

109 2.3 代謝物に関して

110 通常、代謝により新たなクロモフォアが生じることはないことから、一般に代謝物に
111 ついては個別に光安全性を検討する必要はない。

112 2.4 薬理学的特性

113 大部分のケースでは、薬剤誘発性の光毒性は化学構造に起因するものであり、薬理作
114 用によるものではない。しかしながら、ある種の薬理学的特性を持つ場合は、光によ
115 り誘発される皮膚刺激や発がん作用（免疫抑制やヘム合成異常等）が増幅される可能
116 性がある。本ガイドラインに概説されている評価手法はこのようなタイプの間接的な
117 光毒性を検出するものではない。これらのメカニズムの多くは、非臨床の薬理学的/
118 毒性学的試験によって検出され、評価できる（ICH M3(R2)参照）。

119

120 3. 非臨床光安全性試験

121 3.1 一般的概念

122 非臨床光安全性試験に関しては、評価システムと適切な照射スペクトルの両方を考慮
123 した試験条件を慎重に選択することが重要である。理想的には非臨床試験法は高い感
124 度と特異度の両方（すなわち、偽陰性結果が少なく、偽陽性結果も少ない）を有して
125 いることが望ましい。しかしながら、本文書に述べられている統合的評価アプローチ
126 を行うために最も重要なことは、非臨床光安全性試験法が高い感度を有していること
127 である（すなわち、偽陰性を生じる割合が低い）。なぜなら、陰性結果の場合、通常
128 更なる光安全性評価を求められないからである。非臨床試験での陽性結果が常に臨床
129 における光毒性反応を予測できるわけではない。現在選択可能な*in vitro*及び*in vivo*非臨
130 床試験法は、主に潜在的な光毒性を検出することに重点を置いているものであり、臨
131 床的に意義のある光毒性として外挿できる場合とそうでない場合がある。このため、
132 ある試験法を使うか否かの決定の際は、その試験法の偽陽性率を考慮すべきである。

133 照射条件の選択は*in vitro*及び*in vivo*試験法のいずれにおいても重要である。我々が通常
134 浴びている太陽光は非常に幅広いスペクトルを有している。しかしながら太陽光その
135 ものは明確に定義されたものではなく、様々な要因（緯度、高度、季節、時刻、天候）
136 によって変化しうる。さらに、太陽光に対するヒトの皮膚の感受性も様々な要因（例
137 えば、スキンタイプ、解剖学的部位、日焼けの度合い）によって変化しうる。標準的
138 な太陽光の照射条件については様々な機関において定義されてきた。光源のソーラー
139 シミュレータの適切性を評価するためにはそのような標準規格（例えばCIE-85-1989、
140 文献4）を参照すべきであり、放射照度と照射時間は照射スペクトルのUVA領域

141 （320-400 nm）に基づいて標準化すべきである。*In vitro*及び*in vivo*の光毒性試験法の確
142 立には、これまでUVAで5-20 J/cm²の範囲の照射線量が用いられてきた。このUVA照射
143 量は夏の昼間に、温帯地域の海拔ゼロ地点で長時間の屋外活動を行った場合に相当す
144 る。通常、ヒトでは太陽光のUVBによって日焼けが生じて全体的な光照射量が制限さ
145 れる。しかしながら、非臨床光毒性試験法では、UVB照射量によって全体の照射量を
146 制限するべきではなく、試験法の感度を下げずに十分なUVA照射量での試験を行うた

147 めに（部分的にフィルターをかけることにより）UVB量を減少させることもある。ヒ
148 ト皮膚におけるUVB光の透過は主に表皮に限定されるのに対し、UVAは毛細血管中の
149 血液にまで到達する。それゆえに全身適用される医薬品においては、UVAに比べUVB
150 による光化学的な活性化は臨床上重要ではないと考えられている。しかしながら、局
151 所用製剤の場合にはUVB照射にも意義がある。

152 3.2 化学的試験法を用いた光反応性試験

153 医薬品開発者が光反応性評価の実施を選択した場合、試験法の感度を示す適切な条件
154 下で医薬品を用いてその試験法を検証すべきである。バリデーションの対象となっ
155 ているそのような試験法の一つが、例えば文献5に記載されているROSアッセイである。
156 予備的なデータから、この試験法は*in vivo*光毒性物質を予見する上での感度が高いこと
157 が示されている。しかし特異度は低いことから、偽陽性結果の割合が高い。適切な条
158 件下で実施された場合、この試験法での陰性結果は光毒性の可能性が非常に低いこと
159 を示すが、陽性結果は追加的評価を考慮すべき指標と考える。

160 3.3 *In vitro* 試験法を用いた光毒性試験

161 化学物質の光毒性誘発能を評価するために多くの*in vitro*モデルが開発されてきた。こ
162 れらのモデルの一部は医薬品の評価に用いるための検証が行われていない。評価化合
163 物を培養液に溶解して用いるモデルもあり、このような方法は溶解性によっては全身
164 適用される薬物中の有効成分や添加物の評価に適することが多い。他のモデルでは組
165 織表面への直接投与が行われることから、全ての局所製剤の評価に適する。

166 最も広く用いられている*in vitro*の光毒性試験法は3T3ニュートラルレッド取り込み光
167 毒性試験（3T3 NRU-PT）であり、これに関してはガイドライン（文献6）がある。こ
168 の手法は、UVBを特異的に吸収する物質でなければ、水溶性物質に対する現在もつと
169 も適切な*in vitro*スクリーニング手法であると考えられている。

170 この試験法に関してECVAMの実施した正式のバリデーションでは高い感度（93%）と
171 高い特異度（84%）が示されたが、医薬品産業における経験から特異度については、は
172 るかに低いことが示唆されている（注3）。オリジナルのOECDプロトコルは特に医薬
173 品に関してバリデートされたものではない。このため医薬品に関して認められた低い
174 特異度に対処するため、オリジナルのOECDプロトコルを一部改変することが提唱され
175 ている（3T3ワークショップ報告参照、文献7、注4）。3T3 NRU-PTの感度については
176 疑問の余地はなく、この試験法で陰性結果が得られた化合物についてはヒトで光毒性
177 を生じる可能性は非常に低いと考えられる。しかしながら、3T3 NRU-PTにおける陽性
178 結果については臨床における光毒性を示唆するものではなく、追加的評価を考慮すべ
179 き指標と考える。

180 BALB/c 3T3細胞はUVBによる傷害を受けやすいため、光照射にあたっては320 nm以下
181 の光を減衰させるフィルターの使用が推奨される。UVBはほとんど表皮より下へは到
182 達せず、このため血中のUVB吸収物質が光活性化される可能性はほとんどないことか
183 ら、UVBの減衰は全身適用薬において問題とはならない。しかしながら、UVB領域に
184 吸収を持つ局所適用薬や、全身適用され表皮に分布する化合物については、これはあ
185 てはまらない。UVB領域の波長を主に吸収する局所製剤で*in vitro*の評価を必要とする

186 場合には、UVB耐性のある代替モデル（例えばヒト皮膚の再構築モデル）を用いても
187 よい。

188 角質層を有するヒト皮膚の再構築モデルを用いれば、原薬から最終的な臨床製剤に至
189 るまでの様々な局所適用物質の試験が可能となる。現在開発されているモデルは、照
190 射の有無により組織中の細胞の生死を測定するものである。そのようなモデルでは、
191 ヒト皮膚に対する既知の光毒性物質を検出することが可能であると考えられるが、陽
192 性反応が生じる用量に関してはヒトでの*in vivo*の状況よりも感度が低い場合もある。し
193 たがって、使用するモデルの感度を理解し、妥当であるならば、試験法の条件（高濃
194 度製剤の使用や照射時間の延長など）を適宜調整することが重要である。

