

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）  
平成21年度分担研究報告書

— 光毒性試験に関する国内外の現状とガイドライン策定についての調査研究 —

研究分担者：小野寺博志（医薬品医療機器総合機構）  
研究協力者：林 真（食品農医薬品安全性評価センター）  
小島 肇（国立医薬品食品衛生研究所）  
尾上 誠良（静岡県立大学）  
中村 和市（塩野義製薬株式会社）  
細井 一弘（参天製薬株式会社）  
田中 憲穂（食品薬品安全センター）  
篠田 和俊（医薬品医療機器総合機構）  
込山 則行（医薬品医療機器総合機構）

研究要旨

医薬品において光安全性に関する評価は求められているものの、光毒性試験実施の必要性や具体的な試験方法についてはICHで討議されたガイドラインはなく、各極で独自の基準で評価が行われている。

しかしICHガイドラインM3（R2）で光毒性試験に関する項目が掲載され、統一された光毒性評価法の必要性が高まった。さらに安全性ガイドライン策定の必要性についての議論においても光毒性は高い関心を示している。現在EUとFDAでは独自のガイダンスが出されているが、それらガイダンスは出立されて時間が経過していることや、実験方法や感度の点で問題が多い。本研究は光毒性試験の実態を昨年度に実施したアンケートを基に各国とのガイドラインの特徴をまとめるとともに最新の研究を加味し、現状における光毒性試験の問題点や留意点について提言した「医薬品の光安全性に関する現状」をまとめ、本邦でのガイドラインを策定する資料とした。

キーワード：光毒性、ガイドライン、光安全性評価

A. 研究目的

我が国における医薬品の光安全性評価に資する非臨床毒性試験ガイドラインを策定するため、諸外国の規制情報収集分析および国内製薬企業での実施状況を把握する調査等を行い、光安全性評価に関する現状をまとめて、ガイドライン策定時の案とする。

B. 研究方法

最終年度は国内外の製薬企業に対し非臨床光毒性

試験の実態状況のアンケートにより得られた結果を解析してまとめた。アンケートは「光安全性評価手順の検討を目的とした基礎データ構築のための調査」で、平成20年9月より10月にかけて実施された。加えて、新しい光毒性検出法について検討すると共に、各種学会等で光毒性に関する最新的话题を収集し、第36回日本トキシコロジー学会のワークショップ「医薬品の光安全性評価」について発表した。

### C. 研究結果

調査結果は、光安全性評価の要否を判定する基準、光安全性試験を実施する試験法、臨床使用時での光安全性についてまとめた。

光安全性評価要否の判断基準として物性の特性面からは、吸収波長領域や吸収スペクトル（極大吸収）があり、ICH M3 (R2) でも光化学的特性（光吸収・光安定性）が実施判定の要件となって、光毒性物質は全て290～700nmの波長域で光吸収または極大吸収が見られている。更にそれらの物質ではモル吸光係数（Molar Extinction Coefficient, MEC）は全て1000Lmol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>を超えていた。光安定性については測定条件や分解の程度に基準はなく、通常、品質試験のガイドライン（ICHQ1B）に準拠し中性緩衝液中での光安定性試験が現実的と考えられる。光吸収性や光安定性はそれぞれ単独では光毒性との相関性は低く、光毒性試験実施の可否を判断するには限界がある。最近の試験法としてOnoueらは、化合物に光照射後、光毒性反応のトリガーとなる活性酸素（ROS：一重項酸素及びスーパーオキシド）の生成を測定するROSアッセイが光毒性リスク判定に有用とされている。化学構造から光安全性が懸念される場合には市販の*in silico*毒性予測ツールを用いて同定することも有用である。光照射部位や薬剤の組織分布からの光安全性評価要否については、欧米のガイドラインでは、組織分布に関する条件として①眼・皮膚など光線に曝露される可能性がある所に直接適用、②投与後、眼・皮膚に移行し分布、③眼・皮膚で投与による影響が認められる場合などが記載されているが、試験実施の基準についてなんら規定はないため、実施する企業の判断に任されている。組織分布を考慮した場合、光吸収性の低い薬剤においても投与局所に高濃度に分布する皮膚外用剤及び点眼剤は、すべて光安全性評価が必要となる。外用剤では成分や組成の違い、貼付部位の状態により吸収・分布が変動することより、組織分布の情報は重要で、開発早期に検討し光安全性評価を検討する。メラニン親和性は、それ自体が網膜障害を予測するものではないが、メラニンと親和性を有する医薬品については局所における薬物濃度が高値となる可能

性が高く、血漿中濃度推移、組織への到達時間、並びに消失速度等から総合的に要否を判断することが適切である。

光安全性試験法で重要な光源について、いずれのガイドランスでも統一された規格はなく、何れの光源を用いた場合でも同一平面状における照度分布を均一にすることは困難である。光毒性試験に用いる光源の波長特性を十分に把握し、出来るだけ照射条件を一定かつ均一に保つことが重要である。

光毒性評価における*in vitro*光毒性試験としてはOECDテストガイドライン432での3T3-NRU試験があるが、非常に感度が高く、試験結果のほとんどが陽性となる。いくつかの試験法が提唱されているが、それぞれ特徴があり、作用機序や特徴を理解し、さらに被験物質の特性も考慮した上で、試験法を選定することが重要である。

*in vivo*光毒性試験は主としてモルモット、ウサギ、ラット、マウス、ヘアレスマウスが使用されメラニン結合性がある場合は、有色動物を使用も考慮する。光照射量は高い検出感度を得るために十分な照射量であることが必要だが、光照射単独で皮膚反応を惹起する限界量は動物種で異なり、各試験ごとに設定する必要がある。使用する動物種や実験系で各々標準的条件を定め、陽性対照物質を用いたバリデーション試験を実施することが必要である。光遺伝毒性評価に関するガイドランスはない。光単独照射によっても遺伝毒性が誘発される事より、IWGT, 2009においては光毒性評価に「光遺伝毒性試験は推奨しない」とされた。*in vivo*光がん原性試験について現在利用可能なげっ歯類（ヘアレスげっ歯類など）を用いて実施されているが、ICH M3 (R2) ガイドラインでは、光発がん性試験の有用性については推奨されていない。

