

Preclinical to Clinical

- A preclinical NOEL, if identified, will not quantitatively inform the human phototoxicity.
 - ◆ NOEL for the preclinical phototoxicity may not predict human NOEL
 - ◆ Sensitivity is greater in preclinical assays
- A human phototoxicity study is more definitive than preclinical study.

6/13/2011



7

Human Phototoxicity Study for Oral Drugs

General Study Concept

- Healthy subjects exposed to drug and irradiated with controlled UV light when drug is distributed.
- Phototoxicity Endpoints
 - ◆ The erythema and edema grading table
 - At 16 J/cm² (UVA) + ½ (baseline) MED (UVA+UVB)
 - At 25 J/cm² (UVA)
 - ◆ Changes in MED from baseline compared to placebo
 - $MED_{BASELINE} / MED_{24h\ POSTDOSE}$ (Phototoxicity Index)

6/13/2011



8

Study Hypotheses

- **Primary:** A single dose of XXXX, will be well tolerated and not result in a meaningful erythema following co-administration of controlled UV (16 J/cm² of UVA + ½ of MED)
- **Secondary #1:** A single dose of XXXX will not result in a meaningful change in phototoxicity index (as determined by $MED_{BASELINE} / MED_{24h\ POSTDOSE}$) ratio of 1.8 or greater as compared to placebo
- **Secondary #2:** A single dose of XXXX will not result in a meaningful erythema following co-administration of controlled UVA (25 J/cm² of UVA)

6/13/2011



9

Study Design (example)

- A double blind, randomized, placebo-controlled, single dose study
 - ◆ 16 healthy subjects
 - 12 patients randomized to receive active MK-XXXX
 - 4 to receive MK-XXXX matching placebo
 - ◆ Predose UV irradiation
 - MED Determination
 - ◆ A single oral dose
 - MK-XXXX Y mg or matching placebo
 - ◆ Post dose UV irradiation
 - 16 J/cm² + 1/2MED at T_{max}
 - 25 J/cm² at T_{max}
 - MED Determination at T_{max}
 - ◆ Erythema at 24 hours post UV dose

6/13/2011



10

Erythema

- Erythema grading can be determined following a fixed dose of UVA
- Erythema following ~25 J/cm² of UVA without UVB is one of the original methods established to induce erythema in humans
- Modification of the Kaibrey procedure [2] has been employed to evaluate erythema following a fixed dose of UVA (~16 J/cm²) with ½ of MED of UVA+UVB, especially if the product is known to absorb light in the UVB range

6/13/2011



11

Anderson JC. Clinical testing for safety and Effectiveness. In: Cosmetic Regulation in a Competitive Environment, edited by Norman F. Estlin, James M. Akerson. P301-315, 2000, Informa Health Care

Standardized Methods for Phototoxicity Testing

- Xenon Arc Solar Simulator (150W) with a UVB absorbing filter
 - ◆ Produce UVA only or UVA + UVB



Kligman AM, Kaibbey KH. J Natl Cancer Inst. 1982 Jul;69(1):269-72
Kaibbey KH, Kligman AM. J Invest Dermatol. 1979 May;72(5):253-6

6/13/2011



12

Erythema Grading

The study site staff members rating the erythema had standardized training to assure qualification of the examiners.

Grade	Incremental Erythema Score	Description
		Erythema Grades:
0	0	No reaction
+	0	Minimal or doubtful erythema barely perceptible compared to surrounding skin
++	1.0	Mild, but definite erythema
+++	2.0	Moderate erythema
++++	3.0	Marked erythema
		Edema Grades:
**	1	Mild, but definite edema
***	1.5	Definite edema with obvious vesiculation
		Response Notations:
H		Hypersensitivity
U		Urticaria
V		Vesiculation
P		Papular response
SP		Superficial pustular response
D		Damage to epidermis, edema, crusting and/or superficial necrosis
I		Injury
S		Spreading of reaction beyond patch study site (i.e., reaction where normal skin contact stops)
F		Follicular irritation with or without pustule formation (folliculitis)

6/13/2011

Regeneron
Confidential
Internal Access

13

Minimum Erythmal Dose (MED) Determination

- The minimal single dose of UV exposure required to produce erythema at an exposed site
- The ratio of MED between baseline and postdose ($MED_{BASELINE} / MED_{24h\ POSTDOSE}$) can quantitatively assess the phototoxic potential of drugs
 - This ratio is known as the **Phototoxicity Index (PI)**
 - PI is wavelength-specific

6/13/2011

Regeneron
Confidential
Internal Access

14

General Inclusion Criteria

- Healthy, males and females of non-child bearing potential
- 18-65 years of age
- BMI ≤ 30 kg/m²
- Free of any dermatological disorder
- Uniformly-colored skin on the lower thoracic area of the back which will allow determination of erythema and with Fitzpatrick Skin Types I, II, or III
- Demonstrated MED without complication

6/13/2011

Regeneron
Confidential
Internal Access

15

Fitzpatrick Skin Types

Subjects were screened for skin type using the Fitzpatrick Grading system. Typing determined the UVA/UVB intensity to induce a faint erythema (MED)

- Subjects must have Skin Type I, II, or III to qualify for the study

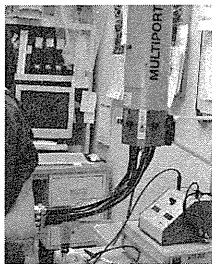
Skin Type	Description
I	Always burns easily, never tans
II	Always burns easily, tans minimally
III	Burns moderately, tans gradually (light brown)
IV	Burns minimally, always tans well (moderate brown)
V	Rarely burns, tans very well (moderate brown)
VI	Never burns, deeply pigmented

