

ど、薬物相互作用の原因となる作用の有無の検討にも応用できる。

○in vivo 及び in vitro の薬効モデルの妥当性の確認

ポストゲノム時代を迎え、最近の医薬品開発においては、遺伝子やタンパクに対する結合や作用をもとに被験物質をスクリーニングすることが多くなった。そのような場合、以前の方法と比べ、スクリーニング系の妥当性を確認しておくことが重要である。毒性は見られないが、薬理作用が認められる用量を用いた探索的臨床試験において、スクリーニング系で選択された候補物質のヒトにおける標的受容体や酵素等への結合性や作用をみることにより、スクリーニング系の妥当性を検証できる。このような妥当性の確認されたスクリーニング系は医薬品開発において極めて重要である。

○複数の候補物質の評価が迅速になる。

海外の大手製薬会社数社により、探索的臨床試験を実施することにより、例えば、前臨床試験の開始から臨床移行の決定に8-9ヶ月の時間短縮、化合物選定まで6-9ヶ月の時間短縮、あるいは開発方針決定まで3-4ヶ月の短縮ができたと報告された。ただし、従来の第一相から第三相までの開発ステップは変わらず、新たな臨床試験段階が加わることから、最初の化合物が成功した場合と比べれば、開発全体の期間はむしろ延長することになる（資料7）。

なお、マイクロドーズ試験においては、毒性が現れる懸念が極めて低いことから、感度の高い分析法があれば、類似した構造を持つ、複数の候補物質を同時に投与し（いわゆるカセットドージング）、それらの薬物動態的特性を同時に同じ被験者で比較し、最も動態特性の良い化合物を選択することも考えられる。これが可能となれば、医薬品候補物質のヒトでの評価の効率性が更に高まる。

○少量の被験物質で臨床開発に必要な情報が得られる。

探索的臨床試験実施までに必要な毒性試験実施に必要な被験物質の量が少なくすむ。従来のINDでは最低でも数kgの被験物質の合成が非臨床試験と第1相試験のために必要であったが、e-INDの方式では84gと計算された（DeGeorge et al 2004）。医薬品開発の初期段階では、多量の被験物質の合成は大きな負担であり、少ない被験物質で臨床試験が可能であることは大きな意義があるとされている。

なお、分担研究者の試算では、毒性が弱い被験物質をヒトに初めて投与する前の非臨床試験のために、従来のICH-M3の基準では500g以上必要であったが、ラットとイヌでの2mg/kgを最高用量として単回投与毒性試験を行った結果を基にマイ

クロドーズ試験を実施する場合は約0.2gで可能であった。

薬効用量でのⅢ型探索的臨床試験では安全性の確認のための毒性試験が更に必要であることから、マイクロドーズ試験の場合より多くの被験物質が必要であるが、最大耐量での反復投与毒性試験を求めるICH-M3基準と比べて少なく、1ロットでの合成が可能な量であることが多い。この場合は毒性試験と臨床試験が同一ロットで実施されることから、複数ロット間の品質の恒常性（連続性）の保証が不必要であり、GMP規制上、大きな意味がある。なお、言うまでもないが、臨床試験が意味有るものであるためには、被験物質の純度が適切であり、その品質が非臨床試験から臨床試験の間で確保されていることが必要である。治験薬に対するGMPのあり方については、分担研究者である檜山博士の報告書を参照されたい。

○臨床試験被験者の数を減らし、臨床試験段階での成功確率を高めることにより、志願者の協力に依ることができる。

第1相以降の臨床試験段階での成功確率はおよそ1/10とされている。結果として、多くの臨床試験志願者による協力が実を結ばないことが多い。これを改善するための努力は志願者の協力に依るための義務と言える。ヒト由来組織やヒト型酵素等を用いることにより、特に薬物動態が原因となる脱落例が減少するなどの改善がみられてはいるが、依然、非臨床試験結果とヒトでの結果との間には大きなバリアーが存在する。探索的臨床試験の実施は第1相以降の臨床試験段階での成功確率上昇が見込まれるものであり、志願者の協力に最大限依るために必要なことである。

○動物使用数を削減できる。

初めてヒトに投与するまでに必要な動物数は、マイクロドーズ試験の場合で、げっ歯類と非げっ歯類の両方を行うとした場合の試算では、非げっ歯類は約34匹から18匹に、げっ歯類は100匹から30匹への削減が可能だったと報告されている。一方、それ以外の探索的臨床試験では非げっ歯類96匹を18匹まで、非げっ歯類は40匹削減することが可能であることが紹介された（資料7）。In vitroの薬物動態学的試験により、ヒトとの類似性の点から、げっ歯類のみで良いとされた場合には、非げっ歯類での試験は不要となる。また、他の試算で第1種目の動物（例えばラット）における毒性試験結果の後、第2種目（例えばイヌ）の動物が第1種目の動物に比べて毒性学的感受性が同等以下であることを確認するための試験において、対照群の設置が毒性評価に必須でないケースでは、実薬投与群のみとすることにより、更に使用動物数を削減することも可能であろう。

○薬効標的の確認と軽症患者での作用の検討

非臨床の薬効評価系でみられた作用がヒトにおいても同様に発現するかどうかを早期に確認することは、創薬研究者のみならず、新規メカニズムの新薬を待つ患者にとっても極めて重要である。このような目的を達成するため、準薬効用量あるいは薬効用量によるⅡ型及びⅢ型探索的臨床試験において、まず健常人における薬物動態を確認した後に、健常人あるいは対象疾患を持つ軽症患者を用いて、候補物質が持つ薬理作用が実際の患者の治療に有益であるか否かについての検討が行われることがある。特に、薬剤に対する感受性が健常人と患者において異なることが予想される場合には、軽症患者での確認が重要である。このような目的で行われる探索的臨床試験は、必ずしも、当該被験物質の開発につながる場合があるが、開発コンセプトの妥当性を確認し、その後の候補物質の合成や探索に資するものとして、重要であると考えられる。

○開発標的の妥当性の早期確認による合理的な医薬品開発促進と経費の削減

開発初期でヒトでの薬物動態や薬理作用に関する情報が得られることにより、その後の医薬品開発における go or not go の意思決定が適切かつ迅速化され、確信を持って次の段階に進むことができる。これは、結果として医薬品開発の迅速化につながり、患者への新薬供給の speed up につながると思われる。これについては、懐疑的な意見もある。

また、薬物動態が原因となる薬物の問題点を早期に把握することにより、大きな費用を要する第一相以後の臨床開発において、薬物動態が原因となる開発停止を減らすことができる。結果として、開発費用の削減が期待される。また、臨床試験実施までに必要な非臨床試験を減らすことによる経費削減も期待できる。

○医薬品候補物質の価値向上

薬理試験でスクリーニングされた被験物質が、薬物動態学的及び薬力的にヒトでも有望であることが示されることにより、その薬物の成功可能性が高まり、それ以後の開発資金調達が可能になる。特に創薬ベンチャーにとっては資金調達ができないために開発が遅延しているケースがあると考えられる。

○開発のオプションの追加

被験物質の特性に応じて、最適な開発ステップを踏むことが可能となる。例えば、薬物動態情報から塩の変更や剤形変更などが行われる。

○日本に導入することにより国際的に fair な医薬品開発環境を整える。

わが国には RI 標識化合物を用いたマスバランス試験が行えないことや臨床試験にともなうコ

ストが高い、また、日本人の組織の入手が困難であること等、医薬品開発を困難にしている障害要因が多く、日本企業に海外開発を強いる要因となっている。一方、欧米では医薬品開発を自国に引きつけるための努力が多くなされている。マイクロドーズ試験などの探索的臨床試験を導入し、日本での医薬品開発を欧米並にする必要がある。

C-4) 探索的臨床試験の問題点

○マイクロドーズ用量と臨床用量との間の線形性

薬物動態がマイクロドーズ試験レベルと臨床レベルとでリニアであるか否かについての疑問が提起されている。これについては、「薬物濃度が代謝酵素、トランスポーターなどへの K_m 値に比べて十分に低いところでは、線形性が保たれる」ことは当然であり、それを否定する根拠はないと考えられる。また、今日治療に用いられている医薬品の多くにおいて、臨床投与量では、溶解度が原因である場合を除けば薬物動態が原因で非線形性を生じる例は少ないとされている(日本薬物動態学会: 早期臨床試験による医薬品開発促進に関する意見書 2005)。即ち、吸収段階でのトランスポーターが臨床レベルで飽和する場合を除き、低用量レベルでは理論的にリニアとなると考えられる。今までは測定感度が低かったため、リニアとは見えなかったと思われる。しかし、AMS マイクロドージング、リソーシングおよび評価のための共同体 (Consortium for Resourcing and Evaluating AMS Microdosing [CREAM]) による研究 (Lappin et al 2006) では 5 検体中 3 検体でリニアであったが、実際の試験でこのことを証明した事例は少なく、今後、更に事例を積み重ねることが重要と思われる。