臨床試験を実施する場合、適切なモデルを用いた非臨床試験での光毒性評価結果を事前に得ることは、被験者保護の観点から必要である。特にヒトで既に皮膚光感作性を示すことが知られている物質と類似構造を有する皮膚外用剤、又は皮膚光感作性を持つ可能性が類推される外用剤の場合は、非臨床での皮膚光感作性試験をヒトに投与する前に実施する必要

がある。一方、非臨床光毒性試験の結果が明らかに陰性の場合、臨床で光安全性を評価する必要性は低い。動物で光毒性試験結果が陰性の場合でもヒトで光毒性が発現する可能性があり、臨床試験での有害事象発現について注意深い解析を行うことは、光毒性を早期に検出するために重要である。

#### D. 考 察

今回のアンケート調査により開発現場の現状が明らかとなった。各極のガイドラインを参考に光安全性の評価を実施しているが、その内容については開発者独自の判断にゆだねられている。動物愛護の観点からも光毒性の非臨床安全性試験実施の要否は複数の要因を総合的に判断して決定すべきである。また実施する試験法はその作用機序及び特徴を理解し、被験物質の特性も考慮して適切な試験系を選択することが必要である。光毒性は非臨床試験結果と臨床での発現が必ずしも一致しない場合があるが、ヒトへの情報提供は予防・障害防止に有用で、臨床では早期に安全性を確認する必要がある。

#### E. 結 論

本資料を基に本邦におけるガイドライン案の策定を早期に開始すると共に国際的な調和が必要である。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表

第36回日本トキシコロジー学会

ワークショップ「医薬品の光安全性評価」

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

資料1：「医薬品の光安全性評価に関する現状」

資料2：ワークショップ「医薬品の光安全性評価」  
抄録集

Ver.1.1

## 医薬品の光安全性評価に関する現状<sup>1)</sup>

1. はじめに.....	3
2. 光安全性評価要否の判断基準について .....	3
2.1 化合物の光化学的特性面での基準.....	4
2.1.1 光吸収性 .....	4
2.1.2 光安定性 .....	5
2.1.3 ROS アッセイ .....	6
2.1.4 試験の基準.....	6
2.2 化学構造から光安全性が懸念される場合の基準 .....	6
2.3 光毒性試験が必要とされる場合の薬剤の組織分布に関する基準 .....	7
2.4 臨床所見結果より光毒性試験が必要とされる場合の基準 .....	7
3. 光安全性試験の試験法について .....	8
3.1. 照射条件について .....	8
3.2. 光毒性評価 .....	9
3.2.1. <i>in vitro</i> 光毒性試験.....	9
3.2.2. <i>in vivo</i> 光毒性試験.....	10
3.2.3. 臨床での光毒性評価.....	10
3.3. 光アレルギー性評価（皮膚光感作性試験含む） .....	10
3.3.1. <i>in vitro</i> 光アレルギー性試験 .....	11
3.3.2. <i>in vivo</i> 光アレルギー性試験 .....	11
3.3.3. 臨床での光アレルギー性評価 .....	11
3.4. 光遺伝毒性評価 .....	11
3.4.1. <i>in vitro</i> 光遺伝毒性試験.....	11
3.4.2. <i>in vivo</i> 光遺伝毒性試験.....	12
3.4.3. 臨床での光遺伝毒性評価 .....	12
3.5. 光がん原性評価 .....	12
3.5.1. <i>in vivo</i> 光がん原性試験.....	12
3.5.2. 臨床での光がん原性評価 .....	12
3.6. 臨床試験での光安全性評価 .....	13
3.6.1. 臨床試験での光安全性評価に必要な非臨床光安全性試験 .....	13
3.7. 光安全性評価結果のリスクコミュニケーション .....	13
3.7.1. 光安全性に対するリスクが懸念されない場合 .....	13
3.7.2. 光安全性評価の結果から光毒性が懸念される場合 .....	14
4. まとめ .....	14

## 1. はじめに

医薬品の光安全性評価に関しては、2002年に欧州医薬品審査庁（EMEA）<sup>2)</sup>より、2003年に米国食品医薬品局（FDA）<sup>3)</sup>よりガイダンスが制定され、非臨床試験実施の基準となる考え方ならびに評価方法が示された。さらに、2008年1月にはEMEAよりガイダンス改訂の必要性に関するコンセプトペーパー<sup>4)</sup>が示され、見直しが進められている。一方、国内においては、1989年に皮膚光感作性試験ガイドライン<sup>5)</sup>が公表され、外用剤による光過敏症リスクの検出および評価に利用されている。しかし、光安全性評価全般を規定したガイドラインはない。本研究班の目的は、医薬品の光安全性評価に関する現状と技術的課題などに関し、欧米ガイダンス、公表論文、製薬協のアンケート調査結果、学会からの提言などにより情報を収集し、本邦におけるガイドライン（案）の基礎資料を作成することであり、国際的に整合性のある光安全性評価ガイドラインの早期策定に寄与することを意図している。

光安全性に関する課題としては、光安全性評価を実施する判断基準、光毒性の非臨床安全性試験の種類、試験法、検出感度およびその妥当性、ならびに非臨床試験結果のヒトへの外挿、さらに、開発段階や市販後においてヒトで光照射との関連が疑われる有害事象が認められた場合の対応と予防、ヒトでの光アレルギー性や光がん原性評価に有用なマーカーなどが考えられる。

## 2. 光安全性評価要否の判断基準について

欧米の各ガイドラインで試験の対象となる化合物の概略について、表1に示す。FDAガイダンス、EMEAガイダンスともに、すべての原薬および製剤成分を対象として、UVB、UVAおよび可視光（UV/VIS）を含む290nmから700nmの波長に吸収性を有し、直接曝露される皮膚あるいは眼に適用されるか、あるいは全身曝露によりこれらの部位に到達する化合物について光安全性評価の実施を求めている。EMEAガイダンスでは、さらに光安定性試験の結果や構造活性相関についても試験実施の判断に利用可能とされている。

