

S1C(R2) **がん原性試験の要件④**

- 適用患者集団
 - ある種の難治性疾患治療薬
がん原性試験成績は承認後でもよい。
承認後に必要となる場合もある。
 - 長期延命が望めない場合(2~3年以内)
がん原性試験は不要。

S9では、進行がんを対象とした抗悪性腫瘍薬ではがん原性試験を必要としない。

S1C(R2) **がん原性試験の要件⑤**

- 局所適用される医薬品
 - 全身曝露が少ない場合
経口投与による試験は必要ない。
 - 光がん原性が想定される場合
経皮投与による試験(一般にマウス)が必要な場合もある。
 - 眼に適用される場合
がん原性の懸念がない場合や、全身曝露がほとんどない場合には、がん原性試験は必要ではない。

M3(R2)だと「光がん原性試験のために現在使用可能なげっ歯類モデルは一般的に推奨されない」とされている。

M3(R2) **がん原性試験の要件⑤**
補足

注6: 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。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、その結果はヒトでのリスク評価に考慮されるべきである。

S1C(R2) **がん原性試験の要件⑥**

- 塩、酸、あるいは塩基のみが異なる同一の医薬品
 - 既にごがん原性試験が実施されている場合には、これらが薬物動態学的、薬力学的、あるいは毒性学的に有意な差がないということを明らかにすべき。
 - 曝露状態の変化やそれに伴う毒性の変化がみられる場合には、がん原性試験の必要性を判断するために、橋渡しとなる試験の追加が必要となる場合もある。

S1C(R2) **がん原性試験の要件⑦**

- 内因性ペプチドおよびタンパク製剤あるいはそのアナログ
 - 特別の配慮が必要となることがある。
(詳細は後述)

S9(R1)では、一般的なげっ歯類のがん原性試験を推奨していない。

S9 **がん原性試験の要件⑧**

抗悪性腫瘍薬のがん原性試験実施の必要性については、ICH S1Aガイドラインに準拠する。進行がんの患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請には、がん原性試験は必要とされない。

S9では「重篤かつ致死性の悪性腫瘍を有する患者の治療を目的として開発される医薬品」を対象とすることから、適用患者集団の長期延命が望めない場合に相当し、がん原性試験は不要と考えられる。



がん原性試験の要件⑨

通常、ワクチンでは投与回数が限定されているためがん原性試験を必要としない。

感染症予防ワクチンが量産期使用される可能性は極めて低く、がん原性試験は不要と考えられる。

がん原性の要件 まとめ

S1C(R2)との整合性について

- がん原性試験の必要性については、S9(抗悪性腫瘍薬)および感染症予防ワクチンの非臨床試験GLとS1C(R2)との間に齟齬はない。
- 光がん原性については、M3(R2)との間でがん原性試験の実施に関してスタンスが異なる。
 - ・ 光毒性に関してはS10との整合性も必要

がん原性試験の実施時期



がん原性試験の実施時期①

- ・ がん原性試験が必要な場合、承認申請までに終了する必要がある。
- ・ 大規模な臨床試験を実施するような場合、患者集団に特に発がんの懸念がなければ、がん原性試験を終了している必要はない。
- ・ ある種の難治性疾患治療薬の場合、がん原性試験を承認申請前に実施する必要はない。



がん原性試験の実施時期②

がん原性試験が必要となる条件については、ICH S1A(11)を参照のこと。臨床適応を考慮してがん原性試験が推奨される場合は、それらは製造販売承認申請までに完了すべきである。がん原性のリスクが懸念され、その明確な理由注がある場合に限り、臨床試験の実施前がん原性試験成績を提出すべきである。

注: 次のスライド参照



がん原性試験の実施時期② 補足

- 注
- ・ 単に臨床試験の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、(中略)製造販売承認後にがん原性の結論を出すことができる。

がん原性試験の実施時期 まとめ

S1C(R2)との整合性について

- がん原性試験の実施時期については、M3(R2)との間に齟齬はない。
- (大規模?)臨床試験の開始前にがん原性試験成績を求める場合の要件について、M3(R2)ではより厳密化(明確化?)。

バイオ医薬品について

S1C(R2)

バイオ医薬品①

- 内因性ペプチドおよびタンパク製剤あるいはそのアナログ
 - 特別の配慮が必要となることがある。
 - 内因性物質の補充療法: 臨床経験がある場合には、がん原性試験は一般に必要ではない。
 - その他のバイオ医薬品: がん原性試験は必ずしも必要ではないが、治療期間、臨床適用、あるいは患者集団によっては考慮すべき。

S1C(R2)

バイオ医薬品②

- がん原性試験が必要となる場合
 1. 天然の生理活性物質の生物学的作用と著しく異なる医薬品
 2. 天然の生理活性物質と比較して明らかな構造変化が起こるような修飾を施した医薬品
 3. 生理的に存在する局所または全身濃度をはるかに超える濃度(すなわち薬理学的レベル)まで適用される医薬品