195 眼における光毒性を特異的に評価する*in vitro*モデルは存在しない。3T3 NRU-PTや皮膚
196 再構築モデルで陰性結果が得られればリスクが低いことを示唆できるかもしれない
197 が、データがなく、眼の光毒性に対するこれらの試験法の予測性は不明である。

198 3.4 全身適用薬の*in vivo* 光安全性試験

199 現時点では、正式にバリデートされた非臨床*in vivo*光毒性あるいは光アレルギー試験法
200 は存在しない。全身適用薬の光毒性試験は、モルモット、マウス、ラット等の多様な
201 動物種で実施されている。標準的試験デザインは確立されていないため、医薬品開発
202 者が動物での*in vivo*試験の実施を決定する場合には、以下に述べる考え方を現時点で最
203 良の方法として使用して差し支えない。

204 動物種の選択にあたっては、照射に対する感受性（最少紅斑量）、熱に対する耐容性、
205 対照物質における成績を考慮すべきである。有色及びアルビノのいずれの動物モデル
206 も利用可能である。光毒性の検出のためにはアルビノの皮膚のほうが有色皮膚よりも
207 感受性が高い傾向があるが、標的組織に確実に適切な曝露を行うため、動物種／系統
208 の選択の際にはメラニン結合性（2.2項参照）の影響を考慮すべきである。

209 光毒性は通常急性反応であるが、*in vivo*試験法の試験期間については慎重に考えるべき
210 である。光に曝露される組織における化合物の蓄積は、反復投与後の感受性を増大さ
211 せる可能性がある。同様に、各投与後の反復照射も、損傷の蓄積により感受性を増大
212 させる可能性がある。一般に、試験の投与期間は数日間が適切であるが、薬物動態学
213 的特性及び予定される臨床での用法を考慮すべきである。可能な場合には臨床で用い
214 られる投与経路を用いるべきである。投与後の T_{max} 付近で、単回照射あるいは連日反復
215 照射のいずれも選択可能である。

216 全身適用薬の非臨床*in vivo*光毒性試験における投与量を選択する際には、ヒトでのリス
217 クアセスメントに資するものとすべきである。これらの試験における最高投与量は、
218 ICH M3(R2) 1.5項に示されている一般毒性試験で推奨される投与量の規定に準ずるこ
219 とが適切と考えられる。最大投与量において陰性結果が得られる場合、通常は低用量
220 での検討は必要ではない。しかしながら、陽性結果が予測される場合は、追加的用量
221 群を設定することにより無毒性量に基づくリスクアセスメントが可能となる。溶媒対
222 照群及び非照射投与群を設定することにより適切な解析が可能となり、照射による有
223 害事象と照射によらない有害事象とが識別可能となる。動物で設定可能な最大全身曝

224 露量が臨床曝露量を下回る場合は、陰性結果が得られてもヒトリスクへの予測には信
225 頼性に疑問が残る。

226 *In vivo*光毒性試験を実施する場合、確実に T_{max} 付近で動物への照射を行うために、試験
227 計画の設定前に化合物の薬物動態プロファイルを把握しておくことが望ましい。関連
228 する全身曝露データ (C_{max} など) がその時点で得られていない場合は、*in vivo*光毒性試
229 験の一部として実施し、データを収集すべきである。

230 通常、紅斑発現照射量の閾値未満の照射において、化合物により誘導されるもっとも
231 鋭敏な光毒性の初期徴候は、紅斑とその後発現する浮腫である。反応の種類は化合
232 物により異なる可能性がある。光毒性反応が確認された場合はそれぞれにつき用量及
233 び時間依存性の評価を行い、可能であれば、無毒性量を決定すべきである。追加的エン
234 ドポイント (皮膚の初期炎症マーカー、急性の刺激性を示唆するリンパ節の反応な
235 ど) を設定することによりハザード評価が可能になるかもしれない。

236 網膜の光毒性を評価すべきケースもある (ヒトの眼の光学的特徴を考慮すると、通常
237 は400 nmを超える波長に吸収を示す物質について確認する、文献8参照)。しかしなが
238 ら、波長により眼の光透過性は動物種により大きく異なることがあり (動物種、年齢
239 及び性別に関連して)、場合によってはUVA域でも起きる。このような場合、動物モ
240 デルで観察された変化はヒトに外挿できない可能性がある。必要な場合には、網膜に
241 おける光毒性を、確立された動物モデルにおける網膜の病理組織学的検査により評価
242 すべきである。光照射中の動物の保定、もしくは強制的開眼の要否については特に規
243 定しない。

244 正式にバリデートされていない*in vivo*光毒性試験は、適切な対照物質を用いて、適切に
245 行われたことを示すべきである。適切性を確立するためには、ヒトにおいて光毒性が
246 明らかな複数の化学的分類及び光毒性発現機序からなる化合物を用いて評価すべきで
247 ある。網膜毒性に関する対照物質としては、可視光領域 (400 nm超) に吸収を有する
248 物質が推奨される。正式にバリデートされるか、あるいは一般に受け入れられ、試験
249 実施施設で確立された*in vivo*モデルにおいては、各試験における陽性対照物質の同時使
250 用は必要とされない。

251 全身適用薬についての光アレルギー試験は推奨されない。

252 3.5 経皮適用薬の*in vivo* 光安全性試験

253 種の選択や、試験期間、照射条件など、全身投与における評価の場合に推奨される内
254 容が、経皮投与の場合においても適用される。経皮適用薬の試験では、一般的に臨床
255 製剤を使用すべきである。可能な限り、予定される臨床投与条件を採用する (例えば、
256 閉塞貼付、開放塗布、皮内投与等)。曝露部位への照射は投与後、特定の時間に行う
257 べきであり、投与から照射までの間隔は製剤の特性に基づいて決定すべきである。光
258 毒性の兆候を適切なエンドポイントに基づいて評価すべきである。試験法の感度につ
259 いては適切な対照物質を用いた上で示すべきである。経皮の光毒性試験において、全
260 身的な薬物濃度の評価は一般的に必要なない。

261 経皮投与の医薬品の場合、急性の光毒性 (光刺激性) と接触光アレルギーについては
262 非臨床皮膚感作性試験と併せて評価されてきた。しかしこのようなモデルの正式なバ

263 リデーションはなされておらず、ヒトの光アレルギーに対する予測性は不明である。
264 規制目的でのこのような非臨床光アレルギー試験は一般的には推奨されない。

265

266 3.6 眼局所適用薬の *in vivo* 光安全性試験

267 現時点では、眼局所適用後の光毒性を評価するための標準化された *in vivo* 非臨床試験法
268 は存在しない。

269

270 4. 臨床における光安全性評価

271 ヒトでのデータ収集が必要とされる場合には、臨床試験での標準的な有害事象報告か
272 ら、光安全性に目的を絞った臨床試験にわたり、多くのオプションが存在する。詳細
273 な方法についてはケースバイケースで決定される。

274

275 5. 評価手法

276 光安全性評価の方法の選択は医薬品開発者に任されている。光反応性の特徴を有する
277 化合物の光安全性評価を行うために、非臨床の *in vitro* 及び *in vivo* 試験ならびに臨床的な
278 評価法を利用できる。適切に実施されたこれらの試験の一つでも陰性結果が得られれ
279 ば、その化合物は光毒性を発現しないものと考えられ、追加的な光毒性試験は一般的
280 に推奨されない。

