

Figure 1. Treatment schedule. CDDP, cisplatin; 5-FU, 5-fluorouracil.

primary tumor. The lateral, anterior and posterior borders of the field were 1–2 cm beyond the borders of the primary tumor. Tumor size was defined by endoscopy (fiducial markers were used when needed). Elective nodes were not included. Two fields were treated each day, and port films were obtained at the beginning of treatment and the off-cord treatment, or more often if needed. Lung inhomogeneity corrections were not used.

All radiation simulator and port films and radiotherapy charts were reviewed by one radiation oncologist (S.I.). The JCOG criteria for assessing and scoring minor and major deviations, which are similar to the RTOG criteria, were used.

For patients with increased creatinine (i.e. 1.3 mg/dl or high), the cisplatin dose was reduced by 50%. If the creatinine level increased up to 2.0 mg/dl, protocol treatment was terminated. Radiotherapy was suspended when the WBC count decreased under 2000/ μ l, when the platelet count decreased under 50 000/ μ l, or when the hemoglobin decreased under 8.0 mg/ μ l. Radiotherapy was resumed if the WBC count was recovered 3000/ μ l or more, the platelet count was recovered 75 000/ μ l or more and the hemoglobin was recovered 8.0 mg or more within 3 weeks. The study protocol was approved by the Clinical Trial Review Committee of the JCOG and by the institutional review board of each participating institution before activation.

RESULTS

Between December 1997 and June 2000, 72 patients were registered in this study from 16 institutions. Among these 72 patients, 66 were men and 6 were women, with a median age of 62 (range 41–75) years, and no ineligible patient was enrolled. The characteristics of the patients and their tumors are shown in Table 1. Seventy (97%) patients completed the protocol treatment. In two patients, the treatment was terminated early for the following reasons: one due to patient refusal and the other due to the existence of advanced colon cancer was observed during the course of chemoradiotherapy. %CR was 87.5% (63/72, 95% CI: 77.6–94.1).

Fifty-three patients were still alive at the time of follow-up at December 2004. The OS curve for all patients is shown in Fig. 2. The 4-year survival proportion was 80.5% (95% CI: 71.3–89.7).

Thirty-six relapses (20 major relapses and 16 minor relapses alone) of 72 patients were observed at the time of

Table 1. Patient characteristics

Characteristics	No. of patients
Sex	
Male	66
Female	6
Age	
Median	62
Range	41–75
History	
Hypertension	18
Diabetes	7
Cerebro-vascular disease	2
Ischemic heart disease	3
Tumor location	
Upper thoracic esophagus	10
Middle thoracic esophagus	45
Lower thoracic esophagus	17
Multiple lesions	
With	14
Without	58
Inactive multiple cancers in other organ	
No	60
Yes	12
Head and neck	6
Gastric	7
Lung	1

final follow-up. Among these 20 major relapses, 6 relapses (5 local relapses and 1 lymph node relapse) were inside of the radiation field, 13 relapses were outside of the radiation field (1 local relapse, 7 lymph node relapses and 6 distant metastases) and 1 relapse was both inside and outside of the radiation field. Six of the patients with 20 major relapse (5 local and 1 lymph node) safely received radical esophagectomy. All 16 patients with a minor relapses underwent endoscopic treatment.

A second primary cancer in other organs were observed in 18 of 72 patients; 6, stomach; 2, pharynx; 2, tongue; 1, prostate; 1, urinary bladder; 1, pancreas; 2, lung; 1, colon and lung; 1, pharynx and stomach; and 1, pharynx and prostate.

The major RFS curve is shown in Fig. 3. The median major RFS was not estimable (95% CI: 4.7 to not estimable), and the 4-year proportion of major RFS was 68.1% (95% CI: 57.3–78.8). The RFS curve is shown in Fig. 4. The median RFS was 4.3 years (95% CI: 1.9 to not estimable) and the 4-year proportion of RFS was 52.8% (95% CI: 41.2–64.3).

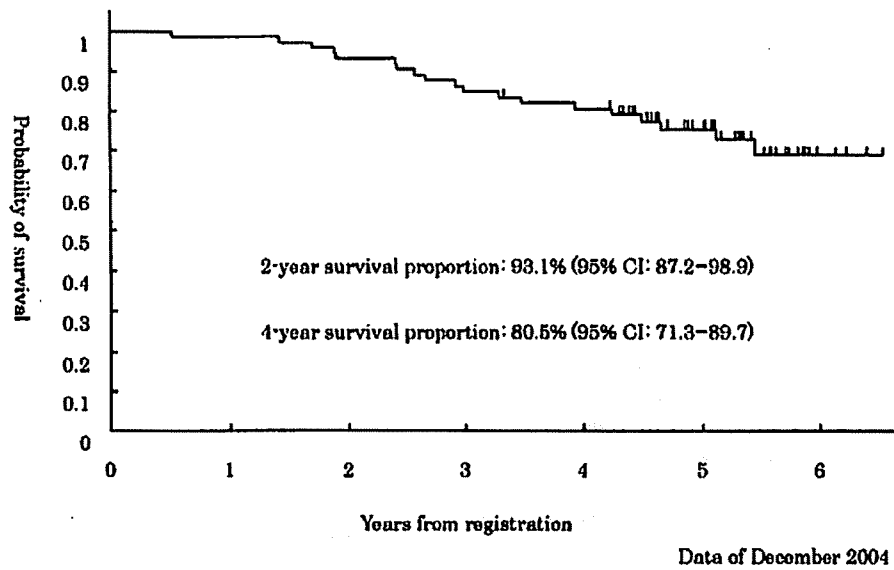


Figure 2. Overall survival. CI, confidence interval.

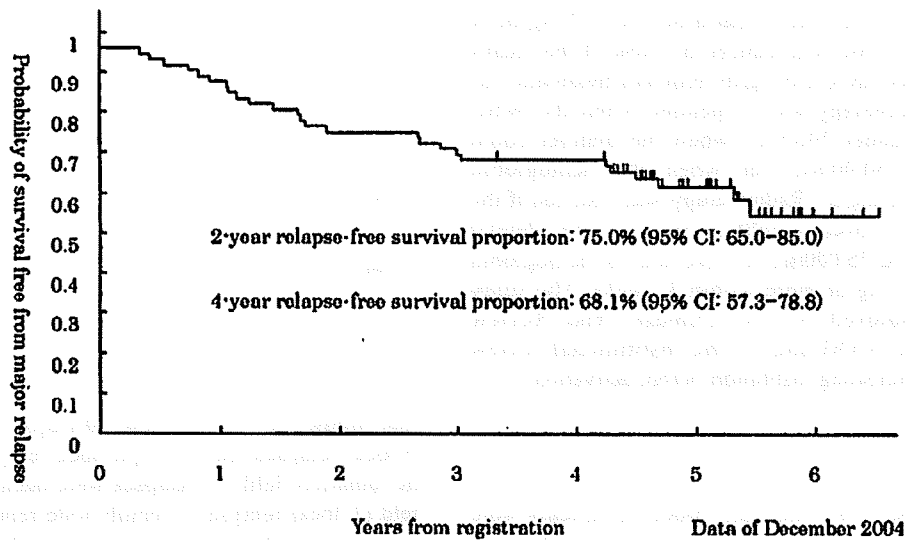


Figure 3. Major relapse-free survival.

