

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

ワクチンや抗がん剤など特殊な成分の医薬品における  
非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

(H16-医薬-003)

平成17年度 総括研究報告書

主任研究者

井 上 達

平成18（2006）年3月

# 厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

## 目 次

### 1. 総括研究報告書

ワクチンや抗がん剤など特殊な成分の医薬品における  
非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

主任研究者 井上 達..... 1

参考発表業績等..... 6

### 2. 参 考 資 料

#### I. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

関係資料..... 13

#### II. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

関係資料..... 121

# 1. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
総括研究報告書

ワクチンや抗がん剤など特殊な成分の医薬品における非臨床安全性試験の  
実施手法等に関する研究 (H16-医薬-003)

主任研究者 井上 達  
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・センター長

研究要旨

ワクチンや抗がん剤などここで扱う特殊な成分の医薬品は、現在のガイドラインによる評価スキームにのせることの困難な医薬品に属し前者にあつては安全性を保障する絶対的な科学的方策が存在しないことまた後者にあつては臨床上の緊要性のなかで狭い選択条件で限局的に用いられることが少なくないこと等、用法上の新たな安全性の確保のための方策が求められている。そこでワクチンと抗がん剤とに分けて医薬品評価の専門家による検討を行うとともに、欧米におけるガイドラインを参照しつつ、本邦での適応を念頭においた諸点について整理しようとするものである。その要旨は以下のとおりである。

**1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究** 医薬品の承認申請のための非臨床安全性試験は、ICH ガイドラインに準拠した試験が行われているが、ワクチンについては、これらのガイドラインに基づく手法により、十分な安全性評価が得られるとは言い難い。また、ワクチンは健常人や乳幼児を対象とするため、その安全性を厳格に評価する必要があることから、十分な非臨床安全性の評価が可能となるガイドラインが望まれるところであるが、諸外国では当該ガイドラインが作成されているものの、我が国では確立されていないのが現状である。このような現状に鑑み、本研究では、WHO、CPMP 及び FDA (CBER) におけるガイドライン等に関する情報を収集、比較し、それらに基づき、我が国におけるガイドライン作成のための骨子案を策定するものである。本年度をもって第 2 年度を終了したが引続き検討作業をすすめ骨子案の作成と討議をすすめた。

**2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究** 抗がん剤を必要とする対象疾病であるがんは、その終焉が致死的であり、さらに日本の死亡率の上位を占める。それゆえ有効で安全な抗がん剤の開発が世界的に切望されている。細胞毒性型の抗がん剤はガイドラインに準拠した非臨床試験を実施困難

な場合や結果がヒトへ外挿出来ない場合に遭遇する。本邦で初めて抗がん剤を投与する場合のヒトに対する安全性について必要な非臨床試験に関するガイドラインはない。世界的に抗がん剤のガイドラインは存在せず、米国では FDA に所属する DeGeorge が専門誌に投稿した論文が参考にされている。ヨーロッパでは EU 医薬品委員会がガイダンスとしていずれも 1998 年に発行している。本邦でも抗がん剤の非臨床試験ガイドライン作成への要望は強い。そこで本研究では基礎資料および既承認抗がん剤での非臨床試験を収集しガイドライン作成などの基礎資料としている。本年度をもって第 2 年度を終了したが引続き検討作業をすすめ骨子案の作成と討議をすすめた。

分担研究者氏名・所属施設名及び所属における職名

分担研究者（ワクチン研究班）

三瀬 勝利	(独) 医薬品医療機器総合機構	顧問
佐藤 洋一	(独) 医薬品医療機器総合機構	主任専門員
皆葉 清美	(独) 医薬品医療機器総合機構	主任専門員

協力研究者

佐神 文郎	エーザイ株式会社	部長
松井 元	化学及血清療法研究所	主任研究員
山崎 秀樹	武田薬品工業株式会社	主任研究員
藤巻 由起夫	萬有製薬株式会社	主任研究員

分担研究者（抗悪性腫瘍剤研究班）

中江 大	(財) 佐々木研究所病理部	部長
笛木 修	(独) 医薬品医療機器総合機構	審査専門員
小野寺 博志	(独) 医薬品医療機器総合機構	主任専門員

協力研究者

浦野 勉	(独) 医薬品医療機器総合機構	審査役
込山 則之	(独) 医薬品医療機器総合機構	審査専門員
佐神 文郎	エーザイ株式会社	部長
甲斐 修一	ブリストル・マイヤーズ株式会社	室長
西村 千尋	日本化薬株式会社	グループ長

A. 研究目的

当研究班は、「ワクチンの非臨床安全性

試験の実施手法等に関する研究」と「抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究」とに分かれて、分班体