表1 各ガイドラインでの対象化合物比較

	EMA	FDA
対象化合物の範囲	・化学物質全般 ・バイオテクノロジー医薬品	・すべての原薬および製剤成分 ・外用剤は製剤での実施を推奨
吸収波長領域	290・700 nm	290・700 nm
吸収スペクトル (極大吸収)	記載なし	吸収スペクトルの情報が重要(極大吸収を提示するだけでは不十分)
投与経路と体内分布	・局所適用 ・皮膚/眼に到達	・皮膚/眼に適用もしくは分布 ・皮膚/眼の状態に影響を与えるもの
対象外のケース	記載なし	・太陽光に曝されない疾病患者 ・太陽光に曝されない箇所に適用する外用剤 ・太陽光に曝される部位に分布しない ・光毒性が既知の化合物

ICH M3 (R2) ガイドライン<sup>6)</sup>では、ヒト光安全性評価の必要性または評価時期を判断する要因として、①光化学的特性(光吸収・光安定性)、②関連化合物の光毒性の情報、③組織への分布、④臨床または非臨床で光毒性を示唆する所見などが記載されている。さらに、光毒性の初期評価は、光化学的特性や薬理学/化学的分類に基づいて行われるべきであると提言された。

提言された要件では、ほぼ全ての医薬品で評価を実施することとなる。これらのガイドラインでは、光安全性評価を判断する要件が示されているのみで、具体的な実施基準については記載がない。光安全性評価の必要性についてその可否を判断する場合、医薬品の種類によって様々な状況が考えられる。例えば、眼や皮膚において多くの代謝物や活性代謝物が存在する場合には、代謝物を含めた光安全性評価が必要だが、組織から薬物の消失が早い場合は、光安全性評価の必要性は概して低い。また、製剤の場合、賦形剤などが原薬の光特性を変化させることもあるため、剤形の種類や投与方法による組織分布への影響を考慮した評価を行う必要がある。さらに、対象患者が太陽光に曝されない限定された疾患に適応される医薬品については、光安全性評価の必要性は低いと考えられる。新たなガイドラインを策定するにあたり、光化学的特性や組織分布などの基準を示すことにより、光安全性評価の戦略を明確にすることが重要と考えられる。

## 2.1 化合物の光化学的特性面での基準

### 2.1.1 光吸収性

欧米のガイダンスでは、光吸収の波長域は290~700nmと設定されている(表1)。さらに、OECDテストガイドライン432 (*In vitro* 3T3 NRU phototoxicity test)<sup>7)</sup>では、モル吸光係数(Molar Extinction Coefficient, MEC)が $10 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 未満の化合物については3T3 NRU試験の実施は不要であるとされている(注1)。

一方、Henryらは、35種類の光毒性物質（医薬品）について、290～700nmの光吸収波長を測定したところ、全ての光毒性物質が290 nmで吸収を示すか（shoulder）、その波長域において極大吸収を示し、その波長域におけるMECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を超えていた<sup>8)</sup>。Bauerらは、26化合物（21種類の開発化合物と5種類の対照薬）について、光毒性試験（3T3 NRU試験およびマウス光LLNA試験）結果とMEC補正值（化合物のUV/VISスペクトルを太陽光スペクトルで補正して算出）を比較して、chlorpromazineのMEC補正值（ $5170 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ）を超える化合物は、光毒性物質の可能性があるとしている<sup>9)</sup>。これらの結果に基づき、第5回国際遺伝毒性試験ワークショップ（IWGT, 2009）では、MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 未満の化合物の光安全性評価は必要ないとされた<sup>10)</sup>。製薬協のアンケート調査でも、光毒性与極大吸収との関連性は不明だが、3T3 NRU試験で陽性を示した化合物のMECは、ほぼ $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を超えていた<sup>11)</sup>。通常、MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 未満の医薬品については、光安全性評価を実施する必要性は低いと考えられる。

注1) OECDテストガイドライン432では、UV/VISスペクトルは、OECDテストガイドライン101に従って測定されるべきと記載されている。OECDガイドライン101では、媒体が酸性、アルカリ性、あるいは中性かによって異なった化合物形が存在する場合があるため、3つのスペクトル（pH 2以下、中性、pH 10以上）を含んでいること、水で難溶解性の場合、適切な有機溶媒を用いると記載されている。生体中の光毒性リスクを考慮すれば、中性緩衝液を溶媒として用いることが適切であるが、光毒性物質のスペクトルは、pH 5.5とpH 7.4の緩衝液中では大きな差がないことが報告されている<sup>8)</sup>。

### 2.1.2 光安定性

欧米のガイドラインでは、光安定性は光安全性評価を実施する要件の一つとされている。しかし、光安定性を測定する条件や光分解性の程度に関する基準は示されていない。

光分解の速度は薬物の分解に寄与する特定波長の光子数に依存するが、分解の波長依存性は薬物によりそれぞれ異なることや、光源の違いによっても各波長に対する光子数の分布が異なることなどから、光による薬物の分解速度におよぼす影響について定量的に解析することは困難であるとされている<sup>12)</sup>。光安定性については、通常、品質試験の一つとして、原薬および製剤について実施される（ICH Q1Bガイドライン）<sup>13)</sup>が、生体中への光毒性リスクを評価する場合、中性緩衝液中での光安定性試験を実施することが現実的であると考ええる。

紫外線による化合物の分解物生成は、光毒性発現機序の一つとして考えられている。フルオロキノロン剤での光毒性発現は、光安定性と相関すると考えられているが、ドラッグデザインにより、光により分解されてもマウスに光皮膚反応をほとんど示さない化合物も見出されている<sup>14)</sup>。また、Henryら<sup>8)</sup>は、35種類の光毒性物質（医薬品）について光安定性を検討した結果、光毒性物質の70%が光照射により50%以上分解されるが、5-fluorouracilやacridineを含む12%の光毒性物質は3時間の光照射でも10%以上分解されなかった。この



結果は、光安定性の結果のみで光毒性試験の実施要否を決定する条件としては限界があることを示している。そこで彼らは、前述の光吸収性と後述のROSアッセイを組み合わせることを提案している。

