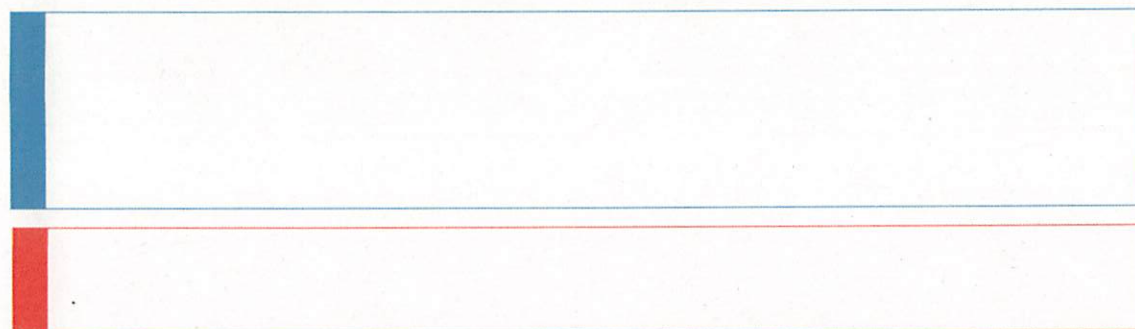


5. 非臨床試験



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
臨床研究・治験推進研究事業
先端医療開発を担う人材養成のための 標準化教育プログラムの策定と実践研究班

非臨床試験は従来の教育内容にはあまり含まれない分野であるので
体系的に網羅できるよう各説明は簡潔となっている。
職種、専門性により、追加する項目を検討する

非臨床試験の必要性

- ▶ 人で安全に投与できるために
- ▶ サリドマイド事件：米国では被害者は最小限であった
 - 米国FDAの審査官が、動物での胎児毒性の追加を要求（当時は義務づけられていなかった）、企業がこれを拒否すると妊娠中には服用しないことを使用上の注意に記載するよう要求
 - これにより審査が中断していた
 - Harris-Kefauver amendmentが成立し、米国FDAの非臨床試験（特に毒性試験）に関する権限が強化

▶ 非臨床試験が法規制されることとなった経緯

非臨床試験について

- ▶ 動物や人由来の細胞や組織を用いて (in vitro) 、あるいは動物を用いて (in vivo) 行う試験
- ▶ 候補製品についての評価・検証が行われる
- ▶ 非臨床試験の結果を人に外挿し、臨床試験実施の可否・留意点を判断
- ▶ 主な目的
 - ① 効果：薬効薬理試験
 - ② 安全性：安全性薬理試験、毒性試験（安全性試験）
 - ③ 薬物動態試験（ADME試験）

Absorption（吸収）	Distribution（分布）
Metabolism（代謝）	Excretion（排泄）

非臨床試験の定義

- ▶ 規制的には：承認申請に際し添付すべき下記の資料のデータ収集のために実施される試験
 - ① 急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、催奇形性その他の毒性に関する資料
 - ② 薬理学的作用に関する資料
 - ③ 薬物動態に関する資料

法的な定義

非臨床試験の用語

- ▶ 毒性試験：生体に対する好ましくない作用の諸性質を量的、質的に明らかにする試験
- ▶ 規制上の「毒性試験」：承認申請等の目的で実施される非臨床試験のうち、安全性に係わる試験
- ▶ 非臨床安全性試験：非臨床試験のうち、安全性に係わる試験
- ▶ 非臨床安全性試験は「毒性試験」＋「安全性薬理試験」
- ▶ 前臨床試験：治験開始に必要な非臨床試験

▶ 代表的な用語を説明
対象により適宜追加を考慮する

開発品目による非臨床試験の限界

- ▶ 医薬品：動物により毒性・有効性が異なる
- ▶ 医療機器：臓器の大きさ・形状の違い、体内環境の違い
- ▶ 再生医療等製品：免疫による拒絶、人での免疫反応が起きない、臓器・組織の大きさ・形状の違い

- ▶ 完全な人モデルは存在しないが、可能な限り人での外挿できるように試みる
- ▶ それぞれの製品で最も適した動物種は何かの検討が必要



薬効薬理試験

- ▶ 候補薬が、効果を有するかを検討する試験
- ▶ 対象とする疾患、投与経路等により試験の内容は異なる
(例) 抗がん剤は、がんの細胞株、担がん動物を用いる
- ▶ GLPは通常適用されない



