

性試験に影響を与える場合には、無投与対照群を設ける必要がある。

注8：陽性対照群を設ける目的は、検査手技の妥当性を評価することにある。別途、少数の動物を用いてシクロホスファミド等の陽性対照薬物の投与の影響をみる試験を行ってあれば省略してもよい。

参考文献等：

1). 種々の試験法に関しては、Methods in Immunotoxicology Vols. 1 and 2 (ed. by Burleson, G.R., et al.) (1995); Environmental Health Criteria 180. Principles and Methods for Assessing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. pp.164-225 (1996); ImmunoTox Letter (日本免疫毒性学会発行)に掲載の免疫毒性試験プロトコール等を参照すること。

表1 本ガイダンスの免疫毒性試験の対象とされる薬物

- 
1. 次の(1)から(3)までのいずれかにより、被験薬物の免疫毒性が疑われる場合
    - (1) その薬物の反復投与毒性試験又はその他の毒性試験の結果
    - (2) 免疫毒性を示す既知の薬物との化学構造の類似性
    - (3) その他の知見
  2. 被験薬物の臨床適応が、次の(1)から(2)に該当する場合（注1）
    - (1) 免疫不全症
    - (2) 免疫抑制作用を有する薬剤（注2）との併用
- 

（注1）合理的な理由がある場合には、試験対象から除くことができる。

（注2）免疫抑制剤、抗癌剤、抗アレルギー剤、ステロイド剤等の中で免疫抑制作用を有する薬剤を指す。

表2 免疫毒性関連検査項目

---

#### I. 反復投与毒性試験における検査項目

1. 一般状態、体重
  2. 血液学的検査：免疫毒性関連検査としては、血球数、白血球型別百分率が必要とされる。
  3. 血液化学的検査：免疫毒性関連検査としては、アルブミン/グロブリン（A/G）比が必要とされる。
  4. 器官重量：免疫毒性関連検査としては、脾臓、胸腺、副腎の重量測定が必要とされる。
  5. 病理組織学的検査：免疫毒性関連検査としては、脾臓、胸腺、リンパ節、骨髄、腸管（パイエル板を含む）、肝臓、腎臓、副腎、皮膚の検査が必要とされる。
  6. 末梢血のリンパ球サブセット検査又は脾臓の免疫組織化学的検査を追加して行うことが望ましい。
- 

#### II. 第1段階の免疫毒性試験における検査項目

1. 抗体産生：投与期間中の適切な時期に、ヒツジ赤血球等のTリンパ球依存性抗原により免疫する。ヒツジ赤血球を免疫原として用いる場合には、PFC（Plaque-forming cell）アッセイでは、4日前に、血清抗体価測定では、6から7日前に免疫を行う。ヒツジ赤血球による免疫は、静脈内投与により行う。PFCアッセイの場合には、被験薬物最終投与の翌日に、動物毎に脾臓細胞を調製し、プラークアッセイを行う。

血清抗体価測定の場合には、被験薬物最終投与の翌日に血液を動物毎に採取し、血清を調製し、測定時まで（必要に応じて凍結）保存する。抗体価測定は、酵素免疫測定法（ELISA）法により行うことが望ましい。

2. 抗体産生検査に用いた試験動物について、一般状態、体重、脾臓重量、胸腺重量、及びその他特に必要とされる項目の検査を行う。
3. 必要に応じて、NK細胞活性の検査を行ってもよい。NK細胞活性の検査を行うためには、抗体産生の検査とは別に、投与群及び対照群を設定する必要がある。被験薬物最終投与の翌日に、脾臓細胞を調製し、適切な標的細胞を用いてアッセイを行う。

---

### III. 第2段階の免疫毒性試験における検査項目

1. 骨髄細胞の型別百分率：大腿骨を用いて行う。
2. リンパ球サブセット検査：末梢血または脾臓のBリンパ球、Tリンパ球、Tリンパ球サブセット、NK細胞を、適切な表面マーカー等に対する特異的抗体を用いて計数し、その構成比を求める。フローサイトメトリーにより検査を行ってもよい。
3. 血液化学的検査：血清タンパク質の電気泳動を行う。
4. 免疫グロブリンクラス検査：投与終了後の翌日に血液を採取し、血清を調製し、(必要に応じて凍結)保存する。ELISA等により、血清の免疫グロブリンクラス (IgM、IgG、IgA、IgE) のレベルの測定を行う。
5. 免疫組織化学的検査：リンパ系組織、腎臓 (免疫複合体沈着)、皮膚等の免疫組織化学染色を行う。
6. 免疫機能検査：
  - (1) 抗体産生：上述。
  - (2) NK細胞活性：上述。
  - (3) その他の免疫機能検査：マイトゲン等によるリンパ球増殖反応、細胞障害性T細胞活性、血清補体価、サイトカイン産生、マクロファージ又は多型核白血球の貪食活性、遅延型アレルギー反応 (注1)、宿主抵抗性、膝窩リンパ節反応 (注1、注2)、即時型アレルギー反応 (注1)、自己抗体、尿タンパク、及びその他の検査を適宜追加する。

---

(注1) これらのアレルギー反応を指標に用いて、その抑制または亢進を検討する。

(注2) 自己免疫の誘発活性の指標として用いる場合もある。

(英訳)

#### Draft Guidance for Immunotoxicity Testing (Provisional translation)

This guidance document presents a standard framework of preclinical immunotoxicity testing, which should be considered to apply for the approval of a new pharmaceutical, for the purpose of proper evaluation of its safety. However, it is not necessarily reasonable for some pharmaceuticals to be evaluated under the single testing protocol for assessing its safety. Therefore, it is important to select the most pertinent testing methods depending upon the characteristics of the pharmaceutical.

#### Backgrounds

The immune system has important roles in the removal of exogenous infectious agents such as bacteria and viruses and endogenous tumor cells. Decreased immune functions result in a high incidence of opportunistic infections and tumor generation as is clearly demonstrated in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) as well as the congenital immunodeficiency syndromes. Immunotoxicity is different from other toxicities in that it does not directly threaten the life of a host but manifests its harmfulness when infection or tumorigenesis occurs. Although the importance of evaluating toxicity of pharmaceuticals to the immune system (immunotoxicity) has been pointed out, the complexities of immunocompetent cells and their interactions as well as the

variety of immune functions had hampered establishing the pertinent preclinical immunotoxicity testing for new drug investigations for a long time. Moreover, the appropriate test procedures applicable to the immune system of rats frequently used for repeated dose toxicity studies had not been fully evaluated. In these ten years, however, evaluations of immunotoxicity tests, including international collaborative studies, have been extensively conducted, and the rat immunotoxicity test protocols are now available as a part of routine toxicology studies.

In this guidance, it is recommended that, in principle, the immunotoxicity testing is conducted upon manifestation of a sign of possible immunotoxicity in the repeated dose toxicity studies since most immunotoxicants give abnormal findings for immunotoxicity-related testes in such studies.

#### **Scope of this guidance and compounds to be tested**

Immunotoxicity covers suppression and abnormal potentiation of immune functions including allergy and autoimmunity. The term “immunotoxicity” used in this guidance does not include drug-specific immune reactions (drug allergy and drug-specific autoimmunity) (\*1).

The test compound described in Table 1 should be examined for immunotoxicity based on this guidance. This guidance does not apply to biologics and biotechnology-derived pharmaceuticals.

#### **Purpose of this guidance**

For the detection and characterization of immunotoxicity, it is important to plan the most pertinent protocol including suitable methods. The purpose of this guidance is to provide a framework for the selection of protocols and tests in the preclinical immunotoxicity testing.

In this guidance, the tier I immunotoxicity testing (Tier I testing) and tier II immunotoxicity testing (Tier II testing) in addition to the repeated dose toxicity studies are recommended to detect and characterize immunotoxicity of pharmaceuticals. A major purpose of the repeated dose toxicity studies and Tier I testing is to screen either directly or indirectly immunotoxic test compounds. Tier I testing

also detects their effect on humoral immunity. The purpose of Tier II testing is to clarify quantitatively and qualitatively the properties of the immunotoxicity detected.

Progress in immunobiology is very rapid, and testing methods superior to the ones described in this guidance will be developed. Therefore, it is hoped that efforts are made to incorporate novel or improved methodologies into the protocol described in this guidance for immunotoxicity testing.

