以降、治療目的のため多くの患者に RIMSO-50 を含む 50% DMSO 製剤が膀胱内投与されているが、FAERS では、腫瘍形成を含め、がん発生に関連した副作用の報告は認められていない[21)]。

以上から、DMSO ががん原性を有する可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9.5 生殖発生毒性試験

OECD ガイドラインに従った方法で実施された試験として、ラットにおける一世代試験(受(授)胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験)、並びにラット及びウサギにおける胚・胎児発生に関する試験について評価した。受(授)胎能及び着床までの初期胚発生、出生前及び出生後の発生並びに母体機能に対して、DMSO による影響は認められなかった。胚・胎児発生に関する試験では、母動物の体重及び摂餌量の低値に関連した胚・胎児への二次的な影響が見られたが、生存胎児に催奇形性等の重篤な影響は認められなかった。また、DMSO の主要代謝物の胚・胎児発生に関する試験でも母動物及び胚・胎児の明らかな毒性並びに催奇形性は認められなかった。

体表面積換算[20)]をもとに実投与量と無毒性量との比(以下、安全域)を算出すると、受(授)胎能及び着床までの初期胚発生、並びに出生前及び出生後の発生並びに母体機能(全ての無毒性量：1 g/kg/日)では 2.2 倍であった。胚・胎児発生(ラット無毒性量：1 g/kg/日、ウサギ無毒性量：1 g/kg/日)に対しては、ラットで 2.2 倍、ウサギで 4.4 倍であった。催奇形性については(催奇形性の無毒性量：ラットは 5 g/kg/日、ウサギは 1 g/kg/日)、実投与量と比較し 11 倍及び 4.4 倍であった。ただし、生殖発生毒性試験でも反復投与毒性試験と同様に、臨床使用時よりも頻回に投与していたため(臨床の投与頻度と比較すると 14 倍)、また臨床では膀胱内に保持する時間が 15 分であり DMSO の曝露量は十分に小さいことから、実際の安全域は示した数値以上になると考えられた。

米国の添付文書では非臨床試験で催奇形性を示したとの記載[22)]があるが、これは腹腔内投与により高濃度及び高用量の DMSO が子宮に直接曝露された結果の発現であると考えられた。本剤の臨床投与経路は膀胱内投与であるため、子宮に高用量の DMSO が直接曝露されることはない。また、経口投与による生殖発生毒性試験で催奇形性は認められていない。妊婦の使用に関しては、米国の添付文書で「潜在的な利益が胎児への潜在的危険性よりも大きい場合にのみ使用すること」との記載であり、TGA (オーストラリア医療製品規制庁)では、DMSO はカテゴリーC (薬理効果による有害作用を引き起こす可能性はあるが、催奇形性はない)[27)]に分類されている。更に、妊婦の間質性膀胱炎治療のために DMSO が使用された報告があり、妊娠、分娩、哺育、産褥及び出生児

に影響がなかったことが確認されている[28)]。

以上から、DMSO が催奇形性を含む重篤な生殖発生毒性を発現する可能性は低く、妊婦及び授乳婦の臨床使用上における懸念は小さいと考えられた。

2.6.6.9.6 局所刺激性試験

ウサギを使用した刺激性試験では、皮膚で軽微な刺激性、眼では軽度の可逆的な刺激性を有すると考えられた。

2.6.6.9.7 その他の毒性試験

DMSO は太陽光の波長内に光毒性を誘起する吸収を認めなかったため、光毒性試験は実施しなかった。

モルモットを使用した試験の結果、DMSO は皮膚感作性を示さないと考えられた。

DMSO の主要代謝物である $DMSO_2$ 及び DMS では、反復投与毒性試験、*in vivo* 小核試験及び胚・胎児発生に関する試験において、明らかな影響は認められなかった。

以上のように、DMSO による特異的又は重篤な毒性が発現する可能性は低いと考えられた。よって、臨床において適切な用法及び用量を遵守する場合、ヒトに重篤な副作用が発現する可能性は低く、安全性の担保は可能と考えられた。