制をとって研究を進めておりその目的の概要はそれぞれ以下のとおりである。

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

我が国におけるワクチンの非臨床安全性の評価手法のガイドラインを確立するため、諸外国の情報収集を行い、昨年度にひきつづきその骨子案を作成することとした。

ワクチンは疾病予防を目的とて健康な国民に投与され、時として乳幼児を対象とする場合もある特殊な医薬品であり、その安全性はどの医薬品よりも高いことが求められている。また、国や地域により種類や使用状況が異なる。欧米をはじめとする諸外国では、非臨床試験において安全性を評価する方法が確立され、ガイドラインも作成されているが、わが国では、非臨床試験における安全性の評価方法が確立されていない。このような現状に鑑み、わが国でのワクチンの非臨床安全性試験の実施の現状と問題点について情報を収集し、諸外国との比較を行い試験法ガイドライン作成のための基礎的資料とし、国民に安心できるワクチンを供給することを目的としている。

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

我が国における抗がん剤の非臨床安全性の評価手法のガイドラインを確立するため、諸外国の情報収集を行い、今年度はその骨子案を作成することとした。

現在、新薬の臨床試験実施や承認申請に必要な非臨床試験については、「臨床

試験のための非臨床試験の実施時期についてのガイドライン」に従い実施されている。しかしながら、抗悪性腫瘍剤についてはがん治療の特殊性を考慮し、臨床試験の実施時期または非臨床試験実施の必要性について通常の医薬品と異なる非臨床試験パッケージで行われているのが実情である。現在、基準となるべき指針やガイドラインはなく、臨床開発導入の遅延や安全性評価の妨げとなっている。抗悪性腫瘍剤について評価に有用な非臨床試験法を提言し、有効な抗がん剤の開発を促進させることを目的としている。昨年までの基準に沿ってひきつづいて作業をすすめた。

## B. 方法

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

昨年度報告資料に掲げたような諸外国のガイドラインを収集、翻訳後、比較表を作成し、それらに基づき骨子案の作成をすすめた。

特に欧米を始めとする諸外国における非臨床試験評価方法の諸状況について、情報収集した。

またこれらのケースにおける国内外の留意すべき事例について、学識経験者の意見収集のため分担研究者の海外派遣による意見収集を進めるなど、情報収集に努めた。

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

米国の実質的な指針とされている

DeGeorge の論文と EMEA のガイダンスを収集し翻訳した。国内での既承認抗がん剤を作用別に分類し提出された非臨床試験をひきつづき検討し問題点を抽出した。

臨床試験実施機関、製造業界関連、専門家等からの広く意見を収集し、同時に各国の現状について情報を収集し問題点の抽出を図った。

## C. 結果

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

昨年度はワクチンの非臨床評価に関するWHOガイドライン（資料2、仮訳および原文）、ワクチンの前臨床薬理および毒性試験に関する指針に対する注釈ガイドライン（資料3、仮訳および原文）、感染症適応症の予防および治療用ワクチンに対する発生毒性試験に関する検討（資料4、仮訳および原文）、諸外国のガイドライン比較表（資料5）、ワクチンの非臨床試験に関するガイドライン骨子案（資料1）などを参照したので本年度はこのもの内容的な検討をすすめた。（なお昨年度資料については昨年度報告書を参照のこと）

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

昨年度収集した資料をもとにガイドラインの構成について検討を行いそれらをもとにガイドライン骨子のたたき台を作成し案として提案した。資料を本報告書の末尾に添付する（資料7）

## D. 考察

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

昨年度よりひきつづき収集しているワクチンに関する諸外国のガイドライン等は、既存のICHガイドラインよりもさらに詳細な検討がなされており、今回策定しつつある我が国におけるガイドラインに有用に資するものと考えられた。

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

抗がん剤は高い有効性および緊急性が求められている。しかし、その必要性を優先するゆえに安全性の確認を不十分のままヒトに投与することは科学的、倫理的に許容しがたい。抗がん剤においても通常の医薬品ガイドラインに沿った非臨床試験を行い安全性を確認することは必要であろう。こうした考え方に沿ってこれまでの研究をすすめてきた。しかし、細胞毒性を主な薬効とする抗がん剤、また抗体薬などは、投与量をはるかに少なくするか適切な動物を選択することによってかろうじて指標が得られる。その場合も非臨床試験で得られた結果がヒトへ外挿出来なければ目的を達しない。

今般以上の背景に鑑みて必要な試験の骨子を探索し抗がん剤の非臨床試験ガイドライン案の策定に入った。残る一年間の研究期間でこれをブレインストーミングの形で国内外に投げかけて案の改善に努力することが必要である。

