

No.	コメント箇所*1	コメント(理由等)	対応
12	5. 反復投与毒性試験	2種の動物による試験の必要性を見直すように求める。げっ歯類と非げっ歯類とは、特定の化学作用や他の因子に対する感受性が異なる可能性があることは理解しているが、早期のトキシコキネティクス・薬物動態試験において最も感受性の高い、あるいは最も臨床的に適切な動物種を識別することにより、当該動物一種のみを使用することを可能とすべきである。	薬物動態学的にヒトに類似していても、必ずしも薬物に対する生体反応が類似するとは限らず、また同様に、特定の薬理作用に対する感受性がヒトに類似していても、毒性発現が類似するとは限りません。高用量の暴露を含む第I相試験や多くの被験者に投与する第II相試験の実施のためには、主薬理作用以外の作用も含めて、有害影響を網羅的に調べることにより、ヒトでの副作用が発現する可能性を明らかにしておくことが必要です。そのため、原則として非げっ歯類1種を含むほ乳類動物2種での実施を求めています。
13	5. 反復投与毒性試験	3か月を超える臨床適用及び6か月を超える臨床試験のための非げっ歯類試験の期間について、90日を超えるイヌの試験は、他の利用可能な毒性データと比較して、科学的な「付加価値」を与えるものではないとする報告がある。	ICHにおいては、長期毒性試験で得られる情報についての検討を行っており、3か月では現れないが、6か月になって始めて認められる毒性があることを確認しています。また、12か月時点で新たに毒性が認められる場合もありますが、この場合にはその毒性徴候が9か月時点で発現していたことが検証されています。なお、開発薬物の適応やその特性によっては、9か月間の試験を行わずとも良い場合があります。そのような事例について例示しております。
14	5. 反復投与毒性試験	表1、脚注a.について、他極とは異なる項目を脚注で示すことには意味があるが、同じなのであれば各論に記載してはどうか。	ご指摘を踏まえて、脚注aを表1から削除し、その内容を生殖発生毒性試験の項に記載致しました。

No.	コメント箇所*1	コメント(理由等)	対応
15	5.反復投与毒性試験	表1、脚注c.について、非臨床試験はヒトへの治験薬の投与を想定したもので、そのための基礎データはイヌよりも霊長類の試験データの方がより有用と考える。「幼若動物を用いた毒性試験を適切な実験動物(たとえば、マーモセットなどの霊長類など)を供し、適切な時期から投与を開始する試験によって」としてはどうか。	動物実験が必要な場合においては、実験目的を満たす限り、なるべく下等な動物の使用が求められます。幼若動物の成長過程への影響に関しても同様であり、マーモセットなどの霊長類を第一選択種として推奨することは望ましくないと考えております。なお、イヌについては12カ月試験で全ての発育期間をカバーできることから、例として示しました。
16	5.反復投与毒性試験	表1、脚注c.が第13節(「小児における臨床試験」)の内容と重複している。	ご指摘を踏まえて、記載を整備致しました。
17	5.反復投与毒性試験	表1、脚注d.の内容は「非げっ歯類の9カ月」だけに限定されるものでないので、脚注記号を付記する箇所が適切でない。	脚注の記載順序や内容を見直すとともに、ご指摘を踏まえて、脚注記号を適切な箇所に付記致しました。
18	6.ヒト初回臨床投与量の算出	「利用可能なアプローチの各々については、各極のガイダンスを参考にされたい」とあるが、国内のガイダンスはない。	ご指摘のように、現在のところ、国内にはこれに相当する指針はありませんが、FDA及びEMAの初回投与量の設定に関連するガイダンスの記載内容は我が国においても適切に用いると考えており、これらを参考にして頂きたいと考えております。
19	7.早期探索的臨床試験	「このガイダンスが目的とする早期探索的臨床試験は、第I相試験の初期に実施されることを意図しており、」とあるが、「早期探索的臨床試験」を「第I相試験」の一部とみなすのか、別の類型とみなすのか。	我が国では、早期探索的臨床試験を薬事法上の治験として位置づけされており、第I相試験の一部として行うこととしています。
20	7.早期探索的臨床試験	「臨床投与経路を用いた拡張型単回投与毒性試験について「臨床投与経路を用いた拡張型単回投与毒性試験、あるいはその他の適切な毒性試験」と修正すべきである。	本ガイダンスでは、特定の臨床試験の実施に必要な非臨床試験について、一般的な基準を定めているものであり、当該試験の検討範囲を網羅する試験成績があれば、本ガイダンスの3Rの原則に則って、当該試験の実施を求めるものではありません。

No.	コメント箇所*1	コメント (理由等)	対応
21	7. 早期探索的臨床試験	「拡張型単回投与毒性試験」という用語は妥当かどうか、疑問がある。従来の単回投与毒性試験を本ガイドランスでは「急性毒性試験」に改めているが、「拡張型急性毒性試験」とした方がガイドラインの趣旨に整合すると考える。	急性毒性を検出するための試験法としては、単回投与毒性試験以外の試験も容認していることから、それらとの混同を避けるため、また、従来の単回投与毒性試験との混同を防止するため、現状の記載どおりと致します。
22	7. 早期探索的臨床試験	本文部分は規定的な記述ではないが、表では非臨床試験の動物数、試験期間及び投与量等が非常に詳細に記載されている。読み手が表の詳細に注目してしまい、動物を使用しない方法への置換え、動物使用数の削減、動物の苦痛の軽減の機会を利用せずに、これらの詳細を基準として使用する可能性が懸念される。	表では、現時点での適切と考えられる非臨床試験の中から、3Rを考慮した上で、それぞれのアプローチに必要な試験の内容を検討し、その実施基準を示しています。「ガイドラインの目的」で述べているように3Rは本ガイドラインの基本原則であり、当然のことながら、それに対する対応が求められるものと考えております。
23	7. 早期探索的臨床試験	本文の内容と表3の内容が複数箇所で一致していない。本文だけ、あるいは表だけ読んで使用するガイドラインのユーザーが、ガイドラインの内容を誤解する恐れがある。最低限必要な条件は本文と表で一致させていただきたい。	ご指摘を踏まえて、本文と表の整合性を確認し、本文と表中の記述が重複しないように修正するとともに、適切に記載を整備致しました。
24	7. 早期探索的臨床試験	本ガイドランスの公示によって、平成20年6月のマイクロドーズ臨床試験ガイドランスはどのように扱われるのでしょうか。	本ガイドランスでは新たに分割投与（総投与量 100 $\mu$ g 以内と 500 $\mu$ g 以内の二つのアプローチ）が追加されました。これらのアプローチもマイクロドーズ試験の範疇に加わることとなります。なお、本ガイドランスに述べられていない内容については、平成20年6月に通知されたマイクロドーズ臨床試験ガイドランスが適用されます。

No.	コメント箇所*1	コメント(理由等)	対応
25	7. 早期探索的臨床試験	表3において、アプローチ1(単回マイクロドーズ試験)ではげっ歯類の拡張型単回投与毒性試験、また、アプローチ2(反復マイクロドーズ試験)ではげっ歯類の7日間投与試験が必要とされていますが、いずれのマイクロドーズ試験についても、7日間の動物試験で十分と考えます。	ご指摘のように、アプローチ2の実施を支持するための7日間投与の毒性試験は、アプローチ1の実施も支持するものと考えております。
26	7. 早期探索的臨床試験	表3のアプローチ4とアプローチ5の「一般毒性試験」欄に、「標準的な2週間反復投与毒性試験」との記載があるが、この「標準的な」の内容が説明されていない。	「標準的な2週間の反復投与試験」とは、一般的な反復投与毒性試験で要求される検査項目と用量を含む試験を指します。アプローチ4の場合は、用量をMTDにすることを必ずしも求めていないことから、「標準的な」を削除するとともに「標準的な検査項目について評価される」旨を追記致しました。
27	7. 早期探索的臨床試験	拡張型単回投与試験(表3脚注a.)では試験2日目に10例/性/群、試験14日目に5例/性/群の動物を検査に用いられる。ヒトへのマイクロドーズ試験の安全性を評価する目的では、これらの動物数は過剰であると考ええる。	拡張型単回投与試験では、その成績に基づいて、初めてヒトに投与がなされることから、慎重な実施が求められ、使用動物数も多くなっています。
28	7. 早期探索的臨床試験	表3では、ラット拡張型単回投与試験の場合の限界量を10mg/kgとし「臨床投与量が100μgの場合は、体重量当たり用量として約6000倍に相当する」とされていますが、6000倍は過度に高い安全域であるように思われ、低減すべきと考ええる。	ヒトでの致死量と実験動物でのLD <sub>50</sub> 値の間には100倍以上の差がある場合があります。また、単回投与毒性試験の結果は施設や動物の系統により、大きなバラツキが認められることから、十分な安全を見込んで、経口投与での毒性試験では、体表面積あたり1000倍の用量まで検討することに致しました。