○ 探索的臨床試験を行う体制

探索的臨床試験は開発早期における医薬品候補物質のスクリーニングであり、必ずしも最終的な承認申請につながることを意識した試験ではないことから、治験になじまないとの考えがあり、臨床研究で行うべきか、治験として行うべきかについて、議論があった。

臨床試験は医薬品開発において、本質的に最適な医薬品を評価・選択するためにやむを得ないものであるとは言え、志願者の協力を得て行うものである。志願者の善意に応えるためには、医薬品開発のための臨床試験は事前に得られた情報に基づく科学的・倫理的考察の上で適切に行われるべきものでなくてはならず、その論理的経緯は治験届や承認審査の段階で明確に見える形で明らかにすべきものである。探索的臨床試験は医薬品開発のために行われるヒトを用いる試験であるという点で、第一相以後の臨床開発と変わるところは無い。治験として実施することにより、公的な審査を経て、GCP の枠組みの中で行われることにより、被験者の安全や権利が保障されるとともに、

思いがけない事故が起きた場合においても適切な対応が可能となる。

更に、治験の枠組で実施されることにより、薬事法の範疇で行うことになり、RI 標識化合物をヒトに法的に適切に投与できると考えられる。この問題については、研究協力者の井上博士がまとめた。

○ 探索的臨床試験に用いられる被験物質の品質確保

GCP 下で行われる臨床試験においては、被験物質は GMP で製造されるべきことと規定されている。このため、治験薬 GMP に関する指針が作成されている(厚生省薬務局長通知 治験薬の製造管理及び品質管理基準及び治験薬の製造施設の構造設備基準(治験薬 GMP)について 平成9年3月31日、薬発第480号)。医薬品開発を促進するための探索的臨床試験においても、それを意味あるものにするには、また、被験者の安全とデータの信頼性を確保するためには、GMP 基準に則って、試験で用いられる被験物質の品質が保証されていなければならない。しかし、医薬品開発の初期段階では被験物質の製造量は少なく、また、製造方法はまだ確定していないことから、従来の治験薬 GMP の考えを一律に適用するのは望ましくない。治験薬の品質は臨床開発の段階を追って、整備されて行くべきものである。

医薬品開発を促進するための探索的臨床試験を意味あるものにするには、単にその用量や毒性学的性状、また、類似した薬物の作用を考慮し、毒性学的な考察により不必要な試験を削除するだけでなく、臨床試験で用いられる被験物質の製造に関する規程も治験段階にふさわしいものにすることが肝要である。

探索的臨床試験で用いられる被験物質の合成は基本的に1回の合成ですむものである。即ち、毒性試験と臨床試験で用いられる被験物質が同一バッチの場合には、複数バッチ間の均一性に関する検討行わなくとも被験者の安全と試験の信頼性は確保できると思われる。探索的臨床試験のための GMP の有るべき姿については、分担研究者の檜山博士が、別途、検討した。

○ 薬理活性発現用量の推定方法

探索的臨床試験では非臨床試験結果から薬効用量を推定し、それに基づいて試験実施用量が制約を受ける。従って、探索的臨床試験の前に科学的に妥当な薬効用量推定方法が定まっていなければならない。薬効用量は1) In vitro での薬理作用発現濃度、2) 単回投与あるいは反復投与動物実験での薬理学的影響発現濃度、3) 類薬情報、を用いた推定がなされる。その際、被験物質の特性に応じて、体表面積あたりの換算や生理学的薬物動態理論に基づく推定等が行われる。これについては、別に項を起こして説明する。

C-5) 探索的臨床試験の実施に必要な非臨床試験

毒性が現れないと思われる極低用量で行われるマイクロドーズ臨床試験においても、思いがけない問題を回避するためには、適切な非臨床試験を行い、その結果に基づき適切な臨床試験計画を立て、被験者の安全性を保証する必要がある。そのために、EMEA や FDA の指針では表1に示したような非臨床試験の実施が求められている。しかし、その根拠については、指針では述べられていない。特に拡大型単回投与毒性試験の必要性については根拠が明確では無い。そこで、以下に、探索的臨床試験実施に必要な非臨床試験について考察した。

C-5-1) マイクロドーズ試験の実施に必要な非臨床試験

EMEA 及び FDA の指針によれば、マイクロドーズ試験の安全性確保のために必要な非臨床試験として、以下の項目をあげている。なお、バイオテクノロジー技術を応用して作られた生物製剤の場合はケースバイケースの判断によるとされている。

- 1) PK、PD 的に適切な動物種での拡張型単回投与試験(毒性を現さない用量と弱い毒性を発現する用量を含む。弱毒性物質の場合はヒトに投与する量の1000倍(FDAは100倍)を上限とする limit dose 試験でも良い。適切なほ乳類1種、両性、適切な動物数、静脈内と臨床投与経路の2経路で投与し、14日間毒性徴候を観察する。また、投与翌日と14日目に剖検、血液、血液化学、病理組織学的検査を実施する。)
- 2) In vitro 遺伝毒性試験(FDAは不要としている)
- 3) 局所毒性試験(拡張型単回投与試験での投与部位の観察で評価可能とされている)
- 4) 安全性薬理試験(FDAは不要としている)

C-5-1-1) マイクロドーズレベルでの薬物の経口投与による致死毒性

過去に蓄積された毒性データを基に検討したところでは(表2)、マイクロドーズレベル(2 μ g/kg)の薬物の経口投与で致死毒性を発揮する物は極めて稀である(大野ら、2007)。経口投与での単回投与毒性試験の致死量(LD)が20 μ g/kg以下の物は Botulinum toxin、TCDD、Abrin Toxin、Saxitoxin、Tetrodotoxin などのトキシン類とリシン類のみであった。また、LDが0.02-0.2mg/kgの物質には Amanitin、Dinophysistoxin-1[#]、Digitoxin、Digoxin、Okadaic acid[#]であった。なお、この時の調査では漏れていたが、ハチ毒の MCD-peptide が経口投与での50%毒性発現用量(TD50)がラットで0.647 μ g/kgとの報告が RTECS に記載されていたが、マウスでの脳室内投与での LD50 が 6.8 μ g/kg、腹腔内投与での LD50 が 125 μ g/kg と報告されて

おり、何らかのミスがあると思われる。(#:データの信頼性や種差に関する考察をするに必要十分なデータが無かったもの)

LD が 0.2mg/kg 以下の物のうち、Botulinum toxin については経口投与でのデータは少ないが、ヒト (subcutaneous: sc) とマウス (intramuscular: im) との間で投与経路は異なるが、非経口投与での TDL_o に大きな差は無く、ラットとマウスの im での LD₅₀ にも大きな差は無く、非経口投与を含むげっ歯類を用いた動物実験でヒトでの毒性をある程度予測可能であると考えられる。

TCDD のようなダイオキシン類の化合物は化学構造からその作用が予想可能であるし、また、ヒトでの急性毒性はモルモットと比較し弱いことから、実験動物での毒性試験に基づいて計画されたマイクロドーズレベルでの単回投与での臨床試験で問題は起こらないと考えられる。

Lectin や Abrin toxin のような糖タンパク性の Ricin 類、特に Abrin A toxin や Abrin C toxin は 0.007mg/kg という低用量の経口投与でもヒトで強い毒性を現し、死亡させることがあるが、ラットでは極めて毒性が弱く、94 万倍という種差があり、動物実験からヒトでの強い毒性を予測するのは困難であり、化学構造や薬理作用からの推定に基づいた対応が必要である。

Saxitoxin については、経口投与でのヒト LDLo (最低致死量) と実験動物の LD₅₀ との間に 18 倍から 36 倍の種差があるが、実験動物間では経口及び静脈内投与での LD₅₀ 値の種差は 2 倍以内と小さい。Tetrodotoxin も経口投与でのヒト LDLo と実験動物の LD₅₀ との間に最大 75 倍程度の差があったが、Saxitoxin と同様に、静脈内投与での LD の種差は 2 倍程度と小さい。

Digitoxin の経口 LD₅₀ はネコで 0.18mg/kg とされているが、げっ歯類では 56mg/kg あるいは 60mg/kg と報告されている。静脈内投与での LDLo はネコで 0.18-0.3mg/kg、イヌでは 0.5mg/kg であるが、ラットやマウスでは LD₅₀ が約 4mg/kg と相対的に毒性が弱い。一方、ヒトでの推定致死量はネコに近いがそれより低いと思われるが、薬用量は 0.1-0.2mg、飽和薬用量は 1.2-1.8mg (24-36 μg/kg) であり、マイクロドーズ試験の条件では問題となる毒性は起こさないとと思われる。健康人では 10mg 以上で心臓障害を起こすとされている。マイクロドーズ試験の上限用量の約 100 倍ではあるが、安全性薬理試験で心臓への作用が現れた場合には作用に 100 倍程度の差が起こりうることに注意する必要がある。Digoxin ではヒトの LDLo とイヌの LD₅₀ とで大きな差はないが、モルモットでは 10 倍弱感受性が低い。

以上のように、マイクロドーズ試験で用いられる用量の経口投与で致死的な毒性を現す物は極めてまれである。また、その 100 倍の 0.2mg/kg 以下の用量でもそのような致死的な毒性を現す物