#### **Selection of tests**

This guidance presents a list of recommended tests, which are not comprehensive but rather minimal, and additional tests should be considered depending on the properties of the test compound.

The immunotoxicity-related tests to be performed in a repeated dose toxicity study are shown in Table 2-I. They include some hematological tests and the weights and histopathological examinations of lymphoid organs. An additional lymphocyte subset test for peripheral blood or immunohistochemical test of the spleen is recommended to be simultaneously performed (Table 2-I). When an abnormal finding is observed in these tests (\*2), the immunotoxicity testing should be performed.

The immunotoxicity testing is usually performed in two separate stages. Tier I testing is the antibody response test with organ weight measurement of thymus and spleen and other necessary tests (Table 2-II). The NK cell assay may be added to Tier I testing.

If any abnormal findings are not observed during the Tier I testing, there is no need for any further study. If an abnormal finding is observed during the Tier I testing, then Tier II testing should be conducted after the most suitable tests (Table 2-III) are selected taking the immunotoxicity obtained in the preceding studies into account. In Tier II testing, it is important to clarify the characteristics of the immunotoxicity, especially to identify its target function or cells and to determine its strength.

When clear immunotoxicity is observed in a repeated dose toxicity study, and the necessity of Tier I testing is

considered to be low (\*3), Tier II testing may be performed without Tier I testing.

As necessary, a recovery test for the immunotoxicity is to be performed in order to determine reversibility of the toxicity using the test where the abnormal finding was observed.

#### **Timing of testing**

Tier I testing is usually performed after a repeated dose toxicity study. If possible, Tier I testing may be performed simultaneously in the repeated dose toxicity study. In principle, Tier I testing should be done before the initiation of clinical studies. Tier II test should be performed when it is appropriate.

#### **Testing protocols**

The following protocols are recommended for Tier I testing. For Tier II testing, the most pertinent protocol with suitable tests should be designed.

1. Animal species, sex, and age: the animals of the same species, strain, sex and age as used in the repeated dose toxicity study where an abnormal finding was observed are recommended (\*4).
2. Number of animals: at least 8 animals per group should be used in order to obtain statistically significant data. Randomized assignment of animals to each group is required. Either female or male (\*5) animals can be used when the difference was not observed in the both sexes.
3. Route of administration: the same route as the clinical application should be used.
4. Levels of dose: in principle, at least 3 levels of doses should be used, and the control groups should be added. Doses should be determined by considering the dose where the immunologically abnormal finding has been observed in the repeated dose toxicity study (\*6).
5. Control group: a negative control group should be placed, where a solvent alone is administered. As necessary, an untreated control group (\*7) or positive control group (\*8) should be considered.
6. Period of dosing: in principle, a dosing period used in

repeated dose toxicity studies may be selected. In principle, dosing should be done 7 days a week.

7. Others: general observations and body weight determination should be included.

#### **Immunotoxicity-related tests**

The immunotoxicity-related tests used in repeated dose toxicity studies and immunotoxicity testing are summarized in Table 2. A pertinent protocol) with suitable tests chosen from Table 2 should be designed, depending on the properties of the compound to be tested and the purpose of the testing.

#### **Notes:**

\*1 As for the delayed-type drug allergy, the guidelines for skin sensitization studies have been already used. On the contrary, no good predictive method for the immediate-type drug allergy has yet been established.

\*2 Means "suspected as an immunotoxicant" in Table 1. The term "abnormal finding" represents a statistically significant finding between the negative control and test groups, and the ranges and variations of normal or control values should be taken into consideration.

\*3 For example, when the number of peripheral blood neutrophils is decreased but other parameters are normal.

\*4 Rats or mice are usually used.

\*5 When male animals are put in the same cage, the cage size should be large enough to prevent their fighting.

\*6 The highest dose should not exceed the dose that gives 10% reduction in the body weight as compared to the negative control group. It is desirable that an immunologically abnormal finding is observed and not observed in the highest and lowest doses, respectively, demonstrating a dose-response relationship. When the changes in the highest dose are small enough, then the test group may be given two doses.

\*7 Usually not necessary. If the solvent used has an influence on the test results, the untreated control group should be considered.

\*8 The purpose of positive control group is to evaluate the

testing techniques. If the animals administered the positive control compound such as cyclophosphamide have been separately examined, the positive control group may be omitted.

#### References

1) As for immunotoxicity test methods, refer to the following references: Methods in Immunotoxicology Vols.

1 and 2 (ed. by Burlison, G.R., et al.) (1995); Environmental Health Criteria 180. Principles and Methods for Assessing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. pp.164-225 (1996); Immunotoxicity Test Protocols (in Japanese) published in ImmunoTox Letter (issued by the Japanese Society of Immunotoxicology); and other suitable references.

Table 1 Compound to be tested in the immunotoxicity testing.

- 
1. A compound suspected as an immunotoxicant because of:
    - (1) the data obtained in the repeated dose toxicity or other toxicity study for the compound.
    - (2) the similarity in chemical structure to a known immunotoxic drug.
    - (3) other findings.
  2. A compound that will be applied: (\*1)
    - (1) to immunodeficiency syndromes.
    - (2) together with a pharmaceutical having an immunosuppressive effect (\*2).
- 

\*1 The testing can be exempted when a rational reason is given.

\*2 For example, a pharmaceutical with immunosuppressive activity among the immunosuppressant, anticancer, antiallergy, and steroid pharmaceuticals.

Table 2 Immunotoxicity-related tests

- 
- I. Tests in repeated dose toxicity studies.
    1. General appearance and body weight.
    2. Hematological tests: blood cell counts and differentials are required as immunotoxicity-related tests.
    3. Blood chemistry: albumin/globulin (A/G) ratio is required as an immunotoxicity-related test.
    4. Organ weights: weights of spleen, thymus and adrenals are required as immunotoxicity-related tests.
    5. Histopathological test: histological examinations of spleen, thymus, lymph nodes, bone marrow, intestines (including Peyer' s patches), liver, kidneys, adrenals, and skin are required as immunotoxicity-related tests.
    6. The lymphocyte subset test for peripheral blood or the immunohistochemical examination of spleen is recommended to be simultaneously performed in the repeated dose toxicity study.
  - II. Tier I immunotoxicity testing
    1. Antibody response: the animals should be immunized with a T-dependent antigen such as sheep red blood cells (SRBCs) at an appropriate time during the dosing period. When SRBCs are used as an antigen, they should be administered 4 days before PFC (plaque-forming cell) assay or 6-7 days before the serum collection for the determination of antibody titer. The i.v. route administration of SRBCs is recommended for immunization. For PFC assay, the spleen cells should be individually prepared for the plaque assay on the next day of the final dosing. For serum antibody titers, the sera should be individually collected on the next day of the final dosing (and kept frozen as necessary). ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) is recommended for the determination of antibody titers.
-

2. General appearance, body weight, weights of spleen and thymus, and other necessary tests should be included to the antibody response test.
3. As necessary, NK cell assay may be optionally carried out. Groups of animals apart from the antibody response test should be used. The day after the final dosing, the spleen cells should be individually prepared for the NK cell assay using appropriate target cells.

---

### III. Tier II immunotoxicity testing

1. Bone marrow cell differentials: this test is usually performed using a femur.
2. Lymphocyte subset test: the numbers of B lymphocytes, T lymphocytes, T lymphocyte subsets, and NK cells are counted by using appropriate specific antibodies for surface markers, and their composition is obtained for peripheral blood or spleen. Flow cytometry may be used for the test.
3. Blood chemistry: electrophoresis of serum proteins.
4. Immunoglobulin classes: on the next day of the final dosing, the blood is individually collected, and the sera are prepared (and kept frozen as necessary). The serum levels of IgM, IgG, IgA and IgE may be measured by an ELISA method.
5. Immunohistochemistry: immunohistochemical staining of lymphoid tissues and organs, kidney, or skin.
6. Immune function tests:
  - (1) Antibody response: as described above.
  - (2) NK cell assay: as described above.
  - (3) Other functional tests: lymphocyte mitogen responses, cytotoxic T cell generation, serum complement titer, cytokine release, phagocytosis assays, delayed-type hypersensitivity (\*1), host resistance assays, popliteal lymph node assay (\*1, \*2), immediate hypersensitivity (\*1), detection of autoantibodies, urine protein levels, and other methods may be added as functional tests.