No.	コメント箇所 <sup>*1</sup>	コメント(理由等)	対応
29	7. 早期探索的臨床試験	アプローチ3で必要な遺伝毒性試験として「Ames試験(又は適切なその他の試験)」が記載されているが、第9節の遺伝毒性試験の項では「臨床試験が単回投与に限られる場合に必要ない遺伝毒性試験は、通常、遺伝子突然変異に関する試験」と記載されており、Ames試験とは規定されていない。また、ここでの「又は適切なその他の試験」は何を示すか不明である。	遺伝子突然変異を調べる試験の代表例としてAmes試験を推奨したのですが、ご指摘を踏まえて、「Ames試験(例えば、抗菌剤等のように、Ames試験が不適当な場合には、その他の代替試験)」と具体的に記載を変更致しました。
30	7. 早期探索的臨床試験	アプローチ4及びアプローチ5では、単回と反復投与の両者を規定している。遺伝毒性試験の項では「単回投与に限られる場合に必要ない遺伝毒性試験は、通常、遺伝子突然変異に関する試験」と記載されており、Ames試験とは規定されていない。また、ここではAmes試験と染色体異常誘発能試験と記載されているがこれは単回投与の場合では整合性が取れていない。アプローチ4と5での必要な遺伝毒性項目は単回と、反復投与で分けるべきである。	アプローチ4及びアプローチ5は、反復投与まで実施することを前提として、必要な非臨床試験の範囲を定めたものであり、単回投与であれば、Ames試験(例えば、抗菌剤等のように、Ames試験が不適当な場合には、その他の代替試験)のみでよいと考えております。
31	9. 遺伝毒性試験	遺伝毒性試験については、ICH S2 (R1) 案にあるバッテリー方式ではなく、第1段階はインビトロアッセイのみで構成される段階 (tiered) 方式を強く支持する。	現時点では、ICH S2 (R1) 案はステップ4に到達しておらず、本ガイダンスでは、臨床試験における投与回数によって評価すべき遺伝毒性の範囲(遺伝子突然変異/染色体異常)のみを示しました。
32	9. 遺伝毒性試験	「遺伝子突然変異に関する試験」はAmes試験のことを意味するものと考えられるが、そのように明記することとを避けた理由は何か?	Ames試験以外の方法であっても、適切な試験であれば供用できることを示すために、「遺伝子突然変異に関する試験」と致しました。

No.	コメント箇所*1	コメント (理由等)	対応
33	11.生殖発生毒性試験	妊娠可能な女性の組み入れに関して、「3極とも、雌の受胎能に関する非臨床試験は、第3相試験で妊娠可能な女性を含める前に完了しておくべきである」については、「第2相試験までは、反復投与試験における卵巣の病理組織学的検査で問題がないことが雌受胎能試験の代替となる」という理解で問題ないか。	より明確な記載とするため、「3極とも、雌受胎能試験の実施前に、妊娠可能な女性を第I相及び第II相の反復投与試験に組み入れることができるが、それは、雌生殖器官の評価が反復投与毒性試験のなかで実施されるからである。雌の受胎能に特に着目した非臨床試験は、大規模かつ長期の臨床試験（例えば第III相試験）で妊娠可能な女性を含める前に完了しておくべきである」と記載を変更致しました。
34	9. 免疫毒性	S8ガイドダンスに定められている診断エンドポイントとして、感受性、特異性、陽性/陰性の予測性、その他のパラメータの信頼できる評価を行うための有効性が十分に確認されていないものがあり、その結果として、追加の動物試験につながるおそれがある。	本ガイドダンスは個別の試験法の妥当性を検討するものではなく、臨床試験との関係で、非臨床試験をどのようなタイミングで行うかについての指針です。今後、必要に応じて、S8ガイドラインの改正がなされるものと考えております。
35	11. 生殖発生毒性試験	(注3)、「この非臨床試験はGLP条件下で実施されるべきであり、」とあるが、当該試験はあくまでも予備的発生毒性試験であり、適切な手順により実施された試験に基づき得られた科学的水準の担保された成績であれば、GLP条件の有無に囚われず、その試験成績を受け入れられても差し支えないと考える。	ご意見を踏まえて、「この予備的な非臨床試験は、科学的に質の高い水準で実施され、かつデータの収集記録を容易に確認できるものであるか、又はGLP条件下で実施されるべきである」と変更致しました。
36	13. 小児における臨床試験	「幼若動物による毒性試験の実施時期に関しては、臨床試験の期間に対する被験者の年齢が考慮すべき最も重要な事項の一つである。」とあるが、意味が分らぬ。	ご意見を踏まえて、「被験者の年齢と臨床試験の期間の関係（すなわち、被験者が薬物に暴露される期間中に、発育上の懸念すべき時期が含まれるか否か）は考慮すべき最も重要な事項の一つである。」と変更致しました。

No.	コメント箇所*	コメント (理由等)	対応
37	15. 光毒性	表題の「光毒性」について、本項では光感作性（非臨床及び臨床）、光遺伝毒性、光がん原性を包括していることから、そのことを明確に表現する用語として、「光安全性」が適当である。	ご指摘を踏まえ、表題を「光安全性試験」と変更致しました。
38	15. 光毒性	インビトロ3T3NRU光毒性試験を適切な非臨床試験方法としてICHが認定することを強く要請します。	本ガイドダンスは個別の試験法の妥当性を検討するものでなく、今後必要に応じて、ICHで別途に検討されるものと考えております。
39	15. 光毒性	げっ歯類の（光）発がん性試験について、信頼性、ヒトへの適切性、全体的な価値に疑問を持っており、このような試験の実施にICHがより強く反対するよう求める。	現時点では、げっ歯類の光がん原性試験の実施を求めておらず、「光がん原性」に対する適切な評価系が利用できるようになった場合は、光毒性評価で光がん原性リスクの可能性が示唆された化合物について、通常、その試験は販売される前までに完了しておくべきであり…」と記載致しました。
40	15. 光毒性	げっ歯類の光がん原性試験が医薬品開発の裏付けとして有用でない主な原因は、当該試験の特異度が低いことにあると考えられるので、現在利用されている試験を例示すべきである。	ご指摘を踏まえて、後注に「光がん原性試験のために現在使用可能なげっ歯類のモデル（例えば、げっ歯類の無毛動物）は、医薬品開発の裏付けとして有用ではないと考えられており、一般的に推奨されない」と記載致しました。
41	16. 薬物乱用に関する非臨床試験	従来の薬麻第113及び383号で主に使用されていた薬物の「依存性」から薬物の「乱用性」の用語に切り替えていますが、両者の意味に違いがあり、混乱するおそれがあると考えます。両用語を併記したり、使い分けたりするよう配慮が必要である。	米国及び欧州との用語の調整において本ガイドダンスでは「乱用性」を用いることにしました。ご指摘を踏まえて、本文中に「ここで言う乱用性とは、中枢神経系に対し活性がある薬物の使用に伴う依存性に係る乱用を意味する」を訳注として追記致しました。
42	16. 薬物乱用に関する非臨床試験	「げっ歯類での薬物の代謝物プロファイル、薬物活性の標的、薬物の毒性がヒト一致している場合には、…」とあるが、ヒトでの試験に入る前に行われるべき試験としてはこの条件は矛盾していないか。	薬物乱用に関する非臨床試験に先行して実施される、薬理試験、薬物動態試験及びヒト臨床試験の成績から判断できるものと考えております。