59

バイオ医薬品③

- バイオ医薬品においては、標準的ながん原性試験は一般的に不適當である。しかし、バイオ医薬品の臨床での投与期間、患者群、その生物学的活性(例えば、増殖因子、免疫抑制剤等)によっては個別にがん原性の評価を行う必要がある。更に、がん原性に対する懸念がある場合は、リスク評価のために種々の試験方法を検討することとなる。

59

バイオ医薬品④

- *In vitro*の結果から発がん性の疑われる場合は、適切な動物モデルを用いた試験により更に検討が必要となろう。
- バイオ医薬品がげっ歯類に対して生物学的活性を有し、かつ免疫原性がなく、さらに他の試験においてがん原性評価を行うのに十分な情報が得られなかった場合には、一種類のげっ歯類でがん原性試験を行うことを考慮すべきである。

S6(R1) **バイオ医薬品⑤** **Step 2**

がん原性評価の必要性は

- 対象となる患者集団
- 臨床における投薬期間に基づいて判断

S6(R1) **バイオ医薬品⑥** **Step 2**

がん原性の懸念を明らかにするためには、入手可能な様々な情報をもとに、適切なデータを評価する必要があります。

- 公表データ(例:トランスジェニック動物、ノックアウト動物、病態動物モデル、又はヒトの遺伝性疾患に関する情報)
- クラスエフェクトに関する情報
- 標的分子に関する生物学的情報
- in vitro*データ
- 長期毒性試験成績
- 臨床成績

S6(R1) **バイオ医薬品⑦** **Step 2**

入手可能な情報(公表データ、クラスエフェクト、薬理作用等)から、がん原性の懸念がある場合

- 懸念に基づいて、適切にリスク管理を行う(添付文書への反映、市販後調査等)。
 - 申請者が当該懸念を軽減したい場合には、非臨床試験を追加提案可能。

S6(R1) **バイオ医薬品⑦** **Step 2**

がん原性に関連した薬剤特性や作用機序が明確でない場合

- 適切な評価項目を設定し、薬剤特性に応じた試験(例:*in vitro*試験、長期毒性試験)の中でがん原性を評価する。
 - 懸念がある場合:試験結果に基づき、適切にリスク管理。
 - 懸念がない場合:追加の非臨床試験実施は適切でない。

バイオ医薬品
まとめ

S1C(R2)との整合性について

- がん原性評価の要件は、対象患者および投与期間であり、S1に準ずる。
- S1および現行のS6では、がん原性試験の実施が必要な場合もあるとのスタンス。
- S6(R1)では、がん原性の懸念がある場合には適切なリスク管理で対応。

申請者は、がん原性の懸念を軽減するために追加の非臨床試験を実施できるが、げっ歯類を用いた2年間がん原性試験に限定せず。

がん原性試験の実施方法

S1C(R2) がん原性試験の実施方法①

がん原性の検索・評価方法

- 1種のげっ歯類を用いる長期がん原性試験
- 追加in vivo試験(後述)
 - 短期・中期in vivo試験系
 - もう1種のげっ歯類を用いる長期がん原性試験

S1C(R2) がん原性試験の実施方法②

動物種の選択

- 次に示すような情報を考慮した上で、適切なものとするべき。
 1. 薬理作用
 2. 反復投与毒性
 3. 代謝
 4. トキシコキネティクス
 5. 投与経路
- 明らかな根拠がなければラットを推奨。

S1C(R2) がん原性試験の実施方法③

動物数

- 1群は、雌雄各50匹以上。
- 動物の割り付けは、適切な無作為抽出法。

曝露経路

- 臨床適用経路と同じであることが望ましい。
- 臨床適用経路と類似の代謝および全身曝露が示され、適用経路に関連する器官・組織が曝露されていれば、異なる投与経路も可能。

S1C(R2) がん原性試験の実施方法④

試験方法

- 対照群(無処置対照、溶媒対照)
- 試験群(3段階以上)
- 投与期間
 - ラット:24~30ヵ月
 - マウス、ハムスター:18~24ヵ月

S1C(R2) がん原性試験の実施方法⑤

短期・中期in vivo試験系

- 2段階発がんモデル(イニシエーション・プロモーションモデル)
- トランスジェニックモデル
 - p53+/-欠損モデル
 - Tg.ACモデル
 - Tg.rasH2モデル
 - XPA欠損モデル
- 新生児試験

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュトリーサイエンス総合研究事業）
平成22年度分担研究報告書

－光毒性試験に関するガイドライン策定のための調査研究－

総括研究者：大野 泰雄（国立医薬品食品衛生研究所）
分担研究者：小野寺博志（医薬品医療機器総合機構）
研究協力者：中江 大（東京都健康安全研究センター）
 笛木 修（医薬品医療機器総合機構）
 小島 肇（国立医薬品食品衛生研究所）
 田中 憲穂（食品薬品安全センター）
 細井 一弘（参天製薬株式会社）
 高木 広憲（大正製薬株式会社）
 尾上 誠良（静岡県立大学）
 岩瀬裕美子（田辺三菱製薬株式会社）
アドバイザー：中村 和市（塩野義製薬株式会社）