---

\*1 Suppression or augmentation of these reactions may be used as an immunotoxicity parameter.

\*2 May be used as a marker of autoimmunity.

### 3. 免疫毒性データ収集用調査票の作成

ICHにおける免疫毒性試験法ガイドラインの調和を目的として、医薬品の免疫毒性試験結果に関するデータ収集を提案し、その免疫毒性調査に必要とされる調査票の作成を行った。

### D. 考 察

今後は、ICHにおける免疫毒性データの収集及びデータ解析を行う必要がある。その解析結果に基づき、ガイダンス案の修正を検討する。また、今回のガイダンス案の対象から除外した、薬物アレルギー関連の試験法に関しても、さらに検討を継続する必要がある。

### E. 結 論

平成14年度は、免疫毒性試験法ガイダンス（案）を作成した。また、ICHに提案した免疫毒性データ収集のための調査票の作成を行った。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

- 1) 澤田純一：免疫毒性試験法の国際的動向－ICHを中心に－. 第29回日本トキシコロジー学会学術年会, 2002年6月20日、名古屋.
- 2) 澤田純一：免疫毒性ガイダンス案について. 第9回免疫毒性学会、2002年9月20日、静岡

# 厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

## 分担研究報告書

### 安全性薬理試験（ICH-S7B：ヒト医薬品の再分極過程に関連した 頻脈性心室不整脈評価に関する非臨床試験ガイドライン）の 国際的ハーモナイゼーションに関する研究

#### 合同研究項目：

- (1) インビボ電気生理学的測定法による心臓不整脈の評価法に関する研究。
- (2) インビトロ電気生理学的測定法による心臓不整脈の評価法に関する研究。

#### 分担研究者：

1 班：藤森観之助（医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構 顧問、昭和大学薬学部生理化学客員教授）

2 班：中澤 憲一（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター・薬理部室長）

#### 協力研究者：班員（50音順）

東 純一（大阪大学薬学部 臨床薬効解析学 教授）

遠藤 仁（杏林大学医学部 薬理学教室 教授）

尾崎 幸紘（国立医薬品食品衛生研究所 生薬部・室長）

佐神 文郎（エーザイ、製薬協）

橋本 宗弘（ファルマシア毒性薬理研究グループ長、製薬協）

橋本敬太郎（山梨医科大学 薬理学教室 教授）

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）

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）

山本 恵司（武田薬品工業）

渡辺 和夫（千葉大学薬学部）

#### 協力機関

厚生労働省薬務局審査課、国際化専門官

国立医薬品食品衛生研究所・審査センター

医薬品機構調査指導部

#### 研究要旨

平成14年度の研究成果は平成14年2月にICHブリュッセル会議でステップ2になったICH-S7B安全性薬理試験「ヒト医薬品の再分極過程に関連した頻脈性心室不整脈評価に関する非臨床試験ガイドライン」に関して国内外でコメントを収集し、国内外コメントをまとめ3回の研究班会議と2回のICH-EWG会議で対応を検討し、来年度におけるステップ4ガイドライン化を目指し、2度のドラフトを作成したことである（ステップ3Draft 2）。本エントにおけるICH-EWG会議は平成14年9月のICHワシントンS7B-EWG会議と平成15年2月のICH舞浜会議である。ワシントン会議では3極で収集し、まとめたコメントを基にステップ2ガイドラインの修正を行った。本会議ではQT評価試験の進め方の修正の合意およ

び統合リスク評価の考え方および文書化の必要性が認識された。統合リスク評価の考え方はその後11月に配布された臨床QT評価に関するUS-FDAおよびHealth Canada作成のICHトピック化のためのConcept paper案および平成15年1月のワシントンの臨床QT評価ワークショップでのFDAの説明により、臨床QT-EWGとの整合の必要を再確認することになり、その結果、舞浜会議では臨床QT-EWGとの3回の合同会議により、相互の評価における理解を図った。結果として、現在討議中の臨床QT評価試験戦略では非臨床QT評価は第一相の試験デザインに対し役割はなく、第二相以下の試験デザインにのみ用いられる。このことは基本的にはS7Bの役割における非臨床EWGの考えと乖離があるが、この解決は非臨床QT評価のトにおけるリスクに対する予測性および安全性保証の確実性に関して現在進行中のデータベース収集プロジェクトによるデータ解析の結果如何であることを両EWG共に認識している。舞浜会議ではガイドライン本文に統合リスク評価の項を作成、導入し、試験系の部分をAnnexにする案としてのガイドラインがほぼ完成した。7月ブラッセル会議でILSI/HESIおよびFDA/Georgetown大のプロジェクト結果を解析、討議し、11月のICH大阪会議前に日本製薬協JPMAプロジェクトのデータと共にS7B-EWG会議で総合解析と討議を行い、統合評価判断と臨床QT評価試験に対する役割を明確にしてICH6大阪会議でステップ4に到達する予定である。

キーワード： 安全性薬理試験、ICHガイドライン、非臨床QT評価試験、統合リスク評価

#### A. 研究目的

安全性薬理試験の国際的ハーモナイゼーションに関する研究の一環として医薬品の重篤な副作用として近年注目されている心臓の致死的不整脈であるTorsade de Pointes誘発を予測的に評価するための非臨床試験法ガイドライン作成検討作業をICHで進めるにおいて側面から検討研究を行う。本研究対象であるQTリスク評価がS7A安全性薬理試験ガイドラインの補完的ガイドラインのタイトルS7BとしてICHで討議されるに至った理由は、平成12年11月にサンジェゴでStep 4に達した安全性薬理試験ガイドライン中の心血管系に関する試験項目 {コアバッテリー} における心電図測定に関連しており、医薬品の有する再分極と伝導における異常、特に致死的なTorsade de Pointes (TdP) に高い相関性を有するQT間隔延長作用の測定に関する討議の結果、QT延長を非臨床試験において検討する試験が早急に必要であると合意されたことが基になっている。心電図は、心臓の多数の細胞で発生する活動電位の総和の記録と考えることが出来、QT間隔は心室筋の平均活動電位持続時間 (APD; action potential duration) を表していると考えられる。

心筋の活動電位の脱分極はNa<sup>+</sup>とCa<sup>2+</sup>のinward currentであり、最初にNa<sup>+</sup>チャンネルの急激な開口により (Na<sup>+</sup> inward current) 始まるが急激に不活性化され、次いでCa<sup>2+</sup>チャンネルがゆっくりと活性化される (Ca<sup>2+</sup> inward current)。その後、Ca<sup>2+</sup>チャンネルがゆっくりと閉じるとともに、K<sup>+</sup>チャンネルが活性化され (K<sup>+</sup> outward current) 即ち再分極により、再び静止電位にもどる。ナトリウムチャンネルやカルシウムチャンネルが活性化されるとAPDは延長し、これらが抑制されるとAPDは短縮することになる。逆にカリウムチャンネルが活性化されるとAPDは短縮し、これが抑制されるとAPDが延長することになる。

これらのチャンネルの中で、カリウムチャンネルには多くの種類があり、主なものとして、主な静止電位の形成にかかわっている内向き整流カリウム電流 (IK1)、活動電位のピーク直後の再分極に関与している一過性外向きK電流 (Ito) および再分極の後半に関与している遅延整流K電流 (IK) の3つがある。これらはそれぞれ特有のイオンチャンネルを介しており、いずれもがAPDに関係しているが、最も直接的に関係しているのは、IKである。IKは、さらに早い成分 (IKr;急速活性



化IK) と遅い成分 (IKs;緩徐活性化IK) から構成されている。このどちらが抑制されてもAPDの延長ひいてはQT延長が起こるが、QT間隔を延長しTdPを引起す薬物が選択的にIkrを阻害し、IkrチャンネルはHERG (Human-ether-ago-go-related gene)  $\alpha$  subunitとMiRP1  $\beta$  subunitからなる。またQT間隔を延長する薬物はHERGチャンネルに結合することが発現系で最近判明しつつある。

これらの科学的背景から非臨床QTリスク評価はイオン電流に関する評価系、In vivo心電図測定によるQT/QTcリスクの評価系および再分極過程 (APD) の評価系を中心とされた。