The toxicities of the chemoradiotherapy are summarized in Table 2. Hematologic toxicity was dominant. No treatment-related deaths and serious (Grade 4) adverse events were observed.

The late toxicities are summarized in Table 3. One Grade 3 ischemic heart disease and two Grade 3 dyspnea were observed. No Grade 4 adverse event was observed.

As seen in Table 4, the percentage of patients with complete radiation therapy information was available for review at the time of the analysis was 87%. The incidence of acceptable and unacceptable deviations was 32% and 26%, respectively.

DISCUSSION

In this trial, %CR was high enough to reject the null hypothesis pre-specified in the study protocol. We concluded that concurrent chemoradiotherapy consisted of 5-FU plus cisplatin is promising for patients with Stage I ESCC who do not have indications for EMR.

The %CR was high (87.5%) comparing with that of the patients with advanced ESCC (21-47%) (6,13), the 4-year survival proportion was 80.5% (95% CI: 71.3-89.7), and equivalent to a result reported for esophagectomy in Stage I patients (~80%) (14).

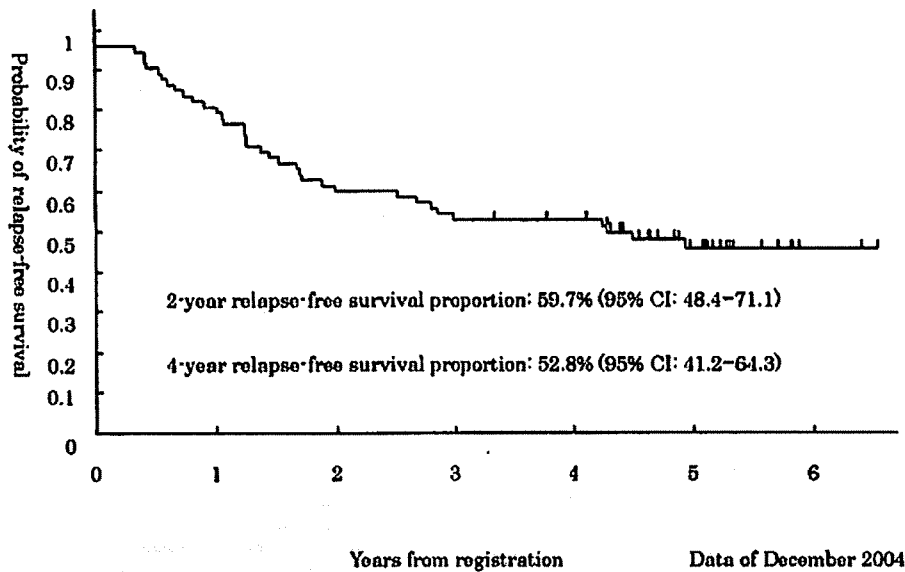


Figure 4. Relapse-free survival.

Table 2. Toxicities

	Grade					% Grade 3/4
	0	1	2	3	4	
Hematological						
Leukocyte	3	25	38	6	0	8
Neutrocyte*	18	19	32	2	0	2
Hemoglobin	47	16	9	0	—	0
Platelet	55	12	4	1	0	1
Non-hematological						
Total bilirubin	50	—	22	0	0	0
AST	47	23	1	1	0	1
ALT	42	27	2	1	0	1
PaO ₂	31	39	2	0	0	0
Creatinine	55	16	1	0	0	0
Nausea/vomiting	31	26	15	0	—	0
Stomatitis	52	19	1	0	0	0
Diarrhea	58	11	3	0	0	0
Esophagitis	22	41	9	0	0	0
Dyspnea	71	0	1	0	0	0
Neuropathy: sensory	69	3	0	0	0	0
Alopecia	61	11	0	—	—	0
Fever	67	4	1	0	0	0
Constipation	66	5	1	0	0	0

No. of cases (n = 72). AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; PaO₂, partial pressure of arterial oxygen. *One missing data.

Table 3. Late toxicities

	Grade					% Grade 3/4
	0	1	2	3	4	
Esophagitis	49	21	2	0	0	0
Arrhythmia	68	3	1	0	0	0
Dyspnea	59	5	6	2	0	2.8
Neuropathy: sensory	71	1	0	0	—	0
Neuropathy: motor	72	0	0	0	0	0
Cardiac ischemia	70	0	1	1	0	1
Pericarditis	58	12	2	0	0	0

No. of cases (n = 72).

Table 4. Quality review results for radiotherapy

Evaluation	No. of cases	%
Per protocol	21	29
Deviation, acceptable	23	32
Deviation, unacceptable	19	26
Not evaluable	3	4
Not available	6	8
Total	72	

No. of cases (n = 72).

With respect to the safety, only two Grade 3 adverse events were observed during treatment, GOT elevation ($n = 1$) and GPT elevation ($n = 1$), and no Grade 4 toxicity was reported. These results seemed promising because these toxicities were less severe than observed in other trials in which chemoradiotherapy performed in more advanced disease (6,15). As to late toxicities due to chemoradiotherapy, Grade 3 toxicities such as ischemic heart disease ($n = 1$) and dyspnea ($n = 1$) were observed; however, all of them were treatable.

We found two possible reasons which might have contributed to the mildness of the toxicities in this trial: (i) the patient's PS was good (ECOG PS was 0) and (ii) the radiation field was intentionally limited to enable salvage surgery in case of relapse. The limited radiation field may also have contributed to the safe salvage surgery after recurrence of the disease. The proportion of patients who received salvage surgery after chemoradiotherapy seems to be appropriate in this population. However, there is no valid comparable data for it.