No.	コメント箇所*1	コメント(理由等)	対応
43	16. 薬物乱用に関する非臨床試験	「げっ歯類を用いて行うべきである」とあるが、げっ歯類を用いるか非げっ歯類を用いるかの選択は薬物の特性によるのではないか。薬物の特性を考慮せず、ただ「げっ歯類で陰性」という結果だけで「乱用性なし」と即断すると、ときに重要な事実を見逃す危険がある。	「霊長類を使用するケースは、霊長類がヒトでの乱用性を予測しうると考える明確な根拠があり、しかも、げっ歯類のモデルは不適切である場合に限るべきである」と記載しており、薬物の特性を考慮した上で、科学的にげっ歯類が不適と判断された場合のみに限って非げっ歯類での試験を実施すべきと考えております。
44	16. 薬物乱用に関する非臨床試験	「依存性/退薬症候の評価は、反復投与毒性試験における回復群のデザインの中に組み入れることができる」の記述は、多くの場合誤りである。身体依存は中枢神経系の抑制効果が一定期間以上維持された時に形成されやすいことが知られているが、通常の反復投与毒性試験では、薬物の中枢効果を維持し、耐性が認められた場合には増量するような投与デザインとはならない。	開発薬物の化学構造や薬理作用、薬物動態等の情報と合わせて、十分な高用量まで投与した時の反復投与毒性試験における症状等を観察することにより、多くの身体依存の形成に関する情報が得られると考えます。しかし、ご指摘のように、すべての退薬症候の評価が反復投与毒性試験における回復群の評価で可能ではないことから、「退薬症候の評価は、反復投与毒性試験における回復群のデザインの中に組み入れることもある」と記載を変更しました。
45	16. 薬物乱用に関する非臨床試験	第3相試験の前に非臨床試験成績が必要となると、第3相試験の開始が遅れるケースが想定される。原則として、非臨床試験は第3相試験と並行実施でよいと考える。	乱用性の可能性のある薬物について非臨床試験での評価がなされる前に、多くの被験者を組み入れ、さらに十分な管理が行き届かない大規模試験を開始することは適切でないと考えております。
46	17. 固定比率配合剤のための非臨床試験	配合剤の申請に必要な提出資料(平成17年3月31日付薬食発第0331015号)には単回、反復投与毒性試験が必須(○)として挙げられているが、このガイドランスと現行の国内申請要件との整合はどのように取るのか。	当該申請に際しては、単回、反復投与毒性試験に関する資料について、原則として添付することが求められていますが、本ガイドランスで述べているように、毒性的に懸念がないことが示されるのであれば、必ずしも提出を求めるものではありません。



No.	コメント箇所*1	コメント(理由等)	対応
47	17. 固定比率配合剤のための非臨床試験	「後期開発ステータージにある被験薬」との用語は臨床開発中の医薬品のみを指すように理解されるが、このカテゴリーは既承認の2種薬剤の新規に固定配合剤とするケースも含むと考える。 局所刺激性試験、小児臨床試験のための非臨床試験、光毒性、薬物乱用に関する非臨床試験、固定比率配合剤のための非臨床試験については、国内には該当するガイドラインがないか、あっても古いため、対応が必要ではないか。	ご指摘を踏まえて、配合剤の分類に関する記述について、「後期開発ステータージとは、十分な臨床経験があるステータージ(第Ⅲ相臨床試験中あるいは市販後)」との定義を記載致しました。
48	全般	局所刺激性試験、小児臨床試験のための非臨床試験、光毒性、薬物乱用に関する非臨床試験、固定比率配合剤のための非臨床試験については、国内には該当するガイドラインがないか、あっても古いため、対応が必要ではないか。	対応の必要性を含めて、今後検討したいと考えております。
49	全般	パブリックコメントの募集期間が1.5カ月であるのは短すぎる。	次に開催されるICH会議の日程等を勘案してパブリックコメントの募集期間を設定致しました。なお、1.5カ月は通常のパブリックコメントに比べて特段に短い期間ではありませんが、本ガイダンの内容が非臨床試験の多岐に亘るものであったことから、関係各位のご協力に感謝致します。

\*1: コメント箇所の項目番号等はStep.2文書のものとなります。

国立がんセンター  
(091014, 18:30-20:00)

## ICH-M3(R2)(臨床試験の開始に必要な前臨床試験について)の解説

国立医薬品食品衛生研究所  
大野泰雄

## ICH M3(R2)ガイダンスの目的

- ヒト臨床試験の範囲と期間に応じて、また、販売承認を得るために推奨される医薬品の非臨床安全性試験についての国際的な基準を勧告し、そのハーモナイゼーションを促進する。
- ハーモナイゼーションによって、現在の要求事項が明らかにされ、実質的な相違が各地域間に存在する可能性を減少させる。
- 臨床試験の実施時期を適正化し、3R(使用動物数の削減/苦痛の軽減/代替法の利用)の原則に従って動物の使用を抑え、医薬品開発のための資源の有効利用に資する。
- 本ガイダンスによって、安全で倫理にかなった医薬品の開発が促進され、新医薬品を促進する。

## ICH-M3ガイダンスの設定と見直し

平成9年: ICH-M3合意  
「医薬品の臨床試験のための非臨床試験実施時期についてのガイドラインについて」として通知(平成10年11月13日)

平成12年: ICH-M3(R1)合意 → 平成12年12月27日通知

欧米でMicrodose導入に伴い、国内でICH-M3改訂の機運が高まる。

- 不調和の部分の見直し  
生殖毒性試験のタイミング、  
反復投与毒性試験の期間
- 動物使用数の削減  
単回投与毒性試験
- 新たな開発手法のガイドライン化  
Microdose試験  
Exploratory-IND試験

## ICH-M3ガイダンス改訂作業経緯(1)

平成18年6月5-7日: ICH横浜会議  
非臨床安全性部門のBrainstorming → M3の見直しが必要

平成18年10月23-26日: シカゴ会議(EWG開始)  
ガイドラインの適用範囲、単回投与毒性試験  
遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験

平成19年 6月6-10日: ブリュッセル会議  
バイオ医薬品の取扱い  
単回投与毒性試験の必要性と実施時期  
遺伝毒性試験コアバッテリー実施時期  
生殖発生毒性試験  
反復投与毒性試験の投与期間と実施時期  
非げっ歯類の慢性毒性試験投与期間  
探索的臨床試験とFIHIに必要な非臨床安全性試験  
小児用医薬品の臨床試験に必要な非臨床安全性試験

## ICH-M3ガイダンス改訂作業経緯(2)

平成19年 9月25-27日: ワシントン会議  
生殖毒性試験データベース検討  
非げっ歯類慢性毒性試験データベース検討

平成19年10月29日-11月1日: 横浜会議  
探索的臨床試験、乱用性(EO)、光毒性(JPMA)、免疫毒性(MHLW)、  
配合剤(FDA)、初回投与量の設定

平成20年6月1-6日: ポートランド会議  
文書内容の詳細検討 → Step 2達成 → パブリックコメント聴取

平成20年11月10-13日: ブラッセル会議: コメント検討  
電話会議(2回)

平成21年 3月11-13日: ワシントン会議 同上

平成21年 6月 7-11日: 横浜会議 → Step 4達成  
現在、国内通知作成準備中

## ICH-M3(R2)ガイダンスで 取り上げた非臨床試験

1. 薬理試験
2. トキシコキネティクスと薬物動態試験
3. 単回投与毒性試験 ⇒ 急性毒性試験
4. 反復投与毒性試験
5. ヒト初回投与量の算定
6. 早期探索的臨床試験
7. 局所毒性試験
8. 遺伝毒性試験
9. がん原性試験
10. 生殖毒性試験(男性、妊娠可能性のない女性、妊娠可能女性、妊娠女性)
  11. 幼小児臨床試験
  12. 免疫毒性試験
  13. 光毒性試験
  14. 依存性試験
  15. 配合剤のための非臨床試験

## 適用範囲と原則

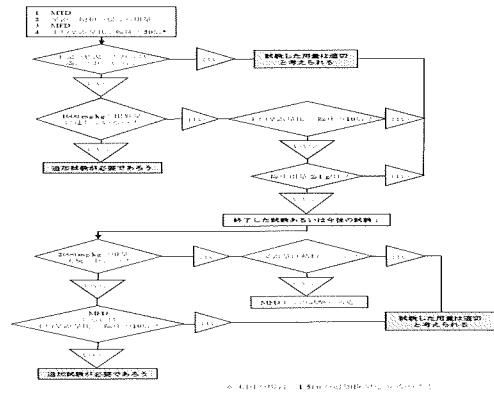
- 本文書は、医薬品開発において通常起こり得る状況に適用されるものであり、医薬品開発のための一般的な指針としてみなされるべきである。非臨床安全性試験及び臨床試験の計画やデザインは、科学的かつ倫理的に適切なものでなくてはならない。
- バイオテクノロジー応用医薬品については、臨床開発に関連する非臨床試験の実施時期に関してのみの指針である。
- 開発中の医薬品が、治療法のない生命を脅かす疾病又は重篤な疾病を適応とする場合、個々の事例に応じて毒性的評価と臨床開発を進め、最適かつ迅速な医薬品開発が行われることが必要である。
- これらの事例や革新的な治療法(例えば、siRNA)では、ワクチンアジュバントと同様に、特定の試験の、簡略化、延期、省略、又は追加もあり得る。
- 特定の医薬品領域のためのICHガイダンスがある場合には、それらを参考にする。