## B. 研究方法

本年度の研究方法は、まず最初にステップ2ガイドラインの暫定的な和訳および即時報告会、その他の公開の場での説明を行い、ついで各関係する試験研究団体への正式なコメント要請を行い、収集した国内コメントの整理と国外収集コメントのまとめと比較を研究班で行い、舞浜でpre-step4ガイドライン案を作成する。現在進行中である試験系の予測度あるいは精度のためのデータ収集プロジェクトにより収集されているデータベースの一部は舞浜で検討する。データベースに関しては次年度7月に予定されているブラッセルにおけるICH-EWGで解析し、その結果を評価戦略の考え方に加え、ICH大阪においてステップ4にすべく討議し、整合したガイドラインを作成する。さらに本年度の重要な方針の一つは現在FDAから提起されICHトピック化が浮上している臨床QT評価の考え方との間のすり合わせを図ることである。そのため、US-FDA/Health Canadaでドラフト化が図られている臨床QT評価に関するガイドライン案を早急に手に入れると共に、臨床QT評価EWGとの協議の下で非臨床QT評価ガイドラインを作成することである。

本研究では突然死の原因の一つであるTorsade de Pointesの前兆である心筋のQT間隔延長即ち再分極過程の遅延を非臨床的に評価するための試験法がインビボおよびインビトロの多岐に涉っており、専門的に詳細に検討を加える必要があるために、研究班をインビボ試験法およびインビトロ試験法に関する2つの研究

班 (藤森班および中澤班) として構成し、適宜合同研究班会議を開き、各々の段階で問題点を詳細に討議、検討し、ICH作業会議での意見調整およびStep 4への達成のために、共同してICHの活動を推進している。

## C. 研究結果

### 1. 進行状況

S7Bは平成14年2月にステップ2に到達し、各極でのコメント対応を終え、ワシントンでの第5回EWG会議でコメントに基づく修正を行い、舞浜での第6回EWG会議で臨床QT評価メンバーとの合同会議で共通の評価の進め方に関する認識を確認した。ステップ2以降のS7B EWGのリーダーはMHLWサイド (藤森) が務めている。

表1は本年度のS7B-EWGメンバーであり、FDAではJ. DeGeorgeが退職し、John KoenerがTopic leaderに、US-PhARMAではR. Robertsonに代わりPeter Siegleがメンバーに加わった。表2はこれまでのS7B活動状況、表3は平成14年度のICH-EWGおよび研究班の活動状況である。

表1 ICH-EWGメンバー (\*本年度未出席者)

MHLW: K. Fujimori (OPSR), K. Nakazawa (NIHS)
EU: K. Olejniczak (CPMP)
US-FDA: J. Koener (CDER), *David Green (CBER)
JPMA: M. Hashimoto, H. Honbo, K. Yamamoto,
EFPIA: G. Bode, A.T. Sullivan,
US-PhARMA: J. Green, P. Siegle
Canada-FDA: C.F. Strnad (PATPD)

表2 これまでのS7B活動状況と平成14年度活動状況

平成13年5月	第1回ICH-EWG東京会議Step 1 Draft 1
平成13年8月	第2回ICH-EWGオタワ会議Step 1 Draft 2
平成13年10月	第3回ICH-EWGトロント会議Step 1D-3
平成13年11月	第1回 TV/teleconference Step1 Draft 4
平成14年2月	第4回ICH-EWGブラッセル会議 Step 2

表3 平成14年度活動状況

平成14年4-8月	Step3.和訳-公示、コメント収集-対応
平成14年8月	平成14年度第一回研究班会議
平成14年9月	第5回EWG ICH- ワシントン会議Step 3Draft 1
平成14年10月	平成14年度第二回研究班会議
平成15年1月	臨床QTワークショップワシントン会議
平成14年1月	平成14年度第三回研究班会議
平成15年2月	第6回ICH 舞浜会議Step 3Draft 2

(1) コメント内容およびICHワシントン会議での討議結果

本年度のEW活動：9月のワシントン会議では①. ステップ2文書に対するコメントの収集、2. ステップ2文書に対するコメントについてのレビューと討議を行った。主要なコメントの内容は1. 試験系についての扱い:本文 または 補遺、2. 陽性シグナルについての定義、3. 主要評価項目として、薬理的/化学的クラス分類を含むことに対する異議、4. アーチファクト、5. 標準的QT試験 vs. エンハンスドQT試験、安全係数 (safety margin) に関する考え方:in vitro/in vivo、再分極過程の評価系 (特にAPD試験) についてのリスク予測性とその有用性、試験の実施タイミング、GLP適用について、In vitro試験濃度：溶解度の限界、細胞毒性、Step 4 のタイミングである。(表4,5)

ワシントン会議の討議の結果には本年度からFDA代表がJoe DeGeorgeからJohn Koenerに、またFDAの新しいsafety CoordinatorのRobert Osterbergがobserverとして出席したことは大きな影響をもたらした可能性がある。本会議ではステップ2ガイドラインに対するコメントに取り上げられたtesting strategyについて建設的な修正まで踏み込んだ討議を行った。

集まったコメントの数は3極共にかなり多かったが、そのほとんどが企業から寄せられたものだった。それだけ試験遂行面での企業の関心が切実なものとして理解される。会議では重要性が高い問題および共通性が高い

問題を整理して討議を重ねた。最も多く、かつ重要なコメントは試験戦略およびリスク評価に関する考え方であり、クラス分類を他の評価系と同列に評価項目に含めることが妥当であるのか、陽性シグナル、potential riskのシグナル、artifactをどのように定義するか、標準とenhanced QT試験の差の明白化、再分極過程の評価系特にAPDに関するリスク予測と有用性への疑義などについてであった。これらの問題を解決するために、さらに評価フローのstrategy schemeの修正を討議した。その他、重要なコメントはData収集を含むガイドラインのステップ4へのタイミングからのガイドライン構成、評価の中にsafety marginの考えを含めることの妥当性、試験物質の濃度、対照物質、in vitro試験におけるIC20やAPD90の問題、動物条件、GLPなどが共通しており、十分とはいえないが、討議を行った。その結果は舞浜会議において修正ドラフトに反映されている。更に、これらのコメントを基にした討議の結果、評価理念は変わらなかったが、評価の進め方に統合的リスクアセスメントの考えを導入するという試験戦略の見直しを行うこと、2003年11月大阪で少なくとも本文部分だけでもステップ4とすることが合意された。

ステップ2での試験戦略フローにおける評価の進め方はクラス分類を含む4つの評価法によって、陽性かどうかの判断を行い、最終評価でもリスクシグナルがあるかないかの判断を行うというものであった(図1)。新しい修正(図2)では、クラス分類は試験による評価とは同列におかず、統合リスク評価および他の評価試験のデザインにおいて用いるとし、陽性反応とカリシグナル、enhancedQT評価という用語は使わずに、すべの情報を用いた統合リスク評価という考えを項目としてまとめ直すことにした。また再分極評価(主としてAPD)については、有用性が高いとの意見とFalse negativeが多いのではという疑念が提示されたが、有用性を示す条件とは何かに関しては、現在行われているデータ収集の結果により決定されることになった。