## E. 結 論

該当なし

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関し、昨年までに収集した資料に基づいて当該ガイドライン策定に入った。次年度は最終年度にあたり本骨子案をもとにガイドラインの完成にむけて検討する。

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

収集した海外での抗がん剤指針に関する情報や、本邦での既承認抗がん剤で実施された試験結果を参照し、有用な情報を可能な限り得ることの出来るガイドラインなどの骨子を作成した。次年度は最終年度にあたり本骨子案をもとにガイドラインの完成にむけて検討する。

## F. 健康危惧情報

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

該当なし

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

## G. 研究発表

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

## H. 知的財産所有権の取得状況

### 1. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他（データベース等）  
該当なし

### 2. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他（データベース等）  
該当なし



## 参 考 发 表 业 绩 等

井上 達 (主任研究者)

Yoon BI, Kaneko T, Hirabayashi Y, Imazawa T, Nishikawa A, Kodama Y, Kanno J, Yodoi J, Han JH, Hirose M, Inoue T Electron microscopical evidence of the protective function of thioredoxin (Trx/ADF) transgene against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced cellular toxicity in the liver and brain. *J Toxicol Pathol.* 2005, 18:41-46.

Hirabayashi Y, Li GX, Yoon BI, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, Inoue T. Benzene-induced hematopoietic toxicity transmitted by AhR in the wild-type mouse was negated by repopulation of AhR deficient bone marrow cells. *Organohalogen Compounds* 2005, 67: 2280-2283.

Hirabayashi Y and Inoue T. Chapter 24. Toxicogenomics Applied to Hematotoxicology. In Borlak J (ed.), *Handbook of Toxicogenomics*. Wiley-VCH, Verlag GmbH, Weinheim, 2005, pp. 583-608.

Inoue T. Potential applications of toxicogenomics in risk assessment. In *Evolving Genetics and Its Global Impact. (The Fifth Princess Chulabhorn International Science Congress)*, Amarin Printing and Publishing Public Company Limited, Bangkok, Thailand, 2004, pp.255-257.

Hirabayashi Y, Yoon B-I, Li G-X, Kanno J, and Inoue T. Mechanism of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: Current review with implication of microarray analyses. *Toxicologic Pathology* 2004, 32 (suppl. 2): 12-16.

Tsuboi I, Morimoto K, Hirabayashi Y, Li G-X, Aizawa S, Mori KJ, Kanno J, and Inoue T. Senescent B lymphopoiesis is balanced in suppressive homeostasis: decrease in interleukin-7 and transforming growth factor-beta levels in stromal cells of senescence-accelerated mice. *Exp. Biol. Med.* 2004, 229:494-502.

Yoon B-I, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Tsuboi I, Ott T, Kodama Y, Kanno J, Kim D-Y, Willecke K, and Inoue T. Exacerbation of benzene pneumotoxicity in connexin 32 knockout mice: enhanced proliferation of CYP2E1-immunoreactive alveolar epithelial cells. *Toxicol.* 2004, 195: 19-29.

Yoon B-I, Li G-X, Kitada K, Kawasaki Y, Igarashi K, Kodama Y, Inoue T, Kobayashi K, Kanno J, Kim D-Y, Inoue T, Hirabayashi Y. Mechanisms of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity cDNA microarray analyses using mouse bone marrow tissue. *Env. Health Perspect. (Toxicogenomics)* 2003, 111: 1411-1420.