## 試験実施に必要な非臨床試験 についての基本的考え方

- 非臨床安全性試験及び臨床試験の計画やデザインは、科学的かつ倫理的に適切なものでなくてはならない。
- 臨床開発の開始時までに行なわれる非臨床安全性試験は、通常限られたものであるが、臨床試験の条件下で現れる可能性のある有害作用を十分に明らかにするものでなくてはならない。
- 臨床試験の期間、被験者の数と特性に応じて、リスクを勘案し、必要な非臨床試験を決める。
- 個々の事例に応じて毒性的評価と臨床開発を進め、最適かつ迅速な医薬品開発が行われることが必要である。
- 動物福祉についても配慮する。

## 試験実施に必要な非臨床試験 についての基本的考え方(続き)

- MTD、ヒトでの暴露量を十分に超える用量、暴露飽和用量、或いはMFDまで投与することにより、臨床的に意味のある影響として、どのような作用が生ずる可能性があるかを十分に明らかにすることができる。
- 単回あるいは反復投与毒性試験の最高用量は臨床での暴露の50倍で良い(ラット体重当たりの用量では約350倍。遺伝毒性試験を組み込む場合および探索的臨床試験の場合を除く)。
- 通常、十分なヒトでの毒性予測のためには、動物での同期間以上の反復投与試験結果が良い(2週間以下、6ヶ月以上を除く)。
- 毒性試験では必ずしも検出できない有害作用がある。
- 臨床での使用状況も勘案する。
- 非GLPデータも有効に利用する(薬理試験、催奇形性試験用量設定試験)。



## 1. 薬理試験

- 安全性薬理試験のコアバッテリーには、心血管系、中枢神経系、呼吸系に対する作用の評価が含まれており、一般的にヒトに投与する前に行われるべきである。
- 正当な理由があれば、補足的な安全性薬理試験及びフォローアップ安全性薬理試験を臨床開発後期に実施してもよい。
- 使用動物を削減するため、インビボで評価する場合には、いづれも、可能な範囲内で、一般毒性試験に組み込んで実施することも考慮する。
- 初期のインビボ及び/又はインビトロにおける薬力学的試験は、医薬品開発の探索段階で実施され、通常はGLPに従って行われず、それらの試験結果は、非臨床試験及び臨床試験の用量設定に役立てることができる。

## 2. トキシコキネティクスと薬物動態試験

- 動物及びヒトの薬物代謝、血漿タンパク結合、反復投与毒性試験で使用した動物種における全身暴露データの評価は、通常、臨床試験の前に行う。
- 毒性試験で使用した動物種における薬物動態に関するさらなる情報や薬物相互作用の可能性に関するインビトロ情報は、多数の被験者あるいは長期間の投与を行う前(通常、第Ⅲ相試験前)に入手しておく。
- これらの情報は、ヒトと動物の代謝物の比較を行い、追加の非臨床試験の必要性について決定するために利用できる。
- 代謝物の評価は、投与薬物に関連する総ての物質の暴露量の10%を超え、かつ、ヒトにおける暴露量が毒性試験での最大暴露量よりも明らかに高い場合では、非臨床試験を第Ⅲ相試験の前に実施すべきである。1日の投与量が10 mg未満の薬物では、10%よりも高く設定することが適切。

### ヒト代謝物の非臨床試験で評価すべき暴露量の指標(10%)について

- 代謝物により毒性が発現することが多い。
  - 通常、in vivo非臨床試験では代謝物も含めて評価されている。
  - 第Ⅰ相試験では代謝物も含めて安全性評価している。
  - 代謝物の多くは生物活性が低い。
  - 活性代謝物のin vivo毒性試験は困難
  - 技術的な困難さ
  - 毒性発現の種差や相互作用を検討する上で、代謝物やその薬理/毒性、また、代謝過程に関する知見が必要。
- ↓
- ヒト特異的代謝物、ヒトに特に多い代謝物、薬理・毒性学的に有意な代謝物については毒性評価する必要がある(ICH-1: 1991)

### ヒト代謝物の非臨床試験で評価すべき暴露量の指標(10%)について(続き)

- 分析法の発展により代謝物の分析も可能となってきた。
- FDA(2008):代謝物の種差をなるべく早く同定すべき。また、投与量あるいは暴露レベルで親化合物の10%以上を占める代謝物について毒性評価すべき。
- プロドラックを除き、血中に安定的に存在する代謝物の方が親化合物より10倍以上薬理活性や毒性が強いことは少ないと推定される。
- 全ての代謝物について、安全性評価を親化合物とは別に行うのは現実的でない。
- 血中親化合物の量は少ない場合も多いことから、それによる暴露レベルの10%を指標とするのは、不都合。
- ICH: 薬物関連物質全体の10%以上とした。

### 3. 急性毒性試験

タイトル: 単回投与毒性試験—急性毒性試験

目的: ヒトの過量投与時の情報を求める

実施時期: 第Ⅲ相までに実施。ただし、過量投与のリスクの高い患者(うつ病、痛み、認知症)対象の場合には、その投与の前までに実施。

方法:

- 漸増投与試験、短期用量設定試験データでも可。
- 用量はMTD、高い暴露(臨床暴露量の25倍)、物理化学的な限界量(げっ歯類で2g/kg、非げっ歯類で1g/kg)。
- 投与経路は臨床投与経路のみ。
- 致死性を評価指標としない。
- 非GLP試験データも利用可能。ただし、ヒト試験が反復投与試験で支持されておらず、単回投与試験が唯一の試験という特殊な目的の場合(MD試験や米国の単回投与臨床試験)はGLPで実施。

### 急性毒性に関する情報は、第Ⅲ相試験の開始前までに入手すべき

急性毒性に関する情報の利用

- 医薬品の分類
  - 過量投与時の影響予測
- このようなデータは、通常、管理の行き届いた第Ⅰ相、第Ⅱ相試験では必要ない。

なお、

- 急性毒性に関する情報は用量漸増試験や短期間反復投与の用量設定試験から得られる。
- 通常の臨床試験は反復投与試験結果に基づいて実施される。
- 単回投与の早期探索的臨床試験の場合は単回投与毒性試験に基づいて行われる。この場合は、GLPに基づく信頼性の高い拡張型単回投与毒性試験データが必要。
- 過量投与の危険性が高い患者集団(例えば、うつ病、疼痛、認知症)での外来での試験の場合は別。

### 4. 反復投与毒性試験

- 原則として、2種のほ乳動物(1種は非げっ歯類)用いる。
- 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。例外は次ページ表に示した。
- 治療上の利益が明らかに示されている状況下では、個々の事例に応じて、臨床試験を反復投与毒性試験の期間を超えて延長することができる。

### 臨床試験に推奨される反復投与毒性試験の期間

臨床試験の期間	反復投与毒性試験の最短期間	
	げっ歯類	非げっ歯類
単回	2週*	2週
~2週	2週	2週
~1ヶ月	1ヶ月	1ヶ月
~3ヶ月	3ヶ月	3ヶ月
~6ヶ月	6ヶ月	6ヶ月**
>6ヶ月	6ヶ月	慢性**

\*: 米国では、2週間試験の代わりとして、検査項目を拡大した単回投与毒性試験を行うことにより、単回投与のヒト試験が認められている。

\*\* : 3ヶ月を超える臨床試験の開始前に、非げっ歯類の6ヶ月投与試験結果が得られているべきである。更に、場合によっては、既に得られている毒性試験により認められる臨床での投与期間を超える前に、非げっ歯類での9ヶ月の試験結果が得られていれば良い。

## げっ歯類での最長投与期間が 6ヶ月で良い状況

- 免疫原性あるいは不耐性の問題から、長期間の毒性試験が困難な場合
- 片頭痛、勃起不全あるいは単純ヘルペスの治療のように、臨床試験の期間としては6ヶ月を超えるが、短期間の薬物暴露を繰り返す場合
- がん再発のリスクを低減するために長期間投与される薬の場合
- 平均余命が短いと考えられる適用疾患に対する薬の場合

## 3極で販売申請を行うに際して必要とされる 反復投与毒性試験の期間

臨床使用期間	反復投与毒性試験の最短投与期間	
	げっ歯類	非げっ歯類
二週間まで	1ヶ月	1ヶ月
1ヶ月まで	3ヶ月	3ヶ月
3ヶ月まで	6ヶ月	6ヶ月
3ヶ月以上	6ヶ月	慢性毒性試験