は少ない。また、それらの毒性は詳細な症状観察を伴う一般的な単回投与毒性試験で容易に検出できるものであるか、あるいは、ヒトと実験動物との間の種差が極めて大きく、実験動物では検出が困難なものである。このような場合でも、静脈内投与での毒性試験を行うことにより、急性な毒性発現に関する種差の懸念を減らすことが可能である。なお、マイクロドーズ試験レベル程度で強い毒性が報告された Botulinum toxin、Abrin Toxin 及び MCD peptide はタンパク性の物質であり、その様なものを除くと、経口投与でのマイクロドーズ試験において強い毒性が現れる懸念は更に低くなる。

従って、経口投与でのマイクロドーズ試験実施前に必要な単回投与試験としては、臨床投与経路及び静脈内投与による一般的な単回投与試験で十分と思われる。但し、生物製剤や分子設計上生物学的製剤に近い作用を持つ可能性がある低分子化合物の安全性については、十分な検討がなされてはいないことから、それらについては、ヒト特異的薬理作用や毒性を考慮し、慎重に行う必要がある。マイクロドーズ試験を機械的に適用してはならないと思われる。なお、欧米でマイクロドーズ試験を実施するに際して、拡大型単回投与試験を要求している根拠が不明確なところがあることから、今後の情報交換の内に、その必要性を示すデータが提出された場合には、上の結論を再考する必要がある。

表 2 : 単回経口投与での致死量が 2mg/kg 以下の物質

C-5-1-2) 単回投与毒性試験で投与すべき薬物の上限用量

表に示したように (大野ら、2007)、経口投与の単回投与の致死量ではヒトと動物実験との間に 1000 倍近くの種差が見られることがあることから、マイクロドーズ試験用量の 1000 倍の 2mg/kg まで投与して検討し、毒性の有無を検討しておくことが望ましいと思われる。但し、一般的に、静脈内投与では種差が少ないことから、100 倍の 200 μg/kg で検討しておけば、マイクロドーズ試験実施の可否を考察するためには十分と思われる。

表 3 : 経口投与での致死量の種差

C-5-1-3) 非経口投与での毒性発現用量

静脈内投与や腹腔内投与でマイクロドーズ試験の用量以下で毒性を現すものはトキシン類を代表に多くのものがある (表 4)。これらは血液毒性、腎毒性、肝毒性、神経毒性等様々な毒性を現す (表 5)。これらは、神経毒性や強い毒性が現れた場合を除き、一般の症状観察では検出しにくいものであるが、血液検査や血液生化学検査や尿中酵素検査で多くが検出できる。また、これら

の多くはタンパク性のものである。また、一般に静脈内投与による毒性発現の量的な種差は少ない。例えば、表2において、*Amanita phalloides* toxinではマウスとラットのLD50は123 μ g/kgと50 μ g/kgであり、2倍強である。また、データは示していないが腹腔内投与でのDiphtheria toxinのマウス(0.3 μ g/kg)とハムスター(6.5 μ g/kg)との間の種差は20倍程度、Toxin BE 4 (*Microcystis aeruginosa*)のラット(122 μ g/kg)とマウス(25 μ g/kg)との間の種差は5倍程度、Toxin, blue green alga, *Microcystis aeruginosa*ではマウス(32.5, 127 μ g/kg)とラット(50 μ g/kg)の間の種差は2倍程度であった。

表4：トキシン類の毒性発現用量

表5：非経口投与で強い毒性を現すトキシン類とその症状

C-5-1-4) 拡大型単回投与試験の必要性について

EMEAやFDAでは投与後2日と14日目に組織病理学的な検索を行うことが必要としている。研究協力者の内にもそれが必要としている者もいた。しかし、いずれも、組織病理学的検査の必要性についての根拠が示されていない。一方、トキシン類の静脈内投与による毒性について調査した結果では神経、血液、肝臓、腎臓等に対する毒性が2 μ g/kg以下の低用量で現れているものが多くあった(表5)。これらが低用量投与され、死に至らない場合の臓器毒性の検出は単回投与毒性試験における症状観察のみでは困難なことが多い。血液検査による血液像の観察やGOTやGPT、 γ -GTなどの血漿中酵素や尿中酵素等、急性的な肝腎毒性を評価する上での感度が良く、簡便な指標の測定が必要となる場合もあると思われる。いずれにせよ、今後の検討で組織病理学的検索が必要であるとの根拠が示された場合には、それを組み込むことも考えられる。

一方、単回投与での組織毒性を病理組織学的に見ることのみで、化合物の毒性プロファイルを明らかにしようとするものの妥当性については病理学者により疑問が呈されている(高橋道人、小野寺博志 ICH-M3 研究班での談話 2007. 2. 26)。

即ち、単回投与で肝、腎、血管等の臓器に毒性が現れることが懸念される場合には、血液検査や血中生化学検査、或いは尿検査を組み合わせた試験を行うことが有効と思われる。これらの結果が陽性であった場合には、更に組織病理学的検査を行ったり、また、より長期の毒性試験を行うことにより、被験物質の毒性を精査すべきであろう。

なお、上記トキシン類の多くはタンパク性の化合物であり、また、先に述べたように、低用量の経口投与で毒性を現したボツリヌストキシンやリシン類もタンパク質である。これらをマイクロドーズ試験の対象外とするならば、思いがけない毒性が発現することへの懸念は更に小さくなる。

C-5-1-5) 遺伝毒性試験の必要性

EMEAはマイクロドーズ試験の実施に遺伝毒性試験を必要としているが、FDAは発がん物質であっても、2 μ g/kg程度を単回投与することによる発がんリスクは無視出来るほど小さいとし、マイクロドーズ試験の前に遺伝毒性試験の実施は不要としている(Mueller et al 2006, Waddell 2002, 2003, 馬屋原 2007)。これは発がん物質についての過去のデータを精査し、1.5 μ g/human/day以下では生涯暴露されても、そのリスクは無視できる程度であるとのMunroらの報告(1996, 1998)を基に、単回投与でのリスクを考察した結果によるものである。この報告で示された考えはJECFAでも認められ、香料の安全性評価に採用されている。

C-5-1-6) 安全性薬理試験の必要性について

ICH-M3の指針では、ヒトに初めて投与するまえに、呼吸器系、循環器系、及び中枢神経系への影響を検討すべきとしている。しかし、特に化学構造や薬理作用から懸念される場合を除き、これらは詳しい症状観察を伴う単回投与毒性試験で検討可能であり、別途、行う必要は無いと思われる。

C-5-1-7) 局所刺激性の評価

EMEAやFDAはマイクロドーズ試験の前に局所毒性の評価が必要であるとしている。一方、単回投与毒性試験での投与部位の観察をこれに置きかえることができるとしている。なお、局所刺激性は被験物質の物理化学的性状によりある程度予想できる。また、細胞毒性試験の結果と眼刺激性試験結果とは対応がある(Ohno et al 1999)ことから、非特異的な作用による局所刺激性は細胞毒性試験でも有る程度評価できる。

C-5-1-8) 生殖毒性の評価

ICH-M3の指針作成に際して、ヒトに初めて投与する前の試験として、雄性生殖臓器への影響評価が問題となった。日本が行ったバリデーシヨンの結果、生殖毒性試験を行わなくとも、2週間の反復投与毒性試験において詳細な組織病理学的な検討を行えば、評価可能とされ、雄繁殖能に関する生殖毒性試験は要求されなかった経緯がある。このバリデーシヨンの際、研究班では雄性生殖臓器に影響を与える物質について、検索した。その結果を表に示した。最も低い用量で毒性を現したものはレセルピンで、0.1 or 0.3 mg/kgの皮下投与2週間で漸く変化が認められた。即ち、これ以下の用量で雄性生殖能に影響を与える物質は見あたらなかった。即ち、特別な薬理作用を持つ物以外は2 μ g/kgの単回投与という低用量では雄性生殖臓器毒性への懸念は無いと考えられる。

一方、雌性生殖臓器毒性への懸念に関しては、ICH-M3 では十分な科学的データが無く、日本は妊娠可能な女性に投与する前には一連の生殖毒性試験が必要であるとした。これについては、現在進行している ICH-M3 会議で検討を進めているところであり、その結果を待つ必要がある。

C-5-2) 準薬効用量での II 型探索的臨床試験及び薬効用量での III 型探索的臨床試験の実施に必要な非臨床試験

表 1 は FDA から 2006 年 1 月に公表された Exploratory IND ガイダンス、2006 年 12 月にベルギーで開催された探索的臨床試験ワークショップ等で紹介されている Exploratory CTA (Exploratory IND の欧州版) の企業素案、ならびに米国において 1996 年に一時検討された Screening Phase I 試験に関する論文などを参考に、JPMA が毒性と薬効のいずれも見られないと想定される準薬効用量探索的臨床試験 (II 型探索的臨床試験) 及び薬効は認められるが、毒性は現れないと想定される薬効用量臨床試験 (III 型探索的臨床試験) の実施に必要な非臨床試験の範囲についての考えを示したもので、若干分担研究者が補足したものである。