281 ICH M3(R2)では光安全性評価に段階的アプローチが提案されている。外来での試験に
282 先立ち、光化学的性質及び薬理的／化学的分類に基づく光毒性の初期評価を行うべ
283 きである。さらに、ヒトでのリスク及び追加的試験の必要性に関してさらに情報を得
284 るために、皮膚及び眼への分布を評価してもよい。その後、多数の被験者への曝露を
285 行う (Phase III) 前に、必要ならば、光毒性の実験的評価 (非臨床、*in vitro* あるいは *in vivo*
286 試験あるいは臨床的な評価) を行うべきである。

287

288 5.1 全身適用薬に推奨される評価手法

289 5.1.1 光毒性の評価

290 その物質のMECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 未満 (290-700 nm) である場合は、更なる光安全性
291 試験の実施は推奨されず、ヒトにおいて光毒性は発現しないものと考えられる。化学
292 的分類上関連する化合物の光毒性に関するデータが入手できる場合には、更なる評価
293 に関するアプローチに対する情報が得られる可能性があることから、これも評価する。
294 薬剤開発者が光反応性試験 (3.2項参照) の実施を選択する場合、得られるデータによ
295 っては、それ以上の光安全性評価が必要でないと決定できる場合がある。同様に、医
296 薬品開発者が光照射を受けた組織への薬剤分布の評価の実施を選択する場合 (2.2項参
297 照)、得られるデータによっては、それ以上の光安全性評価が必要でないと決定でき

298 る場合がある（注5）。それ以外の場合にはその物質の非臨床や臨床における光安全性
299 評価を実施すべきである。

300 5.1.2 光毒性の実験的評価

301 医薬品開発者が*in vitro*のアプローチを選択する場合、現在のところ3T3 NRU-PTが最も
302 広く用いられている試験法であり、多くの場合、最初の光毒性試験として考慮される。
303 EUでは、動物試験の実施を検討する前に一般的にはバリデートされた*in vitro*の代替法
304 を選択しなくてはならない。感度の高い3T3 NRU-PTは陰性結果の予測性に優れている
305 ことから、陰性結果は、その物質には光毒性がないとする十分なエビデンスとして一
306 般に受け入れられている。この場合、更なる試験の実施は必要なく、ヒトにおいて光
307 毒性は発現しないものと考えられる。

308 いくつかの条件下（例えば難溶性化合物）では、光毒性の初期評価として*in vitro*の試
309 験法を用いるのは適切ではない場合がある。この場合には動物またはヒトを用いた評
310 価が考慮される。

311 *In vitro*の光毒性試験法にて陽性結果が得られた場合、*in vitro*で検出された光毒性の*in*
312 *vivo*における反応との関連性を評価するために、動物を用いた光毒性試験を実施するこ
313 とが可能である。あるいは、臨床において光安全性リスクの対応／管理を行うことも
314 可能である。これには、光安全性試験を実施する代わりに、あるいは光安全性リスク
315 が適切に評価されるまで、臨床試験において防御手段を推奨することが含まれる（ICH
316 M3(R2)参照）。適切に実施された*in vivo*光毒性試験（動物あるいはヒト）における陰
317 性結果は、*in vitro*の陽性結果よりも優先される。そのような場合、更なる試験実施は
318 必要ではなく、ヒトにおいて光毒性は発現しないものと考えられる。さらに、しっか
319 りとした臨床光毒性評価で問題がないことが示された場合は、非臨床での陽性結果よ
320 りも優先される。

321 動物を用いた*in vivo*光毒性試験あるいは臨床光毒性試験がすでに実施されている場合
322 は、*in vitro*光毒性試験を実施する必要はない。

323 5.2 経皮適用薬に推奨される評価手法

324 5.2.1 光毒性の評価

325 有効成分及び添加物のMECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 未満（290-700 nm）である場合は、更な
326 る光安全性試験の実施は推奨されず、ヒトにおいて光毒性は発現しないものと考えら
327 れる。化学的分類上関連する化合物の光毒性に関するデータが入手できる場合には、
328 更なる評価に関するアプローチに対する情報が得られる可能性があることから、これ
329 も評価する。MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上の化合物については、EU及び日本では、光反
330 応性試験（ROSアッセイなど）で陰性結果が得られた場合、更なる光安全性評価を必
331 要としない。米国では一般的に、光反応性試験における陰性結果が得られたとしても、
332 申請予定製剤を用いた更なる臨床光安全性評価が求められる。

333 経皮投与製剤では組織分布は考慮すべき要因とはならない。経皮投与製剤は皮膚に直
334 接適用されることから、塗布される部位が光に曝露されない場合を除き、光に曝露さ
335 れる組織に分布すると見なされる。

336 5.2.2 光毒性及び光アレルギーの実験的評価

337 適切な試験条件（例えば、溶解性の低さに起因する濃度制限がないこと、適切なUVB
338 照射量が確保できること）が得られるのであれば、*in vitro* 3T3 NRU-PTをAPI及び新規
339 添加物の光毒性の個別評価に用いることができる。*In vitro*で光毒性のある成分が特定
340 されなかった場合には、臨床製剤における光毒性ポテンシャルは全体として低いもの
341 と考えて差し支えない。

342 臨床製剤において光毒性反応に影響を与えるような性質（例えば皮膚透過性や細胞内
343 への取り込み）の一部は3T3 NRU-PTのみでは評価不能である。したがって、臨床製剤
344 を用いた評価や臨床試験におけるモニタリングにおける総合的な陰性結果の確認が必
345 要である。

346 再構築された3D皮膚モデルは、臨床製剤の光毒性のポテンシャル評価に使用可能であ
347 る。選択した3D皮膚モデルの感度について理解しておくことが重要であり、試験条件
348 （例えば、高濃度製剤の使用や照射時間の延長など）を適切に調整すべきである。適
349 切な条件下において3D皮膚モデルで陰性結果が得られた場合には、その製剤の光毒性
350 ポテンシャルは低いとみなすことができると考えられる。この場合、EU及び日本では、
351 一般に更なる試験実施は必要ない。米国では一般的に、陰性結果が得られたとしても、
352 申請予定製剤を用いた更なる臨床光安全性評価が求められる。

353 もし適切な*in vitro*モデルがない場合には、初期評価から臨床製剤を用いて*in vivo*の動物
354 を用いた光毒性試験を実施してもよい。または多数の被験者への投与に先立ち（ICH
355 M3(R2)) ヒトの光毒性評価を実施してもよい。EU及び日本では、適切に実施された*in*
356 *vivo*動物試験で陰性結果が得られた場合には当該製剤は光毒性を有しないと判断して
357 差し支えなく、更なる光毒性試験実施は必要ない。米国では一般的に、陰性結果が得
358 られたとしても、申請予定製剤を用いた更なる臨床光安全性評価が求められる。

359 APIあるいは新規添加物のMECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上の経皮投与製剤については、光
360 毒性試験に加え光アレルギー評価が一般的に必要とされる。一般的には申請予定製剤
361 を用いた臨床光アレルギー評価が推奨され、必要な場合には試験はPhase IIIの中で実施
362 することができる。