## 5. ヒト初回投与量の算定

- 薬理学的な用量反応性や、薬理学的/毒性学的プロファイル及び薬物動態を含む、関連する全ての非臨床試験データを考慮し、決定すべき。
- 最適な動物種で実施された非臨床安全性試験で求められた無毒性量が、最も重要な情報となる。また、臨床試験の開始用量は、薬力学、分子としての特性、及び臨床試験のデザインといったさまざまな要因を考慮して設定する。
- 利用可能なアプローチの各々については、各極のガイダンスが参考となる。
- 早期探索的臨床試験のデザインに推奨される開始用量の基準は別に示す。

## ヒトでの薬効用量推定方法

### (1) 経験的な方法

- 動物における薬効発現量をもとに体表面積換算することにより、ヒトでの薬効発現量を推定する。

### (2) 薬物動態学的情報を用いる方法

- 薬効発現の作用機序等により異なるが、最大血中濃度(C<sub>max</sub>)又は血中濃度時間曲線下面積(AUC)を基準に推定する。

経口投与での致死量の種差 (mg/kg)	ヒト LDLo	マウス LD50	ラット LD50	イヌ LD50	動物/ヒト
Botulinum toxin A*	2.14	81.4	96		44.86
Abrin A toxin	0.007	6838			948286
Digtoxin	0.071		56	0.5	789
Cantharidin	0.28	1		60	214
Colchicine	0.4	5.886	2.5		15
Methadone HCl	0.5	70	95		190
Aminopyridine 4-	0.59	658	1050	3700	6271
Alphaprodine HCl	1.4	68	90		64
Arsenic (III) oxide	1.429		40		28
Fluoroacetamide	2		5.75		2.9
Sodium metaarsenite	2		41		21
Thallium(I) sulfate	2.166	35	16	16	16
Emetine	2.941	12	12		4.1
Warfarin	6.667	323	1.6		48
Barium carbonate	11		418		38
Aconitin	28	1			0.04
Chlordane	29		283		9.8

\*: Unit/kg

## Fialuridine (FIAU)の経験(1993)

McKenzie et al (1995) N. Engl. J. Med. 1995, 333, 1099-105

- NIHが慢性B型肝炎治療薬として開発
- 実験動物での試験: 肝、脾、骨格筋、神経への毒性なし。
- 2W, 4W試験で血清HBV DNAを65-95%低下
- 1993年3月: 6ヶ月臨床試験を15名の患者で開始
- 0.10-0.25mg/kg/day for 24W, 1-2W毎に観察
- 13Wでlactic acidosis (LA)と肝不全が突然発現→投与停止→7名は進行性LA、黄疸悪化、肝機能悪化。3名も中程度の肝毒性発現。脾臓炎、神経障害、筋障害も発生。→同年6-8月の間に、肝臓、脾臓障害で5名が死亡。2名は肝移植で救命。
- 組織: 肝の脂肪蓄積。肝細胞の壊死や構造変化はわずか。
- 電子顕微鏡: 肝細胞のミトコンドリア異常と脂肪蓄積

## Fialuridine (FIAU)の経験(1993)

Richardson et al (1994) Proc. NAS. 91, 12003-12007

- 企業情報 でMTD (po)と思われる(?) rat 510mg/kg/d 70d, dog 3mg/kg/d 90d, Monkey 25mg/kg/d 30でFIAUのDNAへの取り込み実験実施。

Richardson et al (1999) Toxicol. Pathol. 27, 607-17.

- ラット (500mg/kg/day 90d) とウッドチャック(7.5mg/kg/day 90d)で弱い変化のみ。

→反復投与試験での致死量にヒトとラットとの比較では2000倍以上、イヌとでは10倍以上、サルとでは100倍、ウッドチャックとでは30倍以上の差があった。

## TGN1412の経験(2006)

- 白血病と自己免疫疾患治療を目的とするCD28アゴニスト作用を有するモノクローナル抗体
- 2006年3月13日のFIM臨床試験で健康志願者(6名)に0.1mg/kg infusion後、全員に極めて重篤な有害作用が発現した。(投与量はMD試験の約50倍)
- Cytokine release syndrome or Cytokine storm(発熱、低血圧、多臓器不全)であり、集中治療を受けた。
- カニクイザルでは志願者に投与した用量の500倍(50mg/kg)の4週間投与でも忍容性が認められた。

## MABEL法(松本ら2007)

- MABEL : Minimal Anticipated Biological Effect Level
- 全ての利用可能なin vitroおよびin vivo のPK/PDデータをモデリングアプローチでまとめ、必要に応じて、安全係数を適用して初回投与量を決定する。

必要なPK/PDデータ

ヒトおよび適切な動物種由来の標的細胞を用いた

1) in vitroの標的部位への結合及び受容体占有データ

2) in vitro濃度-反応曲線データ

適切な動物種での、

3) in vivo用量/暴露-反応関係データ

4) 薬理作用発現用量での暴露データ

- TGN1412のヒトT細胞刺激作用の最小有効濃度(0.1 μg/mL)を元に計算すると、体重70kgの男性での投与量は約0.003mg/kgとなる。これに安全係数を考慮し、更に低い臨床用量で行うべきであった。

## 6. 早期探索的臨床試験について

## 早期探索的臨床試験とは？

医薬品開発の初期段階で開発候補物質の絞り込みを行うための臨床試験

- ヒトに毒性が現れないと想定される用量以下に限定
- ヒトに初めて投与する前に必要な毒性試験の範囲を縮小
- 試験に必要な被験物質量を削減する  
(非臨床試験を含めOne Batchで可能とする)

## 探索的臨床試験の意義

- 1) 早期に最適化合物を選択することによる、新薬開発の効率化とコスト削減
- 2) 薬効標的の妥当性の早期確認による合理的な医薬品開発の推進
- 3) 薬効発現における種差および個人差による問題への早期対応
- 4) 失敗に終わる臨床試験への協力者の削減
- 5) 第1相以後における医薬品開発の成功確率の向上
- 6) 動物使用数の削減
- 7) 患者への新薬供給の迅速化

## 探索的臨床試験の応用可能性

- 1) ヒト薬物動態パラメータを複数化合物で比較する。
- 2) ヒト代謝物の早期評価
- 3) 被験物質の標的受容体との結合性
- 4) 薬効用量における薬物動態プロファイル
- 5) 薬物相互作用の確認
- 6) 結合性と作用の関連づけ、ならびにPK/PDモデリングとシミュレーション
- 7) 利用している非臨床病態モデルのヒト疾患への外挿性のバリデーション
- 8) ヒトにおける、生物学的なバスキュールの確認/薬効メカニズム活性
- 9) ヒトでの疾患バイオマーカー及び薬力学的反応を軽症患者で調べる。
- 10) 健康人を用いた臨床モデル(恐らく負荷モデル)のバリデーション
- 11) 潜在的な治療標的の新規性の確認(他の既に確立済みの治療標的に比べて)
- 12) 医薬品開発戦略の妥当性確認
- 13) 健康人と患者における、薬力学的反応感受性の差の同定

## 早期探索的臨床試験の分類とその実行に必要な非臨床試験

### 早期探索的臨床試験についてのICH-M3指針 (Step IV)

臨床試験の型	内容と用量範囲	実施に必要な非臨床試験
マイクロドーズ臨床試験 (アプローチ1)	総投与量を100 µg以下とし、被験者に分割して投与するもの。差効量およびNOAELの1/100以下	1) 1つの動物種(通常げっ歯類)における臨床投与経路を用いた拡張型単回投与毒性試験(含TK, 1000倍の暴露) 2) 薬理作用についての適切な評価
マイクロドーズ臨床試験 (アプローチ2)	1回あたりの最高用量が100 µgで投与回数が5回以下(被験者あたり総投与量500 µg以下)の試験。差効量およびNOAELの1/100以下	1) 1つの動物種(通常、げっ歯類)における臨床投与経路を用いた7日間反復投与毒性試験(含TK, 1000倍の暴露) 2) 非標識化合物の遺伝毒性に関する構造活性相関評価 3) 薬理作用についての適切な評価
準治療用量又は予定治療用量までの単回投与臨床試験 (アプローチ3)	準治療用量(薬理作用発現用量)又は治療用量までの単回投与。開始用量は各標的の指針に従う。動物での毒性がヒトにおいてモニタリングが可能であり、可逆的ならば、NOAELでの暴露の1/2まで許容	1) げっ歯類及び非げっ歯類を用いた拡張型単回投与毒性試験(含TK) 2) 遺伝毒性試験(Ames試験) 3) 薬理プロファイル、適切な薬効薬理試験、安全性薬理試験コアバッテリー

