

### Option 1

Any light source that is designed to produce an output similar to the D65/ID65 emission standard such as an artificial daylight fluorescent lamp combining visible and ultraviolet (UV) outputs, xenon, or metal halide lamp. D65 is the internationally recognized standard for outdoor daylight as defined in ISO 10977 (1993). ID65 is the equivalent indoor indirect daylight standard. For a light source emitting significant radiation below 320 nm, an appropriate filter(s) has to be fitted to eliminate such radiation.

### Option 2

Same sample should be exposed to both the cool white fluorescent and near ultraviolet fluorescent lamp.

1. A cool white fluorescent lamp designed to produce an output similar to that specified in ISO10977 (1993); and
2. A near UV fluorescent lamp having a spectral distribution from 320 nm to 400 nm with a maximum energy emission between 350 nm and 370 nm; a significant proportion of UV should be in both bands of 320 to 360 nm and 360 to 400 nm.

## 3.2. Evaluation of phototoxic potential

### 3.2.1. *In vitro* phototoxicity tests

3T3 NRU test described in the OECD Test Guideline 432 is highly sensitive and the percentage of positive results including false positive is high. At IWGT 2009, discussion on the criteria that necessitate the conduct of photosafety evaluations were held and it was concluded that phototoxicity test is not required for compounds whose MEC <1000 L/mol/cm<sup>6</sup>). In Japan, the result of validation study on an alternative phototoxic test by the combination of erythrocyte photohemolysis test and yeast growth photoinhibition test has been submitted to JaCVAM<sup>21</sup>). As the mechanisms of these, direct damage to the blood cell membrane and damage to the cell membrane and inside of the cell are reflected in the former and latter test systems, respectively. When phototoxic test is performed by *in vitro* test methods, it is important to choose test methods based on sufficient understanding of the action mechanism and characteristics of the test after considering characteristics of the test compound. A 3-dimensional human skin model, which is under validation in Japan, is useful as an *in vitro* phototoxicity test method if it is combined with light irradiation. It is expected to be established as an evaluation system especially for compounds or formulations that are difficult to solve in water.

### 3.2.2. *In vivo* phototoxicity tests

Guinea pigs, rabbits, rats, mice and hairless mice are mainly used in *in vivo* phototoxicity tests. In case that test article has melanin affinity, utilization of pigmented animals is sometimes required. In case of systemic exposure by oral administration and others, animal species that can be used may be limited due to distribution property of the test article.

In animal tests, light irradiation conditions differ by tests, and solar simulators, UVA alone, or combination of UVA and UVB are used as light source. Also, light irradiation dose have to be adjusted by each test since the marginal dose that evoke skin reaction by light irradiation alone differs by animal species, though sufficient irradiation dose is required to obtain high detection sensitivity. Besides, it is desirable that standard conditions are set for each animal species and for each test system. For this purpose, implementation of validation test with the use of positive control substance is required.

### 3.2.3. Clinical evaluation of phototoxic potential

Drug-induced photosensitivity is caused by phototoxic mechanism or by photoallergic mechanism. In order to choose appropriate treatment method, it is important to differentiate these mechanisms. If the strong reaction is observed only at light irradiation sites in photopatch test and phototoxicity is negated, the diagnosis of photoallergic drug-induced photosensitivity is made. The results of a study on photopatch tests in photosensitive patients which were conducted from 1991 to 1997 were reported at the ECVAM workshop <sup>22)</sup>. The findings of skin reaction by chemical substances tested including pharmaceutical products were classified into 4 patterns; a) the decrescendo pattern, b) a combination of the decrescendo and crescendo patterns, c) the plateau reaction pattern, and d) the delayed or crescendo pattern. Among these, a) and d) are considered to be the characteristics for phototoxicity and photoallergy, respectively. Though b) and c) are not clear, the persistent pattern of a certain intensity of reaction is considered to be induced by prolonged phototoxic reactions. A standardized set of test chemicals for photopatch testing should be continuously updated, according to the results of testing and to clinical and/or experimental experience.

## 3.3. Evaluation of photoallergic potential (including skin photosensitization test)

### 3.3.1. *In vitro* photoallergic test

Though currently there is no internationally validated evaluation system in animal

for photoallergic potential, Hoya et al. reported photo-h-CLAT (photo human Cell Line Activation Test) method which utilizes a human monocytic leukemia cell line, THP-1 cells <sup>23)</sup>. This method is based on the changes in the expression levels of surface molecules on dendritic cells at the time of antigen presentation for T lymphocytes, which is one of the processes of induction of photosensitization. UVA is irradiated to THP-1 cells and photoallergic potential was measured based on the enhanced expression of CD86 and CD54.