363 5.3 眼局所適用薬に推奨される評価手法

364 MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 未満（290-700 nm）の化合物については、ヒトにおいて光毒性
365 は発現しないものと考えられる。400 nm未満の波長の光だけを吸収し、水晶体よりも
366 後方（硝子体など）に眼内注射される化合物に関しては、成人の後眼部に到達する光
367 は400 nmを超える波長に限られることから懸念は少ない。しかしながら小児の水晶体
368 は400 nm未満の波長の光を完全には防御しない。

369 該当する波長を吸収し眼局所に投与される化合物（点眼薬、眼内注射など）に関して
370 は一般的に光安全性評価が推奨される。眼局所適用後の光毒性の予測において*in vitro*
371 のアプローチの信頼性は不明であり、眼局所適用薬の光毒性評価のための標準化され
372 た*in vivo*のアプローチはない。しかしながら、基本的な光毒性評価の原則がここでも該
373 当し、問題となっている化合物あるいは化学的分類上関連する化合物の光毒性に関し
374 て入手できるデータによって全体的評価の中で考慮されるべきである。米国及び日本

375 においては、眼局所適用薬の光毒性に関し実験的に評価する具体的な推奨はない。EU
376 では、入手できたデータがハザード特定には十分でないと考えられる場合、*in vitro*評
377 価あるいは別の投与経路を用いた*in vivo*試験法で評価することが推奨される。

378

379 6. 注釈

380

381 **注1:** 光遺伝毒性試験を標準的な光毒性試験プログラムの一部として実施することは推
382 奨されない。過去にいくつかの地域的なガイダンス（例えばCPMP/SWP/398/01）では、
383 好ましくは、*in vitro*のほ乳類細胞を用いた光染色体異常誘発性試験（染色体異常試験
384 あるいは小核試験）による光遺伝毒性試験の実施を推奨していた。しかしながら
385 CPMP/SWPガイダンスが発行されて以降のこれらのモデルにおける経験より、これら
386 の試験は感受性が大幅に高すぎ、光染色体異常の偽陽性結果が生じることが報告され
387 ている（文献9）。さらに、光遺伝毒性試験データの解釈、すなわち臨床的に関連性の
388 ある紫外線依存性の皮膚がん増加に対する意義は多くの場合不明瞭であった。大部分
389 のケースでは、化合物が光遺伝毒性を生じるメカニズムは光毒性を生じるメカニズム
390 と同じものであり、このため両者のエンドポイントに対して別々の試験を実施する必
391 要はない。

392

393 **注2:** MEC測定のための標準化された条件は非常に重要である。適切な溶媒の選択につ
394 いて、分析に必要な条件（例えば溶解性や紫外-可視光の透過性）と生理学的な妥当
395 性（例えばpH 7.4の緩衝液の条件）の両面から決定すべきある。メタノールは望ましい
396 溶媒として選択されており、MECの閾値を $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ とする際に用いられた（デ
397 ータは近日中に発表）。大部分の化合物では $100 \mu\text{M}$ 近辺の濃度で有用な紫外-可視吸
398 収スペクトルを得ることができる。それでも、潜在的な限界（例えば、高濃度でのア
399 ーティファクトあるいは徐々に生じる沈殿について考慮すべきである。もし、分子中
400 のクロモフォアがpH感受性を有すると考えられる場合（例えば、フェノール構造や芳
401 香族アミン/カルボン酸など）には、水性のpH 7.4の緩衝条件下でスペクトルの追加測
402 定を行うことにより、吸光スペクトルの形やMECの差異に関する有益な情報が得られ
403 る。メタノール中での測定とpH調整条件下での測定の間有意な差が認められた場合に
404 は、確定評価に $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ というMECの閾値を用いることはできない。

405

406 **注3:** EFPIA加盟会社が実施した調査では、OECDガイドラインに述べられている3T3
407 NRU-PTでは高い割合で（約50%）陽性結果が得られ、その大部分は動物やヒトでの反
408 応と関連しないことが示されている（文献10）。

409

410 **注4:** 医薬品のデータのレトロスペクティブ調査により、試験の最高濃度を1000から100
411 $\mu\text{g/mL}$ に下げることが適切とされた。光照射条件下でこの濃度まで細胞毒性を示さない
412 物質は光毒性を有しないと考えると差し支えない。さらに全身適用薬では、OECDで「光
413 毒性の可能性あり」とされるカテゴリー（すなわちphoto irradiation factor (PIF)値が2~5

414 の間あるいはmean photo effect (MPE)値が0.10~0.15の間) の場合、毒性学的関連性は疑
415 わしい。このカテゴリーに含まれる化合物に関しては、一般的に、光安全性評価をさ
416 らに行う必要はない。PIF値が2~5の化合物で非照射下におけるIC₅₀の測定ができない場
417 合には、MPEの計算で陽性に分類されないこと、すなわちMPEが0.15未満であることを
418 確認することが重要である。

419 光に当たるヒト組織で到達すると考えられる濃度よりもかけ離れて高い*in vitro*濃度で
420 3T3 NRU-PTが陽性となった全身適用薬に関しては、ケースバイケースで、また規制当
421 局との協議の上、*in vivo*の追加試験を行わずにヒトでの光毒性に関して「低リスク」で
422 あると考えることができる場合もある。

423

424 **注 5:** 全身適用薬で血漿中濃度に対する組織中濃度比の高くないものあるいは皮膚に蓄
425 積しないものに関しては、米国では、光毒性の更なる評価は一般的に必要とされない。
426 EU 及び日本においても、血漿中濃度に対する組織中濃度比が高いことや組織蓄積も重
427 要と考えられている。しかしながら、さらに試験が必要かどうかを決定するうえで、
428 皮膚における化合物の存在は重要な要素であるとも考えられている。非常に低い組織
429 中濃度に基づき試験を行わないことに根拠があると医薬品開発者が考えるのであれば、
430 ケースバイケースで規制当局と検討を行うことが可能である。

431

432 7. 用語の解説

433

434 **3T3 NRU-PT** : *In vitro* 3T3ニュートラルレッド取り込み光毒性試験。

435 評価 : この文書内の意味としては、入手できるすべての情報を用いて判断を行うこと
436 であり、必ずしも追加試験を実施することを意味するわけではない。

437 **クロモフォア** : 可視光あるいは紫外線を吸収する分子の部分構造。

438 **放射照度** : ある表面への紫外線あるいは可視光の強度であり、 W/m^2 あるいは mW/cm^2
439 で表される。

440 **照射** : ある物体が紫外線あるいは可視光に曝露される過程。

441 **MEC** : モル吸光係数 (MEC) はある特定の条件下 (溶媒、温度、波長など) における
442 分子固有の定数であり、分子が光子を吸収できる効率を反映する (通常 $L mol^{-1} cm^{-1}$ で
443 表される) 。

444 **MPE** : Mean photo effectは3T3 NRU-PTの結果から算出される数値であり、照射時及び
445 非照射時の両方で細胞生存率を50%低下させる濃度 (IC_{50}) が計算できない場合に用い
446 られる。MPEは全ての濃度反応曲線との比較に基づく (OECD TG 432を参照) 。

447 **NOAEL** : 無毒性量。

448 **OECD TG** : 経済協力開発機構試験法ガイドライン。

449 **光反応生成物** : 光化学反応の結果として生じる新規化合物/構造。

450 **光反応性** : 光子の吸収の結果として他の分子と反応する化学物質の性質。

451 **PIF** : Photo irritation factorは、3T3 NRU-PTの結果から算出される照射時及び非照射時の
452 IC_{50} の比。

453 **ROS** : スーパーオキシドアニオンや一重項酸素などを含む活性酸素種。

454 **UVA** : 紫外線A (波長320~400 nm) 。

455 **UVB** : 紫外線B (波長290~320 nm) 。

456

457 8. 参考文献

458

459 1. ICH M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human
460 Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals; June 2009.