6/13/2011

Regeneron
Confidential
Internal Access

16

MED and Multiport

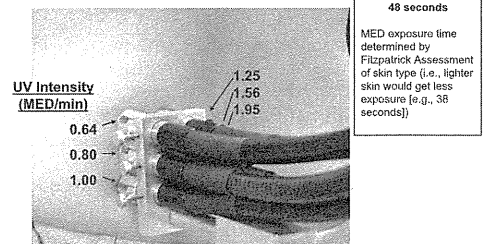


6/13/2011

Regeneron
Confidential
Internal Access

17

MED and Multiport



6/13/2011

Regeneron
Confidential
Internal Access

18

Example 1 of a 6-Point MED 24 hrs post irradiation

MED identified with minimal erythema

6/13/2011 19

Example: Irradiation at Site #1 16 J/cm² of UVA + 1/2 of MED

6/13/2011 20

UV-Induced Erythema Grading (Baseline Reading)

Study Sites	Pre-Dose Skin Assessment							
	Day -7	Day -6	Day -5	Day -4	Day -3	Day -2	Day -1	Day 0
Site 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Site 2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

6/13/2011 21

Example: Erythema at a skin site

6/13/2011 22

Example: Reaction to a topical product

Erythema (++)
Edema (**)

6/13/2011 23

How Results are Described

6/13/2011 24

Grade 1 Erythema Frequency at 24 hours postdose

Grade 1 Erythema Following 16 J/cm ² + ½ MED			
	Pre-dose Baseline	Day 1 (100mg/PBO)	Day 8 (200 mg/PBO)
PBO	25% (1/4)	0% (0/4)	0% (0/4)
MK-XXXX	8% (1/12)	25% (3/12)	8% (1/12)

Grade 1 Erythema Following 25 J/cm ²			
	Pre-dose Baseline	Day 1 (100mg/PBO)	Day 8 (200 mg/PBO)
PBO	25% (1/4)	0% (0/4)	25% (1/4)
MK-XXXX	17% (2/12)	33% (4/12)	27% (3/11)

Note: this study was a two dose study

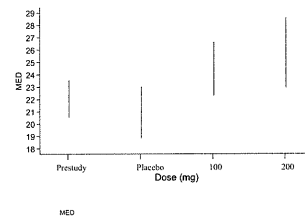
6/13/2011

REGISTERED
ClinicalTrials.gov
NCT01111111

25

Changes in MED

MED on Prestudy, Placebo, Day1 and Day8 (Mean±SE)



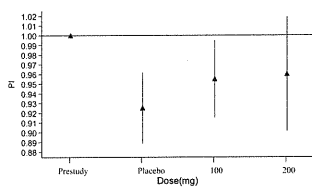
6/13/2011

REGISTERED
ClinicalTrials.gov
NCT01111111

26

Phototoxicity Index

PI on Prestudy, Placebo, Day1 and Day8 (Mean±SE)



▲ ▲ PI Phototoxicity Index

PI of 100mg / PI of Placebo is 1.023. PI of 200mg / PI of Placebo is 1.0378

6/13/2011

REGISTERED
ClinicalTrials.gov
NCT01111111

27

Conclusions

- No meaningful phototoxicity at xx mg dose
- Erythema at 16 J/cm² + ½ MED
 - ⊗ No meaningful signal.
 - ⊗ No erythema greater than grade 1 at similar frequency between MK and PBO groups
- Phototoxicity Index
 - ⊗ No meaningful change
- Erythema at 25 J/cm²
 - ⊗ No meaningful signal.
 - ⊗ No erythema greater than grade 1 at similar frequency between MK and PBO groups

6/13/2011

REGISTERED
ClinicalTrials.gov
NCT01111111

28

Human Phototoxicity Study for Topicals

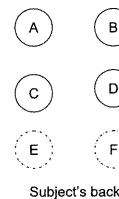
- Topicals are tested using "patches"
- 2 x 2 cm bandaid-like patches containing topical agents will be applied to the skin of healthy subjects.
- Irradiation at 24 hours postdose
- Endpoints
 - ⊗ Erythema following 16J/cm² (UVA) + ½ of MED (UVA+UVB)

6/13/2011

REGISTERED
ClinicalTrials.gov
NCT01111111

29

For Topicals



A: Drug-Treated Patch with irradiation
 B: Drug-treated Patch without Irradiation
 C: Vehicle-Treated Patch with irradiation
 D: Vehicle-treated Patch without Irradiation
 Optionally
 E: Plain or no patch with irradiation
 F: Plain or no patch without irradiation

N=25
 Irradiation: 16J + ½ MED

(MED needs to be pre-determined)

6/13/2011

REGISTERED
ClinicalTrials.gov
NCT01111111

30

Flow Chart (Abbreviated)

	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
MED Sites (6 sites)	Predrug MED determined	Postdrug MED re-determined		
Phototox Sites (Patches)	Drug or Vehicle Patches on	16J + 1/2MED Irradiated or not Irradiated	Erythema Evaluation	Erythema Evaluation

6/13/2011

AbbVie
R Confidential
Internal Access

31

How to interpret preclinical vs. phase I phototoxicity data

- Preclinical phototoxicity studies are good for screening
- Preclinical NOEL, even if identified, may not quantitatively inform human phototoxicity
- Established methods for human phototoxicity testing can identify human risks
- A discrepancy may exist in phototoxicity between preclinical species and humans.
 - e.g. skin thickness, metabolism?