### 3.3.2 *In vivo* photoallergic test

In Japan, “skin photosensitization test guideline” was issued in 1988 and has not been revised after that. The guideline showed multiple test systems which utilize guinea pigs. The FDA guideline says that nonclinical test models for photoallergy are not considered to be predictive of clinical effects and that photoallergy is best assessed clinically. EMEA says that it is possible to conduct animal studies using guinea pigs, but is actively promoting development of alternative methods from the aspect of 3Rs. In Japan, according to the result of survey conducted by JPMA in 2008 <sup>10)</sup>, many respondents (24/38 companies) supported the necessity of skin photosensitization tests as a part of photosafety guideline.

Photo-LLNA (Local Lymph Node Assay) is another *in vivo* test<sup>24)</sup>. This test method is the combination of LLNA method, which is authorized as the OECD Test Guideline 429, and UV irradiation <sup>25)</sup>.

### 3.3.3 Clinical evaluation of photoallergic potential

Drug-induced photosensitivity is caused by photoallergic mechanism and phototoxic mechanism. It is important to adequately diagnose them differentiating each other.

Methods to evaluate photoallergic potential of a compound in clinical setting include photopatch test and photo-drug test. Typical indication for photopatch test is photoallergic contact dermatitis and that of photo-drug test is drug-induced photosensitivity through photoallergic reaction <sup>26)</sup>.

## 3.4 Photogenotoxicity evaluation

There is a description on photogenotoxicity test in the EMEA guideline, but IWGT 2009 concluded that “photogenotoxic test is not recommended” as a part of phototoxicity evaluation.

#### 3.4.1. *In vitro* photogenotoxicity test

As a method of photogenotoxicity test, photochemical chromosomal aberration test (micronucleus test), which is based on DNA damage, had been recommended considering the mechanism of skin cancer development due to light irradiation. However, in cultured mammalian cells, light irradiation alone induces chromosomal aberration and the results of photochemical chromosomal aberration tests are not reflected appropriately to photogenotoxicity evaluation. Also, the endpoint of photo-Ames test is mutation. It is difficult to predict carcinogenicity from the positive results and its detection sensitivity is not high. Besides, it is sometimes difficult to perform photogenotoxic evaluation of quinolone antimicrobial agents with phototoxicity because of its pharmacological actions.

#### 3.4.2. *In vivo* photogenotoxic test

*In vivo* photogenotoxic tests include photochemical skin micronucleus test <sup>30, 31)</sup> and photochemical skin comet assay <sup>32)</sup>. Photochemical skin micronucleus test is the combination of skin micronucleus test which is based on DNA damage similarly to *in vitro* photogenotoxic test <sup>27, 28)</sup> and light irradiation, and photochemical skin comet assay is the combination of skin comet assay which is the combination of single cell gel electrophoresis (Comet assay) of skin tissue <sup>29)</sup> and light irradiation. Caution is required to judge the result appropriately since any test system has a potential to produce positive result due to cytotoxicity-related indirect DNA damage. However, IWGT 2009 concluded that these photogenotoxicity test systems are “potentially promising but not the test system that can be routinely used because the data is limited at present” <sup>9)</sup>.

#### 3.4.3. Clinical photogenotoxicity evaluation

The European and the US guidance mention to the necessity to find out biomarkers, but do not provide specific descriptions as useful indices.

### 3.5. Photocarcinogenicity evaluation

#### 3.5.1. *In vivo* photocarcinogenicity test

At present, available photocarcinogenicity tests using rodents (hairless rats and others) are not recommended in terms of usefulness under ICH M3(R2) guideline. It recommends evaluating the risk of carcinogenicity using other alternative evaluation

methods, but does not provide any specific description <sup>5)</sup>. When the risk of photocarcinogenicity is suspected, it is practical to take measures to avoid light exposure during the administration period by informing of the risk in study protocol, package insert, or Precautions. For the future, development of new test methods including useful photogenotoxicity tests and biomarker tests using human skin culture models is desired.

### 3.5.2. Clinical photocarcinogenicity evaluation

Ultraviolet ray itself has carcinogenicity and solar irradiation increases the risk of skin carcinogenesis. Long-term use of immunosuppressants increase the risk of skin carcinogenesis, so consideration to avoid UV exposure is especially important. The potential that pharmaceutical products themselves have direct photocarcinogenicity is small, but when they change into irritating materials like 8-Methoxsoralen by light irradiation, they may induce cancer. It is relatively easy to control the risk of compounds that induce irritant property by light irradiation, since patients themselves recognize the erythema, swelling, burning sensation, pain and others at early stage. It is required to fully inform of the potential that hazardous property is induced by light irradiation.

### 3.6. Photosafety evaluation in clinical trials

Photosafety test is conducted in the clinical setting aiming at diagnosing the photosensitivity-like symptoms appeared after oral intake or dermal application of pharmaceutical products or evaluating photosafety of pharmaceutical products under development. In both cases, photopatch test and photo-drug test are used for photosafety evaluation in clinical trials.

