

Animals: Rats, SD, male and female, 1 day old (for pediatric indications in pediatric population from 0 years of age; 3 weeks old for indications in pediatric population from 4 years of age), 15 male and 15 female animals (30 male and 30 female animals for toxicokinetic studies). Animals are considered 0 days old on the day of parturition. For studies in nursing animals before weaning, it is desirable to limit litter size to 4 males and 4 females, for a total of 8 animals in each litter, prior to the start of administration.

Administration: From 1 day (for pediatric indications in pediatric population from 0 years of age; 3 weeks for indications in pediatric population from 4 years of age) to 6 weeks of age, administration once daily by the intended clinical route of administration

Configuration of groups: Control, low dose, intermediate dose, high dose

Observation:

General condition: At least once daily

Body weight: At least twice every week

Food consumption: At least once every week (after weaning)

Water consumption: Measured as necessary (after weaning)

Physical development: pinna unfolding, coat growth, incisor eruption, eye opening

Reflexes: surface righting reflex, air-righting reflex

Sensory functions: vision, hearing

General behavior: motor function, learning, and memory

Sexual maturity: cleavage of the balanopreputioal gland, vaginal opening

Fertility: sperm analysis, estrous cycle

Function tests: renal function, etc.

Urinalysis: at least once during the administration period

Hematology: at necropsy (in the main group on the day after completion of administration; in the satellite group after the completion of organ development)

Necropsy: on the day after completion of administration (7 weeks of age) in 10 animals/group and at the completion of organ development (13 weeks of age) in 5 animals/group. Macroscopic observation of organs and tissues, measurement of organ weights and tibia length, histopathologic examination

Toxicokinetics: 1, 4, and 24 hours after single-dose administration at 1 week of age, 1, 4, and 24 hours after single-dose administration at 3 weeks of age; 5 animals at each time point

Example 2: Evaluation of the effects of the drug on specific organs and functions

The study design should be optimized to detect toxicity during the development of the targeted organ or function. For example, if renal development is targeted, the study is conducted within the first 3 weeks after birth in rats²⁾. Ototoxicity of aminoglycoside antibiotics is studied in 1-week-old rats³⁾, and joint toxicity of quinolone antibiotics is studied in 3-month-old dogs⁴⁾.

2) Zoetis T et al. 2003. Species Comparison of Anatomical and Functional Renal Development. *Birth Defects Research (part B)* 68:111-120.

3) Lenoir M et al. 1983. Comparative ototoxicity of four aminoglycoside antibiotics during the critical period of cochlear development in the rat. A functional and structural study. *Acta Otolaryngol Suppl* 405:1-16.

4) Takayama S et al. 1995. Toxicity of quinolone antimicrobial agents. *J Toxicol Environ Health* 45:1-45.

Q6: How many animals are used for assessment?

A6: Ordinarily, rodent studies will be performed in 10 or more males and 10 or more females per group, and studies in non-rodents will use 3 or more animals of each sex in each group. If a group is to be monitored after the completion of organ development, enough additional animals will be needed to accurately evaluate that group. For toxicokinetics, 3 to 5 animals of each sex per group will be sufficient for each sampling point.

Q7: What are general considerations for group allocation before weaning?

A7: Group allocation method before weaning should be decided considering the possibility of contamination between animals and the litter effect. The recommended method is to allocate pups of each litter into test groups at birth, and then to raise each test group with a foster dam.

Q8: How do we select the starting age for administration in nonclinical studies based on a pediatric indication in a specific human age group?

A8:

Technically feasible day (0 to 5 days after birth) in the facility should be selected as a initiation day of administration, when the effects of drug that for indication in infants are investigated comprehensively in rats. For indications in pediatric population 4 years of age and older, since postnatal development of organs and functions is nearly complete by that age except for the reproductive organs and the skeletal system, in some cases it is permissible to start administration at weaning (3 weeks of age) in rats. For indications limited to pediatric population 12 years of age and older, safety evaluation can be possible from standard toxicity study data (repeated dose study initiated in rats at 6 to 7 weeks of age).

Q9: In what cases is it permissible to select a different administration route from the one intended for clinical use?

A9: In some cases, depending on the age in weeks of the juvenile rats, an intended clinical route of administration such as intravenous administration may be technically difficult. Until the clinical administration route becomes feasible, it is permissible to use a substitute administration route (such as subcutaneous administration), as determined through reference to pharmacokinetics data, etc.

Q10: What methods are available for the evaluation of the nervous system and reproductive system in monkeys?