この根拠は以下の考えによる。

- 1) ヒトでの単回投与での毒性は適切な動物種での単回投与毒性試験で明らかにできる (Monro & Mehta 1996)
- 2) ヒトでの反復投与による安全性は適切な動物種 (1 種目) での 2 週間以上の反復投与試験と、2 種目の動物種における臨床期間と同期間の反復投与毒性試験で確保できる。 (FDA 2006)
- 3) 薬効用量の 1/100 未満で、 $100 \mu\text{g}$ 以下の用量 (マイクロドーズ) での単回投与臨床試験については、適切な 1 種の動物で、体表面積換算した投与量ベースで 100 倍の安全域を確認することで、ヒトへの安全性を確保できる。
- 4) 薬効も毒性も想定されない用量 (準薬効用量) での単回投与臨床試験 (II 型探索的臨床試験) については、ヒトでの最高暴露レベル (C_{max} または AUC) から 10 倍以上の安全域を 2 種の動物で確認することで、ヒトにおける安全性を確保できる。
- 5) 毒性は想定されないが、薬効発現が期待される用量 (薬効用量) での単回あるいは反復投与臨床試験 (III 型の探索的臨床試験) については、2 種の動物での毒性プロファイルと NOAEL を確認し、ヒトでの最高暴露レベル (C_{max} または AUC) はその 1/2 未満とすることで、ヒトにおける安全性を確保できる。

これらについては、研究班での検討は十分には

行っていない。なお、II 型および III 型の探索的臨床試験を行う場合には遺伝毒性の有無に関する評価が必要であろう。また、雄性生殖臓器への影響の評価のためには単回あるいは 2 週間の反復投与毒性試験後に雄生殖臓器を病理組織学的に詳細に観察することが必要である。妊娠可能女性への影響評価のために必要な試験の範囲については、まだ、ICH で合意されていない。研究班では今後更に検討を加え、ICH での検討も踏まえ、わが国の指針を作成する必要がある。

C-6) 探索的臨床試験における用量設定の方法

「マイクロドーズ」の用量は、薬理効果発現予測投与量を計算し、これの 1/100 未満の用量と $100 \mu\text{g}$ 以下のいずれか小さいほうと定められ、複数の化合物を投与する場合も相加計算に基づきこれと同じ考えに従って求められた投与量とされる。実際の投与計画における用量は、これを超えない範囲でケース・バイ・ケースで設定される。

予想薬理効果発現投与量の計算方法として、以下に代表的な 2 つの方法を示す。

- 1) 経験的な方法：動物での薬理効果発現投与量をもとに体表面積換算することにより、ヒトでの臨床用量を推定する方法である (注 1)。
- 2) ファーマコキネティクス情報を用いる方法：薬効発現の機構によっても異なるが、最大血中濃度 (C_{max}) あるいは、血中濃度時間曲線下面積 (AUC) を基準にする方法である (注 2)。

なお、薬剤の種類によっては、安全域を設定することにより、または、毒性発現量からマイクロドーズ臨床試験の投与量を検討する必要があるかもしれない。

注 1：体表面積換算する方法は、FDA の初回投与量設定法のガイダンス (FDA 2005) に採用されている方法であり、さらに、Exploratory IND Studies の薬理学的影響の研究に関しても、初回投与量はラットの NOAEL の体表面積換算した用量の 1/50 としている。また、EMA の拡張型単回毒性試験の limit dose の動物からヒトへの allometric scaling にも採用されている。これらのことから、現在、体表面積換算による方法が臨床用量を推定する方法として採用されているものと考えられる。しかし、本予測方法はあくまでも経験則であり、精度の高い予測法とは言い難い。有効血漿中濃度がヒト組織や細胞を用いた *in vitro* あるいは動物を用いた *in vivo* のデータを基に予測可能であれば、精度の高い方法として、以下の注 2 の方法が推奨される。

注2：ここでは、Cmax を基準にする方法について解説する。まず、適切な動物での薬効発現用量における最大血中濃度 (Cmax) を求める。動物とヒトの血漿タンパク結合の種差を補正し、ヒトで薬効の発現する Cmax (ヒト推定 Cmax) を推定する (この方法では、血漿タンパクと結合していない遊離型の Cmax が同じところで、動物でもヒトでも薬効が発現すると仮定している)。さらに、動物の分布容積と、動物、ヒトでの血漿タンパク結合情報からヒトにおける分布容積 (Vd) を推定する。最後に、ヒト推定 Cmax と Vd の積から、ヒトでの薬効用量を計算する。Cmax でなく、AUC を薬効の基準として用いる場合にも同様に考え、動物で薬効が得られた際の遊離型の AUC と同じ遊離型の AUC をヒトでも示すと予想される投与量を臨床推定用量とする。

C-7) RI 標識被験物質を用いた探索的臨床試験実施に関わる法的問題及び実施手順

本研究班が検討対象とするマイクロドーズ試験を行う手法の中に加速器質量分析器 (以下 AMS) と陽電子放出撮影 (以下 PET) がある。この2つの手法はいずれも放射性同位元素 (RI) を用いるものである。その実施に際しては、放射性同位元素等による放射線障害の防止に関する法律 (障防法)、薬事法、及び医療法が複雑に絡み合っていることから、RI 使用に関わる法的な問題を理解しておく必要がある。以下に協力研究者の井上博士が行った検討結果を抜粋する。詳細は附録として掲載したので、それを参照されたい。

C-7-1) 障防法と薬事法、医療法について

平成17年6月に改訂された障防法、AMS を利用する探索的臨床試験で一般的に使用される標識核種 C-14 の下限値は、数量で10MBq、濃度で10Bq/mg と定められている。このどちらかの条件以下であれば、障防法の規制対象外となる。この場合、障防法による事業所ではない施設 (以下非許可・届出事業所) では管理区域、汚染検査室の設置の必要はなく、放射線防護のための排気設備も必ずしも必要としない。但し、既存の障防法許可・届出事業所に関しては、総量規制の概念に基づき下限数量以下であっても従来通りの RI として取り扱わなければならない。即ち、許可・届出事業所の場合は、下限数量以下の RI を使用する場所は管理区域となる。非管理区域への持ち出し・使用をする場合は、条件付きで可能であり、あらかじめ文部科学省に当該施設の非管理区域での使用許可を得ることが必要であり、そのためには時間、費用が生じることになる。このように事業所の区分により同じ核種、放射エネルギーの RI の取扱いに法令上の規制の乖離が生じ、不平等な面がある。

また、障防法非許可事業所の場合、下限数量以

下の RI の購入は必ず RI 販売事業所を介さなければならない。これらの施設は障防法の規制は受けないものの、実際の運用上は RI 販売事業所が廃棄などに関する一定の取引条件を設定しているため、煩雑な手続きを必要とされるのが現状である。

障防法の規制対象外については、放射性医薬品の原材料、治験薬、院内製造による PET 検査薬がある。このうち治験薬については薬事法、医療法施行規則が関与してくることになる。しかし、探索的臨床試験の AMS 利用で用いる標識用のごく微量の RI は想定されていないと思われる。探索型臨床試験における RI が治験薬の一部として包括的にみなされるのか、それとも治験薬に付帯する RI としてあくまでも放射性同位元素として扱われるのかにより、規制する法令が異なってくる。前者であれば、標識 RI が治験薬と結合した時点より障防法の規制から薬事法、医療法の規制に移行されるものと思われる。後者であれば、被験者に投与される直前まで障防法の規制を受けると考えた。

C-7-2) 探索的臨床試験治験薬と法令について
探索的臨床試験を治験に導入する場合を想定し、その過程をいくつかの場合に分け、そのフロー図を作成した (図1~3)。

図1は非密封の標識核種を RI 販売・届出事業所を介して購入する場合である。AMS によるマイクロドーズ試験で用いる標識核種は下限数量以下となる場合が大部分であるが、今後の展開として下限数量を超える標識核種も登場する可能性を考慮し、2系統記載した。標識核種と探索的臨床試験の対象となる薬物 (治験薬) を調剤・標識し、できたものが下限数量を超える RI で標識したものを「RI 標識治験薬」、下限数量以下の RI で標識したものを「標識治験薬」と便宜上ここでは定義した。障防法許可・届出事業所の場合は治験薬に標識するまでの RI は障防法の規制を受ける。非許可・届出事業所の場合は、放射線に関して特に規制する法令はない。標識治験薬に標識された RI を治験薬の一部と見なすか、それともあくまでも放射性同位元素とみなすかにより調剤後・標識後の規制法令が変わるが、現行法令の考え方からすると、実際に治験が終了し、販売されることになる薬剤は標識核種ではないことから、標識核種はあくまでも治験薬の付帯物として扱われることが予想される。その場合、標識治験薬は障防法許可・届出事業所ではヒトに投与する直前まで障防法の規制となるものと思われる。非許可・届出事業所では、標識治験薬は薬事法のみ規制を受ける。