Photopatch test is useful mainly for the diagnosis of photoallergic contact dermatitis and also for the diagnosis of some of photoallergic dermatitis which developed after systemic exposure of photosensitizing agents administered orally or by injection. Positive reaction in photopatch test is fixed by negating phototoxic reaction. Positive reaction caused by phototoxic reaction can occur to anyone nonspecifically, and cannot be determined as a reaction specific to photosensitive patients. Actually, there are often issues in the photopatch test in differentiating phototoxicity reaction and photoallergic reaction. At present, the most reliable differentiation method is to perform photopatch test under the identical conditions in healthy individuals and patients. If healthy individual showed positive reaction, it is determined to be a phototoxic reaction.

On the other hand, photo-drug test is useful for the diagnosis of photosensitive drug

eruption due to photoallergic reaction. When photo-drug test is performed, the results differ by various conditions including the oral dose of the drug, period of intake, timing of light irradiation after oral administration, and irradiation level. The optimum condition for the test differs by the kind of medicine, type of skin disorder, and degree of hyper sensitivity of the patient. Thus, there is no standard test method for this <sup>26)</sup>.

#### 3.6.1. Nonclinical photosafety test required for photosafety evaluation in clinical trials

When photosafety test is performed using light irradiation equipment in the clinical setting, it is required to know the result of phototoxicity evaluation in nonclinical study with appropriate models in advance, from the perspective of protection of subjects.

In principle, nonclinical skin photosensitization test has to be performed for topical skin agents that have similar structure to already known photosensitizers or topical agents that are inferred to have skin photosensitizing potential, before administration to human.

On the other hand, if nonclinical phototoxicity test turned out to be clearly negative, the need for clinical photosafety evaluation is low. But since there is a possibility that some compounds which were negative in animal phototoxicity test exert phototoxicity in human, it is important to carefully analyze the development of adverse events in clinical trials in order to detect phototoxicity earlier.

### 3.7. Risk communication on results of photosafety evaluation

#### 3.7.1. Cases without photosafety risk

In the development stage, the reason why phototoxicity test was judged unnecessary should be described in the clinical study protocol and investigator's brochure, and adequate information should be provided to the investigators. At the time of the New Drug Application, it is required to describe in the NDA documents the reason why phototoxicity test was judged unnecessary.

#### 3.7.2. Cases with photosafety risk

In the development stage, obtained results of nonclinical and clinical studies should be described in the informed consent form, investigator's brochure, and clinical study protocol in order to ensure that adequate information is provided to the subjects and investigators. Depending on the situation, discussion should be made on countermeasures to reduce the risk of phototoxicity (awareness-seeking for light irradiation, adjustment of dosing time, or protection from UV exposure by sunscreen),

and potential appropriate preventive measures should be proposed. For the New Drug Application, the results of phototoxicity tests and risk assessment for human should be described in the NDA documents, and it should be considered to include this information in the package insert in order to provide information and raise awareness. When information is provided, it is important to provide adequate information after comprehensively evaluate the results of nonclinical and clinical studies, rather than making conclusion based on partial results alone.

#### 4. Conclusion

This article outlined current status and issues regarding the concept of photosafety evaluation of pharmaceutical products and technical problems related to it. It aimed at contributing to the preparation of internationally harmonized guideline for photosafety evaluation by understanding the current status and clarifying the problems.

We conclude that guideline for photosafety evaluation should be formulated by clarifying the criteria of the compounds which are needed to conduct the photosafety evaluation and the notion of evaluation of the result of *in vitro* phototoxicity test (3T3 NRU PT test) and the necessity of *in vivo* tests, and concern about the predictability of the animal models for photoallergy, animal welfare, and extrapolability of photogenotoxicity evaluation and photocarcinogenicity test results to human.

This article was prepared by this study team based on “issues of the photosafety evaluation for pharmaceutical products” by Kazuichi Nakamura, Kazuhiro Hosoi, Yumiko Iwase, Toshiyuki Shiragiku, Hironori Takagi, Hirohisa Yamashita, and Hideyuki Mizuma (2009).

#### References

- 1) EMEA, Note for guidance on photosafety testing (CPMP/SWP/398/01), CPMP, (2002).
- 2) FDA, Guidance for industry, photosafety testing, CDER, (2003).
- 3) EMEA, Concept paper on the need for revision of the note for guidance on photosafety testing (CPMP/SWP/398/01), (CHMP/SWP/534549/2007), CHMP, (2008)