2.6.6.10 図表

表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1) Smith ER, Hadidian Z, Mason MM. The single-and repeated-dose toxicity of dimethyl sulfoxide. Ann N Y Acad Sci 1967; 141: 96-109. [資料番号 4.2.3.1-1]
2) Lerner HJ, Beckloff GL. Effects of intravesical instillation of DMSO on the urinary bladder of the dog: preliminary report. Ann N Y Acad Sci 1967; 141: 254-60. [資料番号 4.2.3.1-2]
3) Noel PRB, Barnett KC, Davies RE, Jolly DW, Leahy JS, Mawdesley-Thomas LE, et al. The toxicity of dimethyl sulphoxide (DMSO) for the dog, pig, rat and rabbit. Toxicology 1975; 3: 143-69. [資料番号 4.2.3.2-1]
4) Stewart BH, Branson AC, Hewitt CB, Kiser WS, Straffon RA. The treatment of patients with interstitial cystitis, with special reference to intravesical DMSO. Trans Am Assoc Genitourin Surg 1971; 63: 69-74. [資料番号 4.2.3.2-2]
5) Vogin EE, Carson S, Cannon G, Linegar CR, Rubin LF. Chronic toxicity of DMSO in primates. Toxicol Appl Pharmacol 1970; 16: 606-12. [資料番号 4.2.3.2-3]
6) Flora SD. Study of 106 organic and inorganic compounds in the Salmonella/microsome test. Carcinogenesis 1981; 2(4): 283-98. [資料番号 4.2.3.3.1-1]
7) Doerr CL, Harrington-Brock K, Moore MM. Micronucleus, chromosome aberration, and small-colony TK mutant analysis to quantitate chromosomal damage in L5178Y mouse lymphoma cells. Mutat Res 1989; 222: 191-203. [資料番号 4.2.3.3.1-2]
8) OECD SIDS, DMSO (Cas No. 67-68-5) 2000(Last update: 2008). Page 204-5(GENETIC TOXICITY 'IN VIVO'), Page 241-4(TOXICITY TO REPRODUCTION, OTHER STUDIES), Page 225-32(DEVELOPMENTAL TOXICITY/TERATOGENICITY), Page 88-9(SKIN

IRRITATION), Page 109-10(EYE IRRITATION) [資料番号 4.2.3.3.2-1]

9) Van Duuren BL, Melchionne S, Blair R, Goldschmidt BM, Katz C. Carcinogenicity of isosters of epoxides and lactones: aziridine ethanol, propane sultone, and related compounds. J Natl Cancer Inst 1971; 46: 143-9. [資料番号 4.2.3.4.1-1]

10) Sato H, Takahashi M, Furukawa F, Miyakawa Y, Hasegawa R, Toyoda K, et al. Initiating potential of 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2), butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) and 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone (quercetin) in two-stage mouse skin carcinogenesis. Cancer Lett. 1987; 38: 49-56. [資料番号 4.2.3.4.3-1]

11) Loewengart G, Van Duuren BL. Evaluation of chemical flame retardants for carcinogenic potential. J Toxicol Environ Health. 1977; 2: 539-46. [資料番号 4.2.3.4.3-2]

12) Fletcher WS, Dennis DL. The effect of dimethyl sulfoxide on the induction of breast cancer in the rat. Ann N Y Acad Sci. 1967; 141: 214-20. [資料番号 4.2.3.4.3-3]

13) 大谷幹伸、宮永直人、野口良輔、佐々木明、赤座英之、小磯謙吉、他. Dimethylsulfoxide 膀胱内注入によるマウス膀胱発癌の促進効果. 日泌尿会誌 1992; 83: 1423-8. [資料番号 4.2.3.4.3-4]