以上から、光安定性の結果のみで光毒性物質を検出できない可能性があるため、他の指標も考慮した光安全性試験の実施を判断することが必要である。

### 2.1.3 ROS アッセイ

上述のように光吸収性や光安定性についてはそれぞれ単独では光毒性との相関性は高くないため、光毒性試験実施の可否を判断するには限界がある。Onoueらは、化合物に照射後、光毒性反応のトリガーとなる活性酸素（ROS、一重項酸素およびスーパーオキシド）の生成を測定する試験法であるROSアッセイが、光毒性リスクを判断する方法として有用であることを報告している<sup>15~17</sup>。上市医薬品39種類のおよび開発化合物210種類を用い、ROS生成能と3T3 NRU試験結果を比較検討し、その結果、ほとんどの光毒性物質では、タイプ I または II の光化学的反応が誘発され一重項酸素およびスーパーオキシドの生成が認められた<sup>16</sup>。すなわち、光毒性に強く関与する一重項酸素およびスーパーオキシドの生成が認められない場合は、光毒性試験を実施する必要性は低いと考えられる。

ROSアッセイは、光吸収試験や光安定性試験と同様、医薬品の光化学的特性を位置づける試験としての利用が考えられる。今後、ROSアッセイ試験法を光安全性評価の実施基準とするためには、より詳細な検討による光毒性リスクを判別しうる基準値の設定、多施設バリデーションによる有用性を確認するとともに国際的な同意が必要となる。

### 2.1.4 試験の基準

光化学的特性は品質試験の一環として物理化学的試験で実施され、その結果は光毒性試験実施の可否の判断に利用されるが、GLP試験の適用外である。ただし、光毒性試験実施の可否についての根拠として承認申請に用いる場合には、GLPまたは薬事法施行規則第43条に準拠して実施することが必要である。

## 2.2 化学構造から光安全性が懸念される場合の基準

光過敏症はヒトでの個体間差が大きな反応で、その発現機序についても十分に解明されていない。しかし、キノロン骨格など光毒性を誘発する特定の化学構造はいくつか知られており、その毒性既知骨格については DEREK (Lhasa 社) などの市販の *in silico* 毒性予測ツールを用いて情報を得ることが可能である。

有機化合物は光照射（紫外線）により励起状態に移行した後、エネルギーを放出して基底状態へ戻る。この復帰時に放出されるエネルギーが生体に対し様々な作用を有し、光過敏症の要因の一つとなり得る。そのため、光励起されやすい化合物は光過敏症のリスクが

高いと考えられ、その指標として HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) – LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) ギャップを光安全性評価に用いる検討がなされている。3T3-NRU 試験の結果 (Mean Photo Effect, MPE) と HOMO-LUMO ギャップ値 ( $\Delta E$ ) には相関性があり、MPE0.1 未満を陰性とした場合の陰性率は、 $\Delta E$  が 10.5 eV 未満は 11%、10.5~11.7 eV は 59%、11.7 eV 以上は 86%との報告がある<sup>18)</sup>。HOMO-LUMO ギャップ値は、光励起による光毒性を予測するために有用であるが、計算に用いるソフトウェアや計算方法の違いにより値が異なり、実施施設における条件設定を検討することが必要である。

### 2.3 光毒性試験が必要とされる場合の薬剤の組織分布に関する基準

体内に吸収された薬剤あるいは代謝物が光照射部位に到達し蓄積していることが光毒性を惹起させる条件として重要である。しかし、現在まで光安全性評価を必要とする組織分布について基準は明確ではない。欧米のガイドラインにおいては、光安全性の評価が必要な薬剤の組織分布に関する条件として、①眼・皮膚など光線に曝露される可能性がある箇所に直接適用、②投与後、眼・皮膚に移行し分布、③眼・皮膚で投与による影響が認められるなどが記載されているが、試験実施の基準についてなんら規定はない。したがって、実際に光安全性評価を実施する際の薬剤の組織分布の検討と光毒性試験の内容については、実施する企業の判断に任されている。製薬協が行ったアンケート調査によると、光安全性評価を実施する際、組織分布に関する基準を独自に設定している企業は 30 社中 2 社のみであった<sup>11)</sup>。その基準とは、①「皮膚・眼の組織内濃度が血中濃度より低い。ただし、血中濃度が *in vitro* で光毒性を示す濃度を上回る場合を除く」、②「投与後 35 日まで薬物が体内に残留し、皮膚または眼のいずれかの組織中濃度と血液中における薬剤濃度との比が 5 以上の場合」が光毒性実施を不要とするものであった。

組織分布を考慮した場合、光吸収性の低い薬剤においても投与局所に高濃度に分布する皮膚外用剤および点眼剤は、すべて光安全性評価が必要となる。また、外用剤では組成の違い、あるいは貼付部位の状態により吸収・分布が影響されることが考えられ、光毒性試験の実施条件における組織分布の情報は重要であり、開発早期に検討することが望まれる。

なお、メラニン親和性に関しては、それ自体が網膜障害を予測するものではない報告があるが<sup>19)</sup>、メラニンと親和性を有する薬剤については局所における薬剤濃度が高値となる可能性があり、血漿中濃度推移、組織への到達時間、ならびに消失速度などを考慮した光安全性評価の要否に関する基準が必要と考える。

### 2.4 臨床所見結果より光毒性試験が必要とされる場合の基準

臨床試験で光照射が原因と思われる異常が認められた場合は、そのメカニズムを検討す

ると共に、治験参加者には光線照射を避けるなど適切な対策を講じることが重要で、特に在宅での治験参加者に指導するとともに、早期に原因究明のための臨床、非臨床での検討が必要である。

薬剤性光線過敏症は発生機序の違いから光毒性と光アレルギー性に分類される。光毒性は光照射により励起された化合物あるいは代謝物が光化学的反応を起こし、免疫反応を介さず光に直接曝露された部位にのみ皮膚反応を引き起こす。紅斑や浮腫をきたした後、落屑および色素沈着がみられる。一方、光アレルギー性はIV型アレルギー反応により引き起こされる。光線により励起された化合物あるいは代謝物が化学反応を起こして抗原あるいは、ハプテンとなり生体蛋白と結合した後、完全抗原となって感作される。再び原因物質が光照射により抗原が生成されることによりアレルギー反応が惹起され紅斑や水泡を生じる。