Hirabayashi Y, Yoshida K, Aizawa S,

- Kodama Y, Kanno J, Kurokawa Y, Yoshimura I, Inoue T. Evaluation of nonthreshold leukemogenic response to methyl nitrosourea in p53-deficient C3H/He mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003, 190: 251-261.
- Hirabayashi Y, Yoon BI, Kawasaki Y, Li GX, Kanno J, and Inoue T. On the mechanistic differences of benzene-induced leukemogenesis between wild type and p53 knockout mice. In: K. Tanaka, T. Takabatake, K. Fujikawa, T. Matsumoto, and F. Sato (eds.), *Molecular Mechanisms for Radiation-induced Cellular Response and Cancer Development 2003*, pp. 110-116. Aomori: Institute for Environmental Sciences.
- Inoue T. Hormonally active agents and plausible relationships to adverse effects on human health. *Pure Appl. Chem.* 2003, 75: 2555-2561.
- Inoue T, Igarashi K, Sekizawa J. Health hazards of endocrine-disrupting chemicals on humans as examined from the standpoint of their mechanism of action. *Japan Med Assoc J.* 2003, 46: 97-102.
- Hirabayashi Y, Li G-X, Yoon B-I, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, and Inoue T. AhR Suppresses hemopoiesis during steady state but accelerates cell cycle as an early response: a study of AhR-knockout mice. *Organohalogen Compounds*, 2003, 64: 270-273.
- 井上 達第4章健康医学「環境ストレス応答と生体ホメオスターシス」: 淀井淳司/松尾禎之編 別冊医学のあゆみ「レドックスストレス防御の医学」医薬出版(株)、東京(2005)、194-199.
- 井上 達環境生体応答—*Toxicogenomics*「はじめに」医学のあゆみ(2005) 213(4): 221.
- 井上 達/井口泰泉編:「生体防御システムと内分泌攪乱」シュプリンガーフェアラーク東京、東京、2005、pp321.
- 井上 達: 医薬品の毒性評価、その未来—実験動物と動物試験の展望—*—Biophilia*, 1(1), 51-57, 2005
- 三瀬勝利 (分担研究者)
- 山内一也、三瀬勝利. 『忍び寄るバイオテロ』日本放送出版協会、2003.
- 三瀬勝利. 「わが国における食中毒発生の最近の動向」*臨床検査*、2003, 47: 457-458.
- 三瀬勝利. 「今日の炭疽菌問題から学ぶこと」*ファルマシア*、2002, 38: 327-331.
- 三瀬勝利. 「遺伝子組換え食品と病原細菌のリスク」*日本リスク研究会誌*、2002, 14: 12-20.
- 三瀬勝利. 「炭疽菌テロは序章かもしれない」*文藝春秋*、2001年12月号、110-115.
- 三瀬勝利. 『遺伝子組換え食品の「リスク」』日本放送出版協会、2001.
- 篠田純男、江崎孝行、佐々木次雄、西淵光昭、弁野義巳、本田武司、三上襄、三瀬勝利、久恒和仁. 『病原細菌に関するバイオセーフティ指針』日本細菌学会、2001.

三瀬勝利. 微生物限度試験法、『日本薬局方技術情報 2001』じほう、pp196-200、2001.

林哲也、三瀬勝利、寺脇良郎. 細菌の遺伝と分子生物学、『医科細菌学』南江堂、pp55-93、2001.

中江 大 (分担研究者)

Nakae D. Recent topics for basic researches on the liver cancer. In: New Perspectives in Cancer Research and Therapy (Eds, Kuriyama S, Yoshiji H), Research Signpost, TC, Trivandrum 2005, pp 131-154.

Nakae D. Cellular alterations induced by reactive oxygen and/or nitrogen oxide species-induced stress (RONOSS), possible “preneoplastic” lesions. In: Comprehensive Pathology of Preneoplasia (Eds, Tsuda H, Moore MA), Asian Pacific Education Health Press, South Shield-Bangkok: 2005, in press.

中江 大. 佐々木研究所における化学物質のリスク評価・管理に資する毒性病理学的研究. (1) コリン欠乏アミノ酸食投与ラット肝発がんモデルによる知見. 化学生物総合管理 1, 331-352, 2005.

Uematsu F, Takahashi M, Yoshida M, Igarashi M, Watanabe N, Suzuki N, Abe M, Rusyn I, Floyd RA, Nakae D. Distinct patterns of gene expression in hepatocellular carcinomas and adjacent non-cancerous, cirrhotic liver tissues in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Cancer Sci.* 2005, 96, 414-424.

Powell CL, Kosyik O, Bradford BU,

Denda A, Uematsu F, Nakae D, Rusyn I. Temporal correlation of pathology and DNA damage with gene expression in a choline deficient model of rat liver injury. *Hepatology* 2005, 42, 1137-1147.

Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Nakae D, Tsuda H, Imaida K, Shirai T, Tatematsu M, Tsukamoto T, Hirose M, Furukawa F. Lack of potential of low dose *N*-nitrosodimethylamine to induce preneoplastic lesions, glutathione *S*-transferase placental form-positive foci, in rat liver. *Cancer Lett.* 2005, 222, 11-15.

Sakurai T, Takei M, Ogasawara J, Watanabe N, Sanpei M, Yoshida M, Nakae D, Sakurai T, Nakano N, Kizaki T, Ohno H, Izawa T. Exercise training enhances tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced expressions of anti-apoptotic genes without alterations in caspase-3 activity in rat epididymal adipocytes. *Jpn J Physiol* 2005, June: 55(3):181-9

Shimomoto T, Yoshida M, Katsuda S, Takahashi M, Uematsu F, Kuniyasu H, Maekawa A, Nakae D.  $\alpha$ -Smooth muscle actin-positive stromal cells reactive to estrogens surround endometrial glands in rats but not in mice. *J Toxicol Pathol* 2005, 18, 47-52.