毒性試験の意義

- ▶ 開発の判断材料
 - ▶ 臨床試験の初回投与量の決定
 - ▶ バイオマーカーの探索
 - ▶ 臨床試験での副作用の対応
 - ▶ 治験開始・承認申請のデータ
 - ▶ 添付文書での情報
-
- ▶ 毒性試験の多くはICHで規定されている（※各地域・国により若干異なる）



Safety：安全性（非臨床に関するガイドライン）

- ▶ ICH-S1 がん原性試験
- ▶ ICH-S2 遺伝毒性試験
- ▶ ICH-S3 トキシコキネティクスと薬物動態
- ▶ ICH-S4 毒性試験
- ▶ ICH-S5 生殖発生毒性試験
- ▶ ICH-S6 バイオテクノロジー応用医薬品
- ▶ ICH-S7 薬理試験
- ▶ ICH-S8 免疫毒性試験
- ▶ ICH-S9 抗悪性腫瘍薬の非臨床評価
- ▶ ICH-S10 光安全性評価
- ▶ ICH-S11 小児用医薬品開発の非臨床試験



急性毒性試験（単回投与毒性試験） ICH S4

- ▶ ほ乳類に被験製品を 1 回投与した時の、毒性を質的量的に明らかにする試験
- ▶ 投与経路は原則として臨床適用経路を用いる
- ▶ 得られる情報
 - ① 反復投与毒性試験での用量設定根拠
 - ② 臨床試験での初回投与量設定根拠
 - ③ 市販後に大量摂取した場合に想定される状態

反復投与毒性試験 ICH S4

- ▶ 哺乳動物に試験製品を繰り返し投与した場合の毒性を明らかにする
- ▶ 臨床試験の段階（後期ほど一般に投与回数が増える）、市販後の服用を考慮して投与回数を決める
- ▶ 単回投与毒性試験と原則用いる動物種は同一



NOAEL, MABEL

- ▶ NOEL (no-effect level) 無作用量：毒性試験において有害・無害を含めた影響が認められない最高の曝露量
- ▶ NOAEL (no-observed adverse effect level) 最大無毒性量、無毒性量：毒性試験において有害な影響を認めなかった最高の曝露量、一般に $NOAEL \geq NOEL$ であり、NOAELが用いられる傾向にある。臨床試験の初回投与量設定に用いられる
- ▶ 「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」：一般にヒト初回投与量は、最も感度の高い動物種を用いた非臨床毒性試験における無毒性量（NOAEL）をもとに、アロメトリック補正，あるいは，薬物動態情報に基づいて人等価用量（HED: Human Equivalent Dose）を算出し，さらに被験薬の特性や臨床試験デザインを踏まえた安全係数を考慮し設定される