During or after the chemoradiotherapy, more recurrence in the esophagus is likely to occur because the esophagus itself remains in contrast to after surgery. In this trial, the 4-year RFS was 52.8% (95% CI: 41.2–64.3) when mucosal recurrences removable with EMR (minor relapse) were counted as event. When such recurrence was not counted, the 4-year major RFS was 68.1% (95% CI: 57.3–78.8). Although the recurrences were occurred in this way, the survival proportion was high because most of the minor relapses were salvaged by EMR.

The quality review results for radiotherapy were not optimal in this trial, because there were no dummy run study and no early review before or just after the start of treatment. These are important items to keep the high quality of clinical trials and proactive quality assurance programs have been introduced in JCOG trials since 2002.

In this trial, the survival proportion at 4 years was high and the toxicities were mild, so we are now conducting a Phase III trial (JCOG0502) to demonstrate non-inferiority of chemoradiotherapy comparing with surgery for the patients with clinical Stage I ESCC to confirm the results of this study.

Acknowledgements

We thank to Ms Yukiko Fujikura, Ms Aya Kimura, Ms Harumi Kaba and Dr Miyuki Niimi for their data management, Dr Naoki Ishizuka for statistical analysis and Ms Mizuki Yamauchi for their support in writing manuscript.

Funding

This work was supported in part by grants-in-aid for Cancer Research (10-8, 11S-4, 14S-4, 17S-5) from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

Conflict of interest statement

None declared.

References

1. Kato H, Tachimori Y, Mizobuchi S, Igaki H, Ochiai A. Cervical, mediastinal, and abdominal lymph node dissection (three-field dissection) for superficial carcinoma of the thoracic esophagus. *Cancer* 1993;72:2879–82.
2. Holscher AH, Bollschweiler E, Schneider PM, Siewert JR. Prognosis of early esophageal cancer. Comparison between adeno- and squamous cell carcinoma. *Cancer* 1995;76:178–86.
3. Kato H, Tachimori Y, Watanabe H, Iizuka T. Evaluation of the new (1987) TNM classification for thoracic esophageal tumors. *Int J Cancer* 1993;53:220–3.
4. Lerut T, De Leyn P, Coosemans W, Van Raemdonck D, Scheys I, LeSaffre E. Surgical strategies in esophageal carcinoma with emphasis on radical lymphadenectomy. *Ann Surg* 1992;216:583–90.
5. Herskovic A, Martz K, al-Sarraf M, Leichman L, Brindle J, Vaitkevicius V, et al. Combined chemotherapy and radiotherapy compared with radiotherapy alone in patients with cancer of the esophagus. *N Engl J Med* 1992;326:1593–8.
6. Ohtsu A, Boku N, Muro K, Chin K, Muto M, Yoshida S, et al. Definitive chemoradiotherapy for T4 and/or M1 lymph node squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Clin Oncol* 1999;17:2915–21.
7. Petrovich Z, Langholz B, Formenti S, Luxton G, Astrahan M. Management of carcinoma of the esophagus: the role of radiotherapy. *Am J Clin Oncol* 1991;14:80–6.
8. Okawa T, Tanaka M, Kita M, Kaneyasu Y, Karasawa K, Ide H, et al. Radiotherapy for superficial esophageal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;30:959–64.
9. Coia LR, Engstrom PF, Paul AR, Stafford PM, Hanks GE. Long-term results of infusional 5-FU, mitomycin-C and radiation as primary management of esophageal carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991;20:29–36.
10. International Union Against Cancer. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 4th edn. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1987.
11. Simon R. Design and conduct of clinical trials. In: *Cancer-Principles and Practice of Oncology*. Philadelphia: J.B. Lippincott Company 1993.
12. Tobinai K, Kohno A, Shimada Y, Watanabe T, Tamura T, Takeyama K, et al. Toxicity grading criteria of the Japan Clinical Oncology Group. The Clinical Trial Review Committee of the Japan Clinical Oncology Group. *Jpn J Clin Oncol* 1993;23:250–7.
13. Hoff SJ, Stewart JR, Sawyers JL, Murray MJ, Merrill WH, Adkins RB, et al. Preliminary results with neoadjuvant therapy and resection for esophageal carcinoma. *Ann Thorac Surg* 1993;56:282–6; discussion 6–7.
14. Igaki H, Kato H, Tachimori Y, Daiko H, Fukaya M, Yajima S, et al. Clinicopathologic characteristics and survival of patients with clinical Stage I squamous cell carcinomas of the thoracic esophagus treated with three-field lymph node dissection. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;20:1089–94.
15. Coia LR. Chemoradiation as primary management of esophageal cancer. *Semin Oncol* 1994;21:483–92.

非臨床試験に対する薬事規制 (GLPと非臨床に関するガイドライン)

Pharmaceutical regulation for the non-clinical test (GLP and Safety Guidelines)

●¹⁾ 国立がんセンター東病院薬剤部、近藤直樹^{1),2)}
●²⁾ 国立がんセンター東病院臨床開発センター臨床試験支援室、佐藤暁洋²⁾
●³⁾ 独立行政法人医薬品医療機器総合機構信頼性保証部、高田幸一³⁾

新医薬品の製造販売承認申請に際しては、その申請に係る品質、有効性および安全性を裏付けるための試験成績を厚生労働省に提出しなければならないが、当該資料は厚生労働大臣の定める基準に従って収集され、かつ、作成されたものでなければならないことが薬事法第14条第3項において規定されている。これはすなわち、医薬品として厚生労働大臣の製造販売承認を得るためには「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令 (good laboratory practice : GLP)」、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令 (good clinical practice : GCP)」、「申請資料の信頼性の基準 (薬事法施行規則第43条)」に従った試験成績の提出が義務づけられることを意味する。

これまで医薬品の開発は専ら製薬企業により行われ、製薬企業は厚生労働省から示された上記基準や関連ガイドラインに適合すべく、その体制整備と厳密な運用を図り、画期的な新医薬品を臨床現場に提供する役割を果たしてきた。

他方、近年の科学の進歩に伴い、大学や研究機関の研究者の成果を迅

速に実用場で提供すべきとの必要性が高くなり、基礎と実用をつなぐトランスレーショナル・リサーチの重要性が増大している。しかしながら、製薬企業の開発環境と大学や研究機関の研究環境との医薬品開発に対する規制要件へのレベルの差は小さくなく、大学や研究機関のシーズを効率よく製薬企業へ引き継ぐことができないと指摘されており¹⁾、早期実用化が望まれる医薬品を迅速に臨床現場に提供することができない状況にある。