A10: For studies in cynomolgus monkeys, it is impractical to postpone tests until the animal reaches maturity (3 to 4 years of age). It can also be difficult to evaluate fertility by mating 1 male and 1 female. For example, methods for the evaluation of the nervous system and reproductive system at a relatively young age (6 months after birth) include tests of learning and memory (the monkey moved a food reward through a maze to the retrieval point)⁵⁾ and evaluation of histological changes in the ovaries and testes from the administration of HMG and HCG^{6,7)} are under development.

5) Tsuchida J et al. 2003. New Type of Puzzle-Task Finger Maze Learning in *Macaca fascicularis*. *Int J Primato* 24:261-70.

6) Sameshima H et al. 1996. Ovarian response to exogenous gonadotropins in

infant cynomolgus monkeys. *Int J Toxicol* 15:194-204.

7) Sameshima H et al. 1996. Testicular response to exogenous gonadotropins in infant cynomolgus monkeys. *Int J Toxicol* 15:371-80.

Q11: What are general considerations for toxicokinetic analysis in juvenile animals?

A11: If pharmacokinetic profiling data is available for mature animals, it may be sufficient to monitor the exposure levels for juvenile animals. To facilitate the comparison between juvenile and mature rats, the sampling points in juvenile animals should be selected with reference to those in mature animals. In some cases, if the values of 24 hours after the administration of a single dose are available, no data is required from multiple-dose administration. Conversely, pharmacokinetics may change considerably during the maturation of the juvenile animal (transporter expression, etc.), so that useful data can be obtained from toxicokinetic assessment not only on the first and last days of administration, but also over the period of development into later age. In rat studies, animals in satellite groups are ordinarily used for this purpose. In unweaned rats, such as neonates, since only a small amount of blood can be collected, the pooling of blood samples from several animals is acceptable if needed. In some cases, the drug concentration within a target organ may also provide useful information.

附 8

医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス
に関する質疑応答集 (Q&A) (英文)

Guidance for Establishing Safety in First-In-Human Studies during Drug Development

Q&A

Q1 This Guidance refers the reader to ICH guidelines in several places. We understand that the ICH guideline requirements are also required for Japanese NDAs, but does this Guidance say that ICH guidelines must also be followed prior to the first-in-human study?

A This Guidance does not mandate that ICH guidelines be followed prior to the first-in-human study. However, before the start of the first-in-human study, those guidelines must be used for reference to determine whether all of the studies and tests that are considered prerequisite have been completed.

Q2 Section 3.4.2.f of this Guidance, "Dose Escalation Scheme," states that "The dose and dose escalation method may be reconsidered in light of PK/PD and safety information obtained from the previous cohort. To allow for such situations, the protocol should describe the possibility of dose modification and does escalation, and the procedures for such modification." If the dose can be modified, how should the maximum dose would be described?

A If a modification is made in the maximum dose stipulated in the initial clinical trial notification, a notification of clinical trial modification will be required. If the initial intention is to increase the maximum dose, an appropriate maximum dose should instead be selected initially, based on scientific evidence and with careful consideration for the safety of subjects.

Q3 In this Guidance, section 3.4.2.b "Setting the Dose for First-In-Human Administration" states that, "Other procedures can be considered in special cases, such as, for example, cancer patients who have previously been treated with cytotoxic investigational products." What kinds of procedures are meant by "other procedures"?

A According to the guidelines, when working with most of the cytotoxic anticancer drugs of low molecular weight, the initial selected dose is usually 1/10 the amount that causes serious toxicity in 10% of rodents studied (STD₁₀). If a non-rodent animal is the most relevant species, the appropriate maximum initial dose is generally considered to be 1/6 of the maximum dose that does not cause serious toxicity (maximum dose not resulting in death, lethal toxicity, or irreversible toxicity).

Q4 In section 3.4.2.b "Setting the Dose for First-In-Human Administration," please explain within the document, using examples, rather than referring to the literature, because this section is the core of this Guidance. We would like you to provide specific illustrations of methodology.

A Provided specific examples of does setting in first-in-human administration using two model cases of monoclonal antibody drags which have pharmacological action that provided receptor blocking against target molecules (although the NOAEL from toxicological studies was 10 mg/kg in both cases). We would like to add that these are only examples and the decisions on the first-in-human dose should be made from scientific evidence.