▶ NOEL, NOAELの実例を挙げると理解しやすい

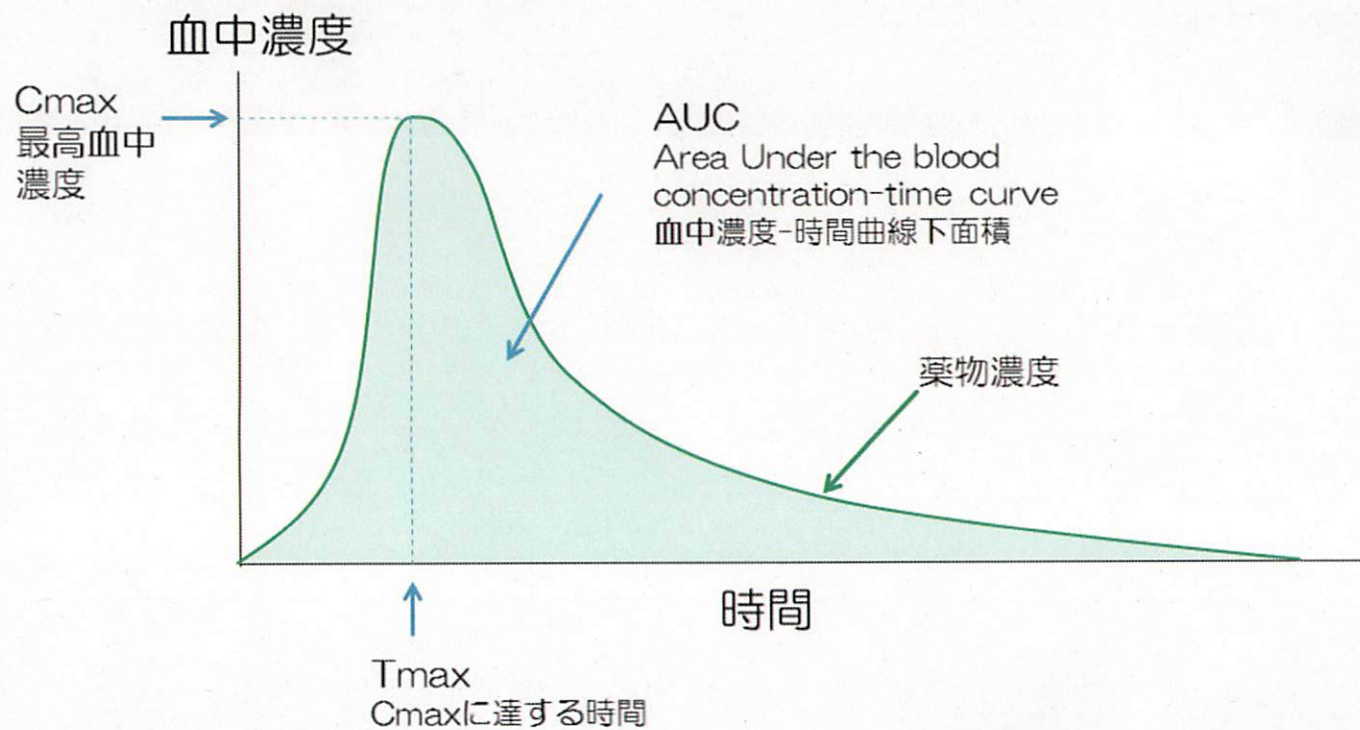
トキシコキネティクス ICH S3

- ▶ 毒性試験における全身的暴露の評価
- ▶ 全身的暴露の影響を評価するために薬物動態データを得ること
- ▶ 投薬後に経時的に採血し、候補薬の血中濃度を測定し各種薬物動態パラメーターを算出する
- ▶ 通常、毒性試験に組み込まれる
- ▶ げっ歯類は採血が全身状態に影響を与えるので、毒性を評価する群とは別に「サテライト群」を設定し採血する
- ▶ 下記がわかる：①毒性と血中濃度・各種パラメーターとの関連、②動物から人への血中薬物濃度等の外挿、③人での副作用の予測、④臨床試験での初回投与量設定

ここでげっ歯類が初めて登場する。

げっ歯類、非げっ歯類について説明が必要な場合には適宜説明を挟むと有用
スライド26にまとめがある

血中濃度（経口投与の場合）



薬理の簡単な説明
個々に記載した項目の説明は必要と考えられる
静注の血中濃度曲線と合わせて説明するのも有益

がん原性試験 ICH S1

- ▶ 動物においてがんを生じさせるかを明らかにする
- ▶ 「種、性、器官を超えて普遍的な発がん性がある」、「特定の種、特定の性、特定の器官で発がん性がある」、「発がん性を認めない」で検討する
- ▶ 上記により発がんのメカニズム、動物と人での投与量等を考慮して開発を検討
- ▶ 実施が必要な医薬品：発がんが懸念される場合、長期投与される医薬品



遺伝毒性試験 ICH S2

- ▶ 候補薬が直接的あるいは間接的に遺伝的障害を引き起こすかを検出する試験
- ▶ 臨床試験の実施に必要な遺伝毒性試験の種類は試験の相によって決まる (ICH M3)
- ▶ 試験の種類
 - ① 細菌を用いる in vitro試験 (Ames試験)
 - ② 哺乳動物培養細胞を用いた染色体異常試験、あるいはマウス・リンフォーマTK試験 (in vitro試験)
 - ③ げっ歯類を用いる小核試験 (in vivo試験)



生殖発生毒性試験 ICH S5

- ▶ 候補薬が、親動物の生殖能力及び胎児発生の過程に悪影響を及ぼすかを確認する試験
- ▶ 親動物の影響：生殖器官、生殖関連内分泌器官、生殖行動、受胎、妊娠の継続、分娩、授乳行動等
- ▶ 次世代（胎児）の影響：胚発生率、胎児発生、胎児発育、奇形発生率、出生率、新生児の発育と成長、生殖能力等
- ▶ いくつかの段階に区分し、一般的には①受胎から着床までの初期胚発生試験、②出生前と出生後の発生及び母動物の機能試験、③胚、胎児発生に関する試験



