

1. 5-Fluorouracil (5-FU) : 構造異常誘発物質 (図 2-1)

Cyt-Bを添加する系の24時間処理とcyt-Bを添加しない系の3時間処理21時間回復で両施設で陽性となった。小核誘発率はcyt-Bを添加する系の方が高かった。他の処理では両施設で異なる結果が得られたが、これは選択した試験濃度の違いによるものと考えられた。

2. Bleomycin : 構造異常誘発物質 (図 2-2)

両施設でいずれの処理でも陽性となった。この化合物においても、両施設で選択した試験濃度の違いがみられた。

3. Cytosine arabinoside (Ara-C) : 構造異常誘発物質 (図 2-3)

この化合物は1施設のみの実施であったが、いずれの処理でも陽性となった。小核誘発率は、cyt-Bを添加する系では長時間処理で、cyt-Bを添加しない系では長い回復時間の処理で高かった。

4. Uretane : 構造異常誘発物質 (図 2-4)

この化合物は、cyt-Bを添加する系でも添加しない系でも、短時間処理では陰性となり、長時間処理を行わなければ陽性とはならなかった。

5. Colchicine : 数的異常誘発物質 (図 2-5)

いずれの処理でも陽性となったが、長時間処理でより高い小核誘発性が認められた。

6. Diethylstilbestrol : 数的異常誘発物質 (図 2-6)

この化合物は、cyt-Bを添加する系でも加えない系でも、短時間処理では明らかな陽性とはならず、長時間処理で陽性反応が認められた。

7. Griseofulvin : 数的異常誘発物質 (図 2-7)

いずれの試験系でも陽性となったが、短時間処理では、cyt-Bを添加しない方がより高い小核誘発性が認められた。

8. Clofibrate : 陰性化合物 (図 2-8)

いずれの処理でも、明らかな小核誘発性は認められなかった。

9. D-Mannitol : 陰性化合物 (図 2-9)

1 機関のみの実施であったが、いずれの処理でも小核誘発性は認められなかった。

Cyt-Bを添加する系で、染色体数的異常誘発物質で処理したときの1核細胞での小核誘発出現率を図2-10に示した。これらのいずれの化合物においても2核となっていない1核細胞でも小核の誘発が認められた³⁾。このことにより、cyt-Bを添加する系で1核細胞でも小核が誘発されているかどうかを観察することによりその化合物が染色体数的異常誘発作用があるかを検出できる可能性が示唆された。

結果のまとめを表4に示した。実施機関間に多少の違いがあるものの、染色体構造異常誘発物質および染色体数的異常誘発物質とも、cyt-Bを添加する系、添加しない系のいずれでも小核誘発性を検出できた。また、陰性物質ではいずれの系でも明らかな小核誘発性は認められなかった。短時間処理では陽性とはならず長時間処理で陽性となるものがあり、特に数的異常誘発物質ではその傾向が強かった。

D. 結論

今回試験した物質のうち染色体の構造並びに数的異常を誘発物質はすべて陽性となった。また、陰性対照として用いた染色体異常を起こさない物質では明らかな小核誘発性は認められなかった。

観察対照細胞集団を限定するために用いたcyt-B添加の有無で結果に質的な差は認められなかった。ただ、染色体数的異常誘発物質ではcyt-Bを加える系で1核細胞にも小核の誘発が見られた。

短時間処理では陽性とはならず長時間連続処理のみで陽性となるものがあつた。特に数的異常誘発物質ではその傾向が強かった。

施設間におけるデータのばらつきに関して、同じ化合物を試験した2機関で定量的には差が見られたものの、定性的には大な差はなかった。

E. 参考文献

- 1) Kirsch-Volders, M., A. Elhajouji, E. Cundari and P. V. Hummelen (1997). The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay, apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction, *Mutat. Res.*, 392, 19-30.
- 2) Kirsch-Volders, M., T. Sofuni, M. Aardema, S.

Albertini, D. Eastmond, M. Fenech, M. Ishidate, Jr., E. Lorge, H. Norppa, J. Surrallés, W. von der Hude and A. Wakata (2000), Report from the *in vitro* micronucleus assay working group, *Environ. Mol. Mutagen.*, 167-172.

3) Elhajouji, A., M. Cunha and M. Kirich-Volders (1998), Spindle poison can induce polyploidy by mitotic slippage and micronucleate mononucleates in the cytokinesis-block assay, *Mutagenesis*, 13, 193-198.

F. 研究発表

1) 若田明裕、小沢重成、久保欣也、柴田桂三、千手奈美、中村昌三、西田壮司、浜田修一、三浦美樹、宮島博文、山村英二、吉田純一：CHL細胞を用いた*in vitro* 小核試験の検討、日本環境変異原学会第28回大会 (1999.12.3)

2週間の反復投与毒性試験による雄性生殖器官への影響評価の可否に関する研究

研究協力者：大野 泰雄（国立衛研、安全生物研、薬理部長）
協力研究者：川島 邦夫（前国立衛研、大阪支所、生物試験部）
堀 俊治（山之内製薬・開発研究本部、安全性研究所）
高橋 道人（昭和大学薬学部）
馬屋 原宏（製薬協基礎部会副部長（武田薬品工業））
三森 国敏（国立衛研、安全生物研、病理部）

要旨

医薬品候補物質の雄性生殖臓器への毒性影響の有無を検討するための反復投与毒性試験の投与期間が2週間で十分か否か評価するためのバリデーションを実施した。参加企業は当初製薬協傘下の医薬品企業28社で、核酸修飾剤、細胞分裂阻害剤、代謝阻害剤、抗感染症薬、ホルモン類及びその拮抗薬、その他の医薬品及び化学物質、合計24物質、30プロトコールについて2週間及び4週間試験の結果を比較した。その結果、予備試験あるいは本試験において4週間投与でも生殖臓器に明確な影響の見られなかったtheophyllineおよび予備試験で報文結果を再現出来ず、全ての動物が死亡してしまったBusulfanの場合を除き、いずれの薬物及びプロトコールにおいても4週間試験で認められた毒性と同様の結果が4週間試験と同じ用量或いはより高用量を用いた2週間試験においても認められた。この結果から、2週間試験においても精巣毒性物質の雄性生殖器官への影響の検出が可能であると結論された。

キーワード：精巣毒性、反復投与毒性試験、投与期間、バリデーション

A. 研究目的

臨床試験実施に関連した非臨床試験実施タイミングに関しては、ICH-M3ガイドラインにおいて多くの点で合意された（医薬審第1019号 平成10年11月13日）。しかし、男性に始めて医薬品候補物質を投与する前に行うべき齧歯類を用いた反復投与毒性試験の期間について、単回投与毒性試験結果に基づく単回投与臨床試験実施について、及び雌生殖毒性試験実施タイミングについて合意されずに残った。後2者については早急な解決は困難である。一方、男性に始めて医薬品候補物質を投与する前に行うべき反復投与毒性試験の期間について合意できなかったのは雄性生殖臓器への影響の有無の検出が2週間で可能であるか否かについて十分な情報が得られていなかったことによる。しかし、

これについては以前のバリデーションの結果（Takayama et al, 1995）から2週間でも雄性生殖器官への影響評価が可能との結果が一部得られており、更にデータを追加することにより、多くの物質について2週間試験の妥当性が確認されるならば、あるいはその限界が明らかにされるならば、我が国においても、欧米と同様に2週間の反復投与毒性試験結果に基づきヒトに投与することが可能となる。これにより、国際的ハーモナイゼーションが推進されるだけでなく、わが国医薬品の開発もかなり促進される。そこで、男性に始めて医薬品を投与する前に行っておくべき、反復投与毒性試験の期間についての情報を得るために、ラット雄性生殖器官に影響を与えることの知られている医薬品および化学物質を用いて2週間及び4週間の反復

投与毒性試験を実施し、精巣への影響が2週間試験でどの程度評価可能か検討した。

B. 研究方法

多くの研究機関の参加によるバリデーションを成功させるために必要な組織、および計画、およびバリデーションの結果2週間試験が雄性生殖器官に対する影響を評価するために妥当であると結論するための合格基準については昨年度報告に記載した。なお、精巣および精巣上体重量、それらの組織病理学的観察を必須検査項目とし、他の生殖器官への影響や精子の形態や運動能への影響の検討は個々の参加企業の任意とした。また、生殖器官に通常の病理組織学的検索で明確な変化が認められていれば、精子のステージ分析は行わなくとも良いとした。