Nakae D, Uematsu F, Kishida H, Kusuoka O, Katsuda S, Yoshida M, Takahashi M, Maekawa A, Denda A, Konishi Y, Kotake Y, Floyd RA. Inhibition of the development of

- hepatocellular carcinomas by phenyl *N-tert*-butyl nitron in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Cancer Lett.* 2003, in press.
- Yoshida M, Katsuda S, Nakae D, Maekawa A. Lack of toxicity or carcinogenicity of S-170, a sucrose fatty acid ester, in F344 rats. *Food Chem. Toxicol.* 2003, in press.
- Yoshida M, Shimomoto T, Katashima S, Shirai T, Nakae D, Watanabe G, Taya K, Maekawa A. Effects of maternal exposure to nonylphenol on growth and development of the female reproductive system and uterine carcinogenesis in rats. *J. Toxicol. Pathol.* 2003, in press.
- Shimomoto T, Yoshida M, Takahashi S, Uematsu F, Maekawa A, Nakae D. A case report of a choroid plexus carcinoma spontaneously occurring in the right lateral ventricle. *Toxicol. Pathol.* 2003, in press.
- Nakae D, Kishida H, Enami T, Konishi Y, Hensley KL, Floyd RA, Kotake Y. Effects of phenyl *N-tert*-butyl nitron and its derivatives on the early phase of hepatocarcinogenesis in rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Cancer Sci.* 2003, 94: 26-31.
- Nakae D, Takahashi M, Yoshida M, Uematsu F, Maekawa A. Carcinogenic risks in the high-risk groups. *J. Toxicol. Sci.* 2003, 28: 242.
- Yoshida M, Katashima S, Maekawa A, Nakae D. Effect of neonatal exposure of high dose *p-tert*-octylphenol on the ovary in rats. *J. Toxicol. Sci.* 2003, 28: 321.
- Narama I, Imaida K, Iwata H, Nakae D, Nishikawa A, Harada T. A review of nomenclature and diagnostic criteria for proliferative lesions in the liver of rats by a working group of the Japanese Society of Toxicologic Pathology. *J. Toxicol. Pathol.* 2003, 16: 1-17.
- Tsuda H, Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Nakae D, Imaida K, Tatematsu M, Hirose M, Wakabayashi K, Moore MA. Value of GST-P positive preneoplastic hepatic foci in dose-response studies of hepatocarcinogenesis: evidence for practical thresholds with both genotoxic and nongenotoxic carcinogens. A review of recent work. *Toxicol. Pathol.* 2003, 31: 80-86.
- Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Wei M, Nakae D, Konishi Y, Tsuda H, Takasuka N, Imaida K, Shirai T, Tatematsu M, Tsukamoto T, Hirose M, Furukawa F. Lack of initiation activity in rat liver of low doses of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline. *Cancer Lett.* 2003, 191:35-40.
- Ogawa M, Wanibuchi H, Nishikawa T, Yano Y, Otani S, Totsuka Y, Wakabayashi K, Nakae D, Fukushima S. Post-initiation inhibition of MeIQx hepatocarcinogenesis in rats by cysteine. *Osaka City Med. J.* 2003, 49: 21-30.
- Nakae D, Umemura T, Kurokawa Y.

- Reactive oxygen and nitrogen oxide species-induced Stress, a Major Intrinsic Factor Involved in Carcinogenic Processes and a Possible Target for Cancer Prevention. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2002, 3:313-318.
- Yoshida M, Katsuda S, Tanimoto T, Asai S, Nakae D, Kurokawa Y, Taya K, Maekawa A. Induction of different types of uterine adenocarcinomas in Donryu rats due to neonatal exposure to high-dose *p-tert-octylphenol* for different periods. *Carcinogenesis*. 2002, 23: 1745-1750.
- Floyd RA, Kotake Y, Hensley K, Nakae D, Konishi Y. Reactive oxygen species in choline deficiency induced carcinogenesis and nitroreduction inhibition. *Mol. Cell. Biochem.* 2002, 234/235:195-203.
- Tsujiuchi T, Sasaki Y, Kubozoe T, Tsutsumi M, Konishi Y, Nakae D. Alterations of the *Fhit* gene in hepatocellular carcinomas induced by *N*-nitrosodiethylamine in rats. *Mol. Carcinog.* 2002, 34: 19-24.
- Puatanachokchai R, Kishida H, Denda A, Murata N, Konishi Y, Vinitketkumnuen U, Nakae D. Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus*, Stapf) extract on the early phase of hepatocarcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine in male Fischer 344 rats. *Cancer Lett.* 2002, 183: 9-15.
- Denda A, Kitayama W, Murata A, Kishida H, Sasaki Y, Kusuoka O, Tsujiuchi T, Tsutsumi M, Nakae D, Takagi H, Konishi Y. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein during rat hepatocarcinogenesis caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet and chemopreventive efficacy of a specific inhibitor, nimesulide. *Carcinogenesis* 2002, 23:245-256.
- Kawai Y, Kato Y, Nakae D, Kusuoka O, Konishi Y, Uchida K, Osawa T. Immunohistochemical detection of a substituted 1,*N*<sup>2</sup>-ethenodeoxyguanosine adduct by w-6 polyunsaturated fatty acid hydroperoxides in the liver of rats fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Carcinogenesis* 2002, 23: 485-489.
- Wei M, Wanibuchi H, Morimura K, Iwai S, Yoshida K, Endo G, Nakae D, Fukushima S. Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats and genetic alterations in induced urinary bladder tumors. *Carcinogenesis* 2002, 23:1387-1397.
- Denda A, Kitayama W, Kishida H, Murata N, Tsutsumi M, Tsujiuchi T, Nakae D, Konishi Y. Development of hepatocellular adenomas and carcinomas associated with fibrosis in C57BL/6J male mice given a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Jpn. J. Cancer Res.* 2002, 93:125-132.
- Fukushima S, Wanibuchi H, Morimura K, Wei M, Nakae D, Konishi Y, Tsuda H, Uehara N, Imaida K, Shirai T, Tatematsu M, Tsukamoto T, Hirose M, Furukawa F, Wakabayashi K, Totsuka