461 2. Henry B, Foti C, Alsante K. Can light absorption and photostability data be used to assess
462 the photosafety risks in patients for a new drug molecule? J Photochem Photobiol B Biol
463 2009; 96: 57-62

464

465 3. ICHQ1B Guideline: Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and
466 Products; Nov. 1996.

467

- 468 4. CIE-85-1989: Solar Spectral Irradiance; Jan. 1989.
469
- 470 5. Onoue S, Hosoi K, Wakuri S, Iwase Y, Yamamoto T, Matsuoka N, Nakamura K, Toda T,
471 Takagi H, Osaki N, Matsumoto Y, Kawakami S, Seto Y, Kato M, Yamada S, Ohno Y,
472 Kojima H. Establishment and intra-/inter-laboratory validation of a standard protocol of
473 reactive oxygen species assay for chemical photosafety evaluation. *J Appl Toxicol*,
474 Article first published online, 13 June, 2012 (DOI: 10.1002/jat.2776).
475
- 476 6. OECD (2004), *Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test*, OECD Guidelines for
477 the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing.
478
- 479 7. Ceridono M, et al. Workshop Report: The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test:
480 Practical experience and implications for phototoxicity testing – The report of an
481 ECVAM–EFPIA workshop. *Reg Tox Pharm* 2012 Aug; 63(3): 480–488.
482
- 483 8. Wielgus, AR, Rogerts, JE. Retinal Photodamage by Endogenous and Xenobiotic Agents.
484 *Photochemistry and Photobiology* 2012 Jul; 88 (6): 1320–1345.
485
- 486 9. Lynch AM, Robinson SA, Wilcox P, Smith MD, Kleinman M, Jiang K, Rees RW.
487 Cycloheximide and disulfoton are positive in the photoclastogenicity assay but do not
488 absorb UV irradiation: another example of pseudophotoclastogenicity? *Mutagenesis* 2008
489 Mar;23(2):111-8.
490
- 491 10. Lynch, AM, Wilcox, P. Review of the performance of the 3T3 NRU *in vitro* phototoxicity
492 assay in the pharmaceutical industry. *Exp Toxicol Pathol* 2011Mar; 63(3): 209-14.

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）
平成24年度分担研究報告書

がん原性試験に関する研究

研究分担者：西川 秋佳（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター）

研究協力者：中江 大（東京都健康安全研究センター）

小川久美子（国立医薬品食品衛生研究所 病理部）

野中 瑞穂（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）

小野寺博志（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）

甘粕 晃平（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）

三枝由紀恵（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）

久田 茂（あすか製薬株式会社、日本製薬工業会）

青木 豊彦（エーザイ株式会社、日本製薬工業会）

務台 衛（田辺三菱製薬株式会社、日本製薬工業会）

アドバイザー：中村 和市（塩野義製薬株式会社、日本製薬工業会）

研究要旨

医薬品の長期がん原性試験に関する見直し作業が開始された。この動きは、それまで少なくとも6カ月を超えて使用される低分子医薬品に対して、原則としてラットおよびマウスの長期がん原性試験が必要とされてきた方向から、1997年にマウスの長期がん原性試験をオプションとした改定以来の大きな見直しとなる。今回の見直しは、医薬品の薬理作用と毒性所見から、実験動物およびヒトに対するがん原性の有無が予測できない場合にのみ、げっ歯類（特にラット）の長期がん原性試験を実施する意義があるという基本理念に基づいている。この基本理念は、いくつかのデータベースの詳細な解析に基づいているが、あくまでもretrospectiveなものであることから、prospectiveな妥当性確認が必要である。現在、prospectiveな確認のための「規制通知文書（案）」を最終化する作業が進んでいる。「規制通知文書（案）」では、患者の安全性を損なうことなく、医薬品のがん原性評価を改善し、3R（使用動物数の削減／苦痛の軽減／代替法の利用）の原則にしたがって動物の使用を抑え、他の医薬品開発資源の使用を減少させ、ときに市販承認までの時間を短縮することも期待されると提案されている。この医薬品規制当局によるprospectiveな確認作業が成功するか否かは、「がん原性評価文書」の提出を含めた製薬企業の積極的な参加に依るところが大きい。本研究では、長期がん原性試験を省略できるとする科学的重みづけの妥当性を検証することを中心として、長期がん原性試験の見直しについて検討する。

キーワード：がん原性試験、非臨床安全性試験、試験法ガイドライン、国際標準化

A. 研究目的

環境化学物質による発がんリスクは、その重篤性

において最も懸念すべき有害影響の一つといえる。

そのため、実験動物による発がん性評価は、ラット

およびマウスの長期がん原性試験に基づいて実施されてきており、医薬品を除く農薬、食品添加物等の発がん性評価では現在までその方針が踏襲されている。医薬品についても、従来のICH 3極における発がん性評価のための行政上の要求は、通常ラットとマウスの2種のげっ歯類を用いる長期のがん原性試験を実施することと規定されていた。しかし、これらの試験には費用がかかりすぎることやきわめて多くの動物が用いられることが懸案事項として指摘され、1990年代当初のICHにおいて、ヒトへの安全性を損なうことなく2種のがん原性試験を1種にすることができるか検討された。その結果、原則として1種の長期げっ歯類がん原性試験に加えて、短期あるいは中期の*in vivo*げっ歯類試験系が他の1種のげっ歯類のがん原性試験の代替として容認されることになった。それが現行の医薬品のがん原性試験に関するICHガイダンスである。その後、低分子医薬品の毒性データや薬理学的知見を評価することによって、2年間げっ歯類がん原性試験の結果を予測し、ヒトにおける発がんリスクを推測するために十分な情報が得られる場合があるとの解析結果が報告された。つまり、特定の条件を満たす医薬品については、2年間げっ歯類がん原性試験を省略できるとする仮説が立てられている。現在、ICHにおいてその仮説の妥当性をprospectiveに確認する作業が検討されている。

B. 研究方法

2012年6月のICH福岡会議で第1回専門家会合がもたれ、step 1に向けて、主としてラット2年間がん原性試験を省略できるか判断するための証拠の重み付け (weight-of-evidence : WOE) についての討議がなされた。続いて、2012年11月のICHサンディエゴ会議での第2回専門家会合では、prospectiveな検証作業を実施するための「規制通知文書(案)」を作成した。今後、パブリックコメントを集約して、2013年6月のICH会議で「規制通知文書(案)」の改定作業を開始し、遅くとも2014年6月の会議において通知文書を最終化する予定である。その後、2～3年かけてprospectiveな検証作業を実施するとともに、

step 2文書の草案を作成する。したがって、現時点においては2017年6月がstep 4文書の完成時期と見込まれている。

「規制通知文書(案)」には、医薬品開発企業が2年間げっ歯類がん原性試験の省略を求める「免除申請」を行う場合に、その根拠を示す「がん原性評価文書」を規制当局に提出することを想定していると記載されている。すなわち、「がん原性評価文書」には、本文書に示す評価項目によって予測される医薬品の総合的な発がんリスクとともに、2年間げっ歯類がん原性試験の実施が発がん性評価に意義があるか否かの根拠を示すことになる。prospectiveな評価期間を設け、その間に、2年間げっ歯類がん原性試験が進行中または計画されているすべての開発医薬品についての「がん原性評価文書」を医薬品規制当局に提出することを企業に求める。各極の医薬品規制当局は、提出された「がん原性評価文書」を独自に審査し、企業との見解の一致および各極の医薬品規制当局間の見解の一致の程度を調査する。提出された「がん原性評価文書」は実施した2年間げっ歯類がん原性試験の結果と比較され、実際の試験結果に対する予測の正確性および適切性が評価される。