- 4) Pharmaceutical Affairs Bureau, On Guidelines for Toxicity Studies Required for Applications for Approval to Manufacture (Import) Drugs (*in Japanese*), PAB/ERD Notification No. 24, September 11, (1989)
- 5) Pharmaceutical and Food Safety bureau, Evaluation and Licensing Division, Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals ICH: M3 (R2) (*in Japanese*), Notification 0219 No. 4. February 19, (2010)
- 6) OECD guideline for testing of chemicals, 432, In vitro 3T3 NRU phototoxicity test, (2004).
- 7) 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).
- 8) Bauer, D., Martus, H. J., and Suter, W.: Thresholds in photosafety assessment: a model case supporting tiered testing and risk assessment. SOT, (2009).
- 9) Kasper, P.: A re-appraisal of the recommendations for photogenotoxicity testing, Reports from the 5<sup>th</sup> International Workshop on Genotoxicity Testing. (2009)  
[http://www.iaems.net/IWGT/IWGT\\_Group2\\_Photosafety.ppt](http://www.iaems.net/IWGT/IWGT_Group2_Photosafety.ppt)
- 10) JPMA, Drug Evaluation Committee, Non-clinical Evaluation Subcommittee: Investigation of the Regulations for Photosafety Evaluation of Pharmaceutical Drugs in Japan, the U.S and Europe, and Report of Investigation for Accumulation of Basic Data to Be Used for Development of Photosafety Evaluation Procedures A questionnaire survey for accumulation of basic data for development of photosafety evaluation procedures in Japanese pharmaceutical Companies (*in Japanese*), Document No. 148, (2009)
- 11) Yoshioka, S., Stability of Medicines, From basic to practice for better development and evaluation (*in Japanese*), Tokyo, Nankodo, pp52, (1995)
- 12) Pharmaceutical affairs Bureau, On “Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products (ICH: Q1B)” (*in Japanese*), Notification No.



422, (1997)

- 13) 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).
- 14) Onoue, S. and Tsuda, Y.: Analytical studies on the prediction of photosensitive/phototoxic potential of pharmaceutical substances. *Pharmaceutical Res*, 23, 156,(2006).
- 15) Onoue, S., Kawamura, K., Igarashi, N., Zhoud, 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).
- 16) 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).
- 17) Horii, I. and Uchida, C. : Phototoxicity in Drug Development – Evaluation and practice in early drug discovery and development research (*in Japanese*), In Nomura M. Horii I. and Yoshida T. (eds.) *Nonclinical Studies – Dealing with the guidelines and new challenges*, Tokyo, LIC, pp 271-288, (2008)
- 18) 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)
- 19) Matsuo, I.: Photosensitivity (*in Japanese*), In Sato, Y., Ichihashi, M. and Horio, T. (eds.) *Photosensitivity* (3rd edition), Tokyo, Kanehara & Co., Ltd., pp111-121, (2002)
- 20) Yamakage, K.: Photo-genotoxicity Study (*in Japanese*), In Takemoto, K. (Eds.) *Current alternatives to animal experiments – Dealing with related laws and regulations / procedures for various tests*, Tokyo, Technical Information Institute Co., Ltd., pp150-159, (2007)

- 21) Alternatives to phototoxicity tests validation research implementation committee (Chair: Yoshimura, I.), A validation research report on alternatives to phototoxicity tests (*in Japanese*), (2004), [http://jacvam.jp/files/effort/02-002/02\\_002\\_01.pdf](http://jacvam.jp/files/effort/02-002/02_002_01.pdf)
- 22) 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)
- 23) 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).
- 24) 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).
- 25) OECD guideline for testing of chemicals, 429, Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay , (2002).
- 26) Hashimoto, Y.: Photo-patch test and photoradiation test after oral administration (*in Japanese*), In Sato, Y., Ichihashi, M. and Horio, T. (eds.) *Photosensitivity* (3rd edition), Tokyo, Kanehara & Co., Ltd., pp111-121, (2002)
- 27) 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 Research* 444, 59–166, (1999)
- 28) 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 Research* 513, 93–102, (2002)
- 29) Tice, RR., Agurell, E., Anderson, D., Burlison, B., Hartmann, A., and Kobayashi,

- H.: Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genotoxicology testing, *Environ. Mol. Mutagen.* 35, 206–221, (2000).
- 30) Itoh, S., Katoh, M. and Furuhashi, K.: In vivo photochemical micronucleus induction due to certain quinolone antimicrobial agents in the skin of hairless mice. *Mutation Research* 520, 133–139, (2002).
- 31) 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)
- 32) 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 oral administration of different fluoroquinolones and 8-methoxypsoralen in combination with exposure to UVA. *Mutation Research* 609, 1–10, (2006).

資料8

## 光毒性試験ガイドライン ＜欧米ガイドラインの比較＞

日本製薬工業協会  
基礎研究部会  
一般毒性検討チーム

1

### 欧米ガイドラインの比較(まとめ)

	共通点	FDA GLのみ記載	EMA GLのみ記載
対象化合物(製剤)の範囲	吸収波長領域 投与経路と体内分布	対象化合物(製剤)の範囲 吸収スペクトル(極大吸収) 対象としないケース	—
実施時期	—	光刺激性を大規模臨床試験前に特定	光毒性、光アレルギー、光選伝毒性試験を平行して実施
光毒性	In vitroのST3細胞アッセイは利用可能 フォローアップ試験として、ヒトでの試験 疑似太陽光の使用	In vitro評価系より、総合的にin vivo評価を重視	In vivo試験は通常正当化されない
光アレルギー性	—	非臨床試験の予測性に信頼的、ヒトでの評価を推奨	モデルモットを使用したモデルのみ使用可能
光選伝毒性	—	ヒトのリスク評価における意義は要検討	第1選択法として、光染色体異常試験
光がん毒性	懸念のある場合、表示すれば、不要(実施の必要は個別に判断)	ヘアレスマウスモデルの有用性への言及	ヘアレスマウスモデルは未検証 光選伝毒性結果から判断
その他(リスクコミュニケーションなど)	リスクは添付文書に記載	—	—