- Y. Lack of a dose-response relationship for carcinogenicity in the rat liver with low doses of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline or *N*-nitrosodiethylamine. *Jpn. J. Cancer Res.* 2002, 93: 1076-1082.
- Nishikawa T, Wanibuchi H, Ogawa M, Kinoshita A, Morimura K, Hiroi T, Funae Y, Kishida H, Nakae D, Fukushima S. Promoting effects of monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid and trimethylarsine oxide on induction of rat liver preneoplastic glutathione S-transferase placental form positive foci: a possible reactive oxygen species mechanism. *Int. J. Cancer* 2002, 100: 136-139.
- Hamada J, Nakata D, Nakae D, Kobayashi Y, Akai H, Konishi Y, Okada F, Shibata T, Hosokawa M, Moriuchi T. Increased oxidative DNA damage in mammary tumor cells by continuous epidermal growth factor stimulation. *J. Natl. Cancer Inst.* 2001, 93: 214-219.
- Tsujiuchi T, Sasaki Y, Murata N, Tsutsumi M, Konishi Y, Nakae D. FHIT alterations in lung adenocarcinomas induced by *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in rats. *Carcinogenesis* 2001, 22: 2017-2022.
- Tsujiuchi T, Sasaki Y, Murata N, Tsutsumi M, Nakae D, Konishi Y. Elevated expression of transforming growth factor betas and the tumor necrosis factor family in lung adenocarcinomas induced by *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2001, 53: 291-295.
- Hatanaka Y, Nakae D, Mutai M, Hashizume K, Kamihara Y, Kinoshita N, Tani Y, Danno Gi G, Ohta S, Konishi Y, Ashida H. Decreased expression of Bcl-x protein during hepatocarcinogenesis induced exogenously and endogenously in rats. *Jpn. J. Cancer Res.* 2001, 92: 1270-1277.
- Yoshii J, Yoshiji H, Kuriyama S, Ikenaka Y, Noguchi R, Okuda H, Tsujinoue H, Nakatani T, Kishida H, Nakae D, Gomez DE, De Lorenzo MS, Tejera AM, Fukui H. The copper-chelating agent, trientine, suppresses tumor development and angiogenesis in the murine hepatocellular carcinoma cells. *Int. J. Cancer* 2001, 94:768-773.
- Kuniyasu H, Oue N, Nakae D, Tsutsumi M, Denda A, Tsujiuchi T, Yokozaki H, Yasui W. Interleukin-15 expression is associated with malignant potential in colon cancer cells. *Pathobiology* 2001, 69: 86-95.
- Seike N, Wanibuchi H, Morimura K, Nishikawa T, Kishida H, Nakae D, Hirata K, Fukushima S. Lack of promoting effect due to oral administration of dimethylarsinic acid on rat lung carcinogenesis initiated with *N*-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine. *Cancer Lett.* 2002, 175: 113-119.
- Kishida H, Nakae D, Kobayashi Y,