これを解決するためには、大学や研究機関の研究者が研究開発の早い段階から薬事法を意識し、製造販売承認申請を視野に入れた研究を進めることが肝要となる。

そこで本稿では、医薬品開発における非臨床試験の役割と意義、さらに非臨床試験領域における薬事規制や関連ガイドラインの要点を概説する。

医薬品開発における非臨床試験の役割と意義

新医薬品の開発過程は、品質、非臨床、臨床の分野に大別され、動物およびヒトから得られた安全性情報の評価を行いながら段階的に進められるものである。非臨床試験は動物を対象として、「対象疾患に対して有効性のある医薬品のスクリーニング」、「医薬品の特性の明確化」、「ヒ

トに投与するに際しての安全性の検討」、「薬物相互作用の検討」、「適切な臨床試験デザイン構築のための情報収集」を主たる目的に実施され²⁾、収集されたデータは、承認申請前の開発段階においては、被験者の安全性を確保する臨床試験の実施のための重要な情報源となり、承認申請後の承認審査の段階では、有効性、安全性、体内動態などの観点から医薬品としての承認を妥当と判断するために必要な科学的な根拠を示すためのものとして重要となる。

これはすなわち、承認申請前の開発段階における非臨床試験には、臨床試験への移行前のみならず、移行後を含めた臨床開発の全段階を通じて、医薬品の開発の薬理作用および毒性作用を明らかにする役割があるということである。

言い換えると、臨床試験開始前までには、臨床試験の状況下であらわれる可能性のある毒性の特徴を明らかにし、臨床試験を行う際の安全な初回投与量を推定すること、臨床上の有害作用をモニターするためのパラメータを明らかにしておくことが最低限必要となる。また、臨床試験開始後は、先行する臨床試験の成績に加え、臨床試験と並行して実施された非臨床試験成績から十分な安全性が実証されていることに基づいて行わなければならない。

特に臨床または非臨床で認められた重篤な有害所見は、臨床試験の継続に影響することもあり、その際には非臨床試験の追加実施やすでに得られている臨床での有害事象の再評価が必要となる。これは、非臨床試験と臨床試験との間の不断のフィードバックを要する動的な過程であることを意味する。

他方、承認申請後の承認審査の段階における非臨床試験の役割としては、申請資料中で示された非臨床試

^{1),2)} Naoki Kondo, ²⁾ Akihiro Sato,
³⁾ Kouichi Takada
¹⁾ Pharmacy Division, National Cancer Center Hospital East, ²⁾ Clinical Trial Unit Research Center for Innovative Oncology, National Cancer Center Hospital East, ³⁾ Office of Conformity Audit, Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

表1 非臨床試験の主たる分類と代表的試験

薬理試験	「効力を裏付ける試験」「副次的薬理試験」「安全性薬理試験」「その他の薬理試験」
薬物動態試験	「吸収・分布・代謝・排泄に関する試験」「トキシコキネティクス試験」
毒性試験	「単回投与毒性試験」「反復投与毒性試験」「遺伝毒性試験」「生殖発生毒性試験」

験成績において、製造販売承認にあたって懸念すべき点がないかを評価するための重要なデータとなりうることである。つまり、「ヒトにおける医薬品の有効性、安全性を評価するうえで、適切かつ十分な検討が行われているか」、「薬理的な作用機序、薬物動態学的プロファイルなど、非臨床試験と臨床試験における各結果において大きく矛盾するような事項が存在していないか」、「臨床試験においては認められていないが、ヒトにおける新医薬品の安全性を評価するうえで懸念するような結果が示されていないか」について確認するためのデータとして重要な役割を果たしている。

非臨床試験領域の各分野と関連ガイドライン

医薬品の承認申請に必要な非臨床試験は主として、薬理試験、薬物動態試験、毒性試験に分類され、その代表的な試験は表1に示すとおりである¹⁾。

1. 薬理試験

効力を裏付ける試験とは、被験物質により試験内容に相違はあるが、期待している効能・効果を裏付ける薬理試験をいう。たとえば、抗悪性腫瘍薬の場合における抗腫瘍作用や、抗菌薬における *in vitro* の抗菌力試験などである。

本試験は、疾患モデル動物などを用いた効力の検討、*in vivo*、*in vitro* などの試験系を用いた効力の

検討を行うことにより、効果発現の作用機序についても可能な限り詳細な検討を行い、目的とする治療効果の考察にあたって主たる作用機序が明確になるよう留意しなければならない。さらに、原則として臨床で予定される同一の投与経路により評価すること、臨床用量における血中濃度などを考慮して、臨床での効力を裏付ける作用を明らかにするとともに、臨床における作用発現の可能性の大小を判断したうえで、その薬物の作用のプロフィールを明らかにすること、試験結果の評価に際しては、統計学的解析結果に基づき、客観的な考察を行うこと、既承認薬の同種・同効薬または薬理的に類似の薬物との作用のプロフィール、効力比などの比較に留意することなどについて考慮すべきである²⁾。

副次的薬理試験とは、効力を裏付ける試験と併せて薬理試験の種類と程度を全般的に把握し、被験物質が有する薬理作用のプロフィールを明らかにする試験をいう。本試験は原則「一般症状および行動に及ぼす影響」、「中枢神経系に及ぼす影響」、「自律神経系および平滑筋に及ぼす影響」、「呼吸・循環器系に及ぼす影響」、「消化器系に及ぼす影響」、「水および電解質代謝に及ぼす影響」などの項目を検討することにより、臨床適用時に発現する可能性がある副作用を予測するうえで有用な情報源となる。さらに、その対策を講ずるうえでの重要な情報が得られることに加え、生体機能に及ぼす影響のうち、毒性試験によっては必ずしも明

らかにすることが困難な有害作用についても考慮して実施される。

なお、認められた副次的薬理作用のうち、主なものについてはその作用機序を検討するとともに、臨床試験において重篤な副作用が認められた場合には、本試験に立ち戻ってその発現機序等を検討することが望ましいとされている。

安全性薬理試験とは、治療用量およびそれ以上の曝露に関連した被験物質の生理機能に対する潜在的に望ましくない薬力学的作用を検討する試験をいい、ヒトの安全性に関連のあると思われる被験物質の望ましくない薬力学的特性を特定すること、毒性試験もしくは臨床試験で認められた被験物質の有害な薬力学的または病態生理学的作用を評価すること、これまで認められた、もしくは危惧される薬力学的有害作用の機序を検討することを目的とする。

特に、心・血管系、呼吸および中枢神経系のような生命維持を司る器官系に対する被験物質の作用を検討することが重要な目的となる。本試験は科学的に妥当と考えられる範囲で毒性および薬物動態試験での情報についても考慮し、GLPを準用して実施することが求められている。なお、再分極に関連した心室頻拍(たとえば torsades de pointes)に対するリスクの検討に望ましいアプローチを補完すべく、心室再分極を遅延させる可能性を評価するための非臨床試験を行う必要性が生じる場合もある。