研究要旨

医薬品における光安全性に関する国際的ガイドラインは存在せず各極独自の判断で評価している。本邦では厚生労働科学研究費補助金「国際的整合性を旨す医薬品等の品質、有効性及び安全性に関する研究」（H19-医薬-一般-002）（H19-21年）においてFDAおよびEMEAのガイドライン等の情報を基に検討し指針の案として「医薬品の光安全性に関する現状」を報告した。平成22年11月のICH福岡会議から新たなSafetyトピックとしてS10「光安全性の評価」EWGの活動が開始した。トピックの目的は「光安全性評価のためのガイドライン作成」および「光安全性試験の必要に関する判断基準を設定し、光毒性物質を同定する適切な試験系を見いだす」ことであり3Rsの原則に基づいて策定される予定である。

本研究班は、ICH-EWG会議における本邦での活動に関する支援と国内調整を目的とする。

キーワード：光毒性、ICHガイドライン、S10-EWG、光安全性評価

A. 研究目的

ICHで新たなトピックとして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、EWG会議での議論や規制情報を収集分析し、必要に応じアンケート調査による現状把握等を行い、光安全性評価に関するガイドライン策定に寄与する。

B. 研究方法

平成21年ICHセントルイス会議での安全性部門ブレンストーミングで「光毒性の安全性」の必要性が提案された。それを受けて平成22年ICHタリン会議で正式に新たなトピックとしてS10が認められた。平成22年11月のICH福岡会議で初のS10-EWG会議が行われ、ガイドライン作成に向けての議論が開始された。それに対応するため班会議を開催し意見の集

約を行う。また各種学会等で光毒性に関する最新の話題を収集すると共に、ガイドライン策定の情報を広報し広く意見を募る。

C. 研究結果

ICH-S10EWGでの開始に伴い第1回班会議を開催し(資料1)厚生労働科学研究補助金「国際的整合性を旨す医薬品等の品質、有効性及び安全性に関する研究」(H19-医薬-一般-002)(H19-21年)の成果物である「医薬品の光安全性に関する現状」を英訳し、本研究班の基本的な考えとする(資料2)。さらにFDAとEMAのガイドラインの比較については日本製薬工業協会の基礎研究部会でまとめた資料を参考にして検討した(資料3)。

近年、光物性に関する試験法として、光照射により、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、光安全性評価要否の判断に有用とされている。

ROSアッセイの国内バリデーションについては小島協力委員(国立医衛研)が中心となり実施した。

第2回班会議(資料4)では、S10-EWGへの登録者と各極のEWGメンバーに事前に送付する資料を選定した。現在用いられている光安全性評価要否の判断基準として、物性面からは吸収波長領域や吸収スペクトル(極大吸収)がある。これは平成22年2月に出立された「医薬品の臨床試験および製造販売承認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について」ICHM3(R2)光吸収および光安定性が実施要否の条件となっている(資料5)。多くの光毒性物質は290~700 nmの波長域で光吸収または極大吸収があり、かつモル吸光係数(Molar Extinction Coefficient, MEC)が $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上である。光安定性については安全性試験における基準はなく、品質試験ガイドライン「新原薬及び新製剤の光安定性試験ガイドライン」(ICH-Q1B)に準拠して実施されている。現在の光物性的特徴パラメータは単独で光毒性発現の予測と直接関連しない。モル吸光係数の指標が $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上とすることはIWGT(International Workshop on Genotoxicity

Testing Working Group)2009では妥当とされたが、JPMAの調査によるとモル吸光係数と3T3-NRU試験あるいは*in vivo*試験との相関はなく、医薬品開発候補化合物の多くはモル吸光係数が $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上であるとされている。

2010年9月にはICH-S10での検討資料としてBfArMから光安全性評価の改訂案のフローチャートが示された(資料6)。骨子は、光毒性試験を実施する該当物質の選択条件はまず光物性的特徴あるいは薬物の組織分布による曝露の可能性など、全ての条件に該当する場合には、非臨床による光毒性試験の実施を選択するか、あるいは注意深く行う治験の実施は可能であるが、光毒性の懸念についてはなるべく早期に臨床で試験を実施し評価することとなっている。

いずれの光物性的条件にも該当しない場合や光非臨床および臨床試験での結果が陰性の場合には、それ以上のいかなる検討や注意喚起の必要はないとされ、陽性結果の場合には光毒性懸念の程度や臨床適応時の患者の状態に準じた注意喚起や添付文書での対応を求めている。

これらの提案を受け第3回班会議(資料7)ではICH-EWG会議直前に行われ、対応を討議した。まずEWG福岡会議の内容とそれ以降のスケジュールについて必要事項を検討した。

ROSについては尾上協力者に試験方法や現在まで得られた上市薬の評価結果や3T3-NRU試験結果との相関について福岡EWGでの説明が必要とされ会議初日に実施した。ROSアッセイについての実施可能性と有用性についての検証は、国内バリデーション結果を参考に行うが、光物性条件を検討する手法の一つに加えることが有用であると考えられる。モル吸光係数(MEC)のカットオフ値については $10 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ とする意見もありEWGでの議論が必要である。