6/13/2011

AbbVie
R Confidential
Internal Access

32

Limitations of Human Phototoxicity Study Methodology

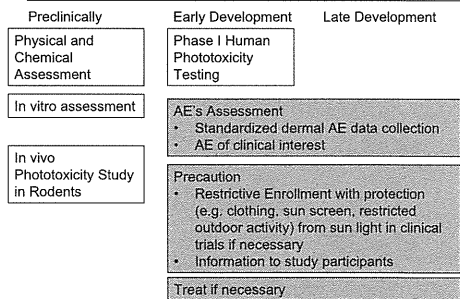
- The N of subjects required to detect phototoxicity not fully rationalized.
 - Power the study to observe the upper bound of Photo Index < 1.8 vs. other cutoffs.
 - Statistical confidence for a particular AE not observed in X subjects
- Selection of UV exposures varied in literature
 - 16J + 1/2 MED mimics mild sun light
 - Various UV exposures tested
 - MED is wave-length-dependent
 - UVA only, UVA + UVB, UVA+UVB for MED

6/13/2011

AbbVie
R Confidential
Internal Access

33

Risk Mitigation



6/13/2011

AbbVie
R Confidential
Internal Access

34

平成 23 年 9 月 26 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」

平成 23 年度 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目指した調査と妥当性研究」

日 時：2011年7月29日(月)14:00～17:30

場 所：東京都健康安全研究センター 会議室（新宿区百人町）

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）、細井一弘（参天製薬）、高木広憲（大正製薬）、
白菊敏之（大塚製薬）、岩瀬裕美子（田辺三菱製薬）中村和市（塩野義製薬）

欠席者：尾上誠良（静岡県大）、小島肇（国衛研）

議事内容：

1. Cincinnati会議におけるラポーターを中村氏から中江氏に変更する
EWGメンバーに対しては中江氏が連絡。
2. Cincinnati会議のSCで報告した内容について、中村氏より説明された。
 - ・大きな問題はなかったが、最終日に行った各項目分担について、EU(Ulla)の確認が必要。
 - ・セルビア会議ではROSアッセイについてバリデーション結果について詳しい説明が必要。
 - ・3Dヒト皮膚モデルについての現状について専門家に説明を聞く(EFPIAが人選担当)候補として、皮膚モデル製造社の担当者が候補となっているが、一方的な説明になる可能性があるので学際的な人選も考慮すべきでは。
3. 国内ROSアッセイのバリデーション状況について。
 - ☆ROSバリデーションアッセイの進行状況
 - 概略と今後の予定について細井委員より説明。
 - 今回はセリック社4施設とアトラス社3施設で実施。
 - 両機種の特徴と現状の意見が出された。
 - ・8月上旬に小島氏から実施施設に42化合物がブラインドで送られる。
 - ・試験計画書について8月9日の会議で決定する予定。
 - ・8月と9月にかけてアトラス・セリック社の装置での試験を実施
 - ・10月中に集計・解析を行い、セルビア会議で結果を報告する予定
 - ・7施設で42化合物を3回測定する予定なので解析には時間がかかる可能性。

4. 今後の予定については、cincinnatiのEWG会議で決めたplanに沿って遂行する。
- ・8月末までに各担当項目の文書がラポーターに届く予定、ラポーターがリマインドする。
 - ・9月16日までにすべての文書をラポーターがまとめ、各EWGメンバーに送付する。
 - ・送付された文書に対するコメントを10月14日までに送付する。
 - ・10月28日までにセルビア会議で討議するagendを作成する。
- 次回のセルビア会議は11月7日から10日までの4日間を予定する。
5. 次回班会議予定 9月26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」 平成23年度 第二回班会議

2011年7月29日
製薬協 基礎研究部会
T-1チーム(細井)

1

眼科用局所剤のin vivo光安全性評価 方法に関する調査について

- 調査内容: 3T3陽性物質に対するフォローアップとして臨床投与経路での擬似太陽光を用いたin vivo光安全性試験に関する現状を調査
- 製薬協: 眼科薬メーカーへの聞き取り(大塚、日本アルコン、参天): 経験なし
- 安研協: 加盟企業への調査票送付(これまでボジ、東シ、安評センター、三菱化学メディエンス、MPIの5施設より回答あり。いずれも経験なし。)
- EFPIA: CRLペンシルバニアに調査(点眼では必要性低く、硝子体内投与に関してはこれまで問い合わせはあったが、実施に至らず。)
- FDA: 「2.5 Clinical Information: “The precise strategy is determined on a case-by-case basis.”」このスタンスでの対応が考えられる。

2

(参考)CRLの回答

The reason is that this testing has not been requested by Sponsors up to this time. I have discussed this with several sponsors over the years, but from other discussions with regulatory people, the testing for instilled drugs has not been requested by the agencies. Often these drugs are already approved for other uses (e.g., steroids or antibiotics) and have gone through relevant safety testing, and those data are used in submissions. Also, the residence time in the eye after instillation is short, and the current position is that the potential for phototoxicity is adjudged not a risk and thus testing is not required (or so I have been informed). We have also been rarely approached for testing intravitreal administered drugs, but none of these inquiries have come to fruition. We have the capabilities and expertise to perform the studies, but have not done so at this time for these reasons. We have performed many ocular phototoxicity studies in rats and mice and using multiple UVR and visible light sources over the years but with oral and intravenous administration.