- Kusuoka O, Kitayama W, Denda A, Fukui H, Konishi Y. Enhancement of hepatocarcinogenesis initiated with diethylnitrosamine or *N*-nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet administered prior to the carcinogen exposure in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2000, 52: 405-412.
- Vijayaraghavan M, Wanibuchi H, Karim R, Yamamoto S, Masuda C, Nakae D, Konishi Y, Fukushima S. Dimethylarsinic acid induces 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation in the kidney of NCI-Black-Reiter rats. *Cancer Lett.* 2001, 165: 11-17.
- Nakae D, Akai H, Kishida H, Kusuoka O, Tsutsumi M, Konishi Y. Age and organ dependent spontaneous generation of nuclear 8-hydroxydeoxyguanosine in male Fischer 344 rats. *Lab Invest.* 2000, 80: 249-261.
- Hensley K, Kotake Y, Sang H, Pye QN, Wallis GL, Kolker LM, Tabatabaie T, Stewart CA, Konishi Y, Nakae D, Floyd RA. Dietary choline restriction causes complex I dysfunction and increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in liver mitochondria. *Carcinogenesis* 2000, 21: 983-989.
- Nakae D. Endogenous liver carcinogenesis in the rat. *Pathol. Int.* 1999, 49:1028-1042.
- Yoshida M, Miyajima K, Shiraki K, Ando J, Kudoh K, Nakae D, Takahashi M, Maekawa A. Hepatotoxicity and consequently increased cell proliferation are associated with flumequine hepatocarcinogenesis in mice. *Cancer Lett.* 1999, 141: 99-107.
- Choi S, Okada F, Kobayashi M, Habelhah H, Nakae D, Konishi Y, Totsuka Y, Hosokawa M. Single treatment with cisplatin or UFT, but not their combination treatment enhances the metastatic capacity of mouse fibrosarcoma cells. *Anticancer Drugs* 1999, 10: 235-243.
- Okada F, Nakai K, Kobayashi T, Shibata T, Tagami S, Kawakami Y, Kitazawa T, Kominami R, Yoshimura S, Suzuki K, Taniguchi N, Inanami O, Kuwabara M, Kishida H, Nakae D, Konishi Y, Moriuchi T, Hosokawa M. Inflammatory cell-mediated tumour progression and minisatellite mutation correlate with the decrease of antioxidative enzymes in murine fibrosarcoma cells. *Br. J. Cancer* 1999, 79: 377-385.

## 2. 参 考 資 料

- I. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究  
関係資料
  
- II. 抗がん剤の非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究  
関係資料



I. ワクチンの非臨床安全性試験の実施手法等に関する研究 関係資料

- 資料-1 ワクチンの非臨床安全性試験に関するガイドライン案 製薬協  
TF5
- 資料-2 Guidelines on clinical evaluation of vaccines:  
Regulatory expectations
- 資料-3 ヨーロッパ医薬品庁のヒト使用用ワクチンにおけるアジュバント  
に関するガイドライン  
Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)  
Guideline on Adjuvants in Vaccines for Human Use
- 資料-4 Regulatory Issues for Cancer Vaccines  
Thea Sesardic  
National Institute for biological Standards and Control  
(NIBSC)UK
- 資料-5 出張報告書

ワクチンの非臨床安全性試験に関するガイドライン案  
製薬協 TF5

目次

1. 緒言 .....	2
1.1 背景.....	2
1.2 目的.....	2
1.3 適用範囲.....	2
2. 非臨床安全性試験 .....	3
2.1 一般的な考え方 .....	3
2.1.1 試験デザイン.....	3
2.1.2 動物種/モデルの選択 .....	3
2.1.3 使用するロット.... エラー! ブックマークが定義されていません。	
2.1.4 投与経路 .....	4
2.2 基本的な非臨床安全性評価：個別留意事項 .....	4
2.2.1 単回投与毒性試験 .....	4
2.2.2 反復投与毒性試験 .....	4
2.2.3 生殖発生毒性試験 .....	5
2.2.4 遺伝毒性試験.....	5
2.2.5 がん原性試験.....	5
2.2.6 局所刺激性試験.....	5
2.2.7 安全性薬理試験.....	5
2.2.8 トキシコキネティクス .....	5
2.3 特別な留意事項 .....	5
2.3.1 アジュバント.....	5
2.3.2 添加剤（アジュバントを除く） .....	5

## 1. 緒言

### 1.1 背景

バイオテクノロジーと免疫学の進歩により、新規ワクチンの開発が広範囲に行われるとともに既承認ワクチンに対する改良も検討されている。しかしながら、ワクチンはその多様性及び種特異性のため、安全性に対する一定の評価基準が存在するわけではない。そのため、新規ワクチンの毒性作用を明らかにするためには、現時点で利用可能な最良の科学に基づき、非臨床評価の種類と内容を決定する必要がある。