なお、バリデーションは表1-5に示したように、予備試験段階では24物質、30プロトコルについて試験が実施された。被験物質は核酸修飾薬ではAdriamycin (2社)、Busulfan、Compound C (白金錯体化合物)、cyclophosphamide (2社)、Etoposide、Methyl methanesulfonate、細胞分裂阻害、代謝阻害、抗感染症薬としてはCompound E (微小管重合阻害剤)、5-FU、Carmofur (HCFU)、Pyrimethamine、Enoxacin、Nitrofurazone、ホルモン類およびその拮抗薬としてはEthinylestradiol (2社)、Estradiol Benzoate、Fadrozol hydrochloride、Flutamide、その他の医薬品ではHaloperidol、Reserpin (2社)、Theobromine、Theophylline (2社)、および化学物質としてはBoric acid (2社)、Dinitrobenzene、Dibromoacetic acid、および2-Methoxyethanolについて検討した。

本年度においては、昨年度に個々の参加企業で開始されたラットを用いた反復投与試験を続行した。また、個々の企業で作成された病理組織学的標本について、ピアレビューを行い、診断の確認および問題点を検討した。その後、結果を論文としてまとめ、全体の結果を合わせ総合的に検討し、雄性生殖器官への影響評価系としての2週間の反復投与毒性試験の妥当性を評価した。

C. 研究結果：

結果は表1-5に記載した。

C-1) 予備試験結果

Busulfanでは参考とした論文に記載された用量で予備試験を開始したが、全例が死亡してしまい、時間の都合で更なる検討を行えず、試験の遂行を中止した。2社で検討したTheophyllineも1社では文献報告を基に設定した300および600 mg/kg/dayの用量での4週間投与の予試験 (Crj:CD (SD) IGSラット使用) で予期せぬ死亡例が多く現れ、生存動物においても精巣毒性が認められなかったことから、本試験を行わなかった。他の1社においても150, 200, 300mg/kg/dayについて2週間および4週間投与の試験 (Crj:CD (SD) ラット使用) を実施したが、いずれの群においても精巣比重量の増加と散発的で毒性学的影響とは言えない精細管の拡張が認められたのみであった。

C-2) 本試験結果

本試験を行った物質については、表1-5に示されたように、必要に応じて、精巣のStage分析などの詳細な組織病理学的検討を行うことにより、いずれも4週間試験で認められた雄性生殖器官への毒性影響と同様の変化が同じ用量あるいはより高用量を2週間投与することにより認められた。その結果を以下に要約する。

体重および臓器重量に及ぼす影響

一部の化合物を除いて体重の増加抑制あるいは減少が見られ、精巣重量も対照群に比して有意に小さいものが多かった。しかしながら、2社がBoric acidを用いてほぼ同条件で試験を実施した (ともにWistarラットを使用し、最高投与量は500 mg/kg) にもかかわらず、1社では体重及び精巣重量に影響がなかった。この原因は明らかではない。なお、精巣の病理組織検査では、ともに薬物投与の影響が観察された。

また、Reserpinについても2社で試験が行われた。これらの試験では、ともに体重に強い影響が見られている。精巣への影響は、同じ投与量で比較すると、ともに重量に影響はないが、組織学的には1社で精子細胞遺残が、他の1社では精子放出不全が認められた。精子細胞遺残が認められた1社ではCrj:CD (SD) ラ

ットを用い、より高用量を追加しており、そこでは精巣重量にも影響が認められている。精巣重量に変化が認められず、精子放出不全のみ観察された会社では、Crj:CD (SD) IGSラットを使用していた。

一般的には、精巣重量への影響が強い化合物で組織検査において病変が認められたが、Adriamycin, Boric acid, Cyclophosphamide, Dibromoacetic acid, Enoxacin, Fadzole, Flutamide, Pyrimethamine, および Reserpin (IGSラット) では組織学的に病変が観察されたが、精巣重量には変化が見られなかった。

組織所見

2社で検討したReserpinについては前項で述べた。

AdriamycinおよびTheobromineを用いて、投与開始時及び剖検時の動物の週齢の影響を検討した。Adriamycinを4週齢および8週齢のラットに単回静脈内投与すると、2週間後の観察でいずれにも組織学的な変化が見られ、動物の週齢の影響はないことが示唆された。一方、Theobromineでは、6週齢および8週齢のラットに2週間経口投与したところ、6週齢から投与した試験では病変が見られたものの、8週齢から投与した試験では変化が観察されなかった。5-FUでは、6週齢の動物に4週間投与した場合よりも、8週齢の動物に2週間投与したほうが強い変化が現われた。このように、投与開始時と剖検時の週齢による影響は一様ではなかった。

D. 考察：

今回の共同実験では、ラットに4週間投与することによって発現する雄性生殖器官への影響が2週間投与試験でも検出できるかどうかを確認することを目的とし、検査手段として精巣及び精巣上体の組織検査を採用した。試験の結果、本試験を行った23の化合物の内、Theophylline以外の22の化合物が2週間あるいは2週間よりも短い投与期間の試験で精巣に病理組織学的な変化をもたらした。

Theophyllineについては、Holtzman ratに食餌に0.5%混ぜて19週投与すると精巣の萎縮が認められたと報告されている (Friedman et al 1979)。但し、Theophyllineの影響はCaffeineやTheobromineと比較してかなり弱い

とされている。F344ラットにおいても150mg/kg/day 13週間投与で精巣絶対重量の低下が報告されている (Morrissey et al 1988)。今回の結果では精巣の相対重量の増加が認められているが、絶対重量は低下しており、今回の結果は上記の報告と同様の結果であったと言える。

前年度にバリデーションを開始するに際し、2週間でも良いとする場合の基準について検討し、以下の場合に4週間試験に変わりうるとされた。①4週間試験と同様の用量で同じような精巣毒性が現れた。②4週間試験と同じ用量では精巣毒性は現れないが、用量を増加させることにより同じような精巣毒性が現れた。③4週間試験では精巣毒性は現れないが、2週間試験では現れた。④ホルモン系を介して作用する物については短期の試験で精巣毒性が現れないこと予想されることから、2週間試験で4週間試験で認められる変化が認められない場合もあることを考慮する。但し、その際はホルモン様の作用には適応できないことを明確にする。

今回の結果は上記の基準を満足させるものであった。ホルモン類についても、また、内分泌系への影響を介して雄性生殖器官への影響が予想されたハロペリドールやレセルピン等についても精巣に対する毒性が2週間および4週間投与試験で検出できたことから、ホルモンあるいは内分泌系を介して作用する物質についても、4週間試験で観察される雄性生殖器官への影響を2週間試験で検出可能と思われた。なお、文献的により長期投与試験で報告されていた一部の弱い精巣毒性の発現に関しては、2週及び4週間試験で再現できなかった。

Ulbrich and Palmer (1995) は多くの化合物について文献調査し、雄性生殖能に対する影響の評価において交配前の4週間投与はそれ以上の期間の試験と同等であり、また、2週間投与試験は4週間投与試験と同等であると報告している。今回の共同研究でも殆どの物質について、これが実証されたと言えるが、2週間投与と4週間投与による影響を同施設で同時に比較した意義は大きい。

E. 結論 :

28社の協力を得て、24物質、30プロトコールについて2週間および4週間の反復投与毒性試験が実施され、雄性生殖器官への影響を検討した。その結果、2週間の反復投与毒性試験によっても精子のステージ分析を含む詳細な組織病理学的検討を行うことにより、殆どの精巣毒性物質について雄性生殖器官への影響を検出できることが明らかになった。

F. 参考文献

- 1) 医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン (医薬審第1019号 平成10年11月13日)
- 2) Takayama, S. et al. (1995) A collaborative study in Japan on optimal treatment period and parameters for detection of male fertility disorders induced by drugs in rats. *J. Am. Coll. Toxicol.* 14, 266-292.
- 3) Ulbrich, B. and Palmer, K. (1995) Detection of effects on male reproduction - A literature survey. *J. Am.*

Coll. Toxicol. 14, 292-327.