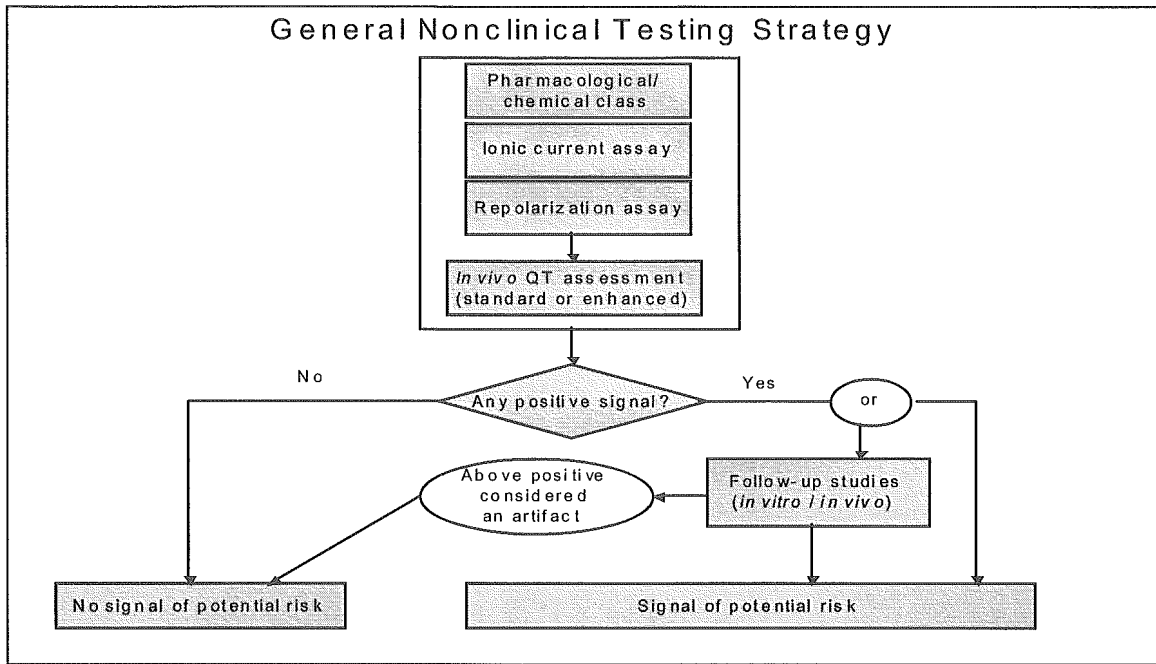


図1 非臨床QT評価のための試験戦略 (ステップ2)

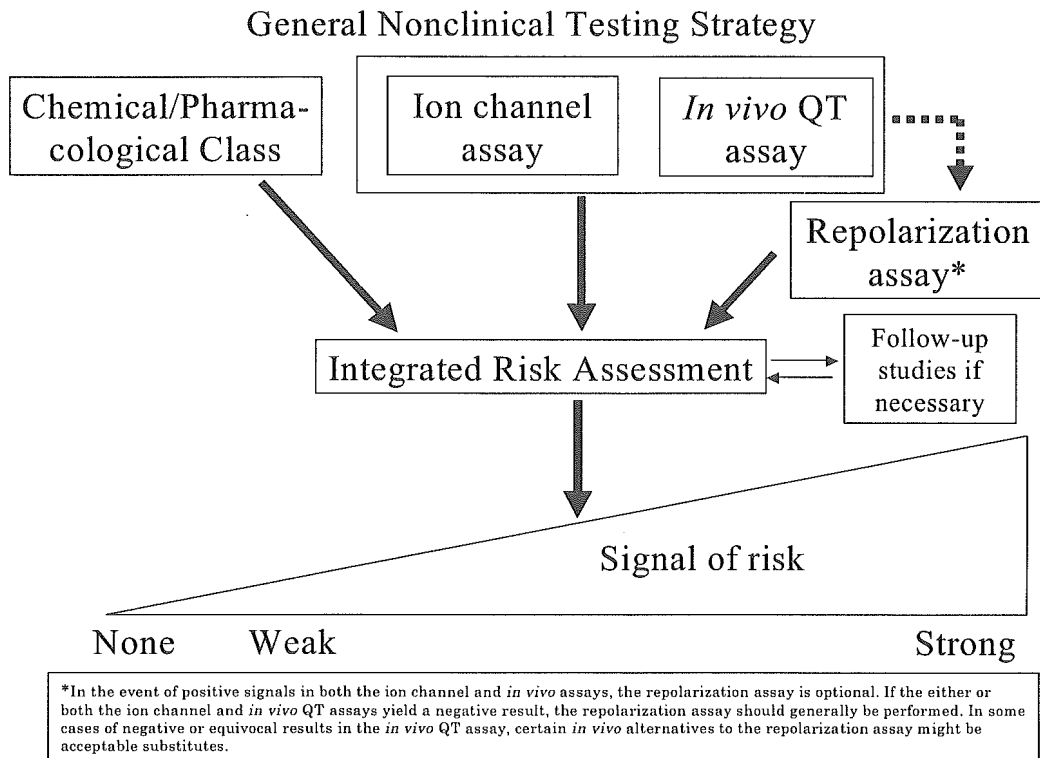


図2 非臨床QT評価のための試験戦略 (ステップ3)

次回ICH舞浜会議での臨床QT-EWGとの合同会議を念頭に年内に統合リスク評価 (Integrated risk assessment) の部分を完成することを目指し、John

KoenerおよびPeter Siegleがドラフト作成し、次回ICH会議までにEmail討議によりS7B-EWG内で合意に達する予定であった。

表4 Major comments: Testing strategy

- 
1. Inclusion of the pharmacological/chemical class (J & US)
  2. The concept of risk analysis (US)
  3. Strategy scheme: ((J & EU)
  4. Margin of Safety (J & EU & US)
  5. Positive signal and signal of potential risk, artifact (J & EU & US))
  6. Standard in vivo QT assessment, enhanced in vivo QT assessment
  7. To split S7B guideline into regulatory component and Annex “Methods” (EU)
- 

表5 Major comments: Test System

- 
1. Dose & plasma concentration and limiting concentration. (J & EU & US))
  2. The predictability of the repolarization assay (EU & US)
  3. Control substance: use
  4. IC20, APD
  5. Animals (conscious, gender, species)
  6. Timing, Implementation & GLP
  7. Metabolites
- 

(2) ICH臨床QT評価Concept paperとワシントンでの臨床QTワークショップおよび非臨床QT評価との関わりについて

平成13年11月にFDA/Health Canadaによる臨床QTリスク評価に関するConcept paper討議用案が届いた。ICHトピック化過程において必要なConcept paper案における非臨床QT評価に触れている内容から、非臨床QT評価の結果如何に拘わらず、臨床第一相試験では全ての被験物質に対してIntensiveなQT評価を行い、非臨床QT評価の結果は第二相試験後のQT評価のデザインに利用されるというものであり、非臨床安全性試験によるヒトに最初に適用される前に被験物質の安全性をある程度保障するという基本に疑問を投げかけられた内容であった。この時点で非臨床統合リスク評価のConceptに大きな課題を担うことになり、統合リスク評価Draft作成は1月にワシントン予定されていたFDAとDIA共

催の臨床QTワークショップにおける公開討議における臨床QT評価のConceptの把握およびConcept paperに対する臨床の立場からの意見を把握することが先決であると認識された。残念ながら非臨床EWGの参加はEU代表が出席できず3極6parties代表が集まらず、EWG会議は出来なかった。本WorkshopはFDAの臨床QT評価試験の考え方の説明とも受け取れた。臨床QTconcept paperのもう一つの論点は陽性対照群の設定であり、QT評価試験成績が陰性であることを示すには、その試験の精度を保証する必要があるという認識である。非臨床リスク評価の考えでは被験物質のQT延長リスクのシグナルはほとんどゼロから弱、中間そして強と幅があることを前提としていた、本臨床QT評価のConcept paperでは非臨床QT評価で全くQT延長の懸念が示されない被験物質についても第一相でIntensive（最大用量を含む用量あるいは血中濃度反応相関性、多時点測定など）心電図測定を要求するというものである。第一相試験における非臨床QT評価の役割、陽性対照群の設定、5msecのQT延長の測定精度および薬物相互作用試験などが今後の合同会議での重要な討議の一部となるものと予想される。

(3) ICH舞浜会議でのjoint meeting および統合リスク評価に関する討議結果

臨床QT評価のConcept paperおよび臨床QTワークショップでの説明を基に改めて統合リスク評価を討議し、文書化を行い、臨床QT評価EWGとの間でそれぞれの考え方とお互いへのコメント、疑問および要望を話し合った。

S7B-EWGによる非臨床QT評価は基本的にステップ2に基づいて修正した第5回ワシントンEWG案である戦略（図2）を継承し、非臨床統合リスク評価を臨床QT評価試験において有効に利用しうる戦略を模索した。今回の統合リスク評価における重要な問題は前回統合的リスク評価結果であるsignal of riskはevidenceに基づいた評価結果であるのでevidence of riskと変更した。そのevidenceはStrongからnoまでの段階があるが、“no”、“weak”と”strong”の判断基準には何があるか。もう一つはSafety marginを統合リスク評価のcomponentと考え、in vivoとin vitroの試験結果から算定されるものとしたことである。問題は上記のevidence

of riskの大きさの判断におけるsafety marginがどの程度ならばlarge safety marginと見なすのか、それぞれのSafety marginから統合リスク評価をするのか等の問題が残っている。この問題は現在進行中であるデータ収集プロジェクトの総合的解析の結果待ちであり、今回暫定的に記入された数値は同意に至っていない。