### 1.2 目的

ワクチンの非臨床試験には、製品の *in vitro* 及び *in vivo* における性状、薬効の証明及び安全性評価を含んでおり、開発中のワクチンが非臨床から臨床へ移行するために必須である。本ガイドラインは、ワクチンの非臨床安全性試験の実施における計画立案のための一般的な原則を提供し、その原則に従うことにより、ワクチンの開発に必要な非臨床安全性試験成績の質及び整合性の向上を図ることを目指すものである。

非臨床安全性評価の主な目的は、

- 1) ヒトに適用される投与量の安全性を評価すること
  - 2) 毒性の標的となる恐れのある臓器を特定すること
  - 3) 発現した毒性が可逆的なものであるかを検討すること
  - 4) 臨床でのモニタリングを実施する際の安全性の評価項目を見出すこと
- である。

また、動物での非臨床安全性試験により開発中のワクチンの有する潜在的な危険性を特定することは、その後のヒトでの臨床試験のプロトコル検討に有用である。

### 1.3 適用範囲

ワクチンは、感染物質または毒素あるいはそれらにより生成された抗原に対し、特異的で能動的な免疫を誘導できる抗原物質を含有する医薬品である。それらには、化学的あるいは物理的手段により不活化され、適切な免疫原性を保持した微生物、免疫原性を保持したまま無毒化あるいは弱毒化された生微生物、有機体から抽出/分泌された抗原、あるいは組換え DNA 技術により産生された抗原が含まれる。また、それら抗原は、その免疫原性を増強するために、凝集化、重合化、または担体と結合させることがある。これらほとんどのワクチンは、感染前及び感染後発症予防のために開発されているが、場合によっては、感染症治療（例えば HIV、HPV など）に対するワクチンに適用されることがある。

本ガイドラインは、新規微生物、抗原あるいは毒素を含む日本において未承認の新規ワクチン、既存抗原による新規混合ワクチン、新規投与経路における特別な安全性を考慮した試験が必要なワクチン及び新規アジュバントを含むワクチンについて適用される。

一方、非感染症用の治療ワクチン（例えば、一部のがんワクチン）、ICH S6「バイオテ

クノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価」の範囲に含めることができる抗イデオタイプ抗体あるいは組換え DNA ワクチン並びに遺伝子治療のためのワクチンあるいはベクターワクチンについては、可能な範囲で本ガイドラインを準用できるが、各製剤の特殊性により必要な試験を考慮する必要がある。

また、毎年製造株が更新されるインフルエンザワクチンについては、本ガイドラインの適用外とする。

## 2. 非臨床安全性試験

### 2.1 一般的な考え方

ワクチンに関連する潜在的な安全上の問題として、一般的な全身毒性、対象疾患の発症、過剰な局所反応の誘発、自己免疫または感作などの有害な免疫反応、及び場合によっては催奇形性/生殖毒性が含まれる。また、それらワクチン製品固有の潜在的な毒性に加え、不純物と混入物質の毒性及び製剤中に存在する成分の相互作用による安全上の懸念が含まれる。そのため、新規ワクチンについては、非臨床安全性試験は常に実施すべきである。また、新規アジュバント及び新規添加剤が含まれる場合には、これらの添加物質の毒性についても考慮すべきである。しかしながら、既存抗原による新規混合ワクチンの場合、あるいは、臨床的に広く使用されているワクチンと組成及び薬理学的に同等などの科学的に正当な理由がある(3)場合には、新規ワクチンと同じ非臨床安全性試験は必ずしも必要としない。

#### 2.1.1 試験デザイン

ワクチンは、その多様性及び種特異性ゆえに、ヒトでの反応を予測可能な適切なモデルが常に利用できるとは限らない。そのため、利用可能な科学的根拠に基づき、非臨床安全性試験の必要性、試験の種類、動物種の選択、試験デザインを個別に考える必要がある。

非臨床安全性試験を実施する際には「医薬品の安全性試験の実施に関する基準（以下、GLP）」に適合して実施されることが求められる。しかし、完全には GLP 適合で実施できない状況も想定される。このような場合は、GLP に適合していない部分を明確にし、安全性評価に対する影響について評価しなければならない。

動物を用いた非臨床安全性試験をデザインする際に考慮すべき事項は、適切な動物種/系統、投与スケジュール及び投与方法、並びにエンドポイントの評価（例えば、臨床化学、剖検など）のタイミングである。臨床投与方法を考慮して、投与用量、投与頻度、投与期間、投与経路及び観察期間を決定する必要がある。

#### 2.1.2 動物種/モデルの選択

ワクチンの非臨床安全性試験において、適切な動物モデルが必ずしも利用可能とは限らないが、ワクチンごとに動物種の選択を行うべきである。

理想的には、病原微生物または毒素に感受性のある動物種を使用すべきであるが、少な