6ヵ月間あるいはそれより短期の毒性試験を含む様々な薬理学的および毒性学的データを統合することにより、WOEに基づいて、その医薬品が以下の3つのカテゴリーのいずれに分類されるかを十分な確実性をもって予測する。

カテゴリー1：ヒトにおいて発がん性がある可能性が高いため、製品の添付文書にその旨が明記されることから、2年間ラットがん原性試験の実施意義はない。

カテゴリー2：入手可能な薬理学的および毒性学的データのセットからは、ヒトに対する発がん性を確実に予測することができず、2年間ラットがん原性試験によりヒトのリスク評価に意義が付加される可能性が高い。

カテゴリー3a：ラットにおける発がん機序がすでに立証され広く認識されており、かつヒトへの外挿性がないこと、即ちラットにおいては発がん性があるがヒトにおいては発がん性がない可能性が高いこ

とが知られているため、2年間ラットがん原性試験の実施意義はない。

カテゴリー3b：ラットおよびヒトにおいて発がん性がない可能性が高いため、2年間ラットがん原性試験は不要である。

医薬品規制当局と企業の予測との間、ならびに各規制当局の間での予測の一致率を評価するために、規制当局による会議が開催される予定である。2年間ラットがん原性試験結果の受領後、①「がん原性評価文書」に記載されたWOEに基づく2年間ラットがん原性試験での腫瘍発生予測と実際の結果を比較し、予測が正確であったかどうか、②実施されたがん原性試験の総合的な結果と比較し、企業及び各医薬品規制当局が行ったカテゴリー分類が正確であったかどうか、③腫瘍発生予測と実際の腫瘍発生に差異があった場合、規制にどのような影響を及ぼすかについて、「がん原性評価文書」の再評価が行われる。

C. 研究結果

現在、prospectiveな検証作業を実施するための「規制通知文書(案)」に対するパブリックコメントを募集している段階である。がん原性試験を省略できるかを規定するWOEの各要素について、早急に論文化することが検討されている。また、「がん原性評価文書」に記載すべきカテゴリー分類について、各カテゴリーの代表例の作成も進められており、論文化をめざすことが合意されている。

D. 考察

「がん原性評価文書」では、がん原性に関連があると考えられる各要素について論じるものであって、当該医薬品の非臨床プロファイルの一般的な概要を示す必要はなく、また「規制通知文書」に記載されたすべての要素が必ずしもすべての場合に適用または利用できるわけではないとされている。「がん原性評価文書」にはWOE以外に、次の重要な要素である①計画中／進行中の2年間ラットがん原性試験について予測される試験結果（陽性／腫瘍発生に対する標的臓器、または陰性）、②がん原性試験に関する総合評価およびヒトに対するリスク評価における2年

間ラットがん原性試験結果の実施意義の予測、③2年間ラットがん原性試験を実施するか免除申請するかどちらを裏付けるのかについての明確な記述および説明とそれぞれの化合物のカテゴリー分類、を含めなければならない。各極の医薬品規制当局は、提出された「がん原性評価文書」の予測の妥当性について、「がん原性評価文書」受領時にそれぞれ独自に評価するが、開発企業に対してのフィードバックはがん原性の評価において上記の3つの重要な要素に関する記述が不十分であった場合のみその旨の通知を行うことになる。

ヒトにおいて発がん性の可能性が高いことを予測するカテゴリー1は主に薬理作用によって判定されることになる。一方、カテゴリー3bは主として毒性所見によって判定されることになるが、カテゴリー3aを含めて、ヒトにおける発がん性の可能性がないことを予測できる事例がどれほど集まるか興味深いところである。

ICH S1ガイダンスに記載されている低分子医薬品のがん原性評価について現行の枠組みの見直しを検討しているS1専門家会合の活動にとって、このprospectiveな確認作業の経験は非常に重要であると考えられる。

E. 結論

ICH S1において、げっ歯類（特にラット）を用いる長期がん原性試験についての見直し作業が開始された。今回の見直しは、医薬品の薬理作用およびより短期の毒性試験情報からヒトおよび実験動物に対するがん原性の有無を予測し、予測が難しいまたはできない場合にのみ、長期のがん原性試験を実施する意義があるという基本理念に立脚している。この基本理念は、いくつかのデータベースの詳細な解析に基づいているが、あくまでもretrospectiveなものであることから、prospectiveな検証作業が求められている。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究成果

1. 論文発表

西川秋佳. 安全性等に関するトピックの動向. ICH S1A Informal Working Group Meetingの進捗状況. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 43, 726-731, 2012.

2. 学会発表

野中瑞穂, 小川久美子, 小野寺博志, 中江大, 西川秋佳. 医薬品のがん原性評価の方法について—ICH S1 EWGにおける検討内容. 第29回日本毒性病理学会学術集会 (2013年1月, つくば)

西川秋佳, 野中瑞穂, 小川久美子. ICH S1の最新動向. シンポジウム8—慢性毒性試験結果からの発がん性予測. 第39回日本毒性学会学術年会 (2013年7月, 仙台)

久田茂, 澤田繁樹, 工藤哲, 和藤英司, 熊澤俊彦, 森山賢二, 三島雅之, 笠原義典, 鬼頭耀子, 井上健司, 青木豊彦, 中村和希. 医薬品のラットにおけるがん原性陰性の予測性に関するデータ調査. 第39回日本毒性学会学術年会 (2013年7月, 仙台)

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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）
平成24年度分担研究報告書

医薬品の安全性評価のための*in vitro*毒性試験についての評価

研究分担者：小島 肇（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨

現在検討が進んでいるICH S10光毒性試験ガイドラインに、日本で開発された光毒性試験代替法 ROS（Reactive Oxygen Species：活性酸素種）アッセイを掲載させるため、バリデーションが日本製薬工業協会およびJaCVAM（日本動物実験代替法評価センター）の協力にて実施された。このバリデーション報告書に対する国際第三者評価会議を開催し、適切な評価がなされた。

キーワード：*in vitro*、光毒性試験、医薬品、安全性評価、動物実験代替法

研究分担者および研究協力者の氏名・所属機関名および所属機関における職名

研究分担者

小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 新規試験法評価室 室長

研究協力者

尾上 誠良（静岡県立大学 准教授）
細井 一弘（参天製薬株式会社、日本製薬工業協会）
高木 広憲（大正製薬株式会社、日本製薬工業協会）
中村 和市（塩野義製薬株式会社、日本製薬工業協会）
岩瀬裕美子（田辺三菱製薬株式会社）

A. 研究目的

ICH（International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米EU医薬品規制調和国際会議）光毒性試験のガイドラインへの掲載を目指している光毒性試験代替法であるROS（Reactive Oxygen Species：活性酸素種）アッセイは、尾上らによって開発され¹⁾、日本製薬工業協会およびJaCVAM（Japanese Center for the Validation of Alternative Methods：日本動物実験代替法評価センター）にて、

バリデーションが実施された²⁾。この結果をICH S10光毒性試験ガイドライン検討グループにて報告したところ、バリデーション報告書の第三者評価実施が要求された。そこで、国際的な専門家を招聘し、第三者評価報告書を作成することになった。

B. 研究方法

B-1) バリデーションの概要

プロトコルに従い、コード化された42種類の被験物質（200 μM）を含む反応液を96ウェルプレートに分注してソーラーシュミレーター（Atlas Suntest CPS series およびSeric）による1時間の擬似太陽光照射後（1.9～5.0 mW/cm²）、ROS（Singlet oxygenとSuperoxide）の産生量をそれぞれ測定した。実験は3回繰り返し、各化合物の光毒性リスクを評価した。

Atlas Suntest CPS seriesのバリデーションには3施設が、Sericのバリデーションには4施設が参加した。それぞれの結果はバリデーション報告書としてまとめられた。

B-2) 第三者評価組織

国際的な光毒性あるいはバリデーションの専門家を第三者評価委員として招聘した。

1) Horst Spielmann (Berlin Free Univ.)