図2は非密封の標識核種を治験施設が直接購入し、標識・調剤する場合である。この場合、購入しようとする治験施設は必ず障防法許可事業所である必要がある。(非許可事業所は RI 販売事業所からしか下限数量以下の RI の輸送を認めら

れていないためである。) この場合、許可事業所であるので、RI 標識治験薬も標識治験薬も障防法の規制を受ける。また治験ではなく臨床研究を想定し、共同研究施設等に標識薬剤を供給することを考えた場合、標識核種が放射性核種 (RI) とみなされる場合は、受取手も障防法規制下の許可事業所でなければならない。そして、薬剤を運搬するという行程が入るため、運搬前後で標識治験薬の品質が保たれているか品質管理・検定をする必要がある。

図3は下限数量を超えるRIで標識した治験薬 (RI 標識治験薬) と下限数量以下のRIで標識した治験薬 (標識治験薬) に分けてヒトへの投与後の流れを想定したフロー図である。

標識治験薬の場合、ごく微量のRIを用いるため人体投与後に試料を採取してもRIによる人体に影響するレベルの汚染はないと考えられ、試料を放射性物質として取り扱う必要はないと思われる。よって解析に使用しなかった試料については医療廃棄物として処理するのが適当である。一方、RI 標識治験薬の場合はRIの放射エネルギーが下限値を超えるとのみ定義しているため、一律に取り扱うことは難しい。試料に放射能が一定以上検出されることが想定される場合は、放射性物質として取り扱う必要もあると思われる。この点についての規制は医療法にて明確にすべきと思われる。

C-7-3) 提言

前項にて想定される治験の流れと放射線に関わる規制について考察・記述したように、極めて煩雑な解釈が必要である。また、治験の場合に放射線に関わる事項について臨床現場に2重 (2つの省庁にまたがる) の規制があることで運用上の混乱や、実際に探索的臨床試験が推進されないことのないように事前の対応が必要と考える。

以上の観点からは、放射性治験薬の取扱いについても、薬事法及び医療法の厚生労働省の規制下で一元的管理を推進することが望ましい。即ち、放射性医薬品の製造及び取扱い規則第一条第一項における放射性医薬品の定義を「放射線を放出する医薬品であって、別表第一に掲げるもの及び法第2条第15項 (又は第80条の2) に規定する治験の対象とされる薬物」と改正することによって、厚生労働省関係法令下において一元的に規制、管理が可能となると思われる。

C-7-4) 探索的臨床試験実施のための具体的手順

RI 非標識化合物を用いた探索的臨床試験の実施手順については、GCPに則った他の治験と変わるところはない。一方、RI 標識化合物を用いた探索的臨床試験の場合は、放射性物質が体内に入ることによる放射線被曝の程度とその健康への影響について、正しく把握しておく必要がある。

障防法におけるRIの定義に当てはまらないような低レベルのRIを用いることが予想されるAMSを用いたマイクロドーズ試験においては、本来ならば通常の臨床試験と同様の手続きで良いはずである。しかし、放射線被曝に関する日本国民の特殊な感情を考慮した場合、RIとしての法的規制を受ける物質をヒトに投与する場合と同じく、イギリスにおけるARSAC (Administration of Radioactive Substances Advisory Committee) のような機関において、第三者的立場で被験者の安全を審査し、保証する機関が必要である。日本薬物動態学会と日本臨床薬理学会は平成17年12月に有限責任中間法人「医薬品開発支援機構 (APDD)」を設立して、RI 標識化合物をヒトに投与する際の安全性を評価するための放射線内部被曝評価委員会を構築した。ここでの審査のためには、ヒトの体内での被験物質動態を予測する必要がある。このためには実験動物に投与した場合の吸収・分布・排泄過程を調べ、特定の臓器に残留することが無いかについての情報が必要である。このデータと投与量を基礎にICRP勧告やその他の基準・指針等に基づいて検討し、科学的観点からこれらの試験が妥当なものであることが審査される。

この手順は以下のように略記できる。

- 1) 治験薬GMPに則り、RI 標識化合物を合成
- 2) ヒトへの投与量を計算
- 3) 実験動物に投与し、その体内動態を調べる
- 4) 放射線内部被曝に関する専門家による内部被曝量の計算とその安全性評価
- 5) IRBによる倫理審査。必要に応じて、外部倫理委員会の審査を受ける。
- 6) 医薬品機構に治験届を提出
- 7) 医薬品機構による承認後或いは返事が無い場合は、申請後30日を超えてから探索的臨床試験を実施する。

なお、一般の薬物の場合の治験の場合と同じであるが、臨床試験の安全性について、毒性の専門家による科学的な評価が必要である。

D. 結論

- 1) 化学物質等の毒性情報の中には0.02mg/kg以下で毒性を現すものがあるが、それらの報告には信頼できないものが多い。これはRTECSなどのデータベースでは、通常、毒性の現れた最も低いデータを採用することによる。
- 2) 経口投与での致死量がマイクロドーズ試験の用量の約100倍である0.2mg/kg以下の物質は少ない。特に、2 μ g/kg以下はTCDDおよびBotulinum toxinのみであった。2-20 μ g/kgはAbrin toxinとSaxitoxin、Tetrodotoxinのみであった。20-200 μ g/kgはAmanitin、Dinophysistoxin、Okadaic acid、Methylphenidate、Digoxin、及びDigitoxin

のみであった。これらの多くは、詳細な症状観察を含む、通常の単回投与毒性試験あるいは安全性薬理試験で検出できる。

- 3) 経口投与での致死量の種差は100倍以上のものもあり、動物実験では2mg/kgまでの投与が必要である。
- 4) 多くの場合、薬理活性の1/100という用量の設定で重篤な副作用は回避できると思われるが、まれに、動物実験が意味をなさないほど種差が大きく、ヒトで毒性が強く現れる物質もある。それらは化学構造や薬理作用、毒性的学識を基にした考察で判断する必要がある。
- 5) 静脈内投与などの非経口投与ではトキシン類で見られるように2 μ g/kg以下で毒性を現す物が多く存在する。しかし、経口投与の結果と比べ、吸収過程が無いため、非経口投与での毒性発現用量の種差は少なく、ヒトへの予測性はより高いことから、静脈内投与での試験も合わせて実施することにより、また、これらの多くはタンパク性のものであり、このような物をマイクロドーズ試験の対象物質からはずしておくことにより、思わぬ毒性がヒトで現れることについての懸念を無視できる程度にすることができると思われる。
- 6) 現在までに得られた情報では、マイクロドーズ試験の実施のためには拡大型の単回投与毒性試験は必要とは思われない。通常の単回投与毒性試験で十分であると思われる。しかし、肝・腎・血液毒性については、通常の単回投与毒性試験では見逃す可能性があることから、このような毒性が危惧される場合には、血液像や血液生化学、尿中酵素の変化を捉えるように測定項目を追加した単回投与試験を計画することが望ましい。
- 7) 準薬効用量(Ⅱ型)、或いは薬効用量(Ⅲ型)での探索型臨床試験の実施に必要な毒性試験の範囲については、十分な検討が行われていない。今後、Ⅱ型探索型臨床試験では2種の動物での単回投与試験から10倍の安全域をとった暴露レベルまで、また、Ⅲ型については、2種の動物での反復投与毒性試験で得られたNOAELの1/2までの暴露まで実施しても良いとの欧米の考えを元に更に検討する予定である。
- 8) 毒性試験の結果や事前に得られた情報から、探索的臨床試験段階での毒性が懸念が生じた場合は従来のICH-M3の基準、或いは更に追加の毒性試験を行い、毒性プロフィールを明らかにしておく必要がある。
- 9) RI標識化合物(主に14C)を用いる探索臨床試験においては、その法的な取扱いにおいて、障防法、医療法、薬事法が複雑に絡み合っており、極めて煩雑な解釈が必要である。薬事法上の放射性医薬品の定義に治験に用いられるRI標識化合物も含むようにすることが

望ましい。

- 10) RI標識化合物を用いた探索的臨床試験実施のためには、被験者の放射線に対する内部暴露レベルとその安全性を適正に評価するため、専門家による審査を受けるべきである。