その他の薬理試験としては、薬物相互作用試験などがあり、臨床上併用される可能性がある薬物との間で臨床上問題となる薬力学的相互作用が想定される場合などに実施することが求められている³⁾。

なお、薬理試験に係るガイドラインについては、表2に示すとおりで

表2 薬理試験と関連ガイドライン

副次的薬理試験	新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要な一般薬理試験のガイドラインについて、薬新薬第4号(1991年1月29日)
安全性薬理試験	安全性薬理試験ガイドラインについて、医薬審発第902号(2001年6月21日)：ICH-S7A ヒト用医薬品の心室再分極遅延(QT間隔延長)の潜在的可能性に関する非臨床的評価、薬食審発1023第4号(2009年10月23日)：ICH-S7B
その他の薬理試験	薬物相互作用の検討方法について、医薬審発第813号(2001年6月4日)

表3 薬物動態試験と関連ガイドライン

吸収・分布・代謝・排泄に関する試験	非臨床薬物動態試験ガイドライン、医薬審第496号(1998年6月26日)反復投与組織分布試験ガイダンス、薬審第442号(1996年7月2日付)*
トキシコキネティクス試験	トキシコキネティクス(毒性試験における全身的曝露の評価)に関するガイダンス、薬審第443号、(1996年7月2日)：ICH-S3A

*分布試験においては原則として単回投与とされているが、反復投与を考慮すべき状況と試験の実施については、本ガイダンスを参照することとされている。

あるが、効力を裏付ける試験は、被験物質によって手法が異なるため、ガイドラインは策定されていない¹⁾。

2. 薬物動態試験

吸収・分布・代謝・排泄に関する試験とは、被験物質および必要に応じその代謝物の体内動態、通常、最高血中濃度(Cmax)、最高血中濃度到達時間(Tmax)、血中濃度時間曲線下面積(AUC)、消失半減期(またはこれに準じた定数)、クリアランス、分布容積、生物学的利用性などのパラメータを求めるとともに、体内動態の非線形性の有無を検討する試験をいう。

言い換えれば、動物および *in vitro* 試験系を用いた非臨床試験において被験物質の吸収、分布、代謝、排泄を明確にすることにある。体内動態に関するデータは、トキシコキネティクスのデータと併せて評価することにより、動物における毒性、薬理試験の設定および結果の解釈に役立つことになる。さらに、それらの結果を体内動態の種差と関連して評価することは、ヒトにおける

体内動態を予測し、有効性および安全性の考察に役立つ。また、併用される可能性のある薬物との相互作用を検討するうえでも重要な情報源となる。なお、主要代謝物については、毒性、薬理作用に関する検討も必要である²⁾。

トキシコキネティクス試験とは、毒性試験のなかに通常組み込まれ、医薬品開発における毒性試験の不可欠な構成要素として、あるいは特にデザインされた補助的試験として、全身的曝露を評価するための薬物動態データを取得する試験をいい、動物において得られた全身的曝露およびそれと毒性試験の用量ならびに、時間経過との関係を検討することを目的とする。本試験は、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、生殖毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験の一部として、GLPを準用して実施することが求められている。

なお、薬物動態試験に係るガイドラインについては、表3に示すとおりであり、薬物動態学的相互作用の検討を行う際に参考とすべきガイドラインとしては、「薬物相互作用の

検討方法について、医薬審発第813号(2001年6月4日)」が通知されている。

3. 毒性試験

単回投与毒性試験とは、被験物質を哺乳動物に単回投与したときの毒性を質的量的に明らかにすることを目的とする試験である。本試験で用いられる大量の被験物質を投与する試験はほかになく、たとえばヒトが事故などで大量服用した際の対応、処理などのための有益な情報となりうる³⁾。

反復投与毒性試験とは、被験物質を哺乳動物に繰り返し投与したとき、明らかな毒性変化を惹起する用量とその変化の内容および毒性変化の認められない用量を求めることを目的とする試験である。

通常、反復投与毒性試験について推奨される投与期間は、計画された臨床試験の期間と規模および治療上の適応に関係している。原則として、2種の哺乳動物(1種は非げっ歯類)で実施される毒性試験の期間は、臨床試験の期間と同じか、あるいはそれを超えているべきである。ただし、治療上の利益が明確にもたらされることが示されているような特別な状況下では、個々の事例に応じて、臨床試験の期間が反復投与毒性試験の期間を超えて継続されることもある。

遺伝毒性試験とは、直接あるいは間接的に遺伝的な障害を引き起こす物質を検出するために考案された試験をいい、種々の機構により引き起こされる変化を *in vitro* および *in vivo* で検出することができるように工夫された試験と定義することができる。

これらの試験は、DNAの損傷とその傷が固定されることによる障害を検出することができる。遺伝毒性

表4 生殖発生過程における諸段階の区分

A	交尾前～受精(成熟雌雄動物の生殖機能, 配偶子の発生および成熟, 交尾行動, 受精)
B	受精～着床(成熟雌動物の生殖機能, 着床前発生, 着床)
C	着床～硬口蓋閉鎖(成熟雌動物の生殖機能, 胚発生, 主要な器官の形成)
D	硬口蓋閉鎖～妊娠終了(成熟雌動物の生殖機能, 胎児の発生と成長, 器官の発生と発達)
E	出生～離乳(成熟雌動物の生殖機能, 新生児の子宮外生存への適応, 離乳前の発生と成長)
F	離乳～性成熟(離乳後の発生と成長, 独立生存への適応, 完全な性機能の確立)

表5 毒性試験と関連ガイドライン

単回投与毒性試験・ 反復投与毒性試験	単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について, 薬新 薬第88号(1993年8月10日): ICH-S4
遺伝毒性試験	医薬品のための遺伝毒性試験の特定項目に関するガイダンス, 薬審第444号(1996年7月2日): ICH-S2A 医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて, 薬食審 査第1127001号(2008年11月27日) 遺伝毒性試験: 医薬品の遺伝毒性試験の標準的組合せ, 薬審第 554号(1998年7月9日)
生殖発生毒性試験	医薬品の生殖発生毒性試験のガイドラインについて, 薬審第 316号(1997年4月14日): ICH-S5A/ICH-S5B 医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改正につ いて, 薬審第1834号(2000年12月27日): ICH-S5B(M)(現 在S5(R2))
がん原性試験	医薬品のがん原性試験のための用量選択のガイダンス, 薬審第 544号(1996年8月6日): ICH-S1C 医薬品のがん原性試験のための用量選択, 補遺, 薬審第551 号(1998年7月9日): ICH-S1C(R), 現在S1C(R1)) 医薬品のがん原性試験の必要性に関するガイダンス, 薬審第 315号(1997年4月14日): ICH-S1A 医薬品のがん原性を検出するための試験に関するガイダンス, 薬審第548号(1998年7月9日) 医薬品のがん原性試験に関するガイドラインについて, 薬審第 1607号(1999年11月1日)
免疫毒性試験	医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて, 薬食審 査発0418001号(2006年4月18日): ICH-S8