#### D. 考 察

平成14年度の活動は平成14年2月にステップ2となったS7Bガイドラインについて、まず和訳し、次いで公示し、コメントを収集し、研究班で討議し、対応策を考えた。研究班では薬理学的・化学的クラスによる評価には疑問があり、被験物質毎に異なり、考慮には入れられるがケースバイケースで対応するのが妥当とされた。また国内で集まった（整理）コメントが多くは3極で集まった（整理）コメントと共通していることが確認された。

3極で集まったコメントの大部分は3極に共通しており、まとめると試験の戦略と試験系に関するコメントに分けられた。特徴として、主要コメントの多くが各極に共通するものであり、さらにコメントのほとんどは企業サイドから寄せられたものであり、本ガイドラインの医薬品開発におよぼす製薬企業の関心の大きさを感じるものであった。

ステップ2での試験の進め方はイオンチャネル評価とin vivoQT評価、再分極評価および薬理学的・化学的クラスを評価項目とするものであり、薬理学的・化学的クラスによる評価を含む4つの評価を行い、いずれかが陽性であれば、artifact以外は潜在的リスクのシグナルがあるとされる。ワシントン会議では薬理学的・化学的クラスで陽性であると画一的に評価出来ないケースがあることから、薬理学的・化学的クラスを評価項目から除き、統合的リスク評価において考慮することとした。また評価系あるいは結果の強弱にかかわらず全ての陽性反応は潜在的リスクのシグナルがあるとされていたのを統合的にリスクを評価する。従って、陽性シグナルとかenhancedQT評価の用語を用いないとした。その結果としてQT評価の戦略フロー図に修正を加え評価に関して統合的リスク評価の考えを導入することにした。新しい試験戦略チャートでは、イオン

チャネル評価とin vivoQT評価は必須であるが、再分極評価は必要に応じ、統合的リスク評価に供する。リスクのシグナルは本来all or none でなく極めて弱いから強いまでの幅があるのが妥当であるとなった。

試験戦略の修正は1. 評価項目の見直し、2. 統合的リスク評価の考え方の導入、③.陽性シグナル、潜在的リスクシグナルの定義の見直しである。ワシントン会議では平成15年11月のICH大阪で少なくとも本文だけ（試験系に関してはAnnexにするか、あるいは問題が残る場合にはS7Cとしても）はステップ4にするという相互確認を行った。本文というのはステップ2ガイドラインの第一章および第二章に相当する部分であり、特に統合的リスク評価部分への修正草案を平成15年2月のICH東京までにS7BのEWG内で討議し、この部分の最終案化をICH東京会議で図る予定であった。試験系部分に関しては、各評価法によるデータの解釈、試験の感度、確実性、予測性など現在進行中のデータベースの収集の結果に依存するとして、いつでも分割できる形、場合によっては補遺の形にすることも合意された。問題はこれらの評価法でどの程度リスクが強いのか予測できるかどうか、臨床試験に反映できるかどうかを考えると目安が必要であるなどであり、現在進行中のデータ収集プロジェクトによる解析を必要とする所以である。平成14年10月の研究班会議ではワシントン会議での結果について討議し、統合的リスク評価による幅のある評価結果が科学的に妥当であることが確認された。

ICH舞浜会議では統合的リスク評価の項をガイドラインに挿入し、Regulatory partを中心としたガイドラインの文書は大部分完成したが、最も重要な臨床QT評価試験デザインへの影響を左右する統合的リスク評価の項の完成はデータベース解析如何であると認識している。

一方臨床QT評価に関して、平成14年11月にUS-FDA/Health CanadaからICHトピック化に必要なConcept paper案が示された結果、非臨床QT試験の試験タイミングおよび臨床QT評価試験のデザインにおける非臨床QT評価の役割に関して相互の理解および調整が必要であることが再認識された。平成15年1月のワシントンにおける臨床QT評価に関するワークショ

ップでは非臨床QT評価結果は第二相以後の試験デザインにしか役割がないとのFDAの認識が示され、平成15年2月のICH舞浜での臨床EWGとの合同会議で非臨床QT評価のQTリスクに対する安全性保証即ち予測感度と精度の結果如何によっては臨床QT評価の戦略も修正しうるとの含みが残されるとの考えも最終的に示され、修正される余地はあるものとS7B-EWGは考えている。合同会議での討議を基にしたS7B-EWGにおける非臨床QT評価の討議結果、統合的リスク評価においてSafety marginは判断の構成因子であることを認識した。一方評価結果であるEvidence of riskの判定におよぼすsafety marginの大小の判断、評価系のリスク予測能力、感度と精度は現在進行中のILSI/HESI, FDAおよびJMPAによる収集プロジェクトのデータベースの総合解析に依存している。Safety marginの大小の定義には科学的根拠が必要と考えている。各製薬会社に蓄積されたデータを基にした解析結果を基にしたコメントが載ればEWGは有効に利用するつもりである。

現在本ガイドラインはステップ3であり、今後、平成15年7月のブラッセル会議でILSI/HESI, FDA/Georgetown大プロジェクトで収集したデータの解析を基にした試験系に関する討議を行い、最終案化への見当をつける。その後JPMAプロジェクトにより得られたデータを加えた総合的データ解析をICH大阪会議までに行う必要があると考えている。非臨床QT評価試験系のQT間隔延長リスクにおける予測感度、精度あるいはSafety marginの大きさや有用性などの解析に基づき、臨床QT評価試験の戦略に利用しうる、より具体的な統合的リスク評価を完成し、平成15年11月のICH大阪会議でステップ4に到達する予定である。試験系部分が最終案化できない場合でも本文部分だけでもステップ4とし、試験系に関する部分は補遺にするか、次のガイドライン化の問題とする予定である。

## E. 結論

本年度はステップ2に到達したことを受けて、コメント対応によりコメントを収集し、行政サイドのラポーターが3極のコメントをまとめ、これを基にEWG会議で協議した。その結果評価試験戦略に修正を加え、また統合リスク評価の考えを導入し、ガイドライン本

文に項として導入し、本文部分は完成に近づいた。統合リスク評価の部分に関してはデータによる評価系のリスク予測と精度を確認する必要が次回EWGの課題として残っている。本ガイドラインのステップ4到達はICH大阪会議で達成することを予定している。

## G. 研究発表:

### 1. 論文発表

- 1) Nakazawa, K., Ojima, H. and Ohno, Y. A highly conserved tryptophane residue indispensable for cloned rat neuronal P2X receptor activation. *Neurosci. Lett.* 324, 141-144 (2002)
- 2) Sato, K., Matsuki, N., Ohno, Y. and Nakazawa, K. Effects of 17beta-estradiol and xenoestrogens on the neuronal survival in the organotypic hippocampal culture. *Neuroendocrinology* 76, 223-234 (2002)
- 3) Nakazawa, K., Sawa, H., Ojima, H., Ishii-Nozawa, R., Takeuchi, K. and Ohno, Y. Size of side-chain at channel pore mouth affects Ca<sup>2+</sup> block of P2X<sub>2</sub> receptor. *Eur. J. Pharmacol.* 449, 207-211 (2002)
- 4) 藤森観之助:安全性に関わるトピックの動向—ヒト医薬品による心室性細分極地縁 (QT延長) のポテンシャルを評価するための安全性薬理試験ガイドライン (S7B)-、医薬品研究、33, 666-691, (2002)

### 2. 学会発表

1. 藤森観之助、橋本宗弘:安全性薬理試験ガイドライン(S7B)について。ICH即時報告会(平成14年10.8,20)
2. 藤森観之助、橋本宗弘:安全性薬理試験ガイドライン(S7B)について。ICH即時報告会(平成15年02.)