- 4) Friedman, L. et al. (1979) Testicular atrophy and impaired spermatogenesis in rats fed high levels of the methylxanthines caffeine, theobromine, or theophylline. *J. Environ. Pathol. Toxicol.* 3 687-706
- 5) Morrissey, R.E. et al. (1988) Reproductive effects of theophylline in mice and rats, *Fundam. Appl. Toxicol.* 3 525-36

G. 研究発表 :

- 1) 大野泰雄 ; Topics on Regulatory Toxicology (14) 安全な臨床試験の実施および効率的な医薬品開発のための非臨床試験実施タイミング。 *The Journal of Toxicological Sciences*, 24 : Appendix, 109-117 (1999)
- 2) *J. Toxicological Sci.* に27編の論文およびまとめの論文1編として投稿準備中

H. 参考資料 :

なし

一般/安全性薬理試験ガイドラインの ハーモナイゼーション推進のための研究

(平成11年度医薬品等国際ハーモナイゼーション推進研究事業、ICH関連厚生科学研究)

研究協力者：藤森観之助（国立医薬品食品衛生研究所・代謝生化学部長）

協力研究者：班員（50音順）

遠藤 仁（杏林大学医学部・薬理学教室教授）

大原 直樹（食品薬品安全センター秦野研究所・安全性試験室・薬理学研究室長）

尾崎 幸紘（国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長）

橋本 宗弘（ファルマシア・アップジョン毒性薬理研究グループ、製薬協）

本坊 敏保（藤沢薬品工業株式会社 薬理研究所・主任研究員、製薬協）

馬屋原 宏（武田薬品工業株式会社、製薬協）

柳田 知司（イナリサーチ技術顧問、慈恵医大薬理客員教授、QA研究会会長）

渡辺 和夫（千葉大学薬学部・薬効安全性教室教授）

協力機関：厚生省薬務局審査課、国際化専門官（佐藤大作）

国立医薬品食品衛生研究所・審査センター、（佐藤洋一、山田博幸）

医薬品機構調査指導部、（大多和浄一、長谷部和久）

協力専門家：橋本敬太郎（山梨医科大学薬理学教授）

要旨

平成11年度のICH推進における研究成果は「ICH-S7:安全性薬理試験ガイドライン」をStep 0からStep 2にしたことである。平成8年度から医薬品等国際ハーモナイゼーション推進のための研究（ICH）として始まった研究は第1期に現行一般薬理試験ガイドラインの改正案として「安全性薬理試験ガイドライン案」を作成し、平成10年度から第2期に入り、平成10年度には「安全性薬理試験ガイドライン」のICHにおける正式議題化を実現し、平成11年3月のブラッセルでのICH-EWG会議よりS7としてガイドライン化への作業を開始した。以来、8月の東京での臨時S7-EWG会議でStep 1に、10月のワシントンEWG会議を経て、平成12年3月の東京EWG会議で安全性薬理試験ガイドラインをsign offし、ステップ2に到達させた。ICHガイドラインを現行一般薬理試験ガイドラインと比較すると、その特徴は(1) 安全性薬理に焦点を絞っている；(2) 必須試験としてCore のBattery試験を行う；(3) GLPを適用する；ことにある。短時日でICHハーモナイゼーションが順調に進行した理由は、第1期班研究において国際的に受け入れうるガイドライン改正案として作成し、ICHに日本案として提出した「安全性薬理試験ガイドライン案」の存在とそれまでに至る研究班の討議基盤が大きな促進要因と考えられる。本年度の研究班の活動は、一連のICH-EWG会議で作成された各ステップのICHガイドライン案について、国内での企業サイドと規制サイドの試験実行面あるいは評価課程に関する問題およびGLP適用面での実施の可能性の問題などに関して検討し、次案への対応を行いICH推進を支援したことである。本年度の最大の成果は本研究班の成果が先導となった「安全性薬理試験ガイドライン」のICHにおけるStep 2文書化である。平成12年度の計画はStep 2 ICH-S7ガイドライン文書を和訳し、国

内コメントを集め、次回ICH-EWG会議で3極からのコメントの討議・調整を図り、Step 4にすることである。

キーワード：安全性薬理試験、ガイドライン、ICH、Step 2

A. 研究目的

本研究の目的は日・米・欧（EU）3極間に存在する新医薬品承認申請資料の規制に関わる障害を科学的な裏付けのもとに取り除くことを基本理念として、医薬品開発過程に必要な試験としては認識されていたが、国際的には統一された定義も容認されたガイドラインも存在していなかった一般/安全性薬理試験に関し、国際的に容認されるガイドラインをICHの活動の下で完成することである。平成8年度からの第一期では日本独自であり、かつ1991年に通知・運用され、国際的に先行している現行の一般薬理試験ガイドラインに関して、国際的に共有しうるガイドラインへの改定を積極的に検討することにあつた。本研究班では2年間にわたり、一般薬理試験について、3極間の安全性に関する薬理試験の現状、並びに医薬品開発における適用方法および安全性確保の理念に関して調査研究を進め、その結果、検討研究班は現行ガイドラインを安全性により焦点を当てた安全性薬理試験ガイドラインへ改訂する必要があるとの結論に達し、新しい安全性薬理試験ガイドライン案を作成した。第一期の目的が国際的に受け入れられる（整合しうる）理念（趣旨）の再構築および試験法の項目検討を行い、国際的に受け入れられる国内ガイドラインの改正であつたが故に、新しい国際間ハーモナイゼーションの精神に則った日本の安全性薬理試験ガイドライン案の国内外への提示（英文コメント要請）への反響が予想以上に大きく、第二期初年度である平成10年度中に安全性薬理試験ガイドラインの作成はICHでの正式議題（S7：Safety Pharmacology Studies）となり、本研究の目的は3極によるICHにおける安全性薬理試験ガイドラインの作成へと飛躍した。

本安全性薬理試験ガイドライン作成意義は、医薬品の開発過程に重要であることが3極に既に認識されており、一般あるいは安全性薬理試験として新薬申請書式にも記載されている「有害作用に関連する薬理試

験」ガイドラインが欧米には存在せず、日本だけに一般薬理試験ガイドラインとして1991年以来通知・運用されていたことから、日本独自であるとして、その規制を批判されることがあつた一般薬理試験を（日本側から言えば）新たに国際的に見直し、調和・共有しうるICH安全性薬理試験ガイドラインに積極的に整合することである。

B. 研究方法

平成11年3月に始まったICH-EWGにおける安全性薬理試験ガイドライン（S7）の作成過程において生じる様々な問題に対し、学界、企業、試験研究機関、規制当局等の様々な方向から検討研究を進めた。本年度に実行された研究概要は表1に示す一連のEWG会議において作案された(1) Step 0 Draft 1の検討；(2) Step 2 Draft 1の検討；(3) Step 1 Draft 2の検討；(4) 3極間における共通部分と相違部分の把握；(5) GLP適用の必要性および範囲についての検討；であつた。

表1. ICHにおける安全性薬理試験ガイドライン作成の進展状況

平成11年 3月	第1回ICH-EWG会議	Draft 0
平成11年 8月	第2回EWG会議	Draft 1: Step 1
平成11年10月	第3回ICH-EWG会議	Draft 2: Step 1
<hr/>		
平成12年 3月	第4回ICH-EWG会議	Draft 3: Step 2
	和訳、コメント対応	Step 3
平成12年 9月	第5回ICH会議EWG会議	
平成12年11月		Step 4予想

C. 研究結果

1. ICH-S7:安全性薬理試験ガイドライン（Step 2）

①目次

内容は以下のような項目からなっている。

i. 序論1項目として、1.1. ガイドラインの目的；1.2.

背景；1.3. ガイドラインの範囲；1.4. 一般原則；1.5. 安全性薬理の定義；が含まれる。

ii. ガイドライン2の項目として、2.1. 試験の目的；2.2. 安全性薬理試験の選択および企画に際して考慮すること。；2.3. 試験系；2.4. 用量・濃度；2.5. 投与期間；2.6. 代謝物、異性体および最終産物についての試験；2.7. 安全性薬理コアバッテリー；2.8. 必要な安全性薬理試験；2.9. 試験が不必要な条件；2.10. 臨床試験に関連する安全性薬理試験の実施時期；2.11. GLP適用；が含まれる。

②Step 2-ICH安全性薬理試験ガイドライン概要

1. 序論

1.1. ガイドラインの目的

目的として、1. 医薬品の有する有害反応から被験者および患者を守る；2. 実験動物並びに資源の不必要な使用を避ける；3. 試験の定義と理念の提示

1.2. 背景

作成に至る背景として、1. 試験の計画および実施についての国際的な定義、目的、指針がない；2. ICH議題M3およびS6に「安全性薬理試験」が現れている。

なおこれまでの一般薬理試験と安全性薬理試験との関わりと日本の現行ガイドラインについてMHW代表として短い解説を作成し、Note:として認められた。

1.3. ガイドラインの範囲

本ガイドラインはヒト用新規化学成分医薬品およびバイオ医薬品に適用される。新しい患者群または前回触れなかった投与経路であって、新たに（安全性の）懸念を引き起こすような場合には以前に承認された医薬品にも適用される。

1.4. 一般理念

安全性試験を選択、実施する際に考慮すること：理論的アプローチ、被験物質ごとの特性と使用目的、科学的に有効な方法の使用、新しい技術および手法

1.5. 安全性薬理の定義

薬理的試験はPrimary 薬力学的試験、Secondary 薬力学的試験およびSafety Pharmacology試験の3つに分類出来る。

安全性薬理試験は生理機能に及ぼす被験物質の望ましくない薬力学的作用を検討する試験である。

被験物質のPrimaryおよびSecondary薬力学作用に関

する情報も役に立つことがあるので、安全性薬理試験の知見と共に考察すること。

PrimaryおよびSecondary薬力学試験の定義についてはNote 2に記載した。

2. ガイドライン

2.1. 試験の目的

1. ヒトでの安全性に関連する被験物質の薬力学的特徴を特定する。；2. 毒性試験もしくは臨床試験において認められた被験物質の有害な薬力学的もしくは病理生理学的作用を評価する。；3. 認められたもしくは予測される被験物質の有害な薬力学的作用機序を検討する。