### 被験対象化合物の比較

	FDA	EMA	コメント
対象化合物(製剤)の範囲	すべての医薬品及び製剤成分 外用剤の毒害、製剤の使用を推奨(処方変更の場はフォーミュラについても記載)	記載なし	EMAの用語はChemicalsなので、主薬以外に添加物も該当すると思われる
吸収波長領域	UVB, UVA, あるいは可視光(390-700nm)	290nm - 700nm	吸収の程度の判断については、詳細な記載なし
吸収スペクトル(極大吸収)	極大吸収を提示するだけでは不十分(紫外線/可視光線吸収スペクトルも試験実施の判断として要検討)	記載なし	
投与経路と体内分布	①皮膚あるいは経口に投与されるもの、あるいは全身性に投与され、これらの部位のいずれかに投与量が分布するもの ②皮膚あるいは経口に投与を考慮することが知られているもの	①局所に適用されるもの ②全身循環中に皮膚あるいは経口に到達するもの	分布の程度が不明確
対象としないケース	・医薬品あるいは光活性代謝物が体内に存在する際、投与される患者が太陽光に曝されない場合 ・太陽光に曝されない皮膚にのみ適用される医薬品で、薬物が太陽光にさらされる程度にそれらが分布しない場合 ・光刺激性が認められる医薬品で添加物ただし、皮膚に対する光毒性を強化する可能性のある添加物に変更した場合には光毒性の評価を推奨	記載なし	

### 光毒性試験法の比較(1)

	FDA	EMA	コメント
実施時期	光刺激性を大規模臨床試験前に特定	—	
In vitro評価系	・ST3細胞アッセイも利用可能 ・ST3アッセイは有用だが、未だ増殖性のものや最終経路の評価には不確実 ・In vitro試験は、より動的な総合的にin vivo評価を計画する場合に重要	・安全性試験の一部(特に、光毒性や光選伝毒性)として利用可能、詳細な試験として十分な情報提供を、in vivo試験は通常正当化されない ・ST3細胞アッセイ(その他の細胞も適用であれば有用) ・ST3細胞PT光毒性試験法は、製剤委員会に正式に受け入れられた方法 ・S9Mix添加は不適当 ・検出限界の場合は、in vitroで評価できない	・EMA: In vitro試験を支持 ・FDA: 動物実験と臨床試験を推奨

### 光毒性試験法の比較(2)

	FDA	EMA	コメント
動物実験	・一般的にマウスあるいはモルモット ・ウサギやブタも使用可 ・系統の記載はなし	・種別別の場合、3次元皮膚モデルがリポートされるまでは、in vivo試験の実施を考慮	
その他の評価系	フォローアップ試験として、ヒトの試験	フォローアップ試験として、ヒトの試験(治療量の最小紅腫量の測定が推奨)	
動物実験の投与回数	・単回投与(急性毒害) ・長期投与は避けるべき	記載なし	
動物実験の評価部位	・皮膚	記載なし	
光源照射条件	・疑似太陽光 ・照射条件について記載なし	・疑似太陽光 ・光源特性の詳細な記述と紫外線強度計によるコントロールの必要性に言及	・他の試験法についても共通

### 光アレルギー性試験法の比較

	FDA	EMA	コメント
非臨床試験の予測性	・非臨床試験によりヒトの反応を予測可能とは考えられていない	記載なし	
In vitro評価系	記載なし	・光アレルギー性をより能率的に評価できる、動物実験の代替として十分な試験方法(代替法)は、現在開発中	
動物実験	記載なし	・現状では、モルモットを使用したモデルのみ使用可能 ・光アレルギー性MESTアッセイも特異性で利用できる可能性があり	
その他の評価系	・光アレルギー性は臨床的に評価するものが多い(真実的な方法については記載なし)	・光アレルギー性試験は最新水準の技術により実施すべき	

## 光遺伝毒性試験法の比較

	FDA	EMA	コメント
試験法の選択	<ul style="list-style-type: none"> <li>結果の解釈が困難で、ヒトの光がん原性リスクの評価における意義は不明</li> <li>有用な試験として、<i>in vitro</i>光遺伝毒性試験(例:サルモネラ菌、酵母、V79細胞)は示されている</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>第1選択法: 光染色体異常試験 (<i>in vitro</i> の染色体異常あるいは小核試験)</li> <li>その後、<i>in vivo</i> コマンド試験やトランスジェニック変異顕性モデル</li> <li>不適当な試験: 着目小核あるいは染色体異常試験、ラット肝臓SOS試験</li> </ul>	