14) Nakamura A, Momma J, Sekiguchi H, Noda T, Yamano T, Kaniwa M, et al. A new protocol and criteria for quantitative determination of sensitization potencies of chemicals by guinea pig maximization test. Contact Dermatitis 1994; 31: 72-85. [資料番号 4.2.3.7.2-1]

15) Horváth K, Noker PE, Somfai-Relle S, Glávits R, Financsek I, Schauss AG. Toxicity of methylsulfonylmethane in rats. Food and Chemical Toxicology 2002; 40: 1459-62. [資料番号 4.2.3.7.3-1]

16) Lee YI, Lee YS, Park JC, Lee KB, You KH. Evaluation of Genotoxicity on Plant-Derived Dietary Sulfur. J. Microbiol. Biotechnol 2006; 16: 817–20. [資料番号 4.2.3.7.3-2]

17) Magnuson BA, Appleton J, Ryan B, Matulka RA. Oral developmental toxicity study of methylsulfonylmethane in rats. Food and Chemical Toxicology 2007; 45: 977–84. [資料番号 4.2.3.7.3-3]

18) Butterworth KR, Carpanini FMB, Gaunt IF, Hardy J, Kiss IS, Gangolli SD. Short-term toxicity of dimethyl sulphide in the rat. Fd Cosmet. Toxicol 1975; 13: 15-22. [資料番号 4.2.3.7.3-4]

19) OECD SIDS. Dimethyl sulfide (Cas No. 75-18-3) 2006(Last update: 2019). Page 75-6(GENETIC TOXICITY 'IN VIVO'), Page 77-8(DEVELOPMENTAL TOXICITY/TERATOGENICITY) [資料番号 4.2.3.7.3-5]

20) FDA Guidance for industry. Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. July 2005. [資料番号 4.3-37]

21) FDA Adverse Event Reporting System (FAERS), Freedom of Information Act (FOIA) Detailed Report. [資料番号 5.3.6-1]

22) RIMSO-50 - dimethyl sulfoxide irrigant, Mylan Ins titutional LLC [資料番号 1.6.2.2]

23) Wang J, Lin D, Peng H, Huang Y, Huang J, Gu J. Cancer-derived immunoglobulin G promotes tumor cell growth and proliferation through inducing production of reactive oxygen species. Cell Death Dis. 2013; 4: e945. [資料番号 4.3-38]

24) Koiri RK, Trigun SK. Dimethyl sulfoxide activates tumor necrosis factorα-p53 mediated apoptosis and down regulates D-fructose-6-phosphate-2-kinase and lactate dehydrogenase-5 in Dalton's lymphoma in vivo. Leuk Res. 2011; 35: 950-6. [資料番号 4.3-39]

25) Wang CC, Lin SY, Lai YH, Liu YJ, Hsu YL, Chen JJW. Dimethyl sulfoxide promotes the multiple

functions of the tumor suppressor HLJ1 through activator protein-1 activation in NSCLC cells. PLoS One. 2012; 7: e33772. [資料番号 4.3-40]

26) Kennedy AR, Symons MCR. 'Water structure' versus 'radical scavenger' theories as explanations for the suppressive effects of DMSO and related compounds on radiation-induced transformation in vitro. Carcinogenesis. 1987; 8: 683-8. [資料番号 4.3-41]

27) https://search.tga.gov.au/s/search.html?collection=tga-websites-web&query=dmso+SAS+Category+C+codes
https://www.tga.gov.au/australian-categorisation-system-prescribing-medicines-pregnancy

28) Onwude JL, Selo-Ojeme DO. Pregnancy outcomes following the diagnosis of interstitial cystitis. Gynecol Obstet Invest. 2003; 56: 160-2. [資料番号 4.3-42]

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)

2.6.7　毒性試験概要表

杏林製薬株式会社

ジメチルスルホキシドの毒性試験成績は、公表論文及びガイドライン等をもとに評価・検討を行った。公表論文に示された情報は限られているため、毒性試験概要表は作成していない。毒性試験の概要は 2.6.6 に記載した。