2.2. 安全性薬理試験の選択および企画における考慮

考慮要因として(1) 治療薬分類に関連する作用：主作用機序から類推される有害作用（例：抗不整脈薬の催不整脈作用）；(2) ある分類（化学構造・薬効）に共通するがprimary薬力学的作用とは別の有害作用（例：抗精神病薬とQ-T間隔延長）；(3) 有害作用を示唆するリガンド結合あるいは酵素活性についての情報；(4) 過去の安全性、Secondary薬力学、毒性および臨床試験から得られた情報。

開発の初期には必ずしも科学的に妥当な選択でなくてもよい

生命維持における重要度に応じて器官系を格づけ（コアバッテリーとして中枢神経系、心血管系、呼吸系を取り上げた理由）

臨床試験あるいは患者群から重要と考えられる他器官系（例：クローン病における胃腸管系）も考慮する。

2.3. 試験系

2.3.1. 試験系に関する考慮

試験系についての考慮要因としては1. 適切な動物モデルあるいは試験系（科学的に適切な情報）；2. モデルの反応性、薬物動態プロファイル、種、系統、性、年齢、感受性、再現性、背景データ；3. ヒトデータ（例：インビトロ代謝）；4. 計測時点（PKおよびPDを考慮する）；5. 選択の理由（特別な試験モデルあるいは系の場合）

2.3.2. インビボ、インビトロ試験の使用

インビボ動物系：無麻酔が望ましい（動物への配慮）、

無拘束（テレメトリー他）

エキスピボ/インビトロ系：摘出臓器・組織、培養細胞、細胞下分画、細胞器官、受容体、チャネル、Transporter、酵素など（制限なし）

2.3.3. 実験計画

2.3.3.1. サンプル数および対照

効果の有無が明確に示せる適切な数（生物学的反応の大きさを考慮）

妥当な陰性対照および陽性対照を実験に含める。

（特性がはっきりしているインビボ試験系では必ずしも陽性対照は不要、対照を除外する時の判断理由を明白にする。）

2.3.3.2. 投与経路

想定する臨床経路（暴露形態、臨床経路如何で複数経路も考慮）

2.4. 用量・濃度

2.4.1. インビボ試験

用量：用量反応曲線、経時変化（可能な限り）、Primary薬力学反应用量もしくは治療用量を越す用量（種差を考慮する）

上限（安全性薬理パラメーターに有害作用が認められない場合）：同一投与経路、同一暴露期間の毒性試験での有害作用（用量限界のある薬力学作用、毒性作用も含む）を示す用量。（特異的な有害作用が発現しないことを1用量で示すことも認められる）

2.4.2. インビトロ試験

用量：作用濃度曲線（作用の検出力を上げるために濃度範囲を検索すること）

2.5. 投与期間

通常単回投与、妥当な期間（非臨床あるいは臨床試験で反復投与による安全性に関する懸念が生じた場合）

2.6. 代謝物、異性体および最終産物についての試験

評価の対象として 1. 主代謝物（全身暴露もしくは全身循環に達する）（まるごと動物では親化合物の試験で評価されている場合が多い）； 2. 薬理作用に代謝物（ヒト）が寄与している場合には活性代謝物。； 3. 動物にないあるいは低濃度で存在するヒト主代謝物。； 4. 個々の異性体（インビトロもしくはインビボ試験で評価する）。； 5. 最終製剤（吸収促進剤やリ

ポゾームのような賦形剤や結晶多形のようにPKあるいはPDが変化するような場合）

2.7. 安全性薬理コアバッテリー

目的：Vital Functionに及ぼす被験物質の影響を検討する。被験物質の各機能に及ぼす作用については適切に評価する。

中枢神経系：運動量、行動変化、協調性、感覚/運動反射反応および体温を測定、評価すること。（方法例：FOBまたはIrwin変法など）

心血管系：血圧、心拍数、心電図を測定、評価すること。電気生理学的手法を含むインビトロ/エキスピボ法について考慮する（Note 3：これらの手法に関してはAnnexとしてさらに詳細なガイダンスを示す）

呼吸系：呼吸数および深度を測定、評価すること。（臨床観察もしくは機器による測定）

2.8. 必要な安全性薬理試験

(1) 薬理学的特性、(2) コアバッテリー試験結果、(3) 臨床試験結果、(4) 医薬品作用監視、(5) インビトロもしくはインビボ試験、(6) 文献；からヒト安全性に一層の懸念が生じる場合にFollow-up試験およびSupplementalで検討する。

2.8.1. 安全性薬理コアバッテリーのためのFollow-up試験

非臨床試験及びヒトデータを考慮し試験系選択（自主的、ケースバイケースで行うが、以下の試験項目はこれだけであるということでも、これをすればよいということではない。）

2.8.1.1. 中枢神経系

（行動薬理、学習・記憶、リガンド結合、神経化学、視聴覚、電気生理学的検討等）

2.8.1.2. 心血管系

（心拍出量、心室収縮、血管抵抗、心血管反応性等）

2.8.1.3. 呼吸系

（吸排気量、気管抵抗、肺動脈圧、血中ガス等）

2.8.2. Supplemental（追補）試験

コアバッテリーで扱われなかった器官で必要な場合。

2.8.2.1. 腎/尿系：（例：容量、比重、浸透圧、pH、電解質バランス、蛋白についての尿分析、BUN、クレアチニン、蛋白についての血液分析）

2.8.2.2. 自律神経系：（例：自律神経系に対し適切な

受容体結合、まるごと及び組織でのアゴニスト及びアンタゴニストに対する反応性、自律神経の直接刺激及び心血管反応、圧受容器反射検査並びに心拍数変化)

2.8.2.3. 胃腸管系 (例：胃液分泌、胃腸障害性、胆汁分泌、輸送時間、回腸収縮、胃pH測定、停留性)

2.8.2.4. 他器官系 (例：依存性、骨格筋、免疫及び内分泌系についての機能検査)

2.9. 試験が不必要な条件

安全性薬理試験の適用対象外となるのは(1) 局所適用 (例：標的器官あるいは全身における分布が低い外用薬、点眼薬)；(2) 細胞毒性薬 (末期ガン患者用、新しい作用機序のものに関しては実施する価値がある)；(3) バイオ医薬品 (高度に特異的な標的化を達成したものは薬力学的試験もしくは毒性試験で安全性を評価されるべきである)；(4) 新規塩化合物 (PKおよびPDが同じであるもの)

2.10. 臨床試験に関連する安全性薬理試験の実施時期

2.10.1. ヒトに最初に投与する前

コアバッテリー試験、懸念の理由如何で必要と判断される場合にはFollow-up試験あるいはSupplemental試験を実施する。

2.10.1. 臨床開発中：追加試験要求されることがある。

2.10.1. 承認前：上記安全性薬理試験

2.11. GLPの適用

試験の質および信頼性は一般にGLPに従って行うことで得られる。試験デザインが特殊なためにGLPに従って行うことができない場合がある。たとえ、形式上でGLPの原則に忠実でなくても、安全性薬理試験のデータの質と全体性は保証されるべきである。試験がGLPに従って行われていない場合、試験の再構成はデータの保管を含む適切な試験実施の文書を通して保証されるべきである。GLPに従って行われない試験または試験項目は正当な理由を適切に述べるべきであり、またエンドポイントの評価に及ぼしうる影響を説明しなくてはならない。

コアバッテリー試験は通常GLPに従って行う。Follow-up試験およびSupplemental試験はできるだけGLPに従って行う。

特に安全性の懸念がなくて、一般スクリーニングとして行った安全性薬理試験に関してはGLPに従って行

われていなくてもよい。

D. 考察

1. Step 0 Draft 0.5の検討

(Draft #0.5, 99/03/11案 (本会議では最終項目まで討議出来なかったためにDraft 0.5と称する))