また、薬剤性光線過敏症は、薬剤の投与経路の違いにより、光線過敏型薬疹（全身投与）と薬剤性光接触皮膚炎（外用）に分類される。

薬剤性光接触皮膚炎の発生機序は、多くは光アレルギー反応であり、至適濃度での光パッチテストが陽性で、病変皮膚の組織像で海綿状態など接触皮膚炎型の所見が得られれば、光アレルギー反応と診断される。確定診断は、少量の内服と紫外線照射による誘発テストで陽性反応が得られることである<sup>20)</sup>。

動物でもヒトと同様の作用機序で光毒性および光アレルギーを示すと考えられるため、臨床で認められた所見についてメカニズムを検討する試験に動物を用いることは有用と考える。ただし、現行の動物を用いた光毒性試験や光感作性試験では、臨床試験の結果と一致しないこともあるため、今後、よりヒトへの外挿性が高い新規評価系の確立が望まれる。

### 3. 光安全性試験の試験法について

#### 3.1. 光照射条件について

欧米のガイドラインでは、UVB、UVA および可視光領域を含む 290～700nm の波長を吸収する全ての化合物を評価対象としている。実験に使用する光源として疑似太陽光を推奨しているが具体的な照射条件についての記載はない。OECD ガイドライン 432 (*in vitro* 3T3 NRU 試験)<sup>7)</sup>では、バリデーション試験で使用された光源として SOL500（水銀蒸着メタルハイドランプ、Dr K. Hönle、ドイツ）を推奨している。本邦では皮膚光感作性試験ガイドライン中に、「キセノン・ランプ、ソーラー・シミュレーター、紫外線ランプなどが使用されている。」と記載されている。

複数種の疑似太陽光源を比較（SOL500、SOLAX（キセノン、SERIC、日本）、SUNTEST CPS（キセノン、ATLAS、米国）した場合、それぞれ波長特性が異なり、SOL500 は UVA 領域における相対放射照度が高値であるなど、自然太陽光とは異なる波長特性を持っている

ることが報告されている<sup>21)</sup>。また、同一光源で照射された同一部位の紫外線強度を異なる紫外線強度計 UVM751 (Dr K. Höhle)、UVR-3036/S (TOPCON) で計測した場合、測定に用いた紫外線強度計によって異なる値が得られるとする報告もある<sup>21)</sup>。さらに、いずれの光源を用いた場合でも同一平面状における照度分布は均一にすることは困難である。光毒性試験に用いる光源の波長特性を十分に把握し、照射条件を一定かつ均一に保つことが重要である。

バリデーションが終了している *in vitro* 3T3 NRU 試験で SOL500 以外の光源を使用する場合には、使用する光源の十分な背景データを得ておく必要がある。*in vivo* 試験では、光源の照射条件について試験系ごとのバリデーションを実施することが必須である。実際には疑似太陽光源以外を用いる施設も多く、照射条件も多様であるが、UVA 領域に吸収を持つ化合物の場合、ブラックランプに UVB 遮光用ガラスフィルターを装着した後、10-20 J/cm<sup>2</sup> 程度を照射する方法などが行なわれている。また 290nm 以上の UVB 領域に吸収を持つ化合物の場合は、あらかじめサンランプで無処置動物に照射した実験条件下における最小紅斑量を求めておいて、実験群にはそれ以下のエネルギー量を照射した後、ブラックランプで照射を行う方法が通常行われている。

光安定性に関するガイドライン (ICH Q1B)<sup>13)</sup> では以下のいずれかのオプションが使用可能である。

#### オプション1

D65 又は ID65 の放射基準に類似する出力を有する光源。例えば、可視光と紫外放射の両方の出力を示す昼光色蛍光ランプ、キセノンランプ、ハロゲンランプなど。D65 は、ISO10977 (1993) に規定されている屋外の昼光の標準として国際的に認められたものである。ID65 は、D65 と同等で室内の間接的な昼光の標準とされている。320nm 以下に放射エネルギーを有する光源では、適切なフィルターを使用し、該当する放射エネルギーを除去することが必要である。

#### オプション2

白色蛍光ランプと近紫外蛍光ランプを同一試料に照射する。

① ISO 10977 (1993) に類似する出力を示す白色蛍光ランプ

② 320~400 nm にスペクトル分布をもち、350~370 nm に放射エネルギーの極大を示す近紫外蛍光ランプ。ただし 320~360nm および 360~400nm それぞれの波長域に有意な量の放射エネルギーを示すこと。

## 3.2. 光毒性評価

### 3.2.1. *in vitro* 光毒性試験

OECD テストガイドライン 432 3T3-NRU 試験は非常に感度が高く、実施した試験でのほとんどが陽性の結果となる。IWGT, 2009 では光安全性評価の実施が必要とされる基準に

について議論が行われ、対象化合物のモル吸光係数が 1000 L/mol/cm 未満の場合には光毒性試験の実施は必要ないとされた<sup>7)</sup>。また、本邦では赤血球光溶血試験および酵母光生育阻害試験の、光毒性試験代替法バリデーションが終了し JaCVAM に報告書が提出されている<sup>22)</sup>。これらの試験メカニズムは前者は血球膜への直接障害性、後者は細胞膜および細胞内への障害を反映する試験系とされている。光毒性試験を実施する場合は *in vitro* 試験法の作用機序および特徴を理解し、被験物質の特性も考慮した上で、試験法を選定することが重要である。現在、本邦でバリデーションが進行中である、ヒト三次元培養皮膚モデルは照射を組み合わせたことにより、*in vitro* 光毒性試験法として有用である。特に難水溶性物質あるいは製剤での評価系として確立されることが期待される。

### 3.2.2. *in vivo* 光毒性試験

*in vivo* 光毒性試験には主としてモルモット、ウサギ、ラット、マウス、ヘアレスマウスが使用されている。被験物質にメラニン結合性がある場合は、有色動物を使用することも必要な場合がある。また、経口投与などによる全身暴露の場合、被験物質の分布特性により、使用可能な動物種が限定される場合もある。