Case1 is the case approaching the Minimal Anticipated Biological Effect Level (MABEL) and Case2 differs from the conventional use of the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL). When calculating the first-in-human dose, the majority of cases will fall into the following categories: cases in which the dose per unit body weight will be obtained from the MABEL or NOAEL (mg/kg) and will then be divided by a safety factor; cases in which the dose

(mg/m²) per unit body surface area (m²) will be used for conversion to the Human Equivalent Dose (HED) to ensure equivalence between study animals and human subjects. In general, for drugs based on antibodies and receptor fusion proteins, body weight (kg) conversion is appropriate for extrapolation to humans, based on reasons such as previous clinical experience and similarity of pharmacokinetic(PK)- pharmacodynamic (PD) analyses. However, with further escalation in the development of products such as non-natural modified antibodies, new approaches should be considered based on new findings and accumulated experience.

(Case 1)

In this case, clinical dose and Mechanism of Action (MoA) of the investigational products are already clear from currently available similar drug products with the same target molecule. Therefore the initial dose in first-in-human administration is calculated from the NOAEL based on toxicological text using cynomolgous monkey as an animal model.

That is, the initial dose is obtained by dividing NOAEL 10mg/kg by the safety factor 10, so it can be calculated at 1 mg/kg. Since this dose is not considerably higher than the effective clinical dose, which anticipated from the pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) data comparing with similar drug products and so on, there is no problem in using it as the initial dose.

(Case 2)

In this case, the calculation of the clinical initial dose was used the MABEL based on applied pharmacodynamic (PD) test using cynomolgous monkey as an animal model, which is determined by knowledge of the histological distribution of the target molecules on the mode of action, *in vitro* studies and so on, because the target is a novel molecule.

The MABEL levels can anticipate from *in vivo* and *in vitro* studies were 0.5 mg/kg and 10 μ g/ml (which estimate appropriate 0.1 mg/kg in *in vivo* equivalent) respectively. In this case, a specific biomarker was available for the quantification of pharmacologic activities in studies used an appropriate animal model. Therefore, the initial dose can be calculated based on the MABEL (0.5 mg/kg) anticipated from *in vivo* model. That is, the initial dose is obtained by dividing MABEL 0.5mg/kg by the safety factor 10, so it can be calculated at 0.05 mg/kg.

	Case 1	Case 2
Molecule type	Monoclonal antibody	Monoclonal antibody
MoA of the study drug	Blocking activation of specific receptor	Blocking activation of specific receptor
Nature of the target	Similar drug products are already commercially available for the target of this same molecule.	New target.
Animal models	Cynomolgus monkey was adapted as an animal model by the knowledge of similar drugs products.	Cynomolgus monkeys was adapted as an animal model by the histological distribution of the target molecules, <i>in vitro</i> studies and so on, There are not considerable differences in effect obtained by <i>in vitro</i> studies between inter-species.
Administration route	Intravenous administration	Intravenous administration
Indication	Chronic disease	Chronic disease
Toxicological studies	Performed in cynomolgus monkeys (No rodent species) → NOAEL considered to be 10 mg/kg (high-dose group)	Performed in cynomolgus monkeys (No rodent species) → NOAEL considered to be 10 mg/kg (high-dose group)
Related knowledge of PK/PD	Performed in cynomolgus monkeys Compared with the related data of the similar drugs products, the anticipated clinical dose is estimated at 10 mg/kg.	Performed in cynomolgus monkeys Minimal Anticipated Biological Effect Level(MABEL) of <i>in vivo</i> estimated at 0.05 mg/kg MABEL of <i>in vitro</i> estimated at 1 µg/mL(which estimate appropriate 0.01 mg/kg in <i>in vivo</i> equivalent)

II. 研究代表者報告

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

小児用医薬品開発のための幼若動物を用いた非臨床安全性試験の実施手法に関する研究

研究代表者	西川秋佳	国立医薬品食品衛生研究所安全センター長
研究協力者	篠田和俊	独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
	中野賢司	独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
	中村和市	日本製薬工業協会 基礎研究部会
	下村和裕	第一三共株式会社
	松本 清	武田薬品工業株式会社
	鈴木 睦	協和発酵キリン株式会社
	吉田 緑	国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

本研究は、幼若動物を用いた毒性試験ガイドラインの適正な実施運用を図るための解説作成を目的として実施した。平成22年度に作成したガイドライン案は小児用医薬品という特殊性と重要性に鑑み、本解説では、ガイドライン案について具体的な補足説明を行っただけでなく、各ガイドライン案に対する主要なパブリックコメントへの回答も盛り込んでQ&Aの形としてまとめた。また、パブリックコメントを受けてガイドラインの最終案を作成した。さらに、医薬品開発の国際化に対応して、ガイドライン最終案および解説を英文化した。