光毒性評価における*in vitro*光毒性試験としてOECDテストガイドライン432での3T3-NRU試験があるが、非常に感度が高いことや、有用な代替法がなく試験法の改良や判定基準の変更について今後議論が必要であるが、試験の具体的な内容について変

更することは適当ではなく、問題提起に留める。本ガイドライン策定にあたり*in vitro*試験なしに直接*in vivo*試験を行うことは3Rsの観点から推奨されず*in vitro*試験を選択する選択肢も考慮すべきである。

光毒性評価ガイドラインを策定するに当たり骨子となる項目について検討しEWG会議に提案した。EWG会議において項目ごとに担当が決められ原案を作成することになる（資料8）。

また、EWG会議では今後検討すべき課題としていくつかの項目が提案され、それぞれ情報や現状を収集し今後の議論の資料とすることが同意された（資料9）。なお班会議は平成22年2月12日と平成23年2月にも開催し、計5回行われた。

E. 結論

光毒性非臨床安全性試験ガイドライン策定を目的にICH-S10がトピック化されEWG会議が開始された。国際調和に向けた国内準備と対応を行った。今後、具体的な項目について議論し、ガイドライン策定に必要な情報とICH-EWG会議に対応し、早期実現を目指す。

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

該当なし

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：第1回班会議議事録

資料2：「医薬品の光安全性に関する現状」英訳

資料3：光毒性試験欧米ガイドラインの比較

資料4：第2回班会議議事録

資料5：http://www.pmda.go.jp/ich/m/step5_m3r2_10_02_19.pdf

資料6：BfArMから光安全性評価案のフローチャート

資料7：第3回班会議議事録

資料8：ICH-EWG会議におけるガイドライン策定項目の分担

資料9：今後の課題に対する情報収集とその項目担当

平成 22 年 7 月 8 日

「光毒性試験に関するガイドライン策定のための調査研究」

第一回班会議 議事録

平成 22 年度厚生労働科学研究補助金事業

「医薬品等の品質・有効性及び安全性確保のための手法の国際的整合性を旨とした調査と妥当性研究」

日時：2010 年 7 月 6 日（火）15:00～17:30

場所：医薬品医療機器総合機構 会議室 14（13F）

出席者（敬称略）：小野寺博志（分担研究者：PMDA）、笹木修（PMDA）、中江大（東京健
安研センター）、小島肇（国衛研）、中村和市（塩野義）、細井一弘（参天）、岩瀬
裕美子（田辺三菱・議事録作成）

欠席者（敬称略）：田中憲穂（食薬センター）、尾上誠良（静岡県大）

議題内容

1. 開会の辞
2. 班員紹介
出席者自己紹介。なお、中村氏の代替として JPMA 追加メンバーを選考する。
3. 本研究班の目的と経緯説明
光毒性安全性試験がトピック化(ICH-S10)されたことを受けて ICH ガイドライン策定対応を行う。
4. 配布資料説明
下記資料を配布（資料は別途メールで送付済）
 1. 会議案内
 2. 議事次第
 3. FDA 光安全性試験ガイダンス（2003）・英文
 4. FDA 光安全性試験ガイダンス（2003）・和文
 5. EMEA 光安全性試験ガイダンス（2002）・英文
 6. EMEA 光安全性試験ガイダンス（2002）・和文
 7. EMEA 光安全性試験ガイダンスに対するコンセプトペーパー（2008）・英文
 8. 光毒性試験ガイドライン：欧米ガイドラインの比較（JPMA）
 9. 医薬品の光安全性評価に関する現状（Ver. 1.2）
 10. ICH S10: Final concept paper (2010)
 11. ICH S10: Final business plan (2010)
5. 議論：対応事項等

《ICH について》

- (1) 日本側の EWG メンバー：中江（ラポーター）小野寺、笹木、細井、他未定。JPMA からトピックリーダーと EWG メンバーを早急に選出。
- (2) 日本側の提案としては、FDA ガイダンスを軸に議論する。EMEA ガイダンスは近々改訂が予定されていることと、日本には光感作性試験法以外のガイドラインがないことが理由。
- (3) 日本側の提案資料として、FDA と EMEA ガイドラインの比較構成を作成する。項目は、FDA ガイダンスに準じ、日本側のコメント（問題点と提案等）を示す。提案資料は、9 月上旬に各極に送付、11 月の ICH 福岡で討議する。
- (4) ROS アッセイの概要（3Rs への貢献等）資料（概念図）を作成。
- (5) 「医薬品の光安全性評価に関する現状（Ver. 1.2）」（最終版）を英訳したものを、日本側からの参考資料とする。