E. 引用文献

- 1) DeGeorge (2004) The The PhRMA PhRMA Proposal for support of Proposal for support of Exploratory Clinical Studies: Revisiting Exploratory Clinical Studies: Revisiting and Revising the Screening IND in SESSION IV, Exploratory Clinical Studies for Improved Compound Selection Chair: Joseph DeGeorge, Toxicology Forum Winter Meeting (2004.7.20)
- 2) Fagerland JA, Frank R, Fritschel B, Galloway S, Harpur E, Humfrey CD, Jacks AS, Jagota N, Mackinnon J, Mohan G, Ness DK, O'Donovan MR, Smith MD, Vudathala G, Yotti L. (2006) A rationale for determining, testing, and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity. Regul Toxicol Pharmacol. 44, 198-211.
- 3) FDA: Guidance for Industry, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, US Department of Health and Human Services, FDA, CDER; Jul. 21(2005)
- 4) Lappin G, Kuhnz W, Jochemsen R, Kneer J, Chaudhary A, Oosterhuis B, Jan Drijfhout W, Rowland M, and Garner RC. (2006) Use of microdosing to predict pharmacokinetics at the therapeutic dose: experience with 5 drugs. Clin Pharmacol Ther 80, 203-14.
- 5) Monro A, Mehta D (1996) Are single-dose toxicology studies in animals adequate to support single doses of a new drug in humans? Clin Pharmacol Ther. 59, 258-264.
- 6) Munro et al (1996) Correlation of structural class with no-observed-effect levels: A proposal for establishing a threshold of concern. Food and Chem. Toxicol. 34, 829-867.
- 7) Ohno, Y., Kaneko, T., Inoue, T., Morikawa, Y., Yoshida, T., Fujii, A., Masuda, M., Ohno, T., Hayashi, M., Momma, J., Uchiyama, T., Chiba, K., Ikeda, N., Imanishi, Y., Itagaki, H., Kakishima, H., Kasai, Y., Kurishita, A., Kojima, H., Matsukawa, K., Nakamura, T., Ohkoshi, K., Okumura, H., Saijo, K., Sakamoto, K., Suzuki, T., Takano, K., Tatsumi, H., Tani, N., Usami, M., Watanabe, R. (1999) Inter-laboratory validation of the in vitro eye irritation tests for

cosmetic ingredients 1) Overview of the validation study and Draize scores for the evaluation of the tests. *Toxicology in Vitro*, 13, 73-98.

- 8) Sakai, T., Takahashi, M., Mitsumori, K., Yasuhara, K., Kawashima, K., Mayahara, H. and Ohno, Y. (2000) Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by 2-week repeated dose toxicity studies in rats. *J. Toxicol. Sci.* 25, special issue, 1-21
- 9) Waddell WJ. (2002) Thresholds of carcinogenicity of flavors. *Toxicol Sci.* 68, 275-279.
- 10) Waddell WJ. (2003) Threshold for carcinogenicity of N-nitrosodiethylamine for esophageal tumors in rats. *Food Chem Toxicol.* 41, 739-741.
- 11) Waddell WJ, Fukushima S, Williams GM. (2006) Concordance of thresholds for carcinogenicity of N-nitrosodiethylamine. *Arch Toxicol.* 80, 305-309.
- 12) 大野泰雄ら(2007)マイクロドージング試験の毒性学的根拠について. マイクロドーズ臨床試験 理論と実践—新たな創薬開発ツールの活用に向けて杉山雄一、栗原千絵子編、p11-22 じほう
- 13) 馬屋原宏(2007) EU 型マイクロドーズ臨床試験と米国探索的 IND: ハーモナイゼーションへの課題. 同上, p23-44.

F. 添付資料

- 1) European Agency for the evaluation of Medicinal Products (EMA), Committee for Proprietary Medicinal Products: Position paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with a single microdose (CPMP/SWP/2599/02, 2003.1.23)
- 2) FDA: Exploratory IND Studies U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) January 2006
- 3) 大野泰雄: マイクロドーズ試験に対する日本の研究者へのアンケート調査結果
- 4) 日本薬物動態学会: 早期臨床試験による医薬品開発促進に関する意見書 (2005.12)
- 5) 総合科学技術会議・基本政策推進専門調査会の中間報告(平成18年7月26日)
- 6) 大野泰雄: 第1回探索型臨床試験研究班会議配布資料
- 7) 三浦慎一: APDD キックオフシンポジウム発表スライド(2007.2.17)
- 8) 井上登美夫: わが国における探索的臨床試験実施の際の法規制と現行法令の問題点

G. 健康危険情報 特になし。

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 杉山雄一、栗原千絵子、馬屋原宏、須原哲也、池田敏彦、伊藤勝彦、矢野恒夫、三浦慎一、西村伸太郎、大塚峯三、小野俊介、大野泰雄 (2006) マイクロドーズ臨床試験の実施基盤—指針作成への提言—, *臨床評価* 33, 649-677.
- 2) 大野泰雄ら(2007)マイクロドージング試験の毒性学的根拠について. マイクロドーズ臨床試験 理論と実践—新たな創薬開発ツールの活用に向けて杉山雄一、栗原千絵子編、p11-22 じほう

以下は研究協力者の関連業績

- 1) 杉山雄一、栗原千絵子、矢野恒夫、馬屋原 宏、残華淳彦、熊谷雄治、西村伸太郎、伊藤勝彦、谷内一彦、加藤基浩、井上登美夫、鈴木和年、須原哲也、池田敏彦 (マイクロドーズ・探索臨床試験研究会有志). マイクロドーズ臨床試験の実施基盤・第2報: 指針作成の提言と論点提示. In: 杉山雄一、栗原千絵子編著. マイクロドーズ臨床試験: 理論と実践—新たな創薬開発ツールの活用に向けて—. じほう, 2007; 315-39.
 - 2) 杉山雄一ら. マイクロドーズ臨床試験の実施基盤・第3報: 早期探索的臨床試験の実施に関するガイダンス (案) —. *臨床評価* 2007; 34(3) 印刷中。(なお、本論文は、本報告書に添付した、有限責任中間法人医薬品開発支援機構による、本論文の副題と同じタイトルの報告書の一部修正の学術論文として公表するものである。)
- ##### 2. 学会発表
- 1) 大野泰雄、マイクロドーズ試験の安全性: 試験に必要な安全性試験の範囲について. 第46回日本核医学会学術総会シンポジウム 鹿児島(2006.11.11)
 - 2) 大野泰雄、マイクロドーズ試験の国内外の動向. 平成18年度がん研究助成金 がん診療における分子イメージングの臨床応用に関する研究. 国立がんセンター(2007.1.12)
 - 3) 大野泰雄、ICH-M3の現状と展望” ICH-M3: 臨床試験実施との関係における非臨床試験実施タイミングに関するガイダンス”. APDD キックオフシンポジウム 東京(2007.2.16)
 - 4) 大野泰雄、マイクロドーズ試験に必要な安全性試験について. 第127回日本薬学会 レギュラトリーサイエンス部会シンポジウム「臨床試験実施に必要な非臨床試験のハーモナ

イゼーションにむけて」 富山(2007.3.30)

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 知的所有権の取得状況
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

表 1：探索的臨床試験の分類とそれを実施するために必要な最少の毒性試験の範囲についての FDA あるいは欧米の動向

探索的臨床試験の形	毒性試験/安全性薬理試験の範囲	毒性試験での用量レベルと評価指標
開発候補物質		
I型探索的臨床試験（マイクロドーズでの単回投与試験）*	適切な動物種を用いた臨床投与経路での拡大急性毒性試験。（in vitro の代謝データで適切と判断されるならば、通常、げっ歯類）	NOAEL（Allometric で100 倍以上の安全域をとる）。用量は100 μg 以下でかつ薬効用量の1/100 を超えない。
II型探索的臨床試験（臨床用量以下での臨床試験、薬効発現機構（MOA）に相当する臨床試験）	臨床での開始用量と用量漸増スキーム設定のための代替法、修飾毒性試験、薬理試験、遺伝毒性試験、及び単回投与毒性試験*（例えば、臨床薬力学的指標を発現させるための用量戦略に基づき、2種の動物を用いた短期の毒性試験や修飾毒性試験或いは安全性試験が、状況によっては、候補薬物の臨床での安全な開始用量決定に役立つ。また、状況によっては、臨床開発候補物質を用いた化学的な証拠に基づき最も適切な動物種が確立されたならば、その1種の動物種が良い。しかし、血液学のおよび組織病理学的に適切な指標が含まれているべきである。）	ヒトでの最高暴露レベル（Cmax またはAUC）から10倍以上の安全域を2種の動物で確認することで、ヒトにおける安全性を確保できる。
III型探索的臨床試験（臨床用量での単回投与試験）	1種目の動物で2週間の反復投与毒性試験（in vitro の代謝データで良いとされるならば、通常、げっ歯類）	NOAEL（allometric で4倍以上の安全域、AUCで2倍以上の安全域を確保する）。毒性プロファイル必要
	2種目の動物でのTK、組織病理、臨床薬理データを伴う単回投与毒性試験。用量は1番目の種でNOAEL相当の用量（最初の動物がげっ歯類の場合は、通常、非げっ歯類を用いる）	最初の種の感度が十分であることを確認
	遺伝毒性試験（in vitro 復帰突然変異、in vitro 又は in vivo の染色体異常試験）	陽性又は陰性
	安全性薬理試験（コアバッテリー）	生命維持に肝要な機能
III型探索的臨床試験（臨床用量での7日間までの反復投与試験）	1種目の動物で2週間の反復投与毒性試験（in vitro の代謝データで良いとされるならば、通常、げっ歯類）	NOAEL（allometric で4倍以上の安全域、AUCで2倍以上の安全域を確認）。毒性プロファイル必要
	2種目の動物種で7日間の反復投与毒性試験。用量は1番目の種でNOAEL相当の用量（最初の動物がげっ歯類の場合は、通常、非げっ歯類を用いる）	
	遺伝毒性試験（in vitro 復帰突然変異、in vivo 又は in vivo の染色体異常試験）	陽性又は陰性
	安全性薬理試験（コアバッテリー）	生命維持に肝要な機能