7

## 光がん原性試験法の比較

	FDA	EMA	コメント
試験法	<ul style="list-style-type: none"> <li>光原性が確認あるいは使用上問題となる医薬品(日焼け止め等)ではSOSH (DraPE)へアレスマウスモデル、バイオマーカーによる検討は有効</li> <li><i>in vivo</i> の総合毒性試験、<i>in vitro</i> の光遺伝毒性試験、トランスジェニックモデルなど</li> <li>免疫抑制やDNA修復の阻害を評価する試験</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SOSH (DraPE) アルビノアレスマウスの長期試験は実施されていない</li> <li>光遺伝毒性のない化合物は、(光反応性によらない)光がん発がん誘発性のみを評価し、光がん原性は「不評価」される</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>アレスマウスモデルについて、FDAは個別試験ベースでの毒性を評価し、EMAは予測性に換算的</li> </ul>
バイオマーカー	<ul style="list-style-type: none"> <li>ヒト皮膚における光皮膚がんの促進を検出するバイオマーカー</li> <li>UVBへの曝露量増加や皮膚障害のマーカー</li> </ul>		
対象とならないケース	<ul style="list-style-type: none"> <li>非光原性物質(光原性物質であっても添付文書に十分なリスクを記載追加実施することを要しない)</li> <li>長期使用されないあるいは慢性疾患に使用されない非光反応性医薬品</li> <li>寿命5年未満の患者集団にのみ使用される医薬品</li> <li>皮膚において最小経量を低下させるような紫外線透過率の増加が証明されたもの</li> <li>機能的または薬理学的側面から光がん促進物質に分類されないもの</li> <li>皮膚特性の変化や皮膚への風湿のような皮膚状態の様々な変化がないもの</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>光遺伝毒性物質は、潜在的な光がん原性物質とみなし試験は不要</li> <li>フォトキネーティック効果のような強力な光原性促進剤は薬物からUV保護剤でないため分類は不要</li> <li>全ての情報を考慮に入れたケースバイケースの判断により決定</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>EMAでは光がん原性試験が必要となるケースについての言及はない</li> </ul>

8

## リスク記載の比較

	FDA	EMA	コメント
一般的な表示	<ul style="list-style-type: none"> <li>リスクがある場合は、添付文書に記載</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>リスクがある場合は、添付文書に記載</li> <li>遺伝毒性試験を含む <i>in vitro</i> のみか、<i>in vivo</i> 試験結果が陽性の薬剤(潜在的な光がん原性物質とみなす)に対して、光がん原性の可能性を警告</li> </ul>	
光がん原性に関する表示	<ul style="list-style-type: none"> <li>医薬品により紫外線透過率が促進される可能性が示された場合、警告(光がん性を評価する試験を実施)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>強力な免疫抑制剤は、UVにより誘発される皮膚がんの発がん促進物質として分類</li> </ul>	

9

「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」  
第二回班会議 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 9 月 3 日（金）15:00～18:15

場 所：医薬品医療機器総合機構

出席者：小野寺博志（PMDA）、笛木修（PMDA）、中江大（東京健安研センター）、田中憲穂（食薬センター）、尾上誠良（静岡県大）、細井一弘（参天）、高木広憲（大正）、岩瀬裕美子（田辺三菱・議事録作成）  
中村和希（塩野義・アドバイザー）

欠席者：小島肇（国衛研）

議題内容

1. 開会の辞
2. 配布資料
  - (1) 会議案内
  - (2) 第 1 回議事録確認
  - (3) EMA: Question and answers on the ‘Note for guidance on photosafety testing’ (Draft)
  - (4) ガイドライン比較表
  - (5) 日本側コメント案
  - (6) ROS アッセイの概念図
  - (7) 医薬品の光安全性評価に関する現状 (Ver. 2)
  - (8) Current Status of Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals (資料 7 の英訳の修正版)
  - (9) ICH S10 EWG Work Plan
  - (10) ROS アッセイ多施設バリデーション準備会合プログラム (2010/9/8 開催案内)
3. ICH: S10 対応
  - (1) JPMA の EWG メンバーとして高木（大正）と細井（参天）を選定。
  - (2) 日本側(MHLW/JPMA)資料として以下を 9 月上旬に各極に送付する
    - FDA ガイダンス
    - EMEA ガイダンス・コンセプトペーパー
    - EMA Q&A (ドラフト)
    - 資料 4 (英文のみ)
    - 資料 8
    - 資料 9
  - (3) 光 3T3 アッセイワークショップ (10/25-27、イタリア)
    - 3T3 以外、3D ヒト皮膚モデル、他の培養系、ROS アッセイ等も発表予定。
    - ファイザーから光毒性評価 (3T3 と ROS アッセイ等) の発表予定。
  - (4) ICH 福岡会議 (11/8～11)
    - 班 (JPMA/PMDA) は、データサーベイの必要性和 ROS アッセイの組み込みを提案する。
    - ROS アッセイについてのプレゼンを要求する。
    - EFPIA にはイタリアでの WS の説明を求める。
  - (5) データサーベイ
    - データサーベイ等の対応について、JPMA 内で原案を作成し、次回会議で班としての方向性を検討する。
    - 主な内容は、光吸収性とヒト光毒性との関係、3T3 の判定基準、濃度とヒト光毒性との相関等を調査の対象とする。