動物を用いた実験では照射条件は実験ごとに異なり、光源は疑似太陽光や、UVA 単独および UVA と UVB の併用で照射する場合もある。照射量についても高い検出感度を得るために十分な照射量であることが必要であるが、照射単独で皮膚反応を惹起する限界量については動物種によって異なり、試験ごとに調整する必要がある。また、使用する動物種や実験系で各々標準的条件を定めることが望ましいが、そのためには陽性対照物質を用いたバリデーション試験の実施が必要となる。

### 3.2.3. 臨床での光毒性評価

薬剤性光線過敏症には光毒性と光アレルギー性機序があり、判別することは治療法の選択に重要である。光パッチテストでは、照射部位のみに強い反応を示し、かつ光毒性を否定できる場合に光アレルギー性と診断される。ECVAM workshop において、1991-1997 年に実施された光線過敏症患者における光パッチテストについて報告がなされた<sup>23)</sup>。テストされた医薬品を含む化学物質による皮膚の状態は、a) 反応が徐々に弱くなる、b) 反応が強弱する、c) 反応が一定の強さで持続する、d) 反応が遅延あるいは徐々に強くなるパターンに分類され、a) は光毒性、d) は光アレルギー性の特徴とされている。b) および c) については明確ではないが、反応が一定の強さで持続するパターンは光毒性反応が遅延したものと推察されている。光パッチテストに標準品として用いる化学物質は、基礎の実験結果および臨床知見に基づき、絶えず更新する必要がある。

## 3.3. 光アレルギー性評価（皮膚光感作性試験含む）

### 3.3.1. *in vitro* 光アレルギー性試験

現在、国際的にバリデートされ確立された動物での評価系はない。Hoya らが報告している THP - 1 細胞 (human monocytic leukemia cell line) を用いた photo-h-CLAT (photo human Cell Line Activation Test、光ヒト細胞株活性化試験) が現在検討されている<sup>24)</sup>。本方法は、光感作誘導過程の 1 つである T リンパ球への抗原提示の際における、樹状細胞の表面分子発現変化を指標にしたもので、THP - 1 細胞に UVA を照射し、CD86 および CD54 の発現亢進を指標に光アレルギー性を判定する。

### 3.3.2 *in vivo* 光アレルギー性試験

本邦では平成元年に通知された「皮膚光感作性試験ガイドライン」以降改訂されておらず、モルモットを用いた複数の試験系が示されている。FDA ガイドラインは非臨床試験での結果から臨床での光アレルギーを予測することは困難であり、光アレルギー反応については、直接臨床で評価することが有用としている。また EMEA では、モルモットを用いた動物試験の実施は可能としている一方で、3Rs の観点から代替法の開発を積極的に推進している。本邦では 2008 年に実施した製薬協のアンケート<sup>11)</sup>結果で、光安全性ガイドラインとして皮膚光感作性試験の必要性を支持する回答が多かった (24/38 社)。

他の *in vivo* 試験としては、Photo-LLNA (Local Lymph Node Assay) がある<sup>25)</sup>。本試験は、OECD ガイドライン 429<sup>26)</sup>として認証されている LLNA 法に UV 照射を加味した方法である。

### 3.3.3 臨床での光アレルギー性評価

薬剤性光線過敏症の発生機序として、光アレルギーと光毒性があり、両者を適切に診断することが重要である。

臨床での光アレルギーを評価する方法として、光パッチテストおよび内服照射テストがある。光パッチテストの主な適応疾患は光アレルギー性接触皮膚炎であり、内服照射試験の適応疾患は、光アレルギー性反応による薬剤性光線過敏症である<sup>27)</sup>。

## 3.4 光遺伝毒性評価

EMEA の Photosafety のガイドラインに光遺伝毒性試験についての記載があるが、IWGT、2009 においては光毒性評価に「光遺伝毒性試験は推奨しない」とされている。

### 3.4.1. *in vitro* 光遺伝毒性試験

光線照射が原因で皮膚がんが発症するメカニズムを勘案し、光遺伝毒性試験は DNA 損傷を指標とした光染色体異常 (小核) 試験が推奨されていた。しかし、ほ乳類の培養細胞では光照射単独で染色体異常が誘発され、光染色体異常試験結果が適切光遺伝毒性の評価に

反映されない。また、光 Ames 試験のエンドポイントは Mutation であり、陽性結果から発がん性を予測することは困難である。さらに、その検出感度は高くない。また、光毒性を有するキノロン系抗菌剤などは、その薬理作用から光遺伝毒性試験評価が困難な場合がある。

#### 3.4.2. *in vivo* 光遺伝毒性試験

*in vitro* 光遺伝毒性試験と同様 DNA 損傷を指標とする試験系である皮膚小核試験<sup>28, 29)</sup>、皮膚組織の単細胞ゲル電気泳動法 (コメットアッセイ)<sup>30)</sup>に光照射を組み合わせた光皮膚小核試験<sup>31, 32)</sup>、光皮膚コメットアッセイ<sup>33)</sup>がある。いずれの試験系も細胞毒性に関連した間接的な DNA 損傷による陽性結果をもたらすことがあり注意が必要である。ただし、これらの光遺伝毒性試験系については、IWGT, 2009 では「将来有望の可能性はあるが、現時点は限られたデータであり、通常に用いる試験系ではない」とされた<sup>10)</sup>。

#### 3.4.3. 臨床での光遺伝毒性評価

欧米ガイドランスではバイオマーカーを見出す必要性について言及されているが、現時点では有用な指標として具体的な記述はない。

### 3.5. 光がん原性評価

#### 3.5.1. *in vivo* 光がん原性試験

現在、利用可能なげっ歯類 (ヘアレスげっ歯類など) を用いた光発がん性試験は ICH M3 (R2) ガイドラインでは有用性については推奨されていない。他の代替評価法を用いて、がん原性を評価することを推奨しているが、具体的な記載はない<sup>6)</sup>。光発がん性に対するリスクが疑われる場合には、治験実施計画書や添付文書に注意書などでリスクを周知し、服用中における光曝露を回避する方策を講じることが現実的である。今後、有用な光遺伝毒性試験やヒト皮膚培養モデルを用いたバイオマーカー試験などの新試験法の開発が望まれる。