### 早期探索的臨床試験についてのICH-M3指針 (Step IV)

臨床試験の型	内容と用量範囲	実施に必要な非臨床試験
反復投与と臨床試験 (アプローチ4)	最長14日間までの投与を、ヒトにおける薬物動態及び薬力学的特性を決定するために行うもの。臨床における最大用量を決定することを意図するものではない。 初回用量: AUC換算で、より感受性の高い種におけるNOAELの1/50以下	1) げっ歯類と非げっ歯類における標準的な2週間反復投与毒性試験(含TK) 2) 用量設定は、最高用量にて予想される臨床AUCの倍数の暴露を基にする 3) 遺伝毒性試験(Ames試験及び染色体異常誘発能試験) 4) 薬理プロファイル、適切な薬効薬理試験、安全性薬理試験コアバッテリー
反復投与と臨床試験 (アプローチ5)	最高用量: 一般的にはNOAELでのAUCを超えない。 アプローチ4: 高毒で毒性が見られない場合は低い方の最高暴露量の1/10まで。 アプローチ5: げっ歯類のNOAELでのAUCの1/2を超えない	1) げっ歯類を用いた標準的な2週間反復投与毒性試験(げっ歯類が適切な種であることの理由が必要) 2) 非げっ歯類(n=3)を用いた最長3日間で、少なくとも予定臨床試験期間の試験。げっ歯類でのNOAELの暴露での確認試験。 3) 遺伝毒性試験(Ames試験及び染色体異常誘発能試験) 4) 薬理プロファイル、適切な薬効薬理試験、安全性薬理試験コアバッテリー

## 拡張型単回投与と毒性試験とは？

- 動物: ほ乳類一種、雌雄 (適切な種を選ぶ)  
投与経路: 予定臨床投与経路  
投与用量: 臨床用量の1000倍(体表面積換算)を上限としても良い。  
観察期間: 2週間  
観察項目:
- 毒性徴候の種類、程度、発現、推移及び可逆性について、用量及び時間との関連で観察し記録。
  - 適切な時期(通常、投与翌日及び2週間後の観察期間終了時)に血液検査、血液生化学検査及び病理組織学的検査を行う。
  - 最大無毒性量(NOAEL)及び最小毒性発現量を確立するか、又は適切な安全域(通常、体表面積換算で100倍以上。)を確立する。

## MD試験のための毒性試験は拡張型単回投与試験のみで良い。

- 低分子量化学物質で致死量がMD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 µg/kg以下はTCDDとMCD peptide、およびBotulinum toxinのみであった。2-20 µg/kgはAbrin toxinとSaxitoxin、Tetrodotoxinのみであった。20-200 µg/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。
- トキシン類等による毒性は症状観察では検出しがたい肝腎内分泌器官等にも現れることがあり、このような場合には、病理学的検査も必要。
- なお、0.02mg/kg以下で毒性を現すとの報告には信頼できないものが多い。また、トキシン類にはMD試験レベル以下で毒性を現すものが多い。

### MD試験のための拡張型単回投与試験ではヒト暴露レベルの1000倍までの用量が必要

- 経口投与の単回投与試験での致死量の種差は100倍を超えることがある。
- 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、dioxin類やRicin類、Eialuridine、TGN1412などのように、通常の動物実験が意味をなさないほど種差が大きく、ヒトで毒性が強くなる物質もある。それらは化学構造や薬理作用、ヒト組織を用いた検討、および毒性的学識を基にした考察で判断する必要がある。
- なるべく、現れる毒性徴候を把握しておくことが望ましい。
- 単回投与毒性試験の結果はばらつきが大きい。
- なお、静脈内投与試験の結果は、経口投与の結果と比べ、ヒトへの予測性はより高いと考えられることから、静脈内投与試験実施も考慮すべき。

## 7. 局所刺激性試験

- 一般毒性試験での投与部位の観察で検討可能
- 臨床投与経路以外の経路による限定的なヒトでの投与を可能とするには、単一の動物種を用いた単回投与による局所刺激性試験が適切である。
- 既存の毒性試験における全身暴露量(AUC及びCmax)が、臨床投与による予想暴露量を超えているのであれば、局所刺激性試験における評価項目は、一般状態ならびに適用部位の肉眼及び顕微鏡による観察に限定してよい。
- 新規の媒体を使用する場合には、媒体の局所刺激性を評価すべき。
- 非経口医薬品では、多くの患者が暴露される(例えば、第Ⅲ相試験)より前に、誤って適用され得る部位の局所刺激性の評価を必要に応じて行うべきである(日とEU)(硬膜外投与薬に対する髄腔内投与試験では米国も実施)。

## 8. 遺伝毒性試験

- 臨床試験が単回投与に限られる場合に必要遺伝毒性試験は、通常、遺伝子突然変異に関する試験のみでよい。
- 臨床試験が反復投与の場合には、ほ乳類の試験系を用いた染色体損傷検出のための追加評価が実施する。
- 標準的な組合わせの遺伝毒性試験は第Ⅱ相試験の開始前に完了する。
- 陽性結果が得られた場合は、必要に応じて追加試験を実施し、臨床試験でのさらなる投与が適切であるかどうかを判断する。
- 早期探索的臨床試験に必要な遺伝毒性試験については別記。

### MD試験で遺伝毒性試験を不要とする根拠

- JECFA, FDA: 発がん物質でもTTC (1.5  $\mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ , 30ng/kg/day)以下の暴露については、発がんの懸念がない。
- aflatoxin-like compounds, N-nitroso-, azoxy-, steroids, TCDD-like compoundsについては、0.15  $\mu\text{g}/\text{day}/\text{man}$ でも生涯摂取すると発がんリスクが $1/10^6$ より高いものが多い(Kroes et al 2004)。
- 医薬品においては、benefitも勘案し、生涯リスクを $1/10^5$ で判断するのが適切である(Muller et al 2006, EMEA 2006, FDA 2008)。
- TTC値は特定の条件下(短期間暴露、生命に危険な状況、既知の不純物、食物等からの暴露)では1.5  $\mu\text{g}/\text{day}$ 以上でも良い(EMEA 2006)。

## 遺伝毒性物質の許容量

- Muller et al (2006): Linear extrapolation model により生涯発がんリスクを $1/10^5$ に保ったまま、短期間に外挿
- FDA案(2008): 上記に不確定係数を2加味。

遺伝毒性不純物の臨床開発段階での許容量( $\mu\text{g}/\text{day}$ )

	暴露期間						
	単回	2日-14日	14日-1月	1-3月	3-6月	6-12月	12月以上
Muller et al (2006)	120	120	120	40	20	10	1.5
FDA案 (2008)	120	120	60	20	10	5	1.5
EMEA Q&A (2008)	120	60	60	20	10	5	1.5

## 9. がん原性試験

- がん原性試験が必要となる条件については、ICH S1Aを参照。
- 臨床適応を考慮してがん原性試験が推奨される場合は、販売承認申請までに完了する。
- がん原性のリスクが懸念され、その明確な理由がある場合には、臨床試験の実施前にがん原性試験成績を提出する。
- 臨床投与期間が長いというだけでは、懸念されるリスクの明確な理由とはならない。
- がん原性試験が推奨される場合であっても、重篤な疾患の治療のために開発された医薬品については、成人患者/小児患者用を問わず、販売承認後にがん原性試験の結論を出すことでも良い。



## 10. 生殖毒性試験

### 雄性生殖臓器への影響の 反復投与毒性試験による評価の バリデーション

製薬協と国立衛研との協力による  
Sakai et al. (2000) J. Toxicol. Sci. 25, 1-21

Comparison of the toxic effects of 2 week  
and 4 week repeated dose studies on male reproductive organs

Decrease of organs weight in both 2-week and 4-week studies	Adriamycin, Compound O (platinum compound), Methyl methanesulfonate, Compound E (inhibitor of microtubule aggregation), 5-FU, Camofur (HCFU), enoxacin, Nitrofurazone, Ethinylestradiol, Estradiol Benzoate, Fadzozol hydrochloride, Flutamide, Haloperidol
Histopathological change in both 2-week and 4-week studies (ordinary observation)	Adriamycin**, Etoposide, Boric acid, and above substances
Histopathological changes in both 2-week and 4-week studies (include stage analysis of sperm)	Cyclophosphamide, Pyrimethamine*, reserpine***
Histopathological changes were not observed in both 2-week and 4-week studies.	Reserpin, Theophylline
Toxic changes were observed only in 4-week studies	None
Experiments were suspended because of the unexpected death of rats.	Busulfan, Theophylline