## H. 参考資料

1. Preliminary concept paper or discussion: The clinical evaluation of the QT/QTc interval prolongation and proarrhythmic potential of non-antiarrhythmic drugs. (Draft: H. Canada & FDA-PATPO, (<http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut/htmleng/guidmain.html>), November 15, 2002)
2. S7B Step 2 guideline: Guideline on Safety Pharmacology Studies for Assessing the Potential for Delayed

Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation)  
by Human Pharmaceuticals, (2002.2.8)

Pharmacology Studies for Assessing the Potential for  
Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval  
Prolongation) by Human Pharmaceuticals, (2003.2.6)

3. S7B Step 3 Draft guideline:Guideline on Safety

別紙 5

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakazawa, K., Ojima, H. and Ohno, Y.	A highly conserved tryptophane residue indispensable for cloned rat neuronal P2X receptor activation.	Neurosci. Lett.	324,	141-144	2002
Sato, K., Matsuki, N., Ohno, Y. and Nakazawa, K.	Effects of 17beta-estradiol and xenoestrogens on the neuronal survival in the organotypic hippocampal culture.	Neuroendocrinology	76,	223-234	2002
Nakazawa, K., Sawa, H., Ojima, H., Ishii-Nozawa, R., Takeuchi, K. and Ohno, Y.	Size of side-chain at channel pore mouth affects Ca <sup>2+</sup> block of P2X <sub>2</sub> receptor.	Eur. J. Pharmacol.	449	207-211	2002
藤森観之助	安全性に関わるトピックの動向ーヒト 医薬品による心室性細分極地縁(QT延 長)のポテンシャルを評価するための 安全性薬理試験ガイドライン(S7B)ー	医薬品研究	33	666-691	2002

# 厚生労働科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業） 分担研究報告書 －医薬品の残留溶媒ガイドラインの改正に関する研究－

分担研究者：長谷川隆一（国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部長）  
協力研究者：大野 泰雄（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部長）  
西川 秋佳（国立医薬品食品衛生研究所 病理部 室長）  
浦野 勉（国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 室長）  
佐神 文郎（エーザイ株式会社 薬事政策部長）  
大谷 淑郎（科研製薬株式会社 薬事部長）

## 研究要旨

2002年2月のICH会合において、Q3C-Mで残留溶媒ガイドライン値の改正方法に関する公文書案の部分改訂を行い、運営委員会でその改訂案が了承された。主な改訂点は改正等の提案方法、データの質に関する記載ならびに改正結果の伝達方法の変更である。TetrahydrofuranおよびN-methylpyrrolidoneの改正PDEについてはQ3C-Mで再確認されたものの、米国FDAによるパブリックコメントが遅れていたが、2002年8月12日に日本政府のレギュレーターとしてサインオフし、Step 4となった。なお、ethylene glycolに関しては、新提案の代謝に関する資料について、人での安全性を十分保証できないとの見解が同意されたところであるが、提案者からの内容を再検討した結果、ethylene glycolは溶媒としての使用ではなかったため、医薬品中の不純物としての扱いが適切であるとの結論となり、不純物ガイドラインに従って対応するよう勧告した。

キーワード： ICH、残留溶媒、Tetrahydrofuran、N-Methylpyrrolidone、Ethylene glycol

## A. 研究目的

医薬品中に残留する溶媒とは、医薬品の製造またはその精製の過程で使用された溶媒が医薬品中に残留したもので、患者にとっては有益なものではない。本来、すべての溶媒は除去されるべきであるが、必ずしも技術的に完全に除去出来るわけではない。そこで、各溶媒について、毒性資料に基づいて残留限度値（ガイドライン値）を設定することで、患者の健康への影響を回避する必要がある。残留限度値は一人当たりの1日摂取量としてPermitted Daily Exposure（PDE）（mg/日）及び1日10gの医薬品を服用すると仮定した医薬品中の濃度としてLimit（ppm）として表す。すでに、1997年に許容溶媒およびそれらのガイドライン値は合意さ

れているので、本研究では新規の毒性資料に基づく改正提案があった際にそのデータについて再評価し、また新規の溶媒についての提案を評価することにより、より一層患者の健康を守ることを目的としたものである。

## B. 研究方法

残留溶媒ガイドライン値の改正に関しては、その改正方法の公式文書案に対する各極からのコメント並びにQ3C-Mにおける意見を取り入れ、最終化し、ICH運営委員会の了承を取る。PDE改正提案のあるethylene glycolについては、Q3C-Mにおいて、主にその代謝、毒性発現、種差等に関して十分審議し、結論を出す。



なお、Q3C-M EWGのラポーターとしての任務は2002年末で2年間の任期を終了し、次期ラポーター (Klaus Olejniczak, EU) に引き継いだ。

(倫理面への配慮)

本研究は、残留溶媒の毒性資料の評価を行うもので、毒性試験の実施や試験法の検討は行わないため、倫理面での問題はない。

### C. 研究結果

#### 1. 改正公文書の完成

Q3C-Mの第1期目ラポーターであるRobert Osterberg (FDA) より受け継いだ改正公文書原案について、各国からのコメントを含め検討した結果、次の点について変更を行った。・新規または改正PDEの提案はICH各極コーディネータを介してICH事務局に直接提出すること、またPDEの根拠となるデータは十分な質の試験でなければならない (GLPの記載を削除)。・PDEの改正には値の大きな変更を十分支持出来る未確認の情報提示、または既存情報が信頼性に欠ける証拠の提示が必要である。・理想的には年間2物質くらいが適当で、特別な場合にはラポーターに提案されてからStep 2までに6ヶ月以内が適切である。・改正または新規PDEの提示は次の4つの方法で行う。1. 関連情報をICH webに載せる。2. 改正の情報を3極薬局方のフォーラムまたはwebに載せるよう依頼する。3. 新規溶媒情報をそれぞれのメンバーがそのwebに載せることを依頼する。4. WHOはこの情報を非ICH諸国に配布するよう依頼する。

本改正文書の変更については運営委員会に報告され、承認された。この承認により、Step 4となり、改正文書の効力が執行されることとなった。承認された改正文書を付録-1として添付する。

#### 2. TetrahydrofuranおよびN-Methylpyrrolidoneの改正

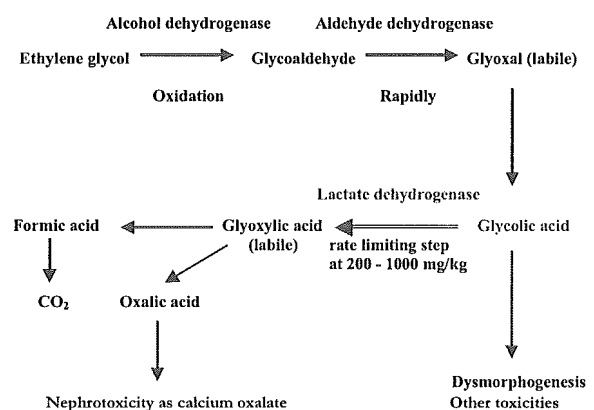
本2物質についてのPDE改定案はすでにICH運営委員会です承されているところであるが、再度Q3C-Mで討議され、再確認された。遅れていたFDAによる公開コメントも終了し、いずれの極からもコメントがなかったため、無修正でstep 3のサインオフがなされ、step 4となった。なお、合意評価文書は前回と同様であるた

め、本年度の報告書には資料を添付しない。

#### 3. Ethylene glycolの改正提案について

本物質のPDEはその催奇形性に基づいて、マウスの催奇形性試験における無毒性量150mg/kg/dayから6.2 mg/dayと定められている。しかし、この物質については付録-2の代謝の特徴にまとめたような特性がある。この物質は投与量上げると一部の代謝酵素活性が飽和し、その結果、代謝中間体で奇形誘発作用を有すると考えられるglycolic acidの血中濃度および尿排泄量が増加する (付録-2 スキーム1)。一方、ある一定の投与量以下ではこの代謝中間体の血中濃度は奇形誘発濃度に達しないであろうと推定された。しかし、Fig.1 およびFig.2に示したように、その催奇形性誘発ならびに代謝の用量依存性に関して、明確な種特異性の違い (ラットとマウス) がある。これは人ではマウスよりもさらに感受性が高い可能性を示している。従って、提案されたような人においても服用量200 mg/kg/day以下ではglycolic acidの濃度増加は生じないとの考え方は受け入れられないと考えられた。

Scheme 1. Metabolic pathway of ethylene glycol



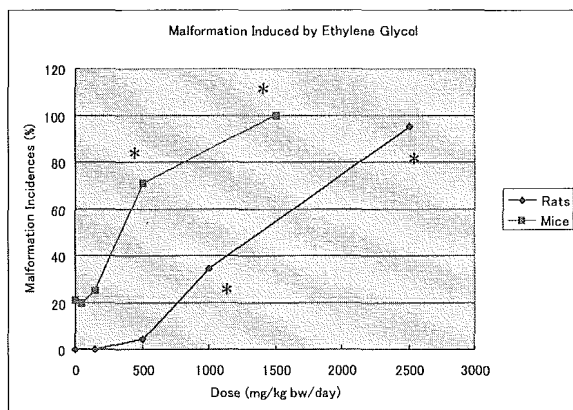


Fig.1 Selected skeletal malformation incidences of ethylene glycol administered by gavage to CD-1 mice and CD rats

Data of rib missing for rat and bilateral extra rib 14 for mouse as the most sensitive representatives of skeletal malformation are from Table 4 and 7, respectively (Neeper-Bradley TL et al. Fund Appl Toxicol, 1995, 27 121-130).