安全性分野S7として「安全性薬理試験：Safety Pharmacology試験」として初めて正式に議題化され、日米EU医薬品規制調和国际ブルッセル会議における安全性第7分野 (S7) として安全性薬理試験ガイドラインに関する第一回の公式の専門家会議 (EWG) を開き、素案作成のための検討を行った。Draft 0はJPMRの馬屋原氏がラポーターとして、日本研究班作成一般薬理試験ガイドライン改正案、FDAのConcept paperおよびCPMPの撤回済みのガイダンス案の3案を項目別に再構成して並列したものをを用いた。第一回EWG会議ではGLPの適用に関連して、安全性薬理試験の解釈およびGLP項目中のDeviationの解釈の問題からブラッセルの会期中に、Step 1に達しなかった。しかしながら3極6団体共に、十分に検討し、各団体で方法を見いだす余地があることで一致し、8月の東京会議でStep 1を目指すことになった。東京会議ではJPMRの橋本氏がラポーターとなり、Step 1に進んだ。東京会議では全構成が合意に達したが (Step 1-draft1)、文章上の表現および用量もしくは代謝物の扱いなどにまだ改良の余地並びに各国内での説明の不十分さ等の問題が残っていた。10月のワシントン会議で文章の修正が進んだが (Step 1 Draft 2)、各国内問題について、それぞれ十分に合意を得る時間が不足しており、特にEUでは各国の意向がまだ予想されていなかった。平成12年の2月末の東京EWG会議ではEU各国の修正要請がかなり多かったが、GLP項目の適用の修正以外、大きな訂正要求はなく、Step 2に達した。現在、コメント対応のために和訳の準備をしており、各極内コメント対応後、9月にS7-EWG会議を開き、11月のサンジエゴICH-5でStep 4になるべく計画している。

以下は各EWG会議で作成したDraftの重要な項目あるいは論議が大きかった項目 (特にGLP) についてどのように研究班およびEWG会議における検討内容である。

①1.2. Background背景

Safety Pharmacology StudiesガイドラインのICHでの正式議題化に至る背景にgeneral pharmacology Studiesの存在は無視出来ない。しかしM3に関連したICHにおける討議の問題の背景に絞り、これまでに国内外で討議されていた中心であった日本の一般薬理試験ガイドラインを無視する方向にFDAを中心として進めようとした。これまでの役割についてもdomestic guidelineとして入れる必要がないということであったが、フィラデルフィアにおける第1回から第5回めのSymposium of General/safety pharmacologyにおいても一度でも日本の一般薬理試験ガイドラインに触れなかったことはないこと等を強調し、(Note)としてここに至る背景案作成をMHW代表が担当した。

②Category of Pharmacodynamic Studies (定義)

ICH-CTD (1998)ではsecondaryイコールgeneral pharmacologyとして、FDAは分類することを主張した。そこで、ICH-CTD、US-FDA (1987)、EC (1996)および日本の新薬承認申請Formatの比較表を参考として示し、これまでのgeneralにはsecondaryの一部およびsafetyが含まれていることを説明した。ICHとUS-FDAでは薬理作用(あるいは薬力反応)を治療に直接関連したPrimaryとSecondaryとに分類している。さらに別に治療に無関係なadverseな薬理作用部分をsafetyとしている。日本およびECではprimaryは同一であるが、adverseな薬理作用部分をgeneralに含んでおり、generalがSecondaryとsafetyから成ると考えることがむしろ合理的であるとして主張した。EUは将来はgeneralは必要ないとの見解を取った。

③ Timing of Safety Pharmacology Studies in relation to clinical development

M3との関連(Vital functionと臨床試験のtiming)について、日本改正案、EU-CPMP案ではヒトに曝露する前に生命にかかわる機能について検討することが明確に記載してあるが、FDA案では不明瞭であった。本Draft 0.5では討議当初、Vital systemについてPrior to first administration in humansに検討すべきである。欧米におけるGLP適用範囲もfatal effect以上ではないように思われたが、会議中および間の討論より、欧米では必ずしもVital systemに対するeffectsをfatal effectだけと

は考えていないことが伺われた。研究班ではM3に記述されているVital Functionをfatalなものに限定するものと解釈していた。このことはGLP適用範囲に密接に関連するので、MHW代表はVital systemをfatalな部分に限定すべきであると主張したが、採用されなかった。

④ GLP

会議前の研究班で、製薬協班員より安全性薬理試験に現在のGLPを適用するのは不可能との説明があり、現状としては、出来ればJPMAはGLP適用を行いたくないものとしていた。その理由として(1).Flexibility approachはGLPに馴染めない。(2).導入により開発期間の遅延が予想される(3).毒性試験と同じ水準のGLPの適用は無理である(4).無麻酔の場合など、試験機器および試験系のバリデーションに困難がある。従って、JPMAはGLPの適用が不必要であると主張することになっていた。一方、GLPの適用を許容出来る範囲は(1)ヒトでの試験に入る前に必要とされる安全性を予測するための試験(vital function)であることが認識されていた。一方、MHWは、研究班長、医薬安全局審査管理課、審査センター、医薬品機構との間でGLP適応における問題点と範囲などについて検討を行い、その結果、GLP査察内容の一部適用は無理であり、新しいGLPを作ることもほとんど不可能である。また全試験範囲へのGLP適応には大きな困難が伴うことを確認していた。更に、試験項目範囲を限定する場合にはGLPの適用範囲を通知することで対応できる。安全性試験の適用範囲(たとえば、vital function)を決めて通知することは出来るので、一応、ICHの場ではMHWとしては静観するが、態度を明らかにせねばならない場合には適用をVital function範囲とすることを主張することを決めていた。議場外での討議でもEUおよびEPPIAはGLPの適用範囲としてfatal effectを対象として考え、ほぼGLP対応は出来ており、US-PhRMA (Dr. Ayer)もほぼその線で対策が出来ており、出来ていないところは英国の受託試験機関を利用することであり、Vital function 範囲の広義の解釈との間に乖離があるように思えた。そこでこのままではGLP施行上で範囲が広すぎるということで、Important adverse effectsとSerious adverse effectsの例示を用いてVital functionでもかなり広い試験範囲であることを説明したが、意外に

も欧米ではGLPの適用範囲にかなりの自由度があり、プロトコル中の試験項目の追加が試験結果によりプロトコルの変更（逸脱）として可能なこと、Vital functionの範囲でも試験実施者がnon-GLPと判断し、それが特に評価に問題がなければ認められること等の例を出した。日本では、Vital functionの範囲でGLP対応はほとんど出来ておらず、ましてや申請から査察までの現状の過程でこのような逸脱の自由が可能とは考えていなかったことから、MHW代表はGLPの適用範囲をVital functionのfatal effect部分として限定記述するよう求めた。質の確保としてFDA代表は「Deviation from GLP should be adequately justified」という文章を導入し、正当性の証明をすべきと記載（単純にとると逸脱については正当性の証明をすべきであり、しないことも取れるが、むしろある程度GLPから逸脱してもよいと取るべきである）することを提唱した。しかしMHWとしては、示されたDeviationの正当性を誰が認めるのか、どのようなDeviationが今後可能なことなのか、またその程度について検討する必要があるとして結論出来ないとした。3日半の討議はSafety Pharmacology Studies on Vital functionsおよびSafety Pharmacology Studies conducted as necessaryの検討を残したままDraft 0.5として終了したが、今後のガイドライン化を推進することで合意し、10月のWashington DCでの会議でStep 2にするために7月乃至8月に会議を開くことで合意した。Steering Committee会議では、ラボーターの報告後、議長からS7のCriticalな問題は何かまたExtra会議の必要な理由は何かという質問に、会議を代表してMHW代表が最重要かつCriticalな論点はGLPであり、Safety Pharmacology Studies on Vital functionsの範囲が不明確であり、さらにDeviation from GLPの解釈が不明確のため、異なった解釈があることの2つの理由によりMHWとしてはGLP部分に同意できない。従ってさらなる討議が必要であることを述べた。

⑤ 研究班の検討

Deviationの解釈の差は所詮欧米との間に今後も存在すると思われることで、認識がほぼ一致した。Draft 0.5のような状況下でDeviationありでのGLP適用とした場合にガイドラインに対する束縛性が開発側にも評価側にもある日本の文化的背景を念頭に置くと、運用にお

いて大きな国際間との齟齬が生じることが容易に予想されるからである。従って、GLPと同様の条件でもGLP適用としない方が問題が少ないとの結論に達した。GLP適用のされない方向を検討した結果、欧米がGLPに期待する信頼性保証の範囲と背景を調査し、その条件を十分に満足する信頼性保証条件を提示し、その条件を満足すればGLPでもnon-GLPでもよいと主張することになった。この主張の背景には日本の薬効・薬理試験に関する信頼性基準の存在があり、安全性薬理試験ガイドラインでこの信頼性保証基準以上の基準を要求すれば、行政施行上からは信頼性は確保されていると言えるからである。