《ROS アッセイのバリデーションについて》

- (1) 実行委員長を小島（国立医衛研）岩瀬（JPMA）とする
- (2) 参加機関は現時点において使用可能な機種での参加は2社。静岡県大（サンテスト社）と同じ機種は田辺三菱が所有。静岡県大では3T3 アッセイ用の機種（セレック社）の使用可能性についてデモ機を用いて8月末まで検討予定（9月班会議で結果提示）。ドクターヘンレ社のデモ機はないため、使用の可能性についてJPMA内で検討し、これらの機種が使用可能な場合、JPMA内で追加募集し参加機関を増やす。
- (3) 今後の方向性として同機種以外でのバリデーションは不適であり、サンテスト社の機種で静岡県大と田辺三菱の2機関でプレバリデーションを進める。他機種のデータは参考とする。サンテスト社の機種は、海外では多くの企業で使用実績があり、ICHではそのデータを提示可能であり、海外の機関から参加を募りバリデーションを進める。静岡県大で7月26日に予定されている説明会は、デモ機（田辺三菱）が使用可能となる8月末をメドに日程調整する（当初計画より開始は1ヶ月以内の遅れにとどめる）。

6. 第二回班会議

9月3日（金）15:00～PMDAにて開催予定。

以上

Ver.2

Current Status of Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals

The Phototoxicity Study Group :

Research for promotion of international harmonization of measures to secure quality, efficacy, and safety of pharmaceuticals (H22-Iyaku-001) Ministry of Health, Labour and Welfare

(The original version of this document was written in Japanese in March, 2010. This translated version was prepared in September, 2010.)

1. Introduction.....	3
2. Criteria to determine the necessity of photosafety evaluation	3
2.1 Criteria based on photochemical property of chemical compounds.....	5
2.1.1 Photoabsorption	5
2.1.2 Photostability	5
2.1.3 ROS assay.....	6
2.1.4 Regulatory compliance.....	7
2.2 Criteria used when chemical structure suggests photosafety concern.....	7
2.3 Criteria for tissue distribution of drugs when phototoxicity test is required	8
2.4 Criteria for the case for which clinical findings require phototoxicity test.....	9
3. Methods of photosafety test	10
3.1. Conditions of light irradiation.....	10
3.2. Evaluation of phototoxic potential.....	11
3.2.1. <i>In vitro</i> phototoxicity tests.....	11
3.2.2. <i>In vivo</i> phototoxicity tests.....	12
3.2.3. Clinical evaluation of phototoxic potential	12
3.3. Evaluation of photoallergic potential (including skin photosensitization test)	12
3.3.1. <i>In vitro</i> photoallergic test	12
3.3.2 <i>In vivo</i> photoallergic test	13
3.3.3 Clinical evaluation of photoallergic potential.....	13
3.4 Photogenotoxicity evaluation	13
3.4.1. <i>In vitro</i> photogenotoxicity test.....	14
3.4.2. <i>In vivo</i> photogenotoxic test	14
3.4.3. Clinical photogenotoxicity evaluation	14
3.5. Photocarcinogenicity evaluation	14
3.5.1. <i>In vivo</i> photocarcinogenicity test.....	14
3.5.2. Clinical photocarcinogenicity evaluation	15
3.6. Photosafety evaluation in clinical trials	15
3.6.1. Nonclinical photosafety test required for photosafety evaluation in clinical trials.....	16
3.7. Risk communication on results of photosafety evaluation	16
3.7.1. Cases without photosafety risk	16
3.7.2. Cases with photosafety risk.....	16
4. Conclusion	17

1. Introduction

Regarding the photosafety evaluation of pharmaceuticals, basic concept and methods of evaluation as guidelines for the implementation of nonclinical tests were shown in the guidance of the European Medicines Evaluation Agency (EMA) ¹⁾ in 2002 and of the US Food and Drug Agency (FDA) in 2003 ²⁾. In addition, EMA issued a Concept Paper on the need for revision of the guidance on photosafety testing in January 2008 ³⁾. In Japan, a guideline for skin photosensitization test was published in 1989 ⁴⁾, which has been used for the detection and evaluation of the risk of photosensitivity by topical formulations. However, there is no guideline that addresses the photosafety evaluation in general. This study team examines current status and technical problems of photosafety evaluation of pharmaceuticals based on the US and European guidance, published literature, survey conducted by Japan Pharmaceutical Manufacturers' Association (JPMA) and proposals from academic societies, in order to prepare documents that serve as a basis for the preparation of draft guideline in Japan and to contribute to the preparation of internationally harmonized guideline on photosafety evaluation.

Issues related to photosafety evaluation include criteria to conduct photosafety evaluation, types, methods, detection sensitivity and determination criteria of nonclinical safety tests for phototoxicity, extrapolability of the results of nonclinical tests to human, and countermeasures and preventive measures in case that adverse events suspected to be related to light irradiation are reported, and search for markers useful for the assessment of photoallergic potential or photocarcinogenicity in human.

2. Criteria to determine the necessity of photosafety evaluation

Chemical compounds required to investigate under each of the US and European guidelines are outlined in Table 1. Both of FDA guidance and EMA guidance require to evaluate photosafety of all drug substances and formulation components that absorb UVB, UVA or visible radiation (290-770 nm) (UV/VIS) and are directly applied to the skin or eyes, or significantly partition to one of these areas when administered systematically. In addition, the EMA guidance states that results of photostability tests and the structure-activity correlation can be utilized to determine whether photosafety evaluation is necessary.

Table 1 Comparison of chemical compounds required photosafety evaluation under each guideline.