\* Significantly different from control group ( $p < 0.01$ ).

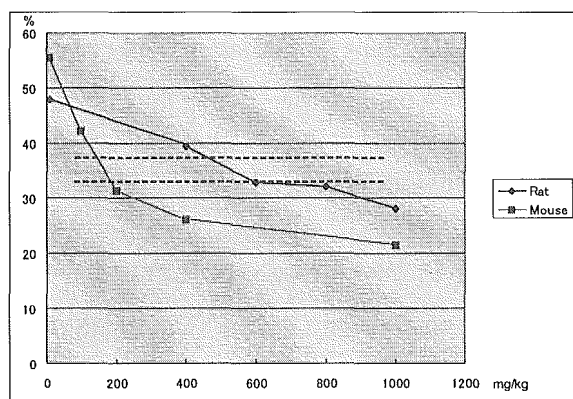


Fig.2 Respiratory exhalation ratio of radioactivity as CO<sub>2</sub> versus orally administered <sup>14</sup>C-ethylene glycol in female Sprague-Dawley rats and CD-1 mice

Data for rat and mouse are from Table 3 and 6, respectively (Frantz SW et al. Xenobiotica 1996, 26 1195-1220). Upper and lower red dotted lines indicates the range of presumable NOAEL for malformation based on the NOAEL (150 mg/kg/day) in mice and roughly speculated no malformation dose from rats studies (500 -600 mg/kg/day).

一方、Q3C-Mの話し合いの中で、本提案を行った根拠が、すでに臨床的に使用されているhydroxyethyl-starch中にその製造過程で生成されるethylene glycolについての問題であることが判明した。すなわち、このethylene glycolは残留溶媒ではなく、医薬品中の不純物ということになる。そこで、対象となるガイドライン

はQ3Aが適切であることを勧告することとなった（付録-3）。

#### 4. 他の溶媒について

Q3C-Mの会合ではFDAから近いうちにtertiary butanolについて、新規溶媒として提案する予定のあることが提示され、簡単な毒性情報の提示があったが、その後、正式の提案はなされていない。

#### D. 考察

改正公文書の変更事項について、多くの部分が改訂された。しかし、提出された毒性試験等のデータを解析評価する上では、GLPの要求が削除された以外に特に変更は行われていない。PDEの改正が行われたtetrahydrofuranおよびN-methylpyrrolidoneに関しては、内容に関する問題（パブリックコメントで意見なし）は全くなかったものの、一部タイプミスや計算方法の記載に不統一な部分があり、不統一な部分については記載上の問題であるため、ライターとして修正した。本PDEの改正に当たり、FDAによるサインオフが実質的に1年以上遅れ、当初は改正公文書の合意がないことを理由にしていたが、合意後も半年以上を要し、今後の対応が懸念される。

#### E. 結論

残留溶媒ガイドライン値の改正方法に関する公文書、tetrahydrofuranおよびN-methylpyrrolidoneの改正PDE文書がサインオフされた。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

Connelly J, Hasegawa R, Osterberg RE, Tucker ML (2003) ICH Guideline Residual Solvents: Update. Pharmeuropa, in press

#### H. 参考資料

Connelly JC, Hasegawa R, McArdle JV, Tucker ML (1997) ICH Guideline Residual Solvents. Pharmeuropa 9, suppl. 1 S1-S68.

February 7th, 2002

Q3C Maintenance Document for “Impurities: Residual Solvents

Type of Maintenance: Updating Based on New Information

1. Proposal of a “permitted daily exposure” (PDE) for a new solvent or a revised PDE for an already classified solvent is submitted directly to the ICH Secretariat with supporting information through an ICH regional coordinator. This information should be based on significant toxicity data from studies such as genotoxicity studies, repeat-dose studies, reproductive toxicity studies, carcinogenicity studies and/or other relevant toxicology studies. Single-dose toxicity data alone are not sufficient. The toxicity data should be of sufficient quality to calculate a PDE.
2. Revision of an established PDE will be considered only on presentation of previously unrecognized toxicity data sufficient to result in a significant change, or because of convincing evidence that the existing data used to calculate a PDE are invalid. Minor changes in a PDE will not be considered. The rapporteur, with the consensus of the EWG members, will assign data reviews and request subsequent recommendations to the EWG.
3. The ICH Secretariat will distribute the proposal to the rapporteur of the ICH Ad Hoc Expert Working Group on Residual Solvents (Q3C EWG). The rapporteur will be one of the regulatory members of the ICH who will be available for two-year terms (e.g., FDA 1999-2000, MHLW 2001-2002, EU 2003-2004). The ICH Secretariat will also notify the ICH Steering Committee, Coordinators, and Observers that the Q3 EWG has been called to consider the proposal. The Q3C EWG will be comprised of two members (one chemist and one toxicologist) nominated by the six sponsors of the ICH and one member nominated by IGPA, WSMI and by each pharmacopeia. As appropriate, ICH observers may be invited to join the working group.
4. The regulatory rapporteur will ordinarily rely on correspondence or teleconferencing to avoid unnecessary travel. Based on the discussion, with requests for further information to the proposing group and/or individual as appropriate, the rapporteur will prepare an assessment report based on committee approval with a recommendation to accept, with or without modifications, or reject the proposed PDE. Ideally, this activity would occur at the rate of 2 residual solvents per calendar year. For particular residual solvent, it is anticipated that a period of six months from receipt of the toxicological information by the rapporteur to the recommendation of a Step 2 guideline to the Steering Committee will be necessary.
5. After endorsement by the ICH Steering Committee, either at the next formal meeting or earlier as feasible, the recommendation of the Q3C EWG will be published in each region for public comment (Step 2 ICH process). In addition, the proposal will be provided to each pharmacopeia for their publication.
6. After close of the public comment periods, the rapporteur may convene a meeting of the Q3C EWG or will rely on correspondence or teleconferencing to consider the comments and finalize the proposal for the new/revised PDE. The final recommendation for the new/revised PDE and implementation is then forwarded to the ICH Steering Committee for approval. Implementation will follow regional practices. With approval of the ICH Steering Committee, the change will be provided to the pharmacopeias of the three regions for publication.
7. When an existing PDE is revised or a PDE for a new residual solvent is recommended by the EWG, approval by the ICH Steering Committee is required. Once approval occurs, the information should be disseminated as quickly as possible to all ICH participants and other members of the chemical and pharmaceutical communities. It is recommended that the following actions should be taken by the ICH Steering Committee to ensure rapid transmission of the new information:
  - a) publish relevant information on the ICH web site.
  - b) request publication of revisions by the pharmacopeias of the three regions in their Forums or web sites.
  - c) request that each member publish the new solvent PDE information on its respective web sites.
  - d) request WHO to distribute this information to its non-ICH member states.

Q3C EWG Members:

Klaus Olejniczak, EU  
Fritz Erni, EFPIA  
John Connelly, EFPIA  
Yoshiro Ohtani, JPMA  
Hayashi Matsukura, JPMA

Fumio Sagami, JPMA  
Robert Osterberg, FDA  
Jean Wyvratt, PhRMA  
Jerry D. Frantz, PhRMA  
P. Vanbel, WHO  
John Miller, PhEur  
Eric Sheinin, USP  
Costin Camarasu, IGPA  
Shigeo Kojima, MHLW, Co-Rapporteur  
Ryuichi Hasegawa, NIHS, Co-Rapporteur