A. 研究目的

医薬品開発は、候補物質を選定し、非臨床試験で有効性・安全性等を確認した後、臨床試験を実施しヒトにおける有効性・安全性を確認する。非臨床安全性試験については、ICHなどで試験ごとにガイドラインが整備され、適切な評価がなされている。一方、医薬品の多くが大人を対象として使用されることより、通常、試験に用いる動物の週齢は成獣動物が推奨されている。現状での小児適応医薬品についての安全性評価は成獣動物の成績と共に成人での臨床実績を加味して行われている。しかし、適応

が小児に限定された医薬品や患者数が少なく、小児での臨床試験が困難なことにより小児に必要な医薬品の適応が得られていないことが多い。それゆえ小児での安全性を適切に評価する手段として幼若動物を用いた安全性試験の必要性が求められることがある。現在、小児に使用出来る医薬品は成人と比べて種類が少なく、その安全性を担保できる手法も限られ、安全で有効な小児用医薬品の開発が求められるなか、幼若動物を用いた知見は重要で、その手法について統一的な基準としての幼若動物を用いた毒性試験ガイドライン整備が進められ、平

成 22 年度にガイドライン案が作成された。

しかし、これらのガイドライン案は日本においては新しく設定されたものであり、画一的な試験法でないことから、ガイドラインの適正な実施適用にあたっては、それらの詳細について、より具体的な説明を含めた解説が必要である。

本研究では、ガイドラインの適正な実施のために、より実用的なガイドライン解説の作成を目的として実施した。

また、パブリックコメントに対応して各ガイドライン案を最終化した。さらにガイドラインおよび解説の英文化も目的に加えて本研究を実施した。

B. 研究方法

昨年度作成したわが国における幼若動物を用いた毒性試験法ガイドライン案の修正等について協議した。

本年度の研究目的である本ガイドライン解説の作成の方向性および具体的な内容についても検討会で討議した。パブリックコメントを参考に、解説の基本的な形式および盛り込むべき解析についても討議した。

また、解説の作成だけでなく、昨年度のガイドライン案の最終化、英文化および解説の英文化についても検討会およびメール会議にて協議した。

(倫理面への配慮)

本研究では動物等の取り扱いはなし

C. 研究結果

3 回の検討会およびメール会議にて検討を行った。

まず平成 22 年度のガイドライン案に対

するパブリックコメントについて、主要なコメントについて検討会で協議した。また、ガイドラインの修正として対応すべき内容についても協議を行った結果、ガイドライン案は、一部について修正が必要であることで一致した。とくに 2 種類の試験に関する説明や表現を変更した。

ガイドライン案と解説の関連性について討議し、ガイドラインは基本的な内容を中心に記載し、具体的なあるいは補足的な内容は解説に盛り込むこととした。

つぎに解説の形式等について協議した。パブリックコメント対応と内容の補足説明を兼ねて Q&A 形式の解説が適切であると検討会では一致した。

D. 考察

幼若動物毒性試験ガイドラインの対象時期は、個体の著しい発達期に相当するため、その適正な実施には解説が必要であると考えられた。

ガイドラインは基本的な考えにとどめ、補足は解説にて行うことが適切と考えられた。パブリックコメントを参考にガイドラインを最終化することができた。

ガイドライン解説は、Q & A 形式が適切であるとの考えで検討会は一致することができ、解説には一部に具体的な内容や、補足説明を加えることができた。

国際化に対応して速やかな英文化が必要であると判断し、ガイドライン案、解析ともに英文化することができた。

E. 結論

本研究は、幼若動物を用いた毒性試験ガイドラインの適正な実施運用を図るための解

説作成を目的として実施した。平成 22 年度に作成したガイドライン案は、小児用医薬品という特殊性と重要性に鑑み、本解説では、ガイドライン案の具体的な補足説明を行っただけでなく、主要なパブリックコメントへの回答も参考として Q&A 形式でまとめた。また、パブリックコメントを受けてガイドラインの最終案を作成し、さらに、医薬品開発の国際化に対応して、ガイドラインの最終案および解説を英文化した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

G-1. 論文発表

該当なし

G-2. 学会発表

- 中野健司 W5-1 幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドライン. 2011 年, 第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会ワークショップ 5 (東京 平成 23 年 7 月)
幼若動物試験およびヒト初回投与量ガイドラインについて

W5-1 幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドライン

*中野 賢司 1)