	EMEA	FDA
Chemical compounds	<ul style="list-style-type: none"> - Overall chemical entities - Biotechnology-derived pharmaceuticals 	<ul style="list-style-type: none"> - All the drug substances and formulation components - As for topical agents, evaluation in the form of formulation is recommended.
Range of absorption wavelength	290-700 nm	290-700 nm
Absorption spectrum (maximum absorption)	No description	Detailed information on the absorption spectrum is important (Just presenting maximum absorption is not enough.)
Route of administration and distribution	<ul style="list-style-type: none"> - Topical application - Reach the skin or eyes 	<ul style="list-style-type: none"> - Applied onto or distributed to the skin /eyes - Those that affect the condition of the skin or eyes.
Inapplicable cases	No description	<ul style="list-style-type: none"> - Patients who are not exposed to the sunlight - Topical agents applied onto the sites not exposed to the sunlight. - Not applied onto the site exposed to the sunlight - Chemical compounds whose phototoxicity is already known

The guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals (ICH M3(R2)) ⁵⁾ described that the appropriateness or timing of photosafety testing in relation to human exposure should be influenced by: 1) the photochemical properties (e.g., photoabsorption and photostability) of the molecule, 2) information on the phototoxic potential of chemically related compounds, 3) tissue distribution, and 4) clinical or nonclinical findings indicative of phototoxicity, and proposed that initial phototoxicity evaluation should be conducted based on the photochemical properties and pharmacological/chemical classification of the drugs.

According to the proposed conditions, almost all pharmaceuticals can be a candidate to investigate photosafety. These guidelines provide only the conditions to determine the necessity of photosafety evaluation and lack specific guidelines. When the necessity of photosafety test is determined, there are various situations to be considered depending on the kind and application of the pharmaceuticals. For example, if unchanged drugs or active metabolites are distributed in a large quantity to the eye or skin, photosafety evaluation including the metabolites is required, but if the compounds are rapidly eliminated from the tissue, photosafety evaluation will not be needed. Also, since

additives may change the photoproperty of the drug substance in some formulations, evaluation needs to consider the effect of dosage form or route of administration on tissue distribution. In addition, pharmaceuticals used in limited patients and diseases without light-exposed compartment will not require to evaluate photosafety. For the formulation of new guideline, it would be necessary to clarify the strategies of photosafety evaluation by specifying the criteria in photochemical properties or tissue distribution.

2.1 Criteria based on photochemical property of chemical compounds

2.1.1 Photoabsorption

The range of absorbance of compounds that should be tested are set to be between 290 and 700 nm in the US and European guidances (Table 1). Besides, OECD Guideline for Testing of Chemicals, 432 (*In vitro* 3T3 NRU phototoxicity test) ⁶⁾ negates the necessity to conduct 3T3 NRU testing for compounds with the molar extinction coefficient (MEC) of below 10 L mol⁻¹cm⁻¹(Note 1).

Meanwhile, Henry et al. measured light absorbance of 35 kinds of phototoxic substances (pharmaceuticals) in the 290-700 nm range, and concluded that all the phototoxic substances showed absorption at the wavelength of 290 nm (shoulder) or maximum absorption in this range of wavelength, and the MEC in the range exceeded 1000 L mol⁻¹cm⁻¹ ⁷⁾. Bauer et al. compared the results of phototoxic test (3T3 NRU test and mouse photo-LLNA) and MEC corrected values (calculated correcting UV/VIS spectrum of chemicals by solar light spectrum) for 26 compounds (21 developing compounds and 3 controls) and concluded that compounds with corrected MEC value exceeding that of chlorpromazine (5170 L mol⁻¹cm⁻¹) are potentially phototoxic substances ⁸⁾. Based on these results, the 5th International Workshop on Genotoxicity Tests (IWGT, 2009) ⁹⁾ concluded no photosafety testing is required for compounds with MEC < 1000 L mol⁻¹cm⁻¹. Also, a questionnaire survey conducted by JPMA showed that most of the compounds which were positive in 3T3 NRU test had MEC over 1000 L mol⁻¹cm⁻¹ ¹⁰⁾, though the relationship between phototoxicity and maximum absorption is not clear. In general, it is considered that the necessity of conducting photosafety evaluation is low for pharmaceutical products with MEC of < 1000 L mol⁻¹ cm⁻¹.

2.1.2 Photostability

In EMEA and FDA guidelines, photostability findings are required as a part of

information to determine the appropriateness of photosafety evaluation. But conditions of photostability measurement or criteria for photodegradation rate are not provided.

The photodegradation speed depends on the number of photons of the specific wavelength that contributes to the degradation of the drug. But since photodegradation wavelength differs by drugs and since the distribution of the number of photon for each wavelength differs by light sources, it is considered difficult to quantitatively analyze the effect of drugs on photodegradation speed ¹¹⁾. Photostability test is usually conducted as a part of quality test for drug substances and formulations (ICH Q1B guideline) ¹²⁾, but when phototoxicity risk in human is to be evaluated, it is considered practical to use the results of photostability for a drug substance in neutral buffer.