#### 4. コメント等

- (1) データサーベイについて
  - データを集約ブラインド化する機関は要調整（小野寺・中村・細井）。
  - 開発中の化合物では、ヒトのデータとの相関は不十分、提出の可否は企業の判断にゆだねられ全てを把握出来ない可能性もある。ヒトデータと比較するには上市薬が確実である。
  - PMDA で開発中の化合物を抽出するというやり方もあるが、現状では要員の問題で不可能。
- (2) ROS アッセイバリデーション
  - 国際バリデーションが必要。ICH 加盟企業に呼びかけたらどうか。
  - 受け皿は、欧米の製薬企業が参加している学会（Photostability や photosafety を検討、ASP）が考えられる。
  - 代替法学会などが中心となりバリデーションを行い、ICH : S10 はその動向を見守るスタンスもある。
  - 39 の上市化合物中、ROS アッセイ(-)の光毒性化合物 (=false negative) が 1 化合物 (5-FU、3T3 は negative) ある。評価化合物数が増えた場合、同様な結果が得られる可能性がある。210 化合物のデータでは 3T3 に対して false negative がないので、陰性判断は可能である。
- (3) S10 のスコープ
  - 「photosafety」全体の安全性が目的ではあるが、検討内容や試験種類も多彩で具体的な試験内容を決めるのは無理がある、今回は光刺激性に限定するというやり方も考えられる。
- (4) 光遺伝毒性
  - IWGT(International Workshop on Genotoxicity Testing Working Group) 2009 の会議では、in vitro 光染色体異常は pseudophotoclastogenicity の報告もあり通常の光遺伝毒性試験からは除外すると結論された。また関連試験として ROS アッセイや光 in vivo 小核試験の発表があり、リスク評価の中での位置づけが議論された（田中）。
- (5) 3T3 の動向
  - EFPIA は光 3T3 を非実施にしたいようだが、実際にバリデーションされた試験が他にない以上、削除することは困難ではないか。光 3T3 +  $\alpha$  のいくつかの試験から例えば 2 つ選択する等の落としどころを考えたらどうか。
- (6) モル吸光係数 (1000 以上) の妥当性
  - IWGT2009 では妥当とされた。
  - JPMA の調査結果では、モル吸光係数と 3T3 やビボ試験と相関はなかった。
  - 医薬品開発候補化合物のほとんどはモル吸光係数が 1000 以上である。
  - ハロペリドール等は、光吸収がなくてもヒトで光毒性があり、モル吸光係数を基準とする意味はあまりない。
  - 光吸収性を試験の実施基準にしないでよいのでは？
  - しかし光吸収がないという理由で光毒性を評価しない化合物もあり、少しでも光毒性評価を削減できるのであれば、モル吸光係数が 1000 以上でよい。
- (7) 分布・蓄積
  - 投与物質が組織に分布するのは当然で、血中濃度と同じであれば問題はない。消失速度が遅い等の理由で、組織に蓄積する場合は、光毒性を考慮すべき。
  - 蓄積がなくてもヒトで光毒性（アレルギー）を示すことはあるかもしれない。
  - 経口投与剤と経皮投与剤は考え方を別にする必要がある。
  - 動物での動態は、ヒトと異なる場合もある。
  - 分布は「非臨床の光毒性」を考慮する意味では不要である。臨床試験を考える上では蓄積は考慮する必要はある。

- 組織中濃度を判断するときに  $C_{max}$  なのか  $AUC$  なのか判断が難しい。
- 非臨床の光毒性試験実施は、first in man までより P2 実施中がよいのでは。

5. 第三回班会議日程

イタリアのワークショップ後から ICH 福岡開催までの間（11月1, 2, 4, 5日）で日程調整する（15:00～PMDAにて開催予定）。

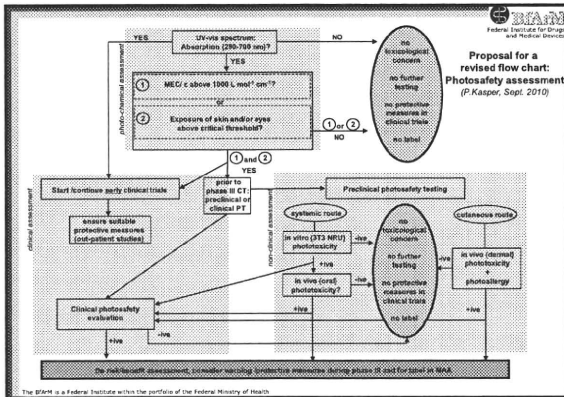
以上



資料5

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（ICH-M3(R2) 平成22年2月19日薬食審査0219第4号