ZEBETの元リーダー、光毒性の専門家、OECD TG432 (光毒性試験代替法) の作成者

2) William S. Stokes (Consultant)

獣医師、バリデーションの専門家、NICEATMの元リーダー

3) Bae-Hwan Kim (Keimyung University)

獣医師、アモレパシフィック化粧品の元研究員

4) 堀井郁夫 (ファイザー)

毒性学者、ケンブリッジ大学客員教授、元・ファイザー日本研究所所長

B-3) 事前準備

平成25年1月および2月に評価に必要な資料 (2種のソーラーシュミレーターによる2報のバリデーション報告書)、関連論文などを委員に送付した。

B-4) 第三者評価会議

平成25年2月27日～3月2日において、以下のスケジュールにより評価会議が東京にて開催された。

2月27日 ICH S10におけるROSアッセイの位置づけ、試験法概要説明、バリデーション報告書説明

2月28日 提案プロトコルの紹介、評価手順の確認、B-4に示す質問への回答を作成する方式で第三者評価を進めた。

3月1日 同上

3月2日 総括

B-5) 第三者評価のために用意した質問

OECDガイダンス文書No.34には以下のような記載がある³⁾。

評価のために、提案されている個々の用途に関し、試験法の有用性や限界についての新たな見解を引き出すような問題点を提起するものでなければならない。すべてのバリデーション基準を考察するとともに、プロトコルや判定基準に関する見解を提示する必要がある。第三者評価委員会は本来の用途における試験法の性能 (すなわち、正確性と信頼性) の適性について見解を提示する。評価は完全かつ客観的

であり、信頼性の高いものでなければならない。

1) 試験法が科学的、規制の上での妥当性

2) 試験プロトコルの構成の妥当性

3) バリデーションに用いられた物質の分類

4) 試験法の正確性を評価する物質の*in vitro*および参照データ

5) データと結果の利用性

6) 試験法の正確性

7) 試験法の信頼性

8) データの質

9) 他の科学的な報告

10) 3Rsへの関与

11) 試験法の有用性と限界

本評価委員会での議論を活発にするため、上記の項目に準じた以下の質問を用意した。

質問1: A rationale for the test method should be available, including description of toxicological mechanisms, a clear statement of scientific need, and regulatory application (試験法の科学的、規制上での妥当性)

質問2: The relationship between the test method endpoint(s) and the biological effect and to the toxicity of interest should be addressed, describing limitations of the test methods (試験法の定義)

質問3: A detailed test method protocol should be available (プロトコルの構成の妥当性)

質問4: Within- and between-laboratory reproducibility of the test method should be demonstrated (試験法の信頼性)

質問5: Demonstration of the test method's performance should be based on testing of representative, preferably coded reference chemicals (バリデーションに用いられた物質の分類)

質問6: Accuracy or predictive capacity should be demonstrated using representative chemicals. The performance of test methods should have been evaluated in relation to existing relevant toxicity data as well as information from the relevant target species (試験法の正確性)

質問7 : All data supporting the assessment of the validity of the test method should be available for expert review (データと結果の利用性)

質問8 : all data supporting the validity of a test method should have been obtained in accordance with the principles of Good Laboratory Practice (GLP) (データの質)

質問9 : Applicability domain of the validity of the test method should be defined for expert review (試験法の有用性と限界)

質問10 : Proficiency chemicals should be set up in the proposed protocol (習熟物質の選択)

質問11 : Performance standard should be set up with proposed protocol (性能標準の必要性)

質問12 : Advantages in terms of time, cost and animal welfare (時間的、コスト的な有利さと、3Rsへの関与)

(倫理面への配慮)

倫理的な問題が生じる実験を実施しておらず、特に配慮すべき問題はない。

C. 研究結果

ROSアッセイのバリデーション報告書をもとに、第三者評価をQ&A形式で進めた。

それぞれの質問に対して、評価者より適切な回答を得ることができた。以下に回答の要約を示す。具体的な質問および回答を添付資料1に示した。

質問1 : 試験法が科学的、規制の上での妥当性

回答 : ROS生成は化学物質の光毒性の重要な作用機構の一部である。UV曝露によって化学物質に引き起こされるROSの生成は、前臨床の第一段階において、行政機関に提出されるべきである。

質問2 : 試験法の定義

回答 : ROS作用機構は、紅斑、浮腫、刺激、炎症のようなヒトの光反応の基本である。光反応の限界は、ROS作用と無関係である。ROS産生は非生物学的なシステムであるが、感受性が高い。ヒト光毒性反応の初動は、標的臓器における薬物動態や濃度に依存する。光毒性の可能性は過大評価さ

れるかもしれないが、陰性ならば生体で光毒性は起こりそうもない。

質問3 : プロトコルの構成の妥当性

回答 : 2つソーラーシュミレーターを用いたそれぞれのプロトコルでバリデートされた。提案プロトコルはまだ完成していない。

質問4 : 試験法の信頼性

回答 : 陽性および陰性対照、42物質における施設間・施設内再現性は高い。陽性および陰性対照の施設間再現性には統計学的な処理が必要である。絶対数と分類の2方法で分析する方法がある。

質問5 : バリデーションに用いられた物質の分類

回答 : ヒト光毒性物質を含んでおり、選択は妥当である。

質問6 : 試験法の正確性

回答 : 4つの異なった評価指標の中で、一実験のみで評価するという提案(D)を支援する。陽性と陰性の決定基準は、再考が望まれる。

質問7 : データと結果の利用性

回答 : 2つのバリデーションのすべての生データは利用できる。

質問8 : データの質

回答 : GLPでは実施されていないが、データの質は評価されている。

質問9 : 試験法の有用性と限界

回答 : 溶媒であるDMSO、20mM NaPBどちらかの非溶解物質は評価できない。非溶解性物質の解明、他の溶媒の検討が必要である。

質問10 : 習熟物質の選択

回答 : 陽性および陰性対照と6物質が推奨される。Singlet oxygenとSuperoxideのどちらかで陽性でない物質も推奨する。これらの適切な溶媒もガイダンスに示す。

質問11 : 性能標準の必要性

回答 : 習熟物質と今後のデータから決められるものである。

質問12 : 時間的、コスト的な有利さと3Rsへの関与

回答 : 時間、コスト、動物数の削減に有用である。

これらの評価に加え、提案プロトコルについても

議論がなされ、日本側で用意した資料が添付資料2に示すように改定された。

D. 考 察

今回の国際的な第三者評価会議を経て、評価報告書の第一稿をまとめることができた。ただ、第三者評価委員からの指摘でバリデーション報告書や提案プロトコルの改訂が求められており、改訂版の作成が必要である。これらが出来上がり次第、修正内容を盛り込んだ第三者評価報告書の改訂がなされる。第二稿の作成は6月末になることが今回の会議で合意された。