\*: Changes were observed only in 2-week study. \*\*: single administration.  
\*\*\*: apoptosis of spermatocytes

### 結論

- 2週間の反復投与毒性試験において、精子のstage analysisを含む、詳細な病理学的な観察を行えば、繁殖性試験を行わなくとも、雄生殖臓器への影響の有無を評価できる。

↓  
ICH M3(R1)に反映(2000)

### 生殖発生毒性試験の実施時期

妊娠可能な女性(WCBP)への投与

現行ガイドライン (1997.7 Step 4)

胎児発生試験 日・欧(WCBP開始前)、米(Phase III前)

雌受胎能試験\* 日(WCBP開始前)、欧・米(Phase III前)

理由

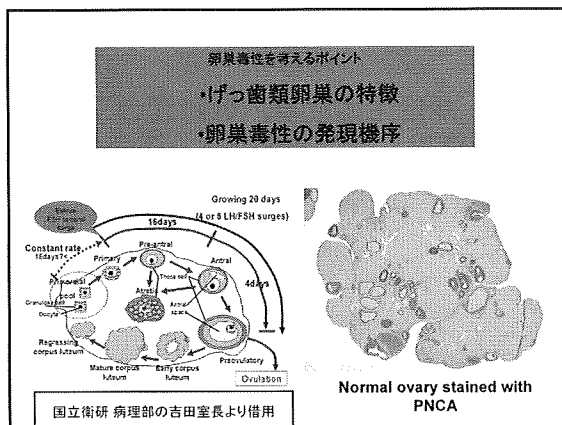
- 臨床試験における避妊処置への信頼感が低かった。
- 反復投与試験における雌生殖臓器評価への疑問があった。

この10年間の変化

- 卵胞の病理学的観察の向上→2週間の反復投与毒性試験での病理検査で卵巣の変化を検出できるか？
- 臨床試験における被験者管理の向上→避妊処置をとることにより、生殖毒性試験実施タイミングを変えることができるか？

### 雌性生殖臓器への影響の 反復投与毒性試験による評価

製薬協傘下企業と国立衛研との協力による  
Sanbuissho et al (2009) J. Toxicol. Sci. 34, SP1-22



文献調査等からの卵巣毒性検出の可能性

既知の発現機序に基づく卵巣毒性の大部分は検出可能  
 反復投与毒性試験

- 動物種 ラット or マウス
  - 系統 SDラット? ICR or B6C3F1マウス
  - 年齢 Young adult
- 投与期間 2週間 or 4週間?
- エンドポイント
  - 形態学的解析を主 卵巣 関連臓器
  - 作用機序によって追加
    - ◆性周期観察
    - ◆ホルモン測定/生化学的解析
    - ◆遺伝子解析
- 作用機序/Mode of action

国立衛研 病理部の吉田室長より借信用

総合的解析

外挿

### Results (1)

1. Hormone		2W	4W	Reprotox.
① Mestranolone acetate (MPA)	Lowest toxicity dose Dose 0, 0.4, 2.0, 10 mg/kg	0.4 mg/kg Atretic large follicles ↑, etc.	10 mg/kg Atretic large follicles ↑, etc.	0.4 mg/kg Irregular estrous cycle
② Mifeprestone (progesterone receptor antagonist)	Lowest toxicity dose Dose 2W and 4W 0, 0.8, 1.20, 100 mg/kg Reprotox. 0, 0.8, 4, 20 mg/kg	4 mg/kg Atresia of large follicle ↑, Luteal cyst ↑	20 mg/kg Atresia of large follicle ↑, Luteal cyst ↑	4 mg/kg Postimplantation loss ↑, Live embryo ↓
③ Tamoxifen (SERMs)	Lowest toxicity dose Dose 0, 0.005, 0.03, 0.2 mg/kg	0.2 mg/kg Atresia (large size) ↑, etc.	0.03 mg/kg Atresia (large size) ↑, etc.	0.005 mg/kg Irregular estrous cycle, Preimplantation loss ↑, Live embryo ↓
卵巣毒性、生殖毒性を検出できたか?		Yes	Yes	Yes

Comments: Hormonal compounds clearly influences ovarian and reproductive functions.

### Results (2)

2. Primordial follicle damage		2W	4W	Reprotox.
① 4-vinylcyclohexene diepoxide	Lowest toxicity dose Dose 0, 0.5, 20, 80 mg/kg	80 mg/kg Small follicle ↓	20 mg/kg Small follicle ↓	80 mg/kg Preimplantation loss ↑
② Busulfan (Alkylating agent)	Lowest toxicity dose Dose 0, 0.1, 0.5, 1.5 mg/kg (p.o.), 2.5 mg/kg (i.p.)	>2.5 mg/kg Within normal limits	1.5 mg/kg Small follicle ↓	1.5 mg/kg Preimplantation loss ↑, Postimplantation loss ↑, Dead embryo ↑
③ Cisplatin	Lowest toxicity dose Dose 2W 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/kg 4W 0, 0.125, 0.25, 0.5 mg/kg Reprotox. 0, 0.25, 0.5, 1.0 mg/kg	1.0 mg/kg Large follicle ↓, Atresia ↑, etc.	0.25 mg/kg Small follicle ↓	0.5 mg/kg Postimplantation loss ↑, Dead embryo ↑
④ Cyclophosphamide	Lowest toxicity dose Dose 0, 5, 10, 20 mg/kg	>20 mg/kg Within normal limits	20 mg/kg Atrophy of corpus luteum, etc.	5 mg/kg Preimplantation loss ↑, Postimplantation loss ↑
卵巣毒性、生殖毒性を検出できたか?		Yes/No	Yes	Yes

Comments: Some compounds, such as alkylating agents, may be less toxic on ovaries and more toxic on early development of the embryo. Estrous cyclicity is not affected by the treatment.

### Results (3)

3. Metabolic imbalance		2W	4W	Reprotox.
① Anastrozole (Aromatase inhibitor)	Lowest toxicity dose Dose 2W and 4W 0, 0.01, 0.1, 1, 50 mg/kg Reprotox. 0, 0.01, 0.1, 5 mg/kg	50 mg/kg Large atresia ↓, Cystic follicle ↑, etc.	1 mg/kg Large atresia ↑	0.1 mg/kg Irregular estrous cycle, Preimplantation loss ↑, Live embryo ↓
② Di (2-ethylhexyl)Adipate (DEHA)	Lowest toxicity dose Dose 0, 200, 1000, 2000 mg/kg	1000 mg/kg Large atresia ↑	1000 mg/kg Large atresia ↑	1000 mg/kg Irregular estrous cycle, Postimplantation loss ↑
③ Di(2-ethylhexyl) phthalate	Lowest toxicity dose Dose 0, 300, 1000, 3000 mg/kg	3000 mg/kg Atypical follicle ↑	1000 mg/kg Atypical follicle ↑	3000 mg/kg Irregular estrous cycle, Pregnancy rate ↓
卵巣毒性、生殖毒性を検出できたか?		Yes	Yes	Yes

### Results (4)

3. Metabolic imbalance		2W	4W	Reprotox.
① EGME (Ethylene glycol monomethyl ether)	Lowest toxicity dose Dose 0, 30, 100, 300 mg/kg	100 mg/kg Large atretic follicles ↑, etc.	100 mg/kg Large atretic follicles ↑	30 mg/kg Irregular estrous cycle
② Indomethacin (NSAID)	Lowest toxicity dose Dose 0, 0.4, 1.3, 4.0 mg/kg	4 mg/kg Luteinized follicular cyst ↑	4 mg/kg Luteinized follicular cyst ↑, Atretic follicular cyst ↑, etc.	4 mg/kg - mg/kg
③ Compound X (PPAR α/γ dual agonist)	Lowest toxicity dose Dose 0, 4, 20, 100 mg/kg	4 mg/kg Atresia of large follicle ↑	4 mg/kg Atresia of large follicle ↑	20 mg/kg Corpora lutea ↓, Implantation ↓, Live embryo ↓
卵巣毒性、生殖毒性を検出できたか?		Yes	Yes	Yes/No

Comments: Indomethacin could not induce reprotoxicity. Common histopathological change is an increase of atretic follicles. COX-2 Inhibitors and PPARs disturb rupture of ovulation.