表2：単回経口投与による致死量(LD)が2mg/kg以下の物

物質名		動物種	致死量 LD (mg/kg)	参考資料 データベース
Botulinum toxin	LD50		0.00001	②
MCD peptide [#]	LD50	Rat	0.000647	④
TCDD	LD50*		0.001	②
Abrin A toxin	LDLo	Human	0.007	③
Abrin C toxin	LDLo	Human	0.007	③
Saxitoxin	LDLo	Human	0.010	⑥
Tetrodotoxin	LDLo	Human	0.010	⑥
Amanitin	eLD	Human	0.10	⑥
Dinophysistoxin-1 [#]	LD	Mouse	0.16	④
Digitoxin	LDLo	Cat	0.18	RTECS①
Digoxin	eLD	Human	0.20	⑤
Okadaic acid [#]	LD	Mouse	0.2	④
Neosaxitoxin [#]	LD50	Rat	0.21	⑥
Lectin, from Ricinus communis agglutinin RCA120	LDLo	Man	0.30	③
Lectin, from Ricinus communis agglutinin RCA60	LDLo	Man	0.30	③
Lectin, from Ricinus communis, Ricin, A chain	LDLo	Man	0.30	③
Phosphorus (White)	LDLo	Infant	0.30	⑥
Scilliroside	LD50	Mouse	0.35	⑥
Veratrum alkaroid [#]	LD	Human	0.40	⑤⑥
Cantharidin	LDLo	Human	0.43	③RTECS
Potassium antimony tartrate trihydrate	TDLo	Human	0.4286	RTECS
Fluoroacetic acid	LD50	Guinea-pig	0.468	RTECS
Methadone HCl	LDLo	Child	0.50	③
4-Aminopyridine	LDLo	Human	0.59	③MEDITEXT
Nicotin	LD	Human	0.60	⑤
Diethyl 4-nitrophenyl phosphate	LD50	Mouse	0.76	RTECS
Aconitine	LD50	Mouse	1.0	③RTECS
Atropin sulfate	eLD	infant	1.0	⑤⑥
Norephedrine HCl [#]	LD	infant	1.0	⑤
(+/-)-Warfarin	LD50	Pig	1.0	RTECS
Tris(2-chloroethyl)amine HCl	LD50	Mouse	1.1	③
Anisatin [#]	LD	Dog	cal. 2-2	⑥
Aldrin	LDLo	infant	1.3	⑥RTECS
Endrin	LD50	Mouse	1.4	RTECS
Alphaprodine HCl	LDLo	Human	1.4	③
Arsenic (III) oxide	LDLo	Human	1.4	③RTECS
Dipyridamole	LDLo	Man	1.4	③
Chromomycin A3	LD50	Mouse	1.4	③RTECS
Daifacinon [#]	LD50	Rat	1.5	⑥
Diphenoxylate HCl	LDLo	Child	1.5	③
Busulfan	LD50	Rat	1.9	③
Mesaconitine [#]	LD50	Mouse	1.9	④⑥RTECS
Cycloheximide, (+)-	LD50	Rat	2.0	③RTECS
Dimethylethanolamine, N-N-	LD50	Rat	2.0	③
Fluoroacetamide	LDLo	Human	2.0	③

Methanesulfonyl fluoride	LD50	Rat	2.0	③RTECS
Sodium metaarsenite	LD50	Child	2.0	③

LD50*:経口投与か否か明確に記載されていなかったもの。

#: ヒトのデータ或いはデータが足りずLDの種差を検討できなかったもの。

①: Merck Index

②: Casarett & Douls 5th ed. P14

③: Sigma & Aldrich, Library of Chemical safety data, 2nd ed.

④: 中毒百科 内藤裕著

⑤: 急性中毒情報ファイル第3版

⑥: 急性中毒処理の手引き

表3：経口投与での致死量の種差

	ヒト#1 LDLo	マウス#2 LD50 max	ラット#2 LD50 max	イヌ#2 LD50 max	動物 /ヒト#3	註
Abrin A toxin	0.007	6638			948286	
Aconitine	28	1			0.04	
Aldrin	1.25*	18	38	65	52.0	*Child, TDLo (human)=14mg/ kg
Alphaprodine HCl	1.4	68	90		64	
Aminopyridine	0.59	658	1050	3700	6271	
Antimony potassium tartrate trihydrate	1.857	600	115		323	
Arsenic (III) oxide	1.429	20	40	10*	28	*: LDLo
Atropine	1	548			548	
Barium carbonate	11		418		38.0	
Botulinum toxin A	2.14	81.4	96		44.9	units/kg
Busulfan	4	110	15*		27.5	*LDLo
Cantharidin	0.428	1		60	140	
Chlordane	29		283		9.8	
Colchicine	0.086	5.886	2.5		68	
diethyl p-nitrophenyl phosphate	14	0.76	1.8	0.76	0.1	
Digitoxin	0.071	14*	56	0.3	789	*: sc
Digoxin	0.2			0.3	1.5	
Diphenoxylate	1.515	337	221		222	
Dipyridamole#4	1.429	2150	8400	400	5878	
Emetine	2.941	12	12		4.1	
Endrin	171	8	3	1.37	0.0	
Fluoroacetamide	2		5.75		2.9	
fluoroacetic acid	0.714	7	4.68		9.8	
Methadone HCl	0.5	70	95	26*	190	*: iv LDLo
nicotin	0.6	24	50		83.3	
Phosphorus (White)	22			2*	0.1	LDLo
Saxitoxin	0.01	0.263	0.192	0.181	26.3	
Scilliroside	100	13	1.1	300	3.0	
Sodium metaarsenite	2		41		21	
Tetrodotoxin	0.01	0.334			33.4	
Thallium(I) sulfate	2.166	35	16	16	16	
Warfarin	6.667*	323	1.6	3	48	*: TDLo

#1: ヒトでの LDLo は調査したデータの中で最も低かった最低致死量。

#2: 動物での LD50 max は調査したデータの中で最も大きい 50%致死量を示した。

#3: ヒト LDLo で実験動物の中で最も大きい LD50 max 値を割った値。

#4: ヒトでの LDLo はヒト常用量 25-100mg/回より低い。

これらのデータは表2に示した資料から得られたものである。

表4：トキシン類の毒性発現用量

トキシン名	動物	毒性指標*	投与経路**	LD (μg/kg)
Tetanus toxin	Mouse	LDLo	iv	0.000028
Tetanus toxin	Mouse	LDLo	ip	0.000100
Clostridium tetani toxin	Mouse	LD50	sc	0.00010
Tetanus toxin	Mouse	LD50	iv	0.0010
Vero toxin VT2	Mouse	LD50	-	0.001
Clostridium tetani toxin type BE	Mouse	LD50	sc	0.002
Tetanus toxin	Mouse	LD50	sc	0.003
Shiga toxin 2	妊娠 Mouse	TDLo	iv	0.003
Clostridium tetani toxin type S	Mouse	LD50	sc	0.004
Shiga toxin 2	Rat	TDLo	iv	0.010
Diphtheria toxin	Mouse	LD50	iv	0.010
Shiga toxin 2	Rat	LD	iv	0.020
Vero toxin VT2vp1	Mouse	LD50	-	0.022
Shiga toxin 2	Mouse	LD50	iv	0.025
Vero toxin VT2vh	Mouse	LD50	-	0.027
Vero toxin VT1	Mouse	LD50	-	0.030
Shiga toxin 1	Rat	TDLo	iv	0.040
Clostridium sordellii toxin	Mouse	LD50	iv	0.050
Vero toxin VT2vp2	Mouse	LD50	-	0.055
Batrachotoxin	Mouse	LD50	iv	0.100
Epsilon-Toxins	Mouse	LD50	iv	0.100
Shiga toxin 1	Rat	LD	iv	0.100
Diphtheria toxin	Mouse	LDLo	ip	0.100
Crotalus toxin	Mouse	LDLo	ip	0.200
Toxin A, Clostridium difficile	Mouse	TDLo	po	0.240
Clostridium difficile toxin B	Mouse	TDLo	po	0.240
Diphtheria toxin	Guinea Pig	LDLo	-	0.240
Diphtheria toxin	Mouse	LD50	ip	0.300
Diphtheria toxin	Mouse	LD50	sc	0.300
Clostridium sordellii toxin	Mouse	LD50	sc	0.300
Diphtheria toxin	Child	LDLo	Parenteral	0.488
Tityus serrulatus scorpion venom fraction F	Mouse	TDLo	iv	0.600
Modeccin	Mouse	LD50	-	1.25
Modeccin	Rat	LD50	ip	1.30
Batrachotoxin	Mouse	LD50	Ip/sc	2.00
Gymnodinium breve toxin	Mouse	LD50	sc	2.00
Batrachotoxin***	Mouse	LD50	sc	2.00
Tityus serrulatus scorpion venom fraction F	Rat	LDLo	Parenteral	2.40
Clostridium difficile toxin B	Mouse	LD	sc	5.00
Diphtheria toxin	Hamster	LD50	ip	6.50
Androctonus australis hector neurotoxin II	Mouse	LDLo	sc	9.00
Androctonus australis hector neurotoxin II	Mouse	LD50	sc	9.00
Alpha-Toxin (Naja nigricollis)	Mouse	LDLo	iv	9.00
CN Toxin 2	Mouse	LDLo	sc	9.75