⑥2.4 dose levels or drug concentrations

i. In vivo studies

用量設定：Include therapeutic range up to toxic doses：FDAは強く主張している。日本での改正案対応コメントでもwithin the pharmacological dose rangeでは不足と考える意見がかなりある。根拠とする論文の例数が少ない。薬物による検討等による根拠データがなくては説得出来ない。評価サイドとしては現時点ではFDAに近い。（何倍までする必要があるのか、toxic doseとはの問題がある）

ii. vital:の解釈差：

会議前の解釈が異なっていた。欧米では本来の意味通りである。試験の範囲は単純なscreening的な試験だけでなく、結果如何によってはin vitroも含む広範囲な追加試験も全てvitalに入る。OthersにはFDAは例としてCrohn's diseaseにおけるGastrointestinal systemとかrenal systemを挙げた。2.7項5、6、7パラから受け取れるのはsafety pharmacology studiesに属する試験は全てGLP下で試験を行うと解釈出来る。欧州企業がGLPを導入している試験範囲およびGLP適用にはかなり柔軟性があるようである。GLPガイドラインの内容の部分適用はありえないことは3極共に理解しているようである。

「Any deviations from GLP should be adequately justified and the potential impact on evaluation of the endpoint should be explained」：Deviationを不法性を臭わせる逸脱と訳するのは誤解が生じる。欧米ではDeviationがあるのは最初から当然と思っているようである。欧米と

日本のGLP調査・評価の段階で許容されるDeviation（逸脱）の幅がかなり異なるのではないかと思える。妥当な理由があれば、毒性試験でもGLPを適用する必要がない場合がある

（欧米の行政、企業、特にEFPIAがGLP適用に積極的な理由は信頼性の確保が必要であるからと考えられる）（このガイドライン条件では日本ではGLP対応は行政・企業共に不可能である。）（日本における薬理試験の信頼性基準を利用出来ないか）（欧米の望んでいる信頼性確保の条件は日本でのGLP適用に比し緩やかであれば、それに合致した条件の明示で解決出来ないか）（GLPという縛りがなければ、最低信頼性基準を遵守していればよいので、後は必要に応じた試験範囲で試験を行える。）

（EFTAおよびEFPIA代表の意見：安全薬理試験にGLPを求める理由は、安全性薬理試験を安全性評価に関連する試験として定義したときに、試験計画書の立案、生データの保存、報告書と生データ間の整合性保証が実施されないのは問題であり、せめてこの3点だけは当局サイドが確認できる形にしておくべきである。

（FDA代表の意見：試験方法や機器のバリデーションはsecondaryなことで、むしろ適切に試験が実施され、試験に関する記録が適切に残され保存されることが重要である。残された資料から試験が再構築されることを強調している。）

③信頼性基準およびGLP適用について

i. 可能性および 問題点

製薬協では信頼性基準の形ではICH協議において主張は困難であること。欧米2極4派団体がGLP適用可能としている状況で日本だけ完全に適用出来ない特殊理由はないとの理由から、GLP適用をする方向で検討を進めることに決定したとの報告があった。Regulatoryサイドの考えは、信頼性基準は一つの解決策として提案したのであり、企業サイドがGLP適用可能であり、かつ遂行する意志があれば、GLP適用の方向で努力する意向であり、日本側として、8月東京会議には原則としてGLP適用の線で臨むことに決定した。

④ 2.7項GLP

3極との情報交換によりSafety pharmacology studiesにGLP適用受け入れの面からSP studiesにCore Battery

部分とAs necessary部分を設け、CoreにはGLPを適用する案が出ている。一方As necessary部分には必ずしもGLP適用を求めないという趣旨の文章への修正である。研究班では方向性については異論はなかったが、Core部分に相当する試験範囲とその理由およびAs necessary部分に相当する試験と何故GLP適用をする必要がないかについて、適切な理由が必要であることから討議した。Coreをfatalな試験に絞るならば、そのevidenceによりfurther studyとして要求される試験に関してGLP適用ができない理由がないとの意見があり、理由として、専門性を要すること（special techniqueなどspecialityを要求される）が挙げられ、advanced studyやmechanistic studyではさらにrecent progressを取り入れて試験を行う必要がある等の理由などが挙げられた。⑤2.8、2.9項：試験項目について（ICH-EWG討議未了部分）

上記のGLPに関する討議結果より、2.8はCore部分、2.9はas necessaryとして分類し、8月東京会議への対応策を立てることとなった。提案文はラポーターによる叩き台として提出することが認識された。

⑥各項目コメントについての討議

(1) 2.3.3.1 陽性対照についてPrevious 実験データが使用可能かとconcomitant実験ですべきかについて討議したが適正にvalidateされた実験であればよいという意見と実験標本間の反応差はvalidateの問題とは異なるとの意見があった。

(2) 2.4項Dose：用量については絶対用量ではなく、薬効薬理効果と比較し、毒性用量と区別して解釈すべきであるとの意見から薬効用量/毒性用量を考慮する意の文章が必要であるとのことが認識された。

(3) 2.7項 GLP中のdeviationの解釈においてこれまでの日本での逸脱と訳することの是非、欧米のSOP Protocolのdeviationと日本の逸脱は異なること等により、Draft 1では何か適切な表現に変更するあるいは削除する。

2. Step 1 Draft 1の検討

試験項目では、必須試験として中枢神経系、循環器系、呼吸器系からなるCore Battery Studiesと、必要に応じて実施する試験としてFollow-up Studies（中枢神

経系、循環器系、呼吸器系)とSupplemental Studies(腎・尿路系、自律神経系、消化器系、免疫系、その他)に分類された。

GLP適応では、Core Battery StudiesにはGLP適応を義務付けた。一方、Follow-up StudiesとSupplemental Studiesでは可能な限りGLP適応で実施することとしたが、GLP不適応の場合はその正当性と試験結果の評価に与える影響について説明を求めている。

3. Step 1 Draft 2の検討

① 研究活動の概要

ガイドラインの目的、背景、理念には特に問題はなかった。Scopeの項で適用はヒト薬物治療用の新化学物質と生物製剤であることが東京EWG会議でDraftに加わり、FDAのCBERからGreenが参加したが、特に再討議とならなかった。Categorization部分からはPrimaryとsecondary pharmacodynamic studiesをNoteに移し、safety pharmacologyのみの定義とし、焦点を明確にした。試験の目的、考え方では治療に焦点を置いた修正以外に大きな修正はない。In vivoおよびin vitro系の項でreceptorの他にchannel, transporter, enzymesが今後の手法として加えられた。実験系におけるサンプルサイズや経路に関しては大きな修正はなかった。用量に関してin vivoの項で用量幅と上限について行政サイドと企業サイド間に意見の相違があり、討議の後、[doses should encompass a range that includes the primary pharmacodynamic or therapeutic range and those producing adverse effects]から[dose levels should overlap those producing adverse effects in toxicity studies of similar duration]のように同様(通常急性毒性)試験においてadverse effectが認められる用量を上限とすることで明確になった。測定時間については[time to onset and recovery]を[time points for the measurements]として試験系の項から一般見解に変えた。in vitroでの用量記載からは臨床曝露濃度は除き、単純にa range of concentrationと幅を持たせた。投与回数のheadingはDosage regimenとし若干修正し、基本的な単回以外の取り扱いに触れた。代謝物に関してmetabolites およびactive metaboliteをmajor metaboliteと規定した。Core batteryの項では実質上大きな修正はない。中枢神経系

にsensory/motor reflex responsesを加えたが、OECD神経毒性試験を意識して加えた参考としてのNoteは削除となった。心血管系はCore batteryの中で最も重要な試験のために検討に時間をかけた。心電図におけるQT間隔検討に関し、EUはCOMPにおける検討により重要性が確定したとして、AstraZenecaのTim Herrmanによる不整脈とQTおよびPurkinjeの活動電位の相関性についてPresentationを行い、ガイドライン中に少なくともQTを記載すべきと主張した。一方FDAは現在QTについては委員会検討中であるとし、ECG測定にQT間隔測定は含まれているので、現況で明記することを控えて欲しいとのことで、今回はEUも了解した。内容は、血圧、心拍数、心電図は測定すべきは変わらず、電気生理学を含むin vitro and/or ex vivo法は「draft 1の適切に評価すべき」から「これらの方法も一般に考慮すべきである」と変更だけを行った。呼吸系部分では特に論議はなかった。次の「上記のCore batteryを補足するために必要な試験」に関する項であるFollow up試験およびsupplemental試験については8月に十分討議した結果、今回はほとんど修正はなかった。なおFollow up試験の範囲はVital functionに影響が懸念される場合の追加試験であり、Supplemental試験はCore batteryで検討されてなく、かつ影響が懸念される機能についての試験とした。安全性試験の必要でない条件の項で、局所適用の他に、さらに末期癌患者に使用するCytotoxic agentsには必要なし、また特異的な受容体を標的とするBiotechnology-derived productsには試験を縮小もしくはなくてもよいとした。薬動学的および薬動態学的に同じである塩類に関しても必要なしとした。試験のTimingの項では修正はほとんどないが、ヒトに初めて適用する前に必要な試験に必要とidentifyされるFollow upおよびSupplemental試験も含まれるとの記載のidentifyするのは誰かということに関して個人的な討議を行ったが、MHWとFDAおよびEUとの間に今後差がなくなるのか検討する必要がある。GLP適用の項は、製薬協が若干の適用の幅を持ちだした(開発時のデータが安全性試験と重複する場合にはこれはGLPで再度行う必要がないとの意見に対し、US-PhARMから臨床用量と安全性試験での用量が異なるとの指摘があり了解されたものと思う)に止まり、特に大きな論