3

Review models for which UVA dose is less than 5 j/cm2 to understand rationale

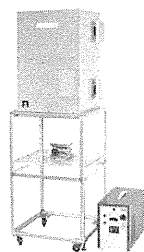
- 該当した2施設に確認。
- 施設No. 5 (Approximately 2.16 J/cm²): ヘアレスマウスでLVFXの光毒性が検出できる照射条件として設定
- 施設No. 7 (2.6 J/cm²): ヘアレスマウスの皮膚反応が検出できる照射量。ラットでも8-MOPやlomefloxacinは反応する条件
- No.5はCRLと共同で設定した照射条件を自社実施した情報、No.7はCRL委託試験の情報。
→照射量として少ないのか、光源と測定装置の条件から低い値として表示されているか。
→追加調査の必要性は？

4

ROSアッセイバリデーションの進捗



CPS/CPS+ (Atlas)



SXL-2500V2 (Seric)

5

ROSアッセイバリデーションの進捗

ROSアッセイ バリデーション運営委員会

- バリデーション運営委員会
日時: 2011年6月29日(水) 13:00~17:00
出席者: バリデーション運営委員会委員
- 化合物選定会議
日時: 2011年6月30日(木) 11:00~17:00
出席者: バリデーション運営委員会委員 委員長 & 化合物選定担当
- 化合物選定のための電話会議
日時: 2011年6月30日(木) 21:00~22:30
出席者: バリデーション運営委員会委員 委員長 & 化合物選定担当

2011年8月9日 バリデーション運営委員会 於: 製薬協

6

Structure of ROS assay validation

Solar simulator	CPS/CPS+ (Atlas)	SXL-2500V2 (Seric)
No. of facilities	3	4
Status	Procedure established (Dr Onoue), Pre-validation was completed, Draft protocol for validation was prepared	Countermeasures against "high temperature and un-uniformity in intensity during irradiation" were established. Results for pre-validation was obtained.
Next step	Select compounds for validation, Distribution under masked condition, Start experiment	Discuss pre-validation results, Follow CPS team
Milestone for next ICH (November)	Obtain the results and discuss on them, Draft validation report prepared, Proposal to ICH S10 EWG to include ROS assay to the guideline	
After the next ICH	Publish the results of validation study, Prepare a document for peer review for regulatory acceptance	

ROSアッセイバリデーションの進捗

- 8月初めに小島先生より42化合物を参加施設に配布
- 8月9日の会合にて試験計画書固定
- 8月:アトラス バリデーション開始
- 9月:セリック バリデーション開始
- 10月:バリデーション結果集計・解析
- セベリア会議:データ・評価系としての有用性紹介

平成23年9月28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」

平成23年度 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

国際的整合性を目指した調査と妥当性研究」班

日時:平成23年9月26日(月) 14:00~17:00

場所:東京都健康安全研究センター (新宿区百人町)

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)、細井一弘 (参天製薬)、高木広憲 (大正製薬)、
白菊敏之 (大塚製薬)、岩瀬裕美子 (田辺三菱製薬) 中村和市 (塩野義
製薬) 小島肇 (国衛研)

欠席者:尾上誠良 (静岡県大)

議題内容:

1. 9月20日のICH-SCテレカン報告でセルビアでEWGが正式に決定
2. 各極からのコメント対応
3. 次回班会議は11月1日14時から開催予定

眼科局所剤の光安全性評価

	JPMA案	EU	PhRMA	FDA
光吸収性	なければ不要			
光化学反応性(ROS)	なければ不要			
分布	考慮しない			
類薬情報	懸念があれば要否検討			
他の投与経路情報				
In vitro評価	標準的な試験なし。必要に応じて、相対評価のため実施。	3T3、3Dで陰性でも追加検討不要とはならない		
In vivo評価	標準的な試験なし。必要に応じて実施。		ラット・マウス以外で評価可能	
臨床				ケースバイケースで検討

2011年9月26日 光毒性班会議資料

平成 23 年 11 月 1 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」

平成 23 年度 第四回班会議(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

国際的整合性を目指した調査と妥当性研究」班

(研究期間:平成22年～24年)

日時・場所:平成23年11月1日(火) 14:00～17:00

東京都健康安全研究センター 3号館2階会議室

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)、
細井一弘(参天製薬)、高木広憲(大正製薬)、尾上誠良(静岡県大)、
白菊敏之(大塚製薬)、岩瀬裕美子(田辺三菱製薬)、小島肇(国衛研)、
田中憲穂(食薬センター)、中村和市(塩野義製薬)

議題:

1. ICH セブリア会議の日程確認

月曜AM:ドラフト議題討議	PM:ROSと3D皮膚モデルの説明・討議
火曜AM:ドラフト作成	PM:GCG発表後、ドラフト作成
水曜AM:SCスライド作成、ドラフト作成	PM:SC発表、ドラフト作成
木曜AM:S1A発表、ドラフト作成	PM:ドラフト作成、今後の予定

セブリア会議に向けての議論内容(抜粋)

#H24年3月を目標にドラフト案(step1)を完成させる

#GCG発表用スライド作成につて

#具体的な試験法をガイドラインに明記することは試験を限定することになる。現時点における試験なので、具体的な方法については限られる。

#血液中で検出される医薬品は光毒性の可能性は否定できない。

#UV-Aなどは皮膚でブロックされ、それ以上深部に浸透しない

#メラニンとの親和性は高濃度になった場合、その箇所でも光線をブロックするが、それ以上の過程は不明である。

#動物種の選択には更なる議論が必要である

#3T3Assay、3D皮膚モデルの有用性について更なる議論が必要である

#メラニン親和性のある物質に対し、使用動物としてアルビノ、有色の動物どちらが適切な動物種か見解はない。

#非臨床試験と比べ臨床試験で投与量が大きく低ければ、臨床試験の実施は可能

- でと考えるがガイドラインに明記する事については協議する。
- #試験法を選択する場合Skin 3-D modelだけにすることの妥当性。
- #3Dモデル試験が実施されない場合の対処法について。
- #In vivo試験が陰性の場合、ヒトでの試験を実施する必要性について。

眼科局所剤について:

- #In vitro試験法として3T3試験とROSアッセイだけでよいか
- #光アレルギーと光毒性の違いについて詳しい説明が必要
- #光アレルギーについて更なる議論の必要性がある
- #非臨床評価と臨床評価との違いについて
- #具体的な試験法はannexとして記載、本文中には概念を記載する事に関して

次回はセベリア会議に設定する。

平成23年12月9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」

平成23年度 第五回班会議 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

国際的整合性を目指した調査と妥当性研究」班

(研究期間：平成22年～24年)

日時：平成23年12月7日（水） 15：00～17：00

医薬品医療機器総合機構 6階 面会室2および3

出席者：小野寺博志（PMDA）、中江大（東京都健安研センター）、
細井一弘（参天製薬、議事録作成）、高木広憲（大正製薬）、笛木 修（PMDA）、
白菊敏之（大塚製薬）、田中憲穂（食薬センター）、岩瀬裕美子（田辺三
菱製薬）

配布資料

資料1：第五回班会議議事次第

資料2：第四回班会議議事録

資料3：Step1 Document Draft November, Seville

資料4：Work Plan

資料5：comment(Abby,)

資料6：Table Summary Photosafety Methods

追加資料：セビリア会議報告

議題：

1. セビリア会議の経過説明

- ・ セビリア会議参加報告（追加資料）を用い、経過説明を行った。

2. 12月19日テレカンへの対応

- ・ 資料3について、内容を確認し、コメントがある場合には12/15までに提示することとした。特に眼科用局所剤に関する部分については細井委員が精査し、必要なコメントを提示することとした。
- ・ 資料6へのコメント（Chemical Methodsの表現確認、Sensitivity、Specificity、

Commentsは記載しない、表の必要性等) について、高木委員が作成し、
笛木委員確認後に、MHLWとJPMAのコメントとして提示することとした。

3. 今後の予定

- ・ Step 1後の各極で必要なレビュー期間を考慮すると、1月末までにStep 1合意が出来なければ、福岡でStep 2到達は困難となる見通しが立つことから、12月19日のテレカン後の対応が重要となり、メールでの検討だけでなく、追加のテレカン実施も考慮する。福岡でStep 2に到達した場合、パブコメ募集期間は通常3ヶ月であることから、福岡の次のICH会議でパブコメへの対応を検討するにはタイトなスケジュールで準備する必要がある。

4. その他

- ・ 特になし

平成 24 年 2 月 14 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」
平成 23 年度 第六回班会議 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
国際的整合性を目指した調査と妥当性研究」班
(研究期間：平成22年～24年)

日時：平成24年2月10日（水） 14：00～17：00
東京都健康安全研究センター 3号館 3階 ゼミナール室

出席者：小野寺博志（PMDA）、笛木 修（PMDA）、尾上誠良（静岡県立大）、
細井一弘（参天製薬）、岩瀬裕美子（田辺三菱製薬）、中村和市（塩野義製
薬）、高木広憲（大正製薬、議事録作成）

配付資料

- 1：第5回班会議議事録
- 2：ICH EWGメンバーへの事前相談トピック
- 3：Step1 Document Draft (2012/1/10版)
- 3-1：Step1 Document Draft (2012/1/10版) フローチャート
- 4：Step 1ガイドライン案の日本語訳（製薬協T1チーム確認後）

議題：

1. ICH EWGメンバーへの事前相談トピックの確認
 - ・ ROSアッセイデータのレビュー
資料送付済み
 - ・ フローチャートのタイトル
皮膚適用薬のアレルギーについてのフローがないので、タイトルを
「Phototoxicity testing strategyからPhotosafety testing strategyにして現状
の皮膚適用薬のフローがそれを含んでいるものとするか、別途Photoallergy
testing strategy for dermal routeのフローを作るべきではないか」とのコメント
をEWGメンバーへ提示する。

2. 日本語翻訳版の確認及び原本への対応

- ・ 現行資料はガイドラインというよりも、ガイドライン解説に近く細かすぎるという意見が製薬協T1チームから出ている。今後、シンプルな記載にする必要があるかもしれないが、議論を進めるためにも現時点ではPMDA/JPMAからEWGへコメントしない。
- ・ Step 1ガイドライン案の日本語訳（笹木）を、製薬協T1チームで確認・修正した資料を再度確認した。英語原本の記載が不適切と思われる箇所もあったため、原本の修正案も作成した。

3. 今後の予定

- ・ 事前相談トピックスに関しては、2月中旬までにEWGメンバーに送付する。
- ・ コメント入りStep 1ガイドライン案に関しては、4月から新設されるJPMAのS10タスクフォースメンバーで最終確認後、4月中旬までにEWGメンバーに提出する。
- ・ Step 1ガイドライン案の日本語訳は各メンバーが再度確認し、2/24までに細井委員に修正版を送付する。

4. その他

- ・ 特になし

MATTEK CORPORATION

MatTek CORPORATION

Phototoxicity Studies using Reconstructed Human Tissue Models

Dr. Helena Kandárová

MatTek Corporation
Ashland, USA

MatTek IVLSL
Bratislava, Slovak Republic

Outline

1. Background info about skin models and phototoxicity protocols
2. Summary of existing data for topical toxicity
3. Summary of existing data for systemic toxicity and update about the EpiDerm protocol development
4. Follow – up activities

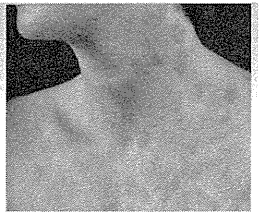
Dr. Helena Kandarova Page 2

When to test drugs for photo-safety ?

1. If a drug significantly absorbs UV/VIS light in the range 290–700 nm, and
2. If a drug significantly partitions into the skin or eyes when applied orally or intravenously.