#### 3.5.2. 臨床での光がん原性評価

紫外線の単独曝露で発がん性を有し、太陽光を浴びることで皮膚発癌リスクを上昇させる。さらに免疫抑制剤の長期使用は皮膚発がんのリスクを増加させるため、紫外線曝露を避ける配慮が特に必要である。医薬品が直接作用で光発がん性を有する可能性は低いが、光照射により 8-Methoxsoralen などは刺激性物質に変化し、それが原因でがんが誘発されると考えられている。光照射により刺激性を誘発する物質は、紅斑や腫脹、灼熱感や痛みなどにより患者本人が早期に認識されるためリスク管理は比較的容易である。光照射により有害性が誘発される情報を十分に周知しておく必要がある。

### 3.6. 臨床試験での光安全性評価

臨床で光安全性試験を実施するのは、医薬品を内服あるいは外用適用後に光線過敏症様症状が発現した場合の確定診断目的と、開発中の医薬品の光安全性を確認するために実施する場合に分けられる。いずれの場合においても、臨床試験で光安全性評価を実施するには、光パッチテストと内服照射テストが有用である。

光パッチテストは、主に光アレルギー性接触皮膚炎の診断に有効であるが、光感作物質が内服薬や注射薬として全身曝露後生じた光アレルギー性皮膚炎の一部にも有効である。光パッチテストでの陽性反応は、光毒性反応を否定することで確定される。光毒性の反応で生じた陽性反応は、非特異的で誰にでも生じる可能性があり、光線過敏症患者に特異的な反応と断定できない。現実には光パッチテストにおける光毒性反応と光アレルギー性反応の鑑別は、しばしば問題となっており、現在最も信頼性の高い鑑別法として、複数の健常人と患者で同一条件の光パッチテストを行い、患者と健常人で同様の反応が生じるか否かで確認する。健常人でも陽性反応が得られる場合は、光毒性反応と判定される。

一方、内服照射テストは、光アレルギー性反応による光線過敏型薬疹の診断に有効である。内服照射テストの実施に当たって、薬物の内服量、内服期間、内服後の光線照射時期、照射量により結果が異なるが、試験の最適な条件は、薬剤の種類や皮膚障害の種類、患者の過敏症の程度などにより異なるため、標準的な試験方法はない<sup>34)</sup>。

#### 3.6.1. 臨床試験での光安全性評価に必要な非臨床光安全性試験

臨床で光照射装置などを用いた光安全性試験を実施し安全性を評価する場合、適切なモデルを用いた非臨床試験での光毒性評価結果を事前に得ることは、被験者保護の観点から必要である。

原則として、ヒトで既に皮膚光感作性を示すことが知られている物質と類似構造を有する皮膚外用剤、または皮膚光感作性を持つ可能性が類推される外用剤の場合は、非臨床での皮膚光感作性試験をヒトに投与する前に実施する必要がある。

一方、非臨床光毒性試験での結果、明らかに陰性であれば臨床で光安全性を評価する必要性は低い。しかし、動物で光毒性試験結果が陰性の場合でもヒトで光毒性が発現する可能性があるため、臨床試験での有害事象発現について注意深く解析を実施することは、光毒性を検出するために重要である。

### 3.7. 光安全性評価結果のリスクコミュニケーション

#### 3.7.1. 光安全性に対するリスクが懸念されない場合

開発段階においては、光毒性試験の実施を不要と判断した根拠を試験実施計画書および治験薬概要書に記載し、治験担当医師に対して適切な情報提供を行う。承認申請時には、申請概要書に光毒性試験の実施を不要と判断した理由を記載することが必要である。



### 3.7.2. 光安全性評価の結果から光毒性が懸念される場合

開発段階においては、同意説明文書、治験薬概要書、試験実施計画書に得られた非臨床試験もしくは臨床試験の成績を記載し、被験者および治験担当医師に対し適切な情報提供を行う。状況に応じて、光毒性のリスクを低減する対応策（光照射に対する注意喚起、服用時間の調整、サンスクリーンなどの防御）についても検討し、適切な予防措置が可能となるように提案する。承認申請においては、申請概要書に光毒性試験の結果およびヒトへのリスク評価について記載するとともに、添付文書に記載し情報提供・注意喚起を行うことを検討する。なお、情報の提供に際しては、一部の結果のみで判断するのではなく、非臨床試験および臨床試験の結果を総合的に判断し、適切な情報を提供することが重要である。

## 4. まとめ

本報告は、医薬品の光安全性評価に関する考え方や技術的課題などに関する現状と問題点をまとめた。実態を正確に把握し課題を明確にすることにより、科学的に妥当で、国際的に整合性のある光安全性評価ガイドライン策定に寄与することを目的とした。

光安全性評価の要否の判断基準を明確にすること、*in vitro* 光毒性試験（3T3 NRU 試験）結果の評価および *in vivo* 試験の必要性についての考え方、光アレルギー性の予測性への懸念や動物福祉、光遺伝毒性評価や光がん原性試験結果のヒトへの外挿性について、十分に配慮して光安全性評価ガイドラインを策定する必要があるものと結論づけられる。

本報告は製薬協基礎研究部会一般毒性課題対応チームにて策定した「医薬品の光安全性評価に関する資料」を基に当研究班が作成した。

### 参考文献

- 1) 「医薬品の光安全性評価に関する資料」中村和市，細井一弘，岩瀬裕美子，白菊敏之，高木広憲，山下博久，水間秀行（2009）
- 2) EMEA, Note for guidance on photosafety testing (CPMP/SWP/398/01), CPMP, 2002
- 3) FDA, Guidance for industry, photosafety testing, CDER, 2003
- 4) EMEA, Concept paper on the need for revision of the guidance on photosafety testing (CPMP/SWP/398/01), (CHMP/SWP/534549/2007), CHMP, 2008
- 5) 厚生省薬務局「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」平成元年（1989年）9月11日薬審1第24号