Toxin, aphanizomenon flos-aquae (algae)	Mouse	LD50	ip	10.0
Androctonus australis toxin	Mouse	LD50	iv	10.0
Atelopus zeteki toxin	Mouse	LD50	ip	11.0
Diphtheria toxin	Hamster	TDLo	ip	11.0
Conotoxins	Mouse	LD50	ip	12.0
Toxin GTX (sub 2)	Mouse	LD50	ip	12.0
Clostridium difficile toxin	Mouse	LD50	ip	13.0
Androctonus australis hector neurotoxin I	Mouse	LD50	sc	17.0
Androctonus australis hector neurotoxin I	Mouse	LDLo	sc	19.0
Conotoxins	Mouse	LD50	-	20.0
Toxin Aah III	Mouse	LDLo	sc	21.0
Toxin Aah III	Mouse	LD50	sc	24.0
Toxin BE 4 (Microcystis aeruginosa)	Mouse	LD50	ip	25.0
Staphylococcal enterotoxin B	Monkey	LDLo	iv	25.0
Pasteurella pestis toxin B	Mouse	LD50	ip	32.0
Stomolophus meleagris toxin	Mouse	LD50	iv	32.0
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Mouse	LD50	ip	32.5
Pasteurella pestis toxin A	Mouse	LD50	ip	40.0
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Mouse	LDLo	ip	43.0
Gymnodimine	Mouse	TDLo	ip	44.5
Plotosus lineatus toxin I	Mouse	LD50	iv	49.0
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Rat	LD50	ip	50.0
Radianthus macrodactylus	Mouse	LD50	ip	50.0
Amanita phalloides toxin	Rat	LD50	iv	50.0
Dendroaspis polylepis polylepis Toxin E1	Mouse	LD50	ip	60.0
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Mouse	TDLo	ip	64.0
Yersinia pestis toxin B	Mouse	LD50	ip	72.0
Naja naja atra neurotoxin	Mouse	LD50	ip	74.0
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Mouse	TDLo	ip	75.0
Toxin Pa A	Mouse	LD50	iv	76.0
Naja naja atra neurotoxin	Mouse	LD50	im	91.0
Naja naja atra neurotoxin	Mouse	LD50	sc	91.0
Atergatis floridus toxin	Mouse	LD50	ip	95.0
Yersinia pestis toxin A	mouse	LD50	ip	100
Toxin 4, Naja naja naja	Mouse	LDLo	iv	100
Toxin 3, Naja naja naja	Mouse	LDLo	iv	100
Zearalenone	Rat	TDLo	sc	100
Physalia physalis toxin	Rat	LD50	iv	100
Gymnodimine	Mouse	LDLo	ip	100
Clostridium oedematiens type A toxin	Mouse	LD50	im	100
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Rat	LDLo	ip	106
CM-14 toxin	Mouse	LD50	sc	120
Toxin BE 4 (Microcystis aeruginosa)	rat	LD50	ip	122

Toxin Aah IV (Androctonus australis hector)	Mouse	LD50	sc	123
Amanita phalloides toxin	Mouse	LD50	iv	123
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Mouse	LD50	ip	127
Venom, snake, Acanthophis antarcticus B	Mouse	LD50	im	130
Heloderma horridum horridum toxin	Mouse	LD50	iv	135
Gymnodinium breve toxin	Mouse	LD50	iv	145
Agkistrodon halys pallas toxin	Mouse	LD50	ip	150
Toxin III (Crotalus)	Mouse	LD50	ip	150
Chironex fleckeri toxin	Mouse	LDLo	Parenteral	167
Tityus serrulatus toxin I	Mouse	LD50	sc	175
Staphylococcal enterotoxin B	Mouse	LDLo	ip	200
Anabaena flos-aquae toxin	Mouse	LD50	ip	200

*: LD50: 50% lethal dose, LDLo: Lowest reported lethal dose, TDLo: Lowest reported toxic dose

**：投与経路が不明なものは” - “で示した。

***: M e r k I n d e x。これ以外は RTECS から引用した。

表5：トキシン類による現れる毒性徴候

トキシン名	動物	毒性徴候
Shiga toxin 2	Mouse	Effects on Fertility - Post-implantation mortality (e. g., dead and or resorbed implants per total number of implants)
Shiga toxin 2	Rat	Changes in renal tubules (including acute renal failure, acute tubular necrosis). Urine volume increased. Weight loss or decreased weight gain
Shiga toxin 1	Rat	Urine volume increased. Renal function tests depressed. Changes in fluid intake. Weight loss or decreased weight gain
Toxin A, Clostridium difficile	Mouse	Gastrointestinal hypermotility. diarrhea
Clostridium difficile toxin B	Mouse	Gastrointestinal hypermotility. diarrhea
Diphtheria toxin	Child	Respiratory consolidation. Changes in tubules (including acute renal failure, acute tubular necrosis). Skin corrosive
Tityus serrulatus scorpion venom fraction F	Mouse	Brain and Coverings - Recordings from specific arc-as of CNS. Brain and Coverings - Other degenerative changes. Behavioral - Convulsions or effect on seizure threshold
Tityus serrulatus scorpion venom fraction F	Rat	Changes in surface EEG. Somnolence (general depressed activity). Convulsions or effect on seizure threshold
Diphtheria toxin	Hamster	Behavioral - Convulsions or effect on seizure threshold, Change in motor activity (specific assay)
Dendroaspis polylepsis polylepsis Toxin I	Mouse	Convulsions or effect on seizure threshold. Ataxia. Arrhythmias (including changes in conduction)
Toxin, aphanizomenon flos-aquae (algae)	Mouse	Dyspnea
Conotoxins	Mouse	Dyspnea has been reported, but respiratory depression is usually absent (Halstead, 1980) Buckley & Proges, 1956). Death in experimental animals due to alpha conotoxins is due to respiratory muscle paralysis (Marshall & Harvey, 1990). Doses of 20 to 80 micrograms per kilogram produced neuromuscular blockage in cats (Marshall & Harvey, 1990).
Staphylococcal enterotoxin B	Monkey	Nausea or vomiting. Hypoglycemia. Hyperglycemia
Toxin BE 4 (Microcystis aeruginosa)	Mouse	Change in clotting factors
Toxin from the sea anemone Bunodosoma granulifera	Rat	Tremor, Convulsions or effect on seizure threshold
Toxin, blue green alga, Microcystis aeruginosa	Mouse	Somnolence (general depressed activity)

Toxin, blue green alga, <i>Microcystis aeruginosa</i>	Mouse	Changes in liver weight. Changes in serum composition (e. g., TP, bilirubin, cholesterol). Biochemical changes in multiple enzyme effects
Gymnodimine	Mouse	Flaccid paralysis without anesthesia (usually neuromuscular blockage)
<i>Amanita phalloides</i> toxin	Rat	Hemolysis with or without anemia
Toxin, blue green alga, <i>Microcystis aeruginosa</i>	Rat	Hepatitis (hepatocellular necrosis), zonal. Changes in renal tubules (including acute renal failure, acute tubular necrosis)
HT-2 toxin	Rat	Convulsions or effect on seizure threshold, Fluid intake, Ataxia
Toxin, blue green alga, <i>Microcystis aeruginosa</i>	Mouse	Hepatitis (hepatocellular necrosis), diffuse. Hemorrhage
<i>Naja naja atra</i> neurotoxin	Mouse	Flaccid paralysis without anesthesia (usually neuromuscular blockage). Convulsions or effect on seizure threshold. Dyspnea
Zearalenone	Rat	Maternal Effects - Uterus, cervix, vagina
Gymnodimine	Mouse	Flaccid paralysis without anesthesia (usually neuromuscular blockage)
Toxin, blue green alga, <i>Microcystis aeruginosa</i>	Rat	Biochemical changes in multiple enzymes and Lipids including transport
Toxin BE 4 (<i>Microcystis aeruginosa</i>)	rat	Changes in Liver. Change in clotting factors
<i>Amanita phalloides</i> toxin	Mouse	Somnolence (general depressed activity), Convulsions or effect on seizure threshold, Changes in renal systems
Toxin, blue green alga, <i>Microcystis aeruginosa</i>	Mouse	Hepatitis (hepatocellular necrosis), diffuse. Hemorrhage
Venom, snake, <i>Acanthophis antarcticus</i> B	Mouse	Flaccid paralysis without anesthesia (usually neuromuscular blockage). Dyspnea
<i>Gymnodinium breve</i> toxin	Mouse	Ataxia. Respiratory depression
<i>Agkistrodon halys pallas</i> toxin	Mouse	Dyspnea
<i>Anabaena flos-aquae</i> toxin	Mouse	Dyspnea