議はなかった。その理由として、ブラッセル会議でMHWはGLP適用への同意は保留したが、8月の会議では国際的に一般化した理念であると決定した上で討議を行った結果である。即ち8月の会議でGLP運用におけるDeviationというあいまいな表現は削除、より具体的にcore batteryはGLPに従って試験を行い、Follow upおよびSupplemental試験は重大なヒトへの安全性に係わる懸念がある場合には実行可能な限りGLPに従って試験を行うとしている。実行可能な限りという文章は運用サイドで検討する必要があるだろう。GLP下でどうしても出来ない特別なデザインの試験（これはBio Productを念頭に置いている）に関しては適切な判断を示し、評価指標に与える影響を説明することも加えた。一般スクリーニングで行い、特に懸念がない試験についてはGLP下で行われる必要はないとの記載も運用サイドで討議する必要があるかも知れない。以上三極6 parties間に大きな理念の差はなく、順調にガイドライン構成の完成と内容の充実が図られ、完成に近づいている。

②. QT間隔延長とin vitro電気生理学的手法

心血管系測定項目としてQ-T間隔の延長およびAction potential Duration (APD)をCPMPが提議している。(Requirements-Preclinical in vivo testing)

ヒトおよびイヌ、単回および反復投与、71化合物について、Torsades、Q-T、APDを検討した結論：Torsades de pointes clearly associated with Q-T prolongation
FDA: 検討中で結論は保留

QT間隔測定にEUが積極的であるようである。参考意見としてAstra ZenecaのTim Hammondより臨床およびin vitro APD間の相関性に関するpresentationがあった。「EUはin vitro 試験は無理であるが、QTc延長はCore Battery内で測定すべきとしたが、FDAは相関性について検討中とのことで、少なくとも本測定はECGに含まれるので、今回は明記せずとなった」との理解と「相関性は必ずしも高くないのでQTc試験の必要性のトーンを低くした」との理解には少し異なるニュアンスが存在している。このQT間隔測定に関する日本側の見解を詰めておくために、今回循環系薬理についての豊富な実験系を駆使しておられる橋本敬太郎教授に専門家からの意見を伺い、討議した。結論として臨

床第一相前の動物におけるQT間隔測定は有意義であるとの認識であった。

③. 本ガイドラインにおける日本側の問題

- i. 本ガイドライン適用対象としてBiotechnology derived productsをいれることに特に問題はなし
- ii. if essential to assess serious human safety concern : もしnot serious concernの場合はGLP不適用---誰が決定するか：試験研究者であり、試験計画で判断妥当性を記載する。

4. Step 2の検討 (変更した部分)

①. 2.9. 不必要な試験

細胞毒性薬（末期ガン患者用、新しい作用機序のものに関しては実施する価値がある）；新規作用機序抗癌剤に関して試験の必要を示唆した。

②. 2.11. GLP

以下に記載するStep 1 Draft 2と微妙に異なる。Step 1 Draft 2ではGLP適用を前提に例外的試験を認める姿勢であるが、Step 2ではnon-GLPを認めることを前提に質と信頼性の保証を要求しており、日本の信頼性基準の実施に近い内容である。従って、コア評価法にもGLP適用はshould でなく、通常というゆるい規制となっている。しかし企業がGLPを適用しない場合には妥当な理由が必要であり、データの保管と試験実施に関する文章でデータの質と全体性は保証させるために「データの保管を含む適切な試験実施の文書を通して」と具体化した。

GLP修正文「試験デザインが特殊なためにGLPに従って行うことができない場合がある。たとえ、形式上でGLPの原則に忠実でなくても、安全性薬理試験のデータの質と全体性は保証されるべきである。試験がGLPに従って行われていない場合、試験の再構成はデータの保管を含む適切な試験実施の文書を通して保証されるべきである。GLPに従って行われない試験または試験項目は正当な理由を適切に述べるべきであり、またエンドポイントの評価に及ぼしうる影響を説明しなくてはならない。コアバッテリー試験は通常GLPに従って行う。Follow-up試験およびSupplemental試験はできるだけGLPに従って行う。」

- i. GLP: Step 1-Draft 2 (11.8.1999)

It is important to ensure the quality and reliability of the studies. However, it is also important to conduct and to select the safety pharmacology studies based on the principle of a rational and flexible approach. The adverse effects investigated in safety pharmacology studies are distinct from studies designed to assess toxicity.

Primary pharmacodynamic studies do not need to be conducted according to GLP.

Secondary pharmacodynamic studies do not need to be conducted according to GLP, if their objectives differ from safety pharmacology studies.

Safety pharmacology studies conducted as general pharmacology screens in the absence of specific cause for concern need not to be performed under GLP conditions.

The core battery of safety pharmacology studies should be conducted in accordance with GLP. Follow-up and supplemental studies, if essential to assess serious human safety concern, should be conducted in accordance with GLP to the greatest extent feasible. Any study or study component not conducted according to GLP should be adequately justified and the potential impact on evaluation of the endpoint should be explained.

Safety pharmacology investigations can be part of toxicology studies, in such cases these studies would be conducted in accordance with GLP.

ii. GLP : Step 2 Document (3.10, 2000)

It is important to ensure the quality and reliability of the studies. This is normally accomplished through the conduct of the studies according to GLP. Due to the unique design of some safety pharmacology studies it may not be feasible to conduct these in accordance with GLP. It has to be emphasized that data quality and integrity in safety pharmacology studies should be assured even in the absence of formal adherence to the GLP Principles. When studies are not conducted in accordance with GLP, study reconstruction should be assured through adequate documentation of study conduct, including archiving of data. Any study or study component not conducted according to GLP should be adequately justified and the potential impact on evaluation of the endpoint should be

explained.

The safety pharmacology core battery is normally conducted under GLP. Follow-up and supplemental studies should be conducted in accordance with GLP to the greatest extent feasible. Safety pharmacology investigations can be part of toxicology studies; in such cases these studies would be conducted in accordance with GLP.

Primary pharmacodynamic studies do not need to be conducted according to GLP.

Secondary pharmacodynamic studies, where their objectives differ from safety pharmacology studies, do not need to be conducted according to GLP.

Safety pharmacology studies conducted as general screens in the absence of specific cause for concern do not need to be conducted according to GLP.

E. 結論

延べ4回のEWG会議により、ほぼ全文に関して3極6partiesが妥当な内容であるとの認識で一致し、2000年の東京会議でStep 2に到達した。その結果、Steering committeeには2000年の11月のサンジェゴ会議でStep 4に進められる可能性を示し、予定としてStep 2の後に6ヶ月の公開コメント対応期間を取り(FDAではpublicationとして公開する義務があり最低6ヶ月必要)、(7月のブラッセル会議はとばし)寄せられたコメントに基づく討議を6ヶ月後の9月にextraのS7-EWG会議で行い、ICH-5でStep 4に達成する予定である。

ICH Step 2 安全性薬理試験ガイドラインの内容は、序論として安全性薬理の目的、背景、適用範囲、一般原則、定義について記載し、次いでガイドラインの内容を記載してある。ガイドラインの内容は全般的な考え方、試験系、被験物質、用量、代謝物等、次いで中心となる安全性薬理コア評価法 (Battery)、必要な試験、不必要な場合の条件、試験のタイミングおよびGLPの適用から構成される。

本ガイドライン案の特徴は安全性に関する薬理試験に焦点を絞ったこと、ヒトに使用する前に必須な試験部分として安全性薬理コアバッテリーを設定したこと、およびGLP適用を導入したことであり、共通する理念は自主性の尊重および自主管理の重要性である。

安全性薬理試験に焦点を絞った結果、現行一般薬理試験のプロファイル的試験項目はICH案では不要とされた。

安全性薬理コアバッテリーとは生体維持に急性的に必須な機能への影響を検討する安全性薬理試験であり、中枢神経系、心血管系、呼吸系における重篤な有害効果のスクリーニング的検査（必須検査項目を明示）であり、通常GLP下で行う。これらの機能に関してさらに安全性薬理学的情報が必要と判断する場合にはFollow-up試験を行う、またその他の機能に関して安全性薬理学的情報が必要と判断する場合にはsupplemental試験を行うとしている、これら試験に関しても可能な限り、GLP下で安全性薬理試験を行う。

本研究（S7）は永年安全性評価の上からは重要性を認められながらも、我が国独自といわれ、国際的に理解を訴え続けてきた一般薬理試験ガイドラインの国際化の延長上にある。1996年以来、一般/安全性薬理試験に関するICH研究班編成により準備してきた我が国が率先して国際的ガイドライン作成に貢献していることは大きな成果と思われる。

GUIDELINE ON SAFETY PHARMACOLOGY STUDIES FOR HUMAN PHARMACEUTICALS (S7) Step 2 Document, March 2, 2000

1. INTRODUCTION

1.1 Objectives Of The Guideline

This guideline was developed to help protect clinical trial participants and patients receiving marketed products from potential adverse reactions to pharmaceuticals, while avoiding unnecessary use of animals and other resources.