試験で陽性となった物質は, ヒトに対する発がん物質の可能性が
さらに, 特定の化合物がヒトで発がん性を示すことが証明されてい
ることから, 遺伝毒性試験は主に発がん性を予測するために用いられて
きた。また, それらの試験結果は発がん性試験結果の解釈にも重要な役
果を果す。

一方, 遺伝毒性試験で陽性とな
った物質は遺伝的障害物質である可
能性もある。すなわち遺伝性疾患を
引き起こす可能性がある。遺伝毒性試

験結果とヒトでの遺伝性疾患との
関係について証明するのは困難では
あるが, 生殖細胞系における突然変
異はヒトの疾患と明瞭に関係してい
ることから, ある物質に遺伝毒性が
疑われた場合は, ある物質にがん原
性が疑われたのと同様に重大であると
考えられる。

生殖発生毒性試験は, 被験物質の
哺乳類の生殖発生に対するあらゆる
影響を明らかにすることを目的とす
る試験である。この目的を達成させ
るためには, 試験の施行および結果

の解釈においてあらゆる薬理学, 毒
性学的データと関連させて, ヒトに
おける生殖発生への危険性が, ほか
の毒性試験の結果から予見される危
険性よりも大きいのか, 小さいか, あ
るいは同等であるかを検討しなければ
ならない。また, 生殖発生に及ぼ
すならんかの影響を検出するための
試験を選択し, 組み合わせることによ
り, 成熟動物および受精から性成熟
までの発生の全過程にわたって薬物
に曝露することが可能となる。

薬物曝露の即時および遅発的効
果を検出するためには, 一つの完全
な生命周期, すなわち一つの世代で
の受精から次の世代での受精までの
間観察を継続して行わなければなら
ない。試験実施の便宜上, この連続
的な生殖発生過程を表4の諸段階に
区分することができる。

なお, 毒性試験のガイドラインと
しては, 「医薬品の製造(輸入)承認
申請に必要な毒性試験のガイドライ
ンについて(その1), 薬審第118号
(1984年2月15日)」が示されてい
たが, 1989年9月および1999年11
月に国際的整合性を図る見地から改
正がなされた。すなわち, 医薬品の
承認申請等の目的で実施される安全
性に関する試験について標準的な実
施方法を示し, 医薬品の安全性の適
正な評価に資することを目的とした
「医薬品の製造(輸入)承認申請に必
要な毒性試験のガイドラインについ
て, 薬審第24号(1989年9月11
日)」が通知され, 「医薬品毒性試験
法ガイドライン」が定められた。

その後, 日米EU医薬品規制調和
国際会議(ICH)での合意に基づき,
表5に示す各種ガイドラインなどが
制定され, 「医薬品毒性試験法ガイ
ドライン」はこれらのガイドライン
などにより逐次改訂されている⁵⁾。

表6 GLPの構成(概要)

第1章(1-4条)	本省令の趣旨、用語の定義、試験委託者の責務等に関する規定
第2章(5-8条)	試験施設の運営管理者、試験責任者及び信頼性保証部門責任者の責務等に関する規定
第3章(9-10条)	試験施設の構造、設備、機器に関する規定
第4章(11-12条) 第5章(13-14条)	試験施設内における標準操作手順書(運営管理者により作成)及び動物の飼育管理に関する規定 被験物質及び対照物質等の取扱いに関する規定
第6章(15-16条)	試験計画書(試験責任者により作成)及び試験の適切な実施に関する規定
第7章(17-18条)	最終報告書(試験責任者により作成)及び試験関係資料の保存に関する規定
第8章(19条)	複数の場所にわたって実施される試験(複数場所試験)に関する規定

非臨床試験領域における薬事規制

薬事法第14条第3項に基づき承認申請の添付資料として提出される毒性試験(トキシコキネティクス試験を含む)、安全性薬理試験の結果は、正確に解析・評価されるよう試験データの信頼性が確保されていなければならない。これを確実に遂行するために法制化されているのがGLPである。

GLPは、試験を外部施設に委託する場合の試験委託者の責務などの明確化のほか、信頼性保証部門責任者の設置とその責務、試験施設の運営管理者の試験実施方法および手順を記載した標準操作手順書の作成義務、試験責任者の試験計画書および最終報告書の作成義務、試験施設の構造設備規則、動物の管理など、各々責任の所在が規定されており、「8章19条」で構成されている。概略は表6のとおりである^{1,5)}。

承認申請において提出された添付資料中の毒性試験データは、厚生労働省が独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)に委託して、承認審査にあたり毒性試験を実施した施設のGLP適合性の確認や生データの信頼性調査などのGLP適合性調査の対象となる。本調査では提出された資料が審査可能なデータであるか判断される。GLP適合状況の評価は、GLP適合性調査結果を基にPMDAが設置したGLP評価委員会により表7のとおり3区分で行われる^{1,5)}。

PMDAによるGLP適合性調査において評価がAまたはBの場合、原則として当該試験施設で実施された試験成績は評価結果通知の日からそれぞれ3年間または2年間、審査資料として受け入れられる。

表7 GLPの評価区分

評価A	GLPに適合する
評価B	改善すべき事項があるが、当該部分による試験の信頼性に及ぼす影響は許容しうる範囲のものであり、GLPに適合する
評価C	GLPに適合しない

4. 臨床試験を実施するための事前に実施すべき非臨床試験の範囲
薬事法では治験を実施する前に医薬品では被験薬の品質、毒性および薬理作用に関する試験、その他治験を依頼・実施するために必要な試験を終了していなければならないと規定されている。はじめてヒトで医薬品の臨床試験を行うために事前に実施すべき毒性試験の項目、その他臨床試験の相ごとに必要な非臨床試験の実施時期・投与期間を定めたガイドラインとして、「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン(医薬審第1019号(1998年11月13日))」および「医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドラインの改正について(医薬審第1831号(2000年12月27日))」,いわゆるICH-M3(M)(現M3(R1))がある^{1,5)}。
ただし、本ガイドラインは、通常の医薬品の開発において普通に起こりうる状況に適用されるものであり、医薬品開発のための一般的な手