Formation of degradation products of the compounds by ultraviolet rays is considered to be one of the mechanisms of phototoxicity. Phototoxicity of fluoroquinolones is considered to correlate with photostability, but a few compounds, without photostability, caused little photoreaction on the skin in mice have been found by drug design ¹³⁾. Henry et al. ⁷⁾ evaluated photostability of 35 phototoxic substances (pharmaceutical products) and obtained the results showing that 70% of the phototoxic substances tested were degraded by light irradiation by over 50% but 12% of the phototoxic substances tested including 5-fluorouracil and acridine were degraded by no more than 10% even by 3 hours of light irradiation. This result shows that photostability result alone is not sufficient to determine the necessity of phototoxic test. They proposed to evaluate the necessity by combining above-mentioned photoabsorption and ROS assay which will be described below.

Consequently, it is necessary to determine the appropriateness of photosafety test by taking other indicators into consideration, since there is a possibility that some of phototoxic substances cannot be detected only by photostability results.

2.1.3 ROS assay

As mentioned above, photoabsorption or photostability alone does not have high correlation with phototoxicity, and has limited use in determining the appropriateness of phototoxic test. Onoue et al. reported the usefulness of reactive oxygen species (ROS) assay as a method to evaluate phototoxic risk ¹⁴⁻¹⁶⁾. ROS assay is a test system to measure the generation of ROS, singlet oxygen and superoxide, that triggers phototoxic reaction after light irradiation to test compounds. They compared ROS generation capacity and 3T3 NRU test results for 39 pharmaceutical products on the market and 210 pharmaceutical candidates. As a result, in most phototoxic substances, type I or II photochemical reaction was induced, and generation of singlet oxygen and superoxide

was observed ¹⁵). Namely, it is highly possible that it can be determined unnecessary to conduct phototoxic test for compounds in which generation of singlet oxygen and superoxide, which is strongly related to phototoxicity, is not observed.

Similarly to photoabsorption test and photostability test, ROS assay would be able to be used as a test method to characterize photochemical properties of pharmaceutical products. In order to position ROS assay as a test to determine the appropriateness of photosafety evaluation, it is required to set a criteria to judge phototoxic risk, to confirm its utility by multicenter validation study, and to gain an international consensus.

2.1.4 Regulatory compliance

Photochemical property of compounds is evaluated in physicochemical tests as a part of quality test, and the results are utilized in the determination of the appropriateness of phototoxic test, but, it is not performed in compliance with GLP. However, if the result is used for approval application as a basis of judgment on the necessity of phototoxic test, it has to be performed in compliance with GLP or Article 43 of the Enforcement Regulations of the Pharmaceutical Affairs Law.

2.2 Criteria used when chemical structure suggests photosafety concern

Photosensitivity is a reaction that shows considerable inter-individual variability and its development mechanism has not been fully elucidated. However, some of the specific chemical structures that induce phototoxicity including quinolone framework have been already known. Information on such known toxic framework can be obtained *in silico* toxicity prediction tools on the market including DEREK (Lhasa Limited).

Organic compounds transit to an excited state by light irradiation (UV) and then return to ground state after emitting energy. The energy emitted at this returning phase exerts various effects on the living body and can be one of the factors that cause photosensitivity. Thus, compounds that are easily photoexcited are considered to have high risk for photosensitivity, and discussion has been made on the utilization of HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) - LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) gap to photosafety evaluation. There is a report that shows a correlation between MPE (Mean Photo Effect) as a measure of 3T3 NRU test and HOMO-LUMO gap (ΔE), and if $MPE < 0.1$ is considered negative, negative rate was 11% for compounds with ΔE of below 10.5 eV, 59% for compounds with ΔE of 10.5-11.7 eV, and 86% for compounds with ΔE of over 11.7 eV ¹⁷). HOMO-LUMO gap is useful in predicting phototoxicity due to photoexcitation, but it is required to examine and establish conditions at each facility

since the results differ by softwares used for calculation or calculation methods.

2.3 Criteria for tissue distribution of drugs when phototoxicity test is required

As a condition to induce phototoxic reaction, drugs and/or its metabolites which were absorbed into the body have to reach and retain in the irradiation site. But there have not been any clear criteria on the tissue distribution that requires photosafety evaluation. The conditions related to tissue distribution of the drugs that need photosafety evaluation are described in guidelines of the Europe and the US as follows: (i) directly applied to light-exposed sites including eyes and skin, (ii) distribute to eyes or skin after systemic administration, and (iii) drug-induced changes in eyes or skin are observed. But there is no description on the criteria to determine the appropriateness of the photosafety tests. Therefore, when actual photosafety evaluation is performed, how to evaluate tissue distribution of drugs and choice of phototoxicity testing are left up to the discretion of the companies that conduct the test. According to the survey conducted by JPMA, only 2 companies out of 30 companies set their own criteria for evaluation of tissue distribution for photosafety evaluation¹⁰⁾. These criteria included (i) “when tissue concentration of the drug in the skin or eyes is lower than blood concentration of it, photosafety evaluation is not conducted, excluding the case in which blood concentration of the drug is higher than its phototoxic concentration in *in vitro* test, (ii) when the drug remains in the body for at least 35 days after administration, and the ratio of the tissue concentration in the eyes or skin to the blood concentration is 5 or higher, photosafety evaluation should be performed.”