Other factors to be considered:

- Photo-stability
- Content of phototoxic impurities
- Vehicle / solvent
- Use



Dr. Helena Kandarova Page 3

While the validated 3T3 NRU PT identifies phototoxic potential of substances with almost 100% sensitivity, it may provide over-predictions of acute phototoxic/photo-irritation effect, since it:

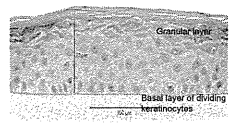
- Can not simulate the *in vivo* conditions due to lack of barrier
- It does not allow to assess the photo-potency (photosafety) of a potential phototoxin under *in vivo* exposure conditions
- It identifies both photo-allergens and acute photo-toxines as positive
- Some materials like insoluble solids, waxy substances and formulations difficult to test in monolayer culture

Dr. Helena Kandarova Page 4

Already in early 1990's, 3D human skin model test (3D HPT) was suggested as

- 1) possible alternative to 3T3 NRU PT, or as
- 2) second step in a tier testing strategy for topically applied substances, combining information from 3T3 NTU PT and 3D HPT.

Advantages of 3D skin models use:



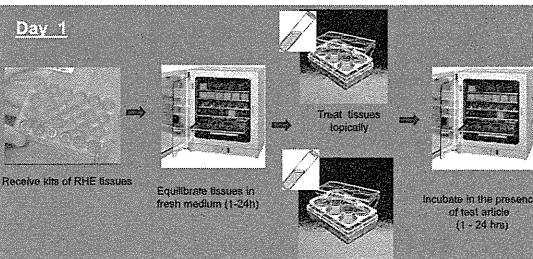
- 3D models possess skin barrier similar to *in vivo* human skin
- 3D skin models are constructed from metabolically competent primary skin cells
- barrier properties and tissue quality can be precisely controlled
- easy to use, no problems with limited solubility of chemicals

Dr. Helena Kandarova Page 5

In Vitro Phototoxicity Assay for Topically Administered Compounds

General Protocol overview for all RHE models

Day 1



Dr. Helena Kandarova Page 6

Day 2

Set 1 (+UV/VIS): Irradiate with full spectrum solar light

Incubate tissues in fresh medium for (2-24 hrs)

Set 2 (-UV/VIS): Kept in dark

Dr. Helena Kandarova Page 7 **MatTek CORPORATION**

Day 3

viability assay

Test Article #10

MTT (% untreated control)

Concentration [mM]

■ Without irradiation
□ With irradiation

Prediction Models:
Decrease in viability > 25-30% in any of tested concentrations = Phototoxic
Additional parameters can be screened: IL-1, IL-8, Histology, protein content...

Dr. Helena Kandarova Page 8 **MatTek CORPORATION**

MatTek CORPORATION

Topical phototoxicity – overview of the protocols and experimental data

Dr. Helena Kandarova Page 10 **MatTek CORPORATION**

1998-1999: ECVAM sponsored pre-validation study of the EpiDerm Phototoxicity Test Phase I - Data

Chemical	Class	Known in vivo data	3T3 NRU PT data	In vitro EpiDerm
Bergamot oil	Fragrance/ Food additive	PT	PT	PT
Promethazine	Phenothiazine derivate	PT	PT	PT
5-MOP	Psoralene compound	PT	PT	PT
Chlorpromazine	Phenothiazine derivate	PT	PT	PT
8-MOP	Psoralene compound	PT	PT	PT
Anthracene	component of coal-tar	PT	PT	NPT/PT
PABA	UV-filter	NPT	NPT	NPT
Benzophenone-3	UV-filter	NPT	NPT	NPT
Methoxycinnamate	UV-filter	NPT	NPT	NPT
Mexoryl SX	UV-filter	NPT	PT	NPT
Musk Ambrette	Fragrance	Photo-allergen	PT	NPT
6-MC	Coumarine	Photo-allergene	PT	NPT

- Dose: 50 µl/ 50 mg (or 20µL is solvent is oil)
- Exposure overnight
- Irradiation, washing
- Post-exposure overnight
- MTT viability test
- PM Δ30%

Data published by: Liebsch, M., Barabas, C., Traue, D. & Spelmann, H. (1997). Entwicklung eines neuen in vitro Tests auf dermale Phototoxizität mit einem Modell menschlicher Epidermis, EpiDerm™. Alternativen zu Tierexperimenten (ALTEX) 14, 165-174

Dr. Helena Kandarova Page 10 **MatTek CORPORATION**

1998-1999: ECVAM sponsored pre-validation study of the EpiDerm Phototoxicity test – Phase III - Data

chemical	run	Boehringer Ingelheim	P&G	zobor
Chlorpromazine	1	pt	pt	pt
	2	pt	pt	pt
Acridine hydrochloride	1	pt	pt	pt
	2	pt	pt	pt
Bergamot oil	1	pt	pt	pt
	2	pt	pt	pt
Neutrad red	1	pt	pt	pt
	2	pt	pt	pt
Tetracycline free base	1	npt	npt	pt
	2	npt	npt	pt
Penicillin G	1	npt	npt	npt
	2	npt	pt	npt
Lauryl sulfate sodium	1	npt	npt	npt
	2	npt	npt	npt
Octyl salicylate (S 13)	1	npt	npt	npt
	2	npt	npt	npt
4-Methylbenzylidene camphor (S6)	1	npt	npt	npt
	2	npt	npt	npt
Octyl methoxy-cinnamate (S28)	1	npt	npt	npt
	2	npt	npt	pt

- Dose: 50 µl/ 50 mg (or 20µL is solvent is oil)
- Exposure overnight
- Irradiation, washing
- Post-exposure overnight
- MTT viability test
- PM Δ30%