引きとしてみなされるべきものである。たとえば、抗悪性腫瘍薬の開発においては、生命を脅かす疾病または重篤な疾病を適応としていることや、非臨床試験のデザインと実施に関して、これまで国際的に受け入れられている方針や勧告はないことから、本ガイドラインに必ずしも遵守することなく、個々の事例に応じて毒性学的評価と臨床開発が進められていた。そのため、「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価(ICH S9)」の策定が現在進んでいるところである。

また、マイクロドーズ臨床試験の実施に必要とされる安全性試験には、拡張型単回投与毒性試験や必要に応じて局所刺激性試験があり、GLP遵守が必要となる。なお、主たる薬理作用の確認が済んでいる場合の安全性薬理試験、遺伝毒性試験は必ずしも実施していなくてもよい旨「マイクロドーズ臨床試験の実施に関するガイダンス薬食審査発第0603001号(2008年6月3日)」に明記されている。

おわりに

米国では産学官が連携し融合して、画期的新薬を創製するような体制が整備されており、大学や研究機関発の医薬品関連の特許出願比率が本邦に比し非常に多い。また米国では大学や研究機関発ベンチャーが中心となって医薬品開発を担うような体制が構築されている。

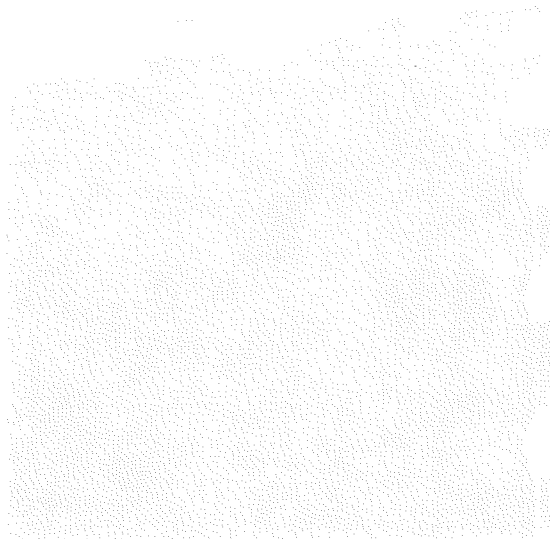
これに対して、わが国における大手製薬企業は大学や研究機関との連携を医薬品開発の戦略としていまだ導入を進めていないのが現状である。その理由として、先述のとおり、大学や研究機関においては、製造販売承認申請を念頭に置いたデー

タ収集など、実用化に向けての具体的手段や方法に関する知識の普及が進んでおらず、シーズ開発を行う現場である大学や研究機関と医薬品など開発の現場である製薬企業の認識の間に隔たりが存在し、ライフサイエンス分野の研究成果が必ずしも医薬品などの実用化に繋がりがやすいとはいえない状況が要因の一つとなっていると考えられる。

この状況を改善するためには、大学や研究機関の研究者の薬事規制、関連ガイドラインに係る情報収集とその理解が必要であり、それを成し得ることができれば、国民の疾患治療に貢献する画期的新薬の創製へと結びつくことは間違いないであろう。

文献

- 1) 平山佳伸 厚生労働科学研究 医薬品・医療機器開発に対する理解増進に関する研究。平成18年度総括研究報告書：<http://nibio.go.jp/guide/report.pdf>
- 2) 抗リウマチ薬の臨床評価方法に関するガイドラインについて 厚生労働省医薬食品局審査管理課長 薬食審査発第0217001号 平成18年2月17日：<http://www.ryumachi-jp.com/pdf/mh060217.pdf>
- 3) 日本薬剤師研修センター(監)：医薬品製造販売指針2008。じほう。2008。p248-291。
- 4) 坂野和英：医薬品毒性試験法ガイドラインの見直し。Farumashia 27(2)：141-143, 1991。
- 5) 日本の薬事行政 日本製薬工業協会 英文薬事情報ワーキンググループ編。2009.3：<http://www.jpma.or.jp/about/issue/gratis/index2.html>



Japan Works To Shorten “Drug Lag,” Boost Trials of New Drugs

By Gunjan Sinha

Since 2005, Japan has cut its notorious drug lag almost in half. The time between approval of a new drug in Europe or the United States and approval in Japan shrank from about 3 years in 2006 to 1.5 or 2 years, according to the latest estimate.

“Things are getting better,” said Kazuo Tamura, M.D., a professor at Fukuoka University School of Medicine and current president of the Japanese Society of Medical Oncology.

But the drug lag is not the only thing keeping Japanese patients from gaining access to the same drugs at the same time as patients in other developed nations. Among other reasons is the difficulty of conducting clinical trials in Japan, according to Tamura

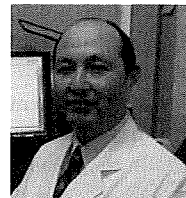
and others. The cost of trials is high and infrastructure is poor compared with other Asian countries, discouraging industry-sponsored trials. And academic researchers face additional barriers when initiating trials for new treatments, meaning that relatively few such trials take place in Japan.

Now, concerted efforts are under way to increase the number of trials. Along with efforts to cut the remaining drug lag, Japanese oncologists are working to change some policies, improve infrastructure, and encourage investigator-initiated research.

Fixing the Drug Lag

The reasons for the time lag in getting drugs approved in Japan are varied, but a

primary cause has been the Japanese Pharmaceuticals and Medical Devices Agency’s (PMDA) requirement that drug companies conduct separate and additional safety studies in Japanese patients. That policy, though modified recently, is based on safety concerns, Tamura said. Several



Kazuo Tamura, M.D.

studies have shown that Asians metabolize drugs differently from white patients, he said.

In 2005 the Japanese Ministry of Health Labor and Welfare began putting measures in place to cut the time lag. These include establishing a special committee

that reviews drugs approved elsewhere and that can recommend fast-tracking a drug in Japan, hiring more review staff at PMDA, and softening drug application requirements to make it easier for pharmaceutical companies to apply to market a new drug in Japan. And in 2008, the PMDA agreed to consider data from global clinical trials in all drug applications as long as safety studies included Japanese patients.