When tissue distribution is taken into consideration, all of topical drugs for skin or eye drops need photosafety evaluation even their photoabsorption is low since they distribute in high concentration at the site of administration. In case of topical drugs, it is considered that absorption and distribution is affected by the difference in the composition of the drug or condition of the application site. In setting the conditions to determine the appropriateness for phototoxic test, information on tissue distribution is important. Thus, it is desirable that tissue distribution is evaluated early in the development stage.

In case of drugs that have affinity to melanin, there is a potential that local tissue concentration becomes high. Although it is reported that melanin affinity itself does not predict retinal disorder¹⁸⁾, some criteria would be required to determine the appropriateness of photosafety evaluation, taking the fluctuation of plasma concentration, time to reach the tissue, and the rate of elimination into consideration.

2.4 Criteria for the case for which clinical findings require phototoxicity test

When some abnormalities which are considered to be attributable to light irradiation are observed in clinical trial, it is important to take appropriate preventive measures for the subjects such as avoiding light exposure, while at the same time with investigating the mechanism. Especially, clinical and nonclinical investigation in early stage to determine the cause as well as sufficient instruction to subjects at home is required.

Drug-induced photosensitivity is classified into phototoxicity and photoallergy based on the difference in development mechanism. In case of phototoxicity, skin reaction is provoked only at the site directly exposed to light not being mediated by immune reactions but by photochemical reaction of compounds or metabolites which were excited by light irradiation. In this case, following the development of erythema and edema, desquamation and pigmentation are observed. On the other hand, photoallergy is a type IV allergic reaction. Compounds or metabolites excited by the light ray become antigens or haptens and combine with biological proteins through chemical reactions. As the result, they become complete antigens and sensitize the body. When antigen is formed again by light irradiation to the causative substance, allergic reaction is evoked and erythema and blisters are developed.

Also, drug-induced photosensitivity is classified into photosensitive drug eruption (systemic administration) and drug-induced photocontact dermatitis (topical application) based on the difference in the drug administration route.

The development mechanism of drug-induced photocontact dermatitis is mainly photoallergic reactions. If photopatch test at optimum concentration is positive and findings indicative of type of contact dermatitis including spongiosis are observed in the histological image of the affected skin, diagnosis of photoallergic reaction is made. The diagnosis can be confirmed by positive reaction to provocation test with intake of small amount of the drug and UV irradiation¹⁹⁾.

It is considered that animals can develop phototoxicity and photoallergicity through the same action mechanism as human in some cases. Thus, it is considered useful to conduct animal tests to evaluate the mechanism of findings which were observed clinically. But since the results of traditional phototoxicity or photosensitization tests using animals are sometimes inconsistent with clinical findings, it is desired to develop novel evaluation systems that have high level of extrapolability to human.

3. Methods of photosafety test

3.1. Conditions of light irradiation

The European and the US guidelines include all the compounds that absorb UVB, UVA or visible radiation (290-700 nm) as the target of evaluation. They recommend simulated sunlight as the light source used for the test, but there is no specific description on irradiation conditions. OECD Test Guideline 432 (*in vitro* 3T3 NRU test)⁷⁾ recommends SOL500 (doped mercury-metal halide lamp, Dr. Höhle, Germany) as a light source which was used in the validation test. Japanese guideline for skin photosensitization test describes as "xenon lamps, solar simulator and UV lamps are used".

When multiple kinds of solar simulators are compared (SOL500, SOLAX [xenon, SERIC, Japan], and SUNTEST CPS [xenon, ATLAS, the US]), it has been reported that each lamp has different wavelength characteristics and that SOL500 has different wavelength characteristics from natural sunlight such as high relative irradiance in the UVA range²⁰⁾. It is also reported that different ultraviolet meters (UVM751 [Dr. K. Höhle] and UVR-3036/S [TOPCON]) indicate different values for ultraviolet intensity when the identical site is irradiated by the identical light source²⁰⁾. Besides, it is difficult to ensure even irradiance distribution on the identical plane even if any light source is used. It is important to fully understand wavelength characteristics of the light source used for phototoxic test and to keep irradiance conditions as constant and even as possible.

When light sources other than SOL500 are used in already validated *in vitro* 3T3 NRU tests, sufficient background data for the light source have to be obtained. It is essential to conduct validation of irradiance conditions of the light source by each test system in case of *in vivo* tests. Actually, many facilities use other light sources than solar simulators under various irradiance conditions. In tests for compounds that show absorbance in the UVA range, irradiation of about 10-20 J/cm² with the black lamp with UVB shielding glass filter is used. In tests for compounds that show absorbance in the UVB range more than 290 nm, minimum erythema dose under the experimental condition is determined beforehand by irradiating non-treated animals with sun lamps, and the irradiation with less amount of energy and subsequent black lamp irradiation are provided to experimental group in ordinary practice.

Either one of the following options can be used under the guideline on photostability (ICH Q1B)¹²⁾.