Data published by: Liebsch, M., Traue, D., Barabas, C., Spelmann, H., Gombos, G.F., Cruse, L., Dambach, W., Flannanbacher, U., Späcker, J., Holzhauser, H.G., Brantom, P., Assin, P. & Sothmann, J. (1999). In: Alternatives to Animal Testing II. Proceedings of the second international scientific conference organized by the European Cosmetic Industry. Brussels, Belgium (ed. D. Clark, S. Lindsay & R. Macmillan), pp. 160-166. Newbury, UK: CPL Press

Dr. Helena Kandarova Page 11 **MatTek CORPORATION**

1998-1999: UNILEVER study of the EpiDerm Phototoxicity test

Material	µg/ml	1. control MTT (24h) ± 1 SD	2. exposed MTT (24h) ± 1 SD	3. exposed MTT (24h) ± 1 SD	Prediction	In vivo (phototoxicity)	
Acetaminophen	10.16	92.8	10.4	170	94.2	15.0%	Phototoxic
Acetone	1.0	101.1	14.9	3.16	31.3	15.3	Phototoxic
Benzyl alcohol	1.16	101.7	12.2	10.1	92.1	16.7	Phototoxic
Bergamot oil	1.16	99.7	90.9	11.0	99.3	20.9	Phototoxic
Bergamot	1.16	120.4	90.9	11.0	90.2	76.5	Non-phototoxic
CCl ₄ (pure)	1.16	102.8	21.9	3.16	98.8	17.0	Phototoxic
8-Methoxypsoralen	1.16	102.8	141.5	10.0	93.9	15.8	Non-phototoxic
Hexyl methoxy-cinnamate	1.16	93.9	98.8	109.0	95.0	14.0	Non-phototoxic
Octyl methoxy-cinnamate	1.16	93.9	98.8	109.0	95.0	14.0	Non-phototoxic
Propyl alcohol	1.16	99.7	97.4	10.9	97.2	9.7	Non-phototoxic
Propylene glycol	1.16	98.5	101.5	109.0	92.4	10.0	Non-phototoxic
Propylene glycol	1.16	99.4	101.5	109.0	75.3	50.1	Non-phototoxic
Propylene glycol	1.16	95.0	101.5	109.0	97.1	20.3	Non-phototoxic

- Dose: 50 µl/ 50 mg (or 20µL is solvent is oil)
- Exposure overnight
- Irradiation, washing
- Post-exposure overnight
- MTT viability test
- PM Δ30%

Data published by: Jones, P., King, A., Lovell, W., East, L. (1999). Phototoxicity testing using 3D Reconstructed Human skin models in Alternatives to Animal Testing II. Proceedings of the second international scientific conference organized by the European Cosmetic Industry. Brussels, Belgium (ed. D. Clark, S. Lindsay & R. Macmillan), pp. Newbury, UK: CPL Press

Dr. Helena Kandarova Page 12 **MatTek CORPORATION**

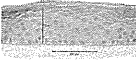
2011: MB Research validation study of the EpiDerm Phototoxicity Test

Minor modifications – dose increased to 100 µL
18 Phototoxins and 8 Non-phototoxins

PHOTOOTOXINS	Criteria PIF ≥2 ≥30%		NON-PHOTOOTOXINS	Criteria PIF ≥2 ≥30%	
	+	-		+	-
5-Aminolevulinic Acid	+	+	Benzalkonium chloride	-	-
5-Methoxypsoralen	+	+	Dimethyl Sulfoxide	-	-
7-Methoxycoumarin	+	+	Ethanol	-	-
8-Methoxypsoralen	+	+	Eucalyptus Oil	-	-
Acridine	-	-	Hexachlorophene	-	-
Amiodarone	+	+	L-Histidine	-	-
Anthracene	+	+	Penicillin G	-	-
Bergamot Oil	+	+	Sodium Dodecyl Sulfate	-	-
Bitrithonol	+	+			
Chlorpromazine	+	+			
Lemon Oil	-	-			
Neutral Red	-	-			
Norfloxacin	+	+			
Promethazine	+	+			
Protoporphyrim IX	+	+			
Rose Bengal	+	+			
TetraChlorSalicylAnilide	+	+			
Tetracycline	+	+			

- Dose: 100 µL/ 100 mg
- Exposure overnight
- Irradiation, washing
- Post-exposure overnight
- MTT viability test
- PM Δ30%

Data published by: L. F. Prat, D. R. Cerven, and G. L. DeGeorge (2011). Validation of 3D Skin Model for Cosmetics, Chemical and Medical Device Phototoxicity Testing (EPARS), MB Research, Presented at IVTIP Conference 2011




Dr. Helena Kandarova Page 13

1999/2000 - Phototoxicity studies with SkinEthic RHE model – Skin2 and EpiDerm SOP applied on SkinEthic RHE

PM: Viability

Chemical	Known In vivo data	Known in vitro 3T3 NRU PT data	In vitro SkinEthic
Penicilin G	NPT	NPT	NPT
Histidine	NPT	NPT	NPT
SLS	NPT	NPT	NPT
BP-3	NPT	NPT	NPT
PABA	NPT	NPT	NPT
Promethazine	PT	PT	PT
NR	PT	PT	PT
Rose Bengal	PT	PT	PT
5-MOP	PT	PT	PT
Tetracycline	PT	PT	PT
CPZ	PT	PT	PT
6-MC	NPT/PT	NPT/PT	NPT/PT

- Dose: 50 µL/ 50 mg
- Exposure overnight
- Irradiation
- Post-exposure overnight
- MTT viability



Bernard, F-X, Barraud, C., Degueury, A., De Weyer, B., Rosdy, M., (2003). Development of a highly sensitive in vitro phototoxicity assay using the SkinEthic™ reconstructed human epidermis. Cell Biology and Toxicology 16 (8), 391-400.