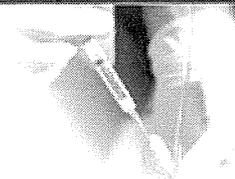
1) 医薬品医療機器総合機構 審査センター 毒性領域

Abstract: 医薬品は主として成人を対象として開発される場合が多く、小児においては多くの医薬品において適応が取得されていない現状である。このような医薬品を小児に適応するためには、小児における治験や幼若動物を用いた非臨床試験が実施され、小児に対する安全性を十分に確保するべきである。臨床試験に関しては 2000 年に ICH-E11「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンス」が通知され、小児における治験が促進されている。非臨床試験に関しては、米国 FDA (2006 年) 及び EMA (2008 年) においてガイダンスが公表されており、さらに ICH M3 (R2)「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」に「小児における臨床試験」の項に小児集団における臨床試験での安全性情報を得るための 1 つの手段として幼若動物を用いた毒性試験があげられている。一方、日本においては幼若動物を用いた毒性試験の実施方法のガイダンスは未整備であったが、2010 年 10 月に厚生労働省、国立医薬品食品衛生研究所、医薬品医療機器総合機構を中心に幼若動物を用いた安全性試験ガイドラインの作成が開始された。

本演題では、この小児用医薬品のための「幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイダンス」の考え方について概説する。

Key word: 幼若動物, ガイドライン

〒100-8585 東京都千代田区千代田1-8-1
TEL: 03-3528-3111 FAX: 03-3528-3112
E-MAIL: info@pmda.go.jp pr@pmda.go.jp



小児医薬品のための幼若動物を用いた
非臨床安全性試験ガイドライン(案)について

医薬品医療機器総合機構 (PMDA)
新薬審査第三部 毒性領域
中野賢司

Kenji NAKANO Ph.D.

幼若動物試験法ガイドライン(案)検討会



【メンバー】

国立衛研: 西川秋佳(主任研究者)、吉田緑
厚労省 : 光岡俊成
製薬協 : 下村和裕、松本清、鈴木陸、中村和市
総合機構: 篠田和俊、中野賢司

(敬称略)

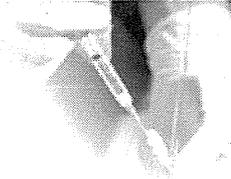
Kenji NAKANO Ph.D.

本日の内容

- 本ガイドライン作成の背景
- 本ガイドラインの内容
- まとめ
- 今後のスケジュール

本ガイドライン作成の背景

本ガイドライン作成の背景

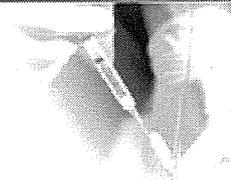


「幼若動物における安全性試験の必要性はその医薬品毎に考慮すべきであり、また発達毒性学上の懸念に基づき判断されるべきである」

〔「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて」(医薬審第1334号 平成12年12月15日、ICH-E11ガイダンス)より抜粋〕

Kenji NAKANO Ph.D.

本ガイドライン作成の背景



「既存の動物データ及びヒトの安全性データが小児の臨床試験を実施するのに十分でないと判断された場合にのみ、幼若動物を用いた試験の実施を考慮すべきである」

〔「(薬食審査発0219第4号 平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成22年2月19日、ICH-M3ガイダンス)より抜粋〕

Kenji NAKANO Ph.D.

本ガイドライン作成の背景



ICH-M3「小児における臨床試験」について

- ・ 試験の実施を考慮すべき場合について
- ・ 試験の実施時期
- ・ 幼若動物を用いた毒性試験における動物種
- ・ 試験のデザインに関する例示

Logo NALLANO Ph.D.

本ガイドライン作成の背景



- 本邦の幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドラインは、実質ICH-M3のみ
- 一方、幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドラインは、米国(2006年)、欧州(2008年)ともに存在する

日本においては幼若動物を用いた毒性試験の実施方法のガイダンスは未整備

Logo NALLANO Ph.D.

本ガイドライン作成の背景



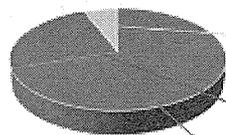
以下は、製薬協TF14
「小児用医薬品のための非臨床試験検討」
において集計されたアンケート結果より引用
(2006年1～3月、36社回答)

Kenji NAKANO P&D

本ガイドライン作成の背景



幼若動物試験の必要性に対する考え



小児適用のない薬剤でも適用外使用されることから、幼若動物試験は必要 6%

小児適用の場合には必ず必要 24%

小児適用であっても、小児への安全性の懸念がなければ必ずしも必要ではない 70%

幼若動物試験の実施



将来的に実施する予定はない 3%

必要に応じて実施を検討する 97%

Kenji NAKANO P&D