Results (5)				
4. Endocrine imbalance		2W	4W	Reprotox.
① Atrazine (Endocrine modulator) Dose 2W and 4W, 0, 3, 30, 300 mg/kg Reprotox: 0, 3, 30, 100 mg/kg	Lowest toxicity dose Findings	300 mg/kg Large atretic follicle †, Loss of newly formed corpus luteum	300 mg/kg Large atretic follicle †, swelling of old corpus luteum	30 mg/kg Irregular estrous cycle
② Bromocriptine mesylate (Dopamine agonist) Dose 0, 0.08, 0.4, 2 mg/kg	Lowest toxicity dose Findings	0.4 mg/kg Corpora lutea †	0.4 mg/kg Corpora lutea †	0.4 mg/kg Pregnancy rate ↓
③ Chlorpromazine hydrochloride Dose 0, 3, 10, 30 mg/kg	Lowest toxicity dose Findings	10 mg/kg Atretic follicle †	10 mg/kg Atretic follicle (large) (large) †	10 mg/kg Irregular estrous cycle
④ Sulpiride Dose 0, 1, 10, 100 mg/kg	Lowest toxicity dose Findings	1 mg/kg Atretic follicle (large) (large) †	1 mg/kg Atretic follicle (large) (large) †, Large follicle †, etc	10 mg/kg Irregular estrous cycle, Postimplantation loss †, Dead embryo †
卵巣毒性、生殖毒性を検出できたか?		Yes	Yes	Yes
Comments: This category clearly influences ovarian and Reproductive functions.				

### まとめ

- 卵巣毒性は詳細な組織学的検査で検出できる。
- 2週間の投与期間で十分(例外:アルキル化剤のような細胞毒性物質)
- 卵巣毒性の病理学的な知見 (decrease in follicles, increase in atretic follicles, etc) は雌の繁殖毒性パラメータ (irregular estrus cycle, pre-implantation loss)を反映している。

### 結論

- 卵巣毒性は詳細な組織学的検査で検出できる。
- 2週間の投与期間で十分(例外:アルキル化剤のような細胞毒性物質)
- 卵巣毒性の病理学的な知見 (decrease in follicles, increase in atretic follicles, etc) は雌の繁殖毒性パラメータ (irregular estrus cycle, pre-implantation loss)を反映している。

→ MHLWとJPMAは、特別な場合を除き、2週間の反復投与毒性試験で適切な卵巣毒性の観察を行えば、繁殖毒性試験が行われなくとも、妊娠可能女性を第1相と第2相の臨床試験に組み込むことに同意。

→ ICH M3 (R2)に反映

### 催奇形性試験実施時期 (M3 step 4)

- 催奇形性試験の本試験が行われていなくとも、特定条件下ならば妊娠可能女性を臨床試験に組み込んでよい。

### リスク推計のための背景データ

Dr James McLeod (2008.5.7)提示を一部修正

- 米国
  - Menstrual periods 9/11 → 51: ~ 40 years
  - Average pregnancy/women: ~ 3
  - Average births/women: 2.4
  - Pregnancy/menstrual period: ~0.8% (1.3% for 18-35 age)
  - Birth/menstrual period: ~0.55%
  - Pregnancy rate when seeking child: ~ 85%/annum
  - OC/IUD/... prevention rate: ~90%
  - Annual pregnancy rate for 20-29 year women: ~17%
- 日欧での妊娠率は米国より低い。

US National Center for Health Statistic - 2003

### 第Ⅲ相試験での妊娠確率

Dr James McLeod (2008.5.7)提示を一部修正

- 被験者: 若い女性患者
  - 疾患: リューマチ(RA), SLE, 便秘性刺激性腸炎(C-IBS), HIV, 多発性硬化症, 薬物乱用
  - 治療期間: 数か月(リスクは事前に明確化)
  - C-IBS (5 births/ 6000 periods): ~0.08%/menstrual cycle
  - RA: ~0.07%/menstrual (birth)
    - ・ 妊娠は疾患を改善する。
  - 出生率は期待値の~10-15%
    - ・ 発生毒性のリスクを事前に説明した薬物の場合。

### 第Ⅲ相試験での妊娠

- 若い女性で避妊をしなかった時の第Ⅲ相試験での妊娠率は5/6,000メンス期間
- 避妊処置で90%位妊娠を減らせる。

→投与期間3ヶ月の第Ⅱ相試験で150人のWCBPがいるとすると、妊娠確率は  $約0.0008 \times 3 \times 150 = 約0.36$

### 催奇形性予備試験データの予測性調査 (JPMA)

製薬協ではGLPのDefinitive studyで奇形あるいは发育遅延がみられた化合物について、用量設定試験でどのような結果が得られていたかを検討した。

(結果)

→用量設定試験で外表、内臓、骨格を観察した場合の本試験での奇形および変異の予測性

False negative 15% (16/105物質)

False positive 7% (7/105)

→予備試験を行っておけば、150人の妊娠可能女性を含む

第一、第Ⅱ相試験で女性の胎児が催奇形性物質に暴露されるリスクは  $0.36 \times 0.15 = 0.054$ 。

### まとめ

- 妊娠可能女性での臨床試験での妊娠率は低い。
- 早期探索試験や臨床試験では妊娠は稀であり、出産に至ることは更に稀である。
- 早期の志願者での試験では妊娠リスクを最小化するように計画される。
- 第Ⅰ相及び第Ⅱ相の段階での胎児が催奇形性陽性物質に暴露されるリスクは低い。

→第Ⅱ相までは適切な避妊処置をとることで催奇形性試験を行わなくとも良い。

→完全な試験は第Ⅲ相までに実施する。

### 標準的な薬物における標準的なタイミング (ICH-M3(R2))

毒性試験の種類	初めてヒトに投与する前	第Ⅱ相試験の前	第Ⅲ相試験の前
安全性薬理試験			
コアバッテリー	○		
薬物動態試験			
トキシコキネティクス	○		
その他		○	
単回投与毒性試験			○
反復投与毒性試験			
2週間	○		
1月以上		原則、臨床試験を超える長さの試験	
局所刺激性試験	○		
遺伝毒性試験			
in vitro 変異原性試験	○		
in vitro 染色体異常試験	○		
標準バッテリー		○	
生殖毒性試験			○
雄性繁殖能試験			
雌性繁殖能試験			
胎児試験(予試験)			
雌性繁殖能試験			

妊娠可能女性に投与する前  
(本試験は150人3月試験以上の試験の前に)  
2週間反復投与試験結果があれば、妊娠可能女性に投与する前に実施しなくとも良い。

早期探索的臨床試験を除く、一般的な臨床試験

### 11. 小児における臨床試験

- 小児患者を臨床試験に組み入れる場合には、通常、成人における臨床使用経験での安全性データを小児での臨床試験の前に入手しておく。(ただし、成人データがない場合もある。)
- 小児での臨床試験の開始前には、成熟動物を用いた適切な期間の反復投与毒性試験、安全性薬理コアバッテリー試験、標準的な組み合わせの遺伝毒性試験の成績を入手しておく。(成人と同じ)
- 年齢と性別に対応した生殖発生毒性試験も、直接的な毒性あるいは成長へのリスクについての情報を得るために重要である。例えば、胚/胎児発生毒性試験は男児あるいは思春期前の女児での臨床試験を実施するためには不要。
- 既存の動物及びヒトのデータが十分でない判断された場合にのみ、幼若動物を用いた試験の実施を考慮する。
- 幼若動物での毒性試験は、通常、適切な1種の動物種で十分。可能であればげっ歯類を用いるが、非げっ歯類を用いた試験が適切な場合もある。

### 12. 小児における臨床試験(続き)

- 短期間の薬物動態試験(例えば、1から3回投与)を実施するためには、通常、幼若動物による毒性試験は重要でない。
- 短期間の反復投与による臨床試験を開始する前に、幼若動物を用いた試験成績が妥当かどうかを考慮する。
- 被験者の年齢と試験期間との関係は、幼若動物試験の必要性と実施時期を決定するために考慮すべき最も重要な事項の一つ。
- 長期間の臨床試験のために、幼若動物を用いた毒性の評価が必要な場合には、当該臨床試験を開始する前に完了する。
- 発育に対する懸念を検討するには、適切な動物(種及び週齢)を用い、妥当な評価項目が設定された慢性毒性試験(例えば、イヌの12ヶ月投与試験あるいはげっ歯類の6ヶ月投与試験)が有用である。
- がん原性試験の必要性は長期間の小児臨床試験を開始する前に判断する。但し、懸念すべき重大な事由がない限り、がん原性試験は小児の臨床試験を実施するためには必要ない。