This guideline defines safety pharmacology and describes general principles and recommendations for its evaluation.

1.2 Background

Pharmacology studies have been performed worldwide for many years as part of the non-clinical evaluation of pharmaceuticals for human use. There have been, however, no internationally accepted definitions, objectives or recommendations on the design and conduct of safety pharmacology studies. (Note 1)

In the ICH non-clinical safety guidelines, the term “safety pharmacology studies” first appeared in the topics, “Timing of Non-clinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials for Pharmaceuticals (M3)” and “Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-derived Pharmaceuticals (S6)” as studies that should be conducted prior to the initiation of clinical trials (1, 2). Details of the safety pharmacology studies, including their definition and objectives, were left for future discussion.

1.3 Scope Of The Guideline

This guideline generally applies to new chemical entities and biotechnology-derived products for human use. This guideline may be applied to marketed pharmaceuticals when appropriate (e.g. when adverse clinical events, a new patient population or route of administration raise concerns not previously addressed).

1.4 General Principle

It is important to adopt a rational approach when selecting and conducting safety pharmacology studies. The specific studies that should be conducted and their design will vary based on the individual properties and intended uses of pharmaceuticals. Scientifically valid methods should be used, and when there are internationally recognized methods that are applicable to pharmaceuticals, these are preferable. Moreover, the use of new technologies and methodologies in accordance with sound scientific principles is encouraged.

Certain endpoints may not need separate evaluation in safety pharmacology studies, while in other cases safety pharmacology endpoints may be incorporated in the design of other studies (e.g. toxicology, kinetic or clinical studies). Although adverse effects of a substance may be detectable at exposures that fall within the therapeutic range in appropriately designed safety pharmacology studies, they may not be evident from observations and measurements used to detect overt toxicity in conventional animal toxicity studies.

1.5 Definition Of Safety Pharmacology

Pharmacology studies can be divided into three categories: primary pharmacodynamic, secondary pharmacodynamic

and safety pharmacology studies. (See Note 2 for definitions of primary pharmacodynamic and secondary pharmacodynamic studies.)

For the purpose of this document, safety pharmacology studies are defined as those studies that investigate the potential undesirable pharmacodynamic effects of a substance on physiological functions in relationship to exposure.

In some cases, information on the primary and secondary pharmacodynamic properties of the substance may contribute to the safety evaluation for potential adverse effect(s) in humans and should be considered along with the findings of safety pharmacology studies.

2. GUIDELINE

2.1 Objectives Of Studies

The objectives of safety pharmacology studies are: 1) to identify undesirable pharmacodynamic properties of a substance that may have relevance to its human safety; 2) to evaluate adverse pharmacodynamic and/or pathophysiological effects of a substance observed in toxicology and/or clinical studies; and 3) to investigate the mechanism of the adverse pharmacodynamic effects observed and/or suspected. The investigational plan to meet these objectives should be clearly identified and delineated.

2.2 General Consideration In Selection And Design Of Safety Pharmacology Studies

Since pharmacological effects vary depending on the specific properties of each test substance, the studies should be selected and designed accordingly. The following factors should be considered (the list is not comprehensive):

- (1) Effects related to the therapeutic class of the test substance, since the mechanism of action may suggest specific adverse effects (e.g. proarrhythmia is a common feature of antiarrhythmic agents);
- (2) Adverse effects associated with members of the chemical or therapeutic class, but independent of the primary pharmacodynamic effects (e.g. anti-psychotics and QT prolongation);

- (3) Ligand binding or enzyme assay data suggesting a potential for adverse effects; and

- (4) Data from previous safety pharmacology studies, from secondary pharmacodynamic studies, from toxicology studies, or from human use, that warrant further investigation to establish and characterize their relevance to potential adverse reactions in humans.

During early development, sufficient information (e.g. comparative metabolism) may not always be available to rationally select or design the studies; in such a circumstance, a more general screening approach may be applied.

A hierarchy of organ systems can be developed according to their importance with respect to life-supporting functions. Organs or systems acutely necessary for life, i.e., the cardiovascular, respiratory and central nervous systems, are considered to be the most important ones to assess in safety pharmacology studies. Other organ systems, the functions of which can be transiently disrupted by adverse pharmacodynamic effects without causing irreversible harm, are of less immediate investigative concern.

Safety pharmacology evaluation of effects on systems other than the above vital systems may also be of particular importance when considering factors such as the likely clinical trial or patient population (e.g. gastrointestinal tract in Crohn's disease, immune system in immune compromised patients.)

2.3 Test Systems

2.3.1 General Considerations On Test Systems

Careful consideration should be given to the selection of relevant animal models or other test systems so that scientifically valid information can be derived. Selection criteria include the pharmacodynamic responsiveness of the model, pharmacokinetic profile, species, strain, gender and age of the experimental animals, the susceptibility, sensitivity, and reproducibility of the test system and available background data on the substance. Data from humans (e.g. in vitro metabolism), when available, should be also considered in the test system selection. The time points for the measurements should be based on

pharmacodynamic and pharmacokinetic considerations. Justification should be provided for the selection of the particular animal model or test system.

2.3.2 Use Of In Vivo And In Vitro Studies

Animal models and/or ex vivo/in vitro preparations, isolated organs and tissues may be used. In vitro systems may further include but are not limited to: cell cultures, cellular fragments/subcellular organelles, receptors, channels, transporters and enzymes. In vitro systems may be utilized in supportive studies (e.g. to obtain a profile of the activity of the substance or to investigate the mechanism of effects observed in vivo).

In conducting in vivo studies on vital functions, it is preferable to use unanesthetized animals. Data from unrestrained animals that may be chronically instrumented for telemetry, other suitable instrumentation methods for conscious animals, or animals conditioned to the laboratory environment are preferable to data from restrained or unconditioned animals. In the use of unanesthetized animals the avoidance of discomfort or pain is a foremost consideration.

2.3.3 Experimental Design

2.3.3.1 Sample Size And Use Of Controls

The number of animals or isolated preparations should be adequate to clearly demonstrate the presence or absence of an effect of the test substance. This should take into consideration the size of biological effect that is of concern. Appropriate negative and positive control groups should be included in the experimental design. In well-characterized in vivo test systems, positive controls may not be necessary. The exclusion of controls from studies should be justified.

2.3.3.2 Route Of Administration

In general, the expected clinical route of administration should be used when feasible. Regardless of the route of administration, exposure to the parent substance and its major metabolites should be at least similar to or greater than that achieved in humans when such information is available. Assessment of effects by more than one route may be appropriate if the test substance is intended for clinical use by more than one route of administration (e.g.

oral and parenteral), or where there are observed or anticipated significant qualitative and quantitative differences in systemic or local exposure.

2.4 Dose Levels Or Concentrations Of Test Substance

2.4.1 In Vivo Studies

Safety pharmacology studies should be designed to define the dose response curve of the adverse effects. The time course (e.g. onset and duration of response) of the effects should be investigated when feasible. Generally, the dose response for the adverse effects should be compared to doses necessary for the primary pharmacodynamic response in the test species or the proposed therapeutic effect in humans, if feasible. It is recognized that there are species differences in pharmacodynamic sensitivity. Therefore, doses should include and exceed the primary pharmacodynamic or therapeutic range. In the absence of adverse effects on safety pharmacology parameters, the highest tested dose should equal or exceed those doses producing some adverse effects in studies of similar route and duration. These adverse effects may include dose-limiting pharmacodynamic effects or other toxicity. In practice, some effects in the toxic range (e.g. tremors or fasciculations during ECG recording) may confound the interpretation of safety pharmacology effects and may also limit dose levels. Testing of a single dose group may be appropriate in the absence of a specific adverse effect in the test species.

2.4.2 In Vitro Studies

In vitro studies should be designed to establish an effect-concentration relationship. A range of concentrations should be explored in order to increase the likelihood of detecting an effect on the test system.

2.5 Duration Of Dosing

Safety pharmacology studies are generally performed by single dose administration. When results from repeat dose non-clinical studies or human use give rise to concerns about safety pharmacological effects, the duration of the safety pharmacology studies to address these effects should be rationally based.

2.6 Studies On Metabolites, Isomers And Finished