This is an important change for industry, said Ken Kobayashi, M.D., head of oncology, early clinical development, at Novartis in Japan. It means that a company can conduct one trial around the world and potentially use it as the basis for a submission to the U.S. Food and Drug Administration, the European Medicines Agency, and the PMDA. Because Japan would be one of the enrolling countries, companies could apply for drug approval to all three agencies at the same time, substantially cutting the remaining drug lag.

At least that was the theory. In practice, the policy hasn't yet generated huge results: The Japanese National Cancer Center Hospital is now conducting 36 industry-sponsored global phase III trials, said Yasuhiro Fujiwara, M.D., Ph.D., chairman of the hospital's department of clinical trial coordination and developmental therapeutics in Tokyo. Far smaller countries, such as Sweden, have much higher participation rates in global clinical trials, Tamura said.

One reason for the small number of trials involves the administrative costs of trials in Japan, according to Kobayashi. For instance, he said, companies must translate most documents submitted to the PMDA into Japanese. Also, the infrastructure to carry out trials is relatively poor compared with that in Western countries. Most hospitals do not have staff to streamline patient recruitment and manage the necessary paperwork, so the work falls to already-time-strapped doctors.

To tackle the infrastructure problem, the Japanese government has awarded about \$1 million per year since 2006 to 10



Ministry of Health, Labor, and Welfare, Tokyo.

Centers of Excellence, which include more than 50 medical research institutes. But the effort isn't enough, Tamura said, because medical care in Japan is so dispersed. There are many hospitals with small numbers of patients—one reason why recruiting patients into trials takes so long. Without a larger network of hospitals staffed and equipped to conduct trials, the process will continue to be laborious, he said.

Investigator-Initiated Research

Making it easier for industry to conduct trials in Japan will solve only part of the problem, according to Naoto Ueno, M.D., Ph.D., professor of medicine in breast medical oncology at the University of Texas M. D. Anderson Cancer Center in Houston, which has sister relationships with two Japanese medical centers. "If Japanese physicians relied solely on drug development by industry, some anticancer drugs might never be approved in Japan for less-common indications," he said. And yet in Japan "it is quite rare for an investigator to initiate a clinical trial [with a new drug]."

In fact, until 2003, independent investigators could not conduct clinical trials to test new drugs or a new indication for an already approved drug, both of which require an investigational new-drug (IND) application. In 2003, the Pharmaceutical

Affairs Law was revised to allow independent investigators to apply for INDs, but only six investigator-initiated cancer clinical trials with INDs have been registered since then, according to Ueno. In contrast, more than 900 investigator-initiated, non-IND cancer trials (with already approved drugs and indications) have been registered and disclosed to Japan's UMIN (University Hospital Medical Information Network) Clinical Trials Registry since its establishment in 2005.

The reasons that so few apply for IND status are manifold and complex. For one, funding is hard to find. And when it is available, conducting a clinical trial with an IND is more expensive than conducting a trial without one. In IND clinical trials, quality control and quality assurance are closely monitored—more closely than for similar trials in the U.S., said Ueno, who studied medicine in Japan but practices in the United States. For example, the U.S. National Cancer Institute accepts a central online monitoring system for clinical trials, but in Japan, site visits are the rule. Also, drug companies are not allowed to fund investigator-initiated trials, so investigators must apply to the government for funds, and "most people don't want to make that effort," Ueno said.

Another reason for the dearth of investigator-initiated trials is that Japan's health care system does not pay for off-label use of drugs, even in clinical trials. Such drugs must be provided by a company or bought from the company if an IND has been approved.



Yasuhiro Fujiwara,
M.D., Ph.D.

"We have no system in place yet for compassionate use or off-label use of drugs here," Tamura said.

The problem is not only that government health insurance won't pay for off-label or experimental drugs but also that

the policy restricts patients who are already taking an approved drug from participating in clinical trials. Such patients risk losing coverage for that drug.

"This is a real problem," Tamura said. If a patient is, for example, already taking a medication covered by insurance and doctors want to test whether an additional drug or treatment will improve the patient's

outcome, health insurance policy does not allow doctors to administer both drugs on the same day. This means that patients must come to the hospital on separate days for each drug or treatment, which is time consuming and arduous for both patients and doctors.

"We really have to solve this problem, or else we won't be able to do good clinical studies," Tamura said.

Moving Forward

Gradually, say experts, a combination of efforts is moving the system toward change. Ueno, for example, chairs an international program at M. D. Anderson through which he has established relationships with St. Luke's International Hospital and Keio University, both in Tokyo. Through these relationships, he said, he hopes to "create next-generation

oncology leaders" who not only provide multidisciplinary care but also push for evidence-based medicine. He is working with both institutions to develop educational programs to get doctors more interested in clinical trial work. Also, medical schools have added coursework to their curricula that teaches how to conduct clinical research and its importance.

In another collaborative effort, the National Institutes of Health Pharmacogenomics Research Network, cosponsored by NCI and the National Human Genome Research Institute, is working with Yusuke Nakamura, M.D., Ph.D., of the Rikin Institute's Center for Genomic Medicine. "We would like to strengthen Japan-U.S. collaborations in cancer clinical trials," said NCI's Ted Trimble, M.D. The institute, with the U.S. Embassy

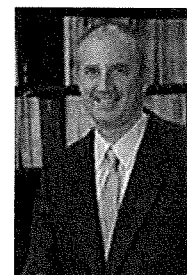
in Tokyo, the Japanese National Cancer Center, M. D. Anderson, St. Luke's, and Keio University, organized a workshop in Tokyo last July to explore opportunities for joint trials. "Although there is great enthusiasm on both sides to work together, we

still need to overcome the regulatory barriers on both sides of the Pacific," Trimble said.

For its part, the government has implemented a graduate program for medical students, allowing them to work at the PMDA as reviewers as the basis of a thesis for an academic degree. The aim is to create a pool of qualified people to lead clinical research.

Another program, still in planning, aims to create a mechanism through which companies that apply to the PMDA for a new drug can obtain a "prereview" consul-

tation. Any company would be eligible to apply for a consultation during phase III clinical trials and ask the PMDA to review all available data. The PMDA, in turn, would issue a report within 6 months to address any major issues that might arise and consequently shorten review time.



Edward Trimble, M.D.

"We are trying to do our best," said Tamura, who emphasized that despite Japan's issues with drugs and clinical trials, the quality of patient care is on par with or even better than that in other developed countries. "Our quality of care is really not bad," he said. "But our ability to produce new findings, especially in cancer care, is still a big problem."

© Oxford University Press 2010. DOI: 10.1093/jnci/djq017

"We would like to strengthen Japan-U.S. collaborations in cancer clinical trials."