Dr. Helena Kandarova Page 14

2001 Phototoxicity studies with SkinEthic RHE model – development of a test protocol, that closely correlates to 3T3 NRU PT predictions

PM: Multi Endpoint Analysis Approach (LDH release, IL-8, Histopatology, protein determination)

Chemical	Known In vivo data	Known in vitro 3T3 NRU PT data	In vitro SkinEthic
8-MOP	PT	PT	PT
6-MC	NPT to weak phototoxic	PT	PT
Promethazine	PT	PT	PT
Tetracycline	PT	PT	PT
SDS	NPT	NPT	NPT
2 PUVA formulations (8-MOP and coal tar based)	PT	PT	PT

- Dose: 10 µL/ 10 mg
- Exposure overnight
- Irradiation
- Post-exposure overnight
- MEA



Medina J. et al. (2001). Assessment of the Phototoxic Potential of Compounds and Finished Topical Products Using a Human Reconstructed Epidermis. In Vitro & Molecular Toxicology Volume 14, Number 3, 2001. Mary Ann Liebert, Inc.


Dr. Helena Kandarova Page 15

2002 Phototoxicity studies with Episkin model – identification and assessment of weak phototoxic potential of chemical compounds.

PM: Viability or IL-1 alpha

Chemical	Known In vivo data	Known in vitro 3T3 NRU PT data	In vitro SkinEthic
CPZ	PT	PT	PT
Oloxacilin	PT	PT	PT
6-MC	NPT to weak PT	PT	PT
Sulisobenzone	NPT	NPT	NPT
SDS	NPT	NPT	NPT

- Dose: 100 µL/ 100 mg
- Exposure 1h
- Irradiation
- Post-exposure overnight
- MTT viability test
- PM Δ 25%, IL-1



Published by: P. Portes, M. J. Pignatelli, E. Pignatelli, M. Cottis, M. Mariani (2002). Use of human reconstructed epidermis Episkin for assessment of weak phototoxic potential of chemical compounds. Photodermatol Photoimmunol Photomed 2002; 16, 96-102.

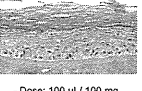
Dr. Helena Kandarova Page 16

2007 EPISKIN Phototoxicity Assay – demonstration of the correct prediction of phototoxic hazard. Data selected for topically applied chemicals

PM: Viability or IL-1 alpha

Chemical	Known in vivo human	Known in vitro 3T3 NRU PT data	In vitro EPISKIN
Coumarine	NPT	NPT	NPT
Penicilin G	NPT	NPT	NPT
L-Histidine	NPT	NPT	NPT
SDS	NPT	NPT	NPT
Tiaprofenic acid	PT	PT	PT
Promethazine	PT	PT	PT
Bergamot oil	PT	PT	PT
Chlorpromazine	PT	PT	PT
8-MOP	PT	PT	PT
5-MOP	PT	PT	PT
Ketoprofene	PT	PT	PT

- Dose: 100 µL/ 100 mg
- Exposure 2 h
- Irradiation
- Post-exposure overnight
- MTT viability test
- PM Δ 25%, IL-1



Lelievre D., Justine P., Christiaens F., Bonaventure N., Coulet J., Merrot L., Colovio J. The episkin phototoxicity assay (EPA): Development of an in vitro tiered strategy using 17 reference chemicals to predict phototoxic potency (2007). Toxicology in Vitro 21 977-995

Dr. Helena Kandarova Page 17

Summary of available in vitro topical phototoxicity data produced with RHE models

PHOTOOTOXIC CHEMICLAS

Chemical	Class	In vivo human	3T3 NRU PT	EpiDerm Standard protocol and MB Research protocol (*)	EPISKIN Lelievre protocol and Portes protocol(*)	SkinEthic Bernard and Medina protocol
1 Promethazine	Drug	PT	PT	PT (PT)	PT	PT (PT)
2 8-MOP	Drug	PT	PT	PT (PT)	PT	PT (PT)
3 Tetracycline (free base)	Drug	PT	PT	NPT/PT, (PT)	n.a.	PT (PT)
4 Bergamot oil (non purified)	Fragrance	PT	PT/NPT	PT (PT)	PT	n.a.
5 Chlorpromazine	Drug	PT	PT	PT (PT)	PT (PT)	PT
6 5-MOP	Drug	PT	PT	PT (PT)	PT	PT
7 Ketoprofene	Drug	PT	PT	n.a.	PT	n.a.
8 Oloxacilin	Drug	PT	PT	n.a.	PT	n.a.
9 Tiaprofenic acid	Drug	PT	PT	n.a.	PT	n.a.
10 Amiodarone		PT	PT	(PT)	n.a.	n.a.
11 Acridine Hydrochloride	precursor	PT	PT	PT (PT)	n.a.	n.a.
12 Neutral Red	Colour	PT	PT	PT (PT)	n.a.	PT
13 Bitrithonol		PT	PT	(PT)	n.a.	n.a.
14 5-Aminolevulinic acid		PT	PT	(PT)	n.a.	n.a.
15 Protoporphyrin IX		PT	PT	(PT)	n.a.	n.a.
16 Anthracene	component of coal tar	PT	PT	NPT/PT (PT)	n.a.	n.a.
17 TetraChlorSalicylAnilide		PT	PT	(PT)	n.a.	n.a.
18 1-MC	Coumarine	PT	PT	(PT)	n.a.	n.a.
19 Rose Bengal	Fragrance	PT	PT	PT (PT)	n.a.	PT

Dr. Helena Kandarova Page 18