[http://www.pmda.go.jp/ich/m/step5\\_m3r2\\_10\\_02\\_19.pdf](http://www.pmda.go.jp/ich/m/step5_m3r2_10_02_19.pdf)



「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」  
第三回班会議 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 11 月 2 日（金）15:00～17:45

場 所：医薬品医療機器総合機構

出席者：小野寺博志（PMDA）、笛木修（PMDA）、中江大（東京健安研センター）、田中憲穂（食薬センター）、尾上誠良（静岡県大）、細井一弘（参天）、高木広憲（大正）、岩瀬裕美子（田辺三菱）  
中村和市（塩野義・アドバイザー）

欠席者：小島肇（国衛研）

議題内容

1. 開会の辞
2. 配布資料

資料 1. 第三回班会議開催案内

資料 2. 第二回議事録確認

資料 3. BfArM 提案図

資料 4. Photosafety Evaluation for Pharmaceuticals (案)

3. ICH 福岡での対応（予定）

- (1) スケジュールの確認

- ・ 11/8 討議内容確認（コンセプトペーパー、データサーベイについて、提案等）
- ・ 11/8 ROS アッセイのプレゼン、ECVAM/EFPIA 等からの発表・質疑応答
- ・ 11/9 討議
- ・ 11/10 討議と対応事項の確認等、まとめ

- (2) データサーベイ：JPMA からの提案はない。実施しない場合、Step 4 到達まで半年早いスケジュールとなる

- (3) ROS についての発表資料

ECVAM/EFPIA ワークショップ（イタリア）でファイザー社が発表したスライドを基に説明。

内容：検出スペクトル（UV 吸収との相違）、試験方法、上市薬の評価結果、3T3 試験結果との相関等（ROS は false negative がない、UV 吸収があっても 3T3 は陰性の例、ROS の限界）、考え方・位置づけについて

- (4) BfArM 提案図について検討（コメント、追加・修正等）

- 5-1) ①モル吸光係数(MEC) のカットオフ値について

- ・ MEC<1000 の化合物の中にも光毒性物質が含まれているため、「1000 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>」は妥当ではない。
- ・ ECVAM/EFPIA ワークショップ（イタリア）では、「1000 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>」は mostly accept となった。
- ・ 最近アクセプトされた FDA とサノフィー社の共著論文のストラテジーでは「10 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>」と記載されている。
- ・ BfArM 提案図の①に以下を追加したものを JPMA 案として提示する。

or ①-1 ROS assay positive

②-2 less than 1000 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> and ROS positive

- 5-2) ②組織中濃度について

- ・ 「critical threshold」の科学的根拠はなく、数値は決められない。
- ・ ②は、光安全性評価フローにあまり影響しないと考えられる。

5-3) 3T3 試験について

- ・ 欧米から試験内容に関わる提案（判定のクライテリアの変更）がされる可能性がある。OECD/ICATM メンバーの意図について確認する必要性。
- ・ 3T3 試験の内容について討議できない場合でも問題提起は可能ではないか。
- ・ EU directive があるため、3T3 試験は実施せざるを得ない。
- ・ ROS(+)の場合、3T3 試験は省略できない。

5-4) In vivo 試験について

- ・ Systemic route の場合、3T3 を実施せずに in vivo 試験を実施するのは、3Rs に逆行する。
- ・ オプションとして、「3T3 or in vivo（科学的な妥当性がある場合）」を JPMA 案として提示する。

5-5) Clinical photosafety evaluation について

- ・ 非臨床試験（3T3 や in vivo）を実施せずに、直接ヒトで評価することを容認できるか疑問である。
- ・ 臨床で重篤な毒性が予測される場合は非臨床試験が必要かもしれないが、その判断は難しい。
- ・ 専門家が必要であり、コスト面から臨床のみの評価は実施しないという企業もある。
- ・ 現状の非臨床試験では光アレルギーの評価は困難であるため、市販後調査が必要であろう。

5-6) その他

- ・ 現時点では適切な試験系がないので、photogenotoxicity、photoallergy、photocarcinogenicity については評価フローに入れない。
- ・ 皮膚の UV 感受性に影響を与える薬物をどうするか討議が必要である。
- ・ 製薬協案として、BfArM 提案図に加筆したものを提示する（細井）。

4. 資料 4 の内容確認

修正版を作成し（細井）、ICH 開催までに EWG メンバーに配布する（中江）。

5. その他

次回当班会議の日程は年内に実施予定。

以上