- 6) 厚生労働省医薬食品局「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」平成22年(2010年)2月19日付薬食審査発0219第6号
- 7) OECD, OECD guideline for testing of chemicals, 432 「 In vitro 3T3 NRU phototoxicity test」 2004
- 8) Henry, B., Foti, C., and Alsante, K.: Can light absorption and photostability data be used to assess the photosafety risks in patients for a new drug molecule? J Photochem Photobiol B, 96, 57, 2009
- 9) Bauer, D., Martus, H. J., and Suter, W.: Thresholds in photosafety assessment: a model case supporting tiered testing and risk assessment. SOT, 2009
- 10) Kasper, P.: A re-appraisal of the recommendations for photogenotoxicity testing, Reports from the 5<sup>th</sup> International Workshop on Genotoxicity Testing. [http://www.iaems.net/IWGT/IWGT\\_Group2\\_Photosafety.ppt](http://www.iaems.net/IWGT/IWGT_Group2_Photosafety.ppt), 2009
- 11) 医薬品の光安全性評価に関する日米欧の規制に関する調査及び光安全性評価手順の作成を目的とした基礎データ構築のための調査報告. 日本製薬工業協会, 医薬品評価委員会, 基礎研究部会, 資料 148, 2009
- 12) 吉岡澄江: 医薬品の安定性—よりよい開発と評価のための基礎から実際まで— 南江堂 52, 1995
- 13) ICH: Q1B 「 Stability testing: photostability testing of new drug substances and products」 1997
- 14) Hayashi, N., Nakata, Y., and Yazaki, A.: New findings on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinones with various substituents at position 1. Antimicrobial Agents Chemotherapy, 799, 2004
- 15) Onoue, S. and Tsuda, Y.: Analytical studies on the prediction of

photosensitive/phototoxic potential of pharmaceutical substances.

Pharmaceutical Res. 23, 156, 2006

- 16) Onoue, S., Kawamura, K., Igarashi, N., Zhou, Y., Fujikawa, M., Yamada, H., Tsuda, Y., Seto, Y., and Yamada, S.: Reactive oxygen species assay-based risk assessment of drug-induced phototoxicity: Classification criteria and application to drug candidates. *J Pharm Biomed Anal*, 47, 967, 2008
- 17) Onoue, S., Igarashi, N., Yamada, S., and Tsuda, Y.: High-throughput reactive oxygen species (ROS) assay: An enabling technology for screening the phototoxic potential of pharmaceutical substances. *J Pharm Biomed Anal*, 46, 187, 2008
- 18) 堀井郁夫, 内田力. 医薬品開発における光毒性・創薬早期・開発研究における評価と実際. 非臨床試験・ガイドラインへの対応と新しい試み. 野村護, 堀井郁夫, 吉田武美 編集. 株式会社エル・アイ・シー 271-288 2008
- 19) Leblanc, B., Jezequal, S., Davies, T., Hanton, G. and Taradach, C.: Binding of drugs to eye malenin is not predictive of ocular toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 28, 124-132. 1998
- 20) 松尾幸朗: B光線過敏症, 光線過敏症 (第3版) 佐藤吉昭監修、金原出版 111-21, 2002
- 21) 山影康次, 光遺伝毒性試験. 最新 動物実験代替法～日米欧関連法規への対応/各種試験の手順. 竹本健太郎 編集. 技術情報協会; 150-59 2007
- 22) 光毒性試験代替法バリデーション研究実行委員会, 光毒性試験代替法バリデーション研究報告書, 委員長 吉村功 2004  
[http://jacvam.jp/files/effort/02-002/02\\_002\\_01.pdf](http://jacvam.jp/files/effort/02-002/02_002_01.pdf)
- 23) Spielmann H., Müller L., Averbeck D., Balls M., Brendler-Schwaab S., Castell J.V., Curren R., De Silva O., Gibbs N.K., Liebsch M., Lovell W.W., Merk H.F., Nash J.F., Neumann N.J., Pape W.J.W., Ulrich P. and Vohr H.-W. : The second ECVAM workshop on phototoxicity testing. *Alternatives to Laboratory Animals*, 28(6), 777-814, 2000
- 24) Hoya, M., Hirota, M., Suzuki, M., Hagino, S., Itagaki, H. and Aiba, S. :

- Development of an in vitro photosensitization assay using human monocyte-derived cells. *Toxicol In Vitro*, 23, 911, 2009
- 25) Vohr HW, Homey B, Schuppe HC, Kind P. : Detection of photoreactivity demonstrated in a modified local lymph node assay in mice. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 10, 57, 1994
- 26) OECD guideline for testing of chemicals, 429 「Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay」 2002.
- 27) 橋本洋子 : 光パッチテストと内服照射テスト, 光線過敏症 (第3版) 佐藤吉昭監修, 金原出版 252-61, 2002.
- 28) Nishikawa, T., Haresaku, M., Adachi, K., Masuda, M. and Hayashi. M.: Study of a rat skin in vivo micronucleus test: data generated by mitomycin C and methyl methanesulfonate. *Mutation Res.* 444, 59-166, 1999
- 29) Nishikawa, T., Haresaku, M., Fukushima, A., Nakamura, T., Adachi, K., Masuda, M. and Hayashi. M.: Further evaluation of an in vivo micronucleus test on rat and mouse skin: results with five skin carcinogens. *Mutation Res.* 513, 93-102, 2002
- 30) Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlison B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genotoxicology testing. *Environ. Mol. Mut.* 35, 206-221, 2000
- 31) Itoh S, Katoh M, Furuhashi K. In vivo photochemical micronucleus induction due to certain quinolone antimicrobial agents in the skin of hairless mice. *Mutation Res.* 520, 133-139, 2002
- 32) Hara, T., Nishikawa, T., Sui, H., Kawakami, K., Matsumoto, H. and Tanaka, N. : In vivo photochemical skin micronucleus test using a sunlight simulator: Detection of 8-methoxypsoralen and benzo[a]pyrene in hairless mice. *Mutation Res.* 632, 1-8, 2007
- 33) Wirnitzer U, Gross-Tholl N, Herbold B, Von Keutz E. Photo-chemically induced DNA effects in the comet assay with epidermal cells of SKH-1 mice after a single