今後の予定として、この第二稿についてパブリックコメントを求め、その意見を8月に開催される次回会議で検討することが合意された。この会議後にまとまる第三稿を9月末に完成させ、ICHには10月早々に最終報告書を提出することになった。

E. 結 論

ROSアッセイのバリデーション報告書を受け、第三者評価をQ&A形式で進めた。適切な評価がなされた第三者評価報告書案（第一稿）をまとめることができた。

F. 参考文献

- 1) Onoue S, Tsuda Y.: Analytical studies on the prediction of photosensitive/phototoxic potential of pharmaceutical substances. Pharm Res. 23(1):156-64 (2006)
- 2) Onoue S, Hosoi K, Wakuri S, Iwase Y, Yamamoto T, Matsuoka N, Nakamura K, Toda T, Takagi H, Osaki N, Matsumoto Y, Kawakami S, Seto Y, Kato M, Yamada S, Ohno Y, Kojima H.: Establishment and intra-/inter-laboratory validation of a standard protocol of reactive oxygen species assay for chemical photosafety evaluation., J Appl Toxicol. (2012)
- 3) OECD (2005) OECD Series on testing and assessment Number 34, Guidance document on the validation and international acceptance of new or

updated test methods for hazard assessment, ENJ/JM/MONO(2005) 14

G. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) 柘植英哉、森充生、大庭澄明、大内正、寺田三郎、五島隆志、田邊豊重、山影康次、田中憲穂、渡辺美香、畔上二郎、大向英夫、小島肇：平成21年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告、輸液用ゴム栓試験法の見直し（第4報）—細胞毒性試験法の検討—、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 43(5), 473-482 (2012)
 - 2) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（6）, COSME TECH JAPAN, 2(4)：59-63 (2012)
 - 3) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（7）, COSME TECH JAPAN, 2(5)：51-54 (2012)
 - 4) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（8）, COSME TECH JAPAN, 2(6)：60-63 (2012)
 - 5) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（9）, COSME TECH JAPAN, 2(7)：55-58 (2012)
 - 6) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（10）, COSME TECH JAPAN, 2(8)：50-53 (2012)
 - 7) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（11）, COSME TECH JAPAN, 2(9)：43-48 (2012)
 - 8) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（12）, COSME TECH JAPAN, 2(10)：48-51 (2012)
 - 9) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（13）, COSME TECH JAPAN, 2(11)：44-48 (2012)
 - 10) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（14）, COSME TECH JAPAN, 2(12)：39-42 (2012)
 - 11) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（15）, COSME TECH JAPAN, 3(1)：68-72 (2013)
 - 12) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験（16）, COSME TECH JAPAN, 3(2)：51-57(2013)
 - 13) Kojima, H.: The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM): Recent ICATM Contributions and Future Plans, ALTEX Proceeding, 1/12, Proceedings of WC8 (2012)
 - 14) Onoue S, Hosoi K, Wakuri S, Iwase Y, Yamamoto T, Matsuoka N, Nakamura K, Toda T, Takagi H, Osaki

N, Matsumoto Y, Kawakami S, Seto Y, Kato M, Yamada S, Ohno Y, Kojima H.: Establishment and intra-/inter-laboratory validation of a standard protocol of reactive oxygen species assay for chemical photosafety evaluation., J Appl Toxicol. (2012)

- 15) Seto Y, Hosoi K, Takagi H, Nakamura K, Kojima H., Yamada S, Onoue S.: Exploratory and regulatory assessments on photosafety of new drug entities., Curr Drug Saf. 7(2):140-8 (2012)
- 16) Stokes W, McFarland R, Kulpa-Eddy J, Gatewood D, Levis R, Halder M, Pulle G, Kojima H., Casey W, Gaydamaka A, Miller T, Brown K, Lewis C, Chapsal JM, Bruckner L, Gairola S, Kamphuis E, Rupprecht CE, Wunderli P, McElhinney L, De Mattia F, Gamoh K, Hill R, Reed D, Doelling V, Johnson N, Allen D, Rinckel L, Jones B.: Report on the international workshop on alternative methods for human and veterinary rabies vaccine testing: state of the science and planning the way forward. Biologicals. 40(5):369-81(2012)
- 17) 小島 肇, 西川秋佳: 日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) 平成23年度報告書、AATEX-JaCVAM1(1), 88-103 (2012)

2. 学会発表

- 1) 山本直樹、平野耕治、山下宏美、加藤義直、佐藤淳、水谷宏、中村政志、原和宏、宇佐美雅仁、谷川篤宏、堀口正之、谷口孝喜、小島 肇: 不死化角膜上皮細胞 (iHCE-NY) を用いた眼刺激性試験代替法に関する研究日本組織培養学会第85回大会、京都大学、京都 (2012.5)
- 2) 小島 肇: 動物実験代替法の国際的理解、日本実験動物科学・技術九州2012、別府国際コンベンションセンター、大分 (2012.5)
- 3) 小島 肇: 欧米、日本における代替法の現状と化粧品の安全性評価における代替法、未来へのバイオ技術勉強会 月例会、(一財) バイオインダストリー協会、東京 (2012.5)
- 4) 尾上 誠良、細井 一弘、若栗 忍、岩瀬 裕美子、山本 敏誠、松岡 奈央子、中村 和希、戸田 嗣人、高木 広憲、大崎 尚人、松本 康浩、川上 哲、世戸 孝樹、加藤 尚視、山田 静雄、大野 泰雄、小島 肇: ROS アッセイ多施設バリデーション: 物性からの光毒性リスク予測を目指して、日本薬剤学会第27年会、神戸国際会議場、兵庫 (2012.5)
- 5) Kojima, H.: Session: Regulatory Acceptance of Alternative Carcinogenicity tests (セッション: 発癌性試験代替法の行政的な受入れ) OECD Activities on the Cell Transformation Assays, World Congress on *in Vitro* Biology, 2012, Bellevue, Washington, USA (2012.6)
- 6) Kojima, H., Tanaka, N., Oshimura, M., Saito, K., Saito, F. and Imatanaka, N.: New Research Projects in Japan for Alternative to Repeated Dose Oral Toxicity Studies, EUROTOX 2012, Stockholm, Sweden (2012.6)
- 7) 小島 肇: シンポジウム: *in vitro*毒性試験法の探索毒性試験への展開、*in vitro*探索毒性試験の展望、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 8) 山口宏之、小島 肇、竹澤俊明: コラーゲンビトリゲル膜チャンバー内に再構築したヒト角膜上皮組織シート: 化学物質の眼刺激性評価指標としての経皮電気抵抗値の重要性、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 9) 松本康浩、尾上誠良、細井一弘、若栗忍、岩瀬裕美子、山本敏誠、松岡奈央子、中村和希、戸田嗣人、高木広憲、大崎尚人、川上哲、世戸孝樹、加藤尚視、山田静雄、大野泰雄、小島肇: 光安全性評価のためのROSアッセイ多施設バリデーション、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 10) 内野正、竹澤俊明、山下邦彦、小島肇、清水久美子、宮永裕子、五十嵐良明、西村哲司: ビトリゲルチャンバーを培養担体とする皮膚感作性試験代替モデルを構成する細胞のサイトカイン産生能について、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)