免疫毒性試験 ICH S8

- ▶ 候補薬の免疫毒性を検出する試験
- ▶ 動物で人の免疫系を再現することは不可能であるため実施全ての候補薬で実施が義務づけられてはいない
- ▶ 免疫系の①亢進、②抑制、の観点から検討する



皮膚光感作性試験 ICH S10

- ▶ 被験薬の成分が皮膚で太陽光（紫外線）があたることによって生じる特異的な免疫システムの誘導と、その結果発生する皮膚反応（発赤、水疱、色素沈着等）を試験する



安全性薬理試験 ICH S7

- ▶ 治療用量及びそれ以上の曝露に関連した被験物質の生理機能に対する潜在的な望ましくない薬力学的作用を検討する試験
- ▶ 目的：ヒトの安全性に関連のあると思われる被験物質の望ましくない薬力学的特性を特定すること、毒性試験もしくは臨床試験で認められた被験物質の有害な薬力学的もしくは病態生理学的作用を評価すること、これまで認められたもしくは危惧される薬力学的有害作用の機序を検討すること
- ▶ コアバッテリー試験：生命維持に重要な影響を及ぼす器官系（中枢神経、循環器、呼吸器等）における被験物質の作用を検討することを目的とする安全性薬理試験



抗がん剤の非臨床試験 ICH S9

- ▶ 多くの抗がん剤は、致死的であり生存期間も限られ開発の緊急性が高い、毒性のために健常人では試験ができない、多くの薬剤で遺伝毒性を有する
- ▶ 進行がんを対象とした場合、治験実施のために遺伝毒性試験は必須ではない
- ▶ 進行がんを対象とした場合、承認申請にはがん原性試験は必要とされない

抗がん剤の初回投与量の決定

- ▶ MABEL (Minimum Anticipated Biological Effect level)
最小予測生物学的影響量：免疫系に対しアゴニスト作用を有するバイオ医薬品で初回投与量決定に推奨される
- ▶ 低分子医薬品では、げっ歯類で供試動物の10%に重篤な毒性が発現する投与量 (STD10) の1/10量を初回投与用量として設定するのが一般的。非げっ歯類が最も適切な動物種である場合には、重篤な毒性が発現しない最大投与量 (HNSTD) の1/6量が、初回投与量として適切

その他のICH Sガイドライン

- ▶ ICH S6 : バイオテクノロジー応用医薬品
適用 : タンパク、ペプチド、抗体
基本原則が参考 : ペプチドミミック、核酸医薬
- ▶ ICH S11 : 小児用医薬品開発の非臨床試験



マイクロドージング、マイクロドーズ試験

- ▶ ごく微量の化合物をヒトに単回投与し、候補化合物から最適化合物をスクリーニングする為に実施する臨床試験
- ▶ 人において薬理作用を発現すると推定される投与量の1/100を超えない用量又は100 μ gのいずれか少ない用量の被験物質を、健康な被験者に単回投与する
- ▶ より効率的に有効な薬物を探索することを目的とする
- ▶ ①候補化合物の人での分布を調べる、②PETイメージングや高感度分析により受容体の性状を調べる

動物種を選択と選択理由

- ▶ 非臨床試験データを人に外挿するため、最も適した動物種を選ぶ必要がある
- ▶ 動物により、薬物感受性が異なる、寿命が異なる、大きさが異なる（採血、投与に影響）、遺伝子治療・ウイルス療法では感染性が異なる



げっ歯類・非げっ歯類の選択

- ▶ げっ歯類：マウス、ラット、ハムスター
- ▶ 非げっ歯類：イヌ、サル、ウサギ、ミニブタ

単回投与毒性試験	2種以上、1種はげっ歯類、1種はウサギ以外の非げっ歯類
反復投与毒性試験	2種、1種はウサギ以外の非げっ歯類
遺伝毒性試験・小核試験	げっ歯類：マウスまたはラット
生殖発生毒性試験	ラット
がん原性試験	げっ歯類
再生医療等製品	人に投与した場合、一定期間生着が見込めるもの→免疫不全動物を用いる場合（マウス、ラット）、免疫抑制剤を用いる（大型動物）

GLP (Good Laboratory Practice)

- ▶ GLP

 - 省令としてのGLP

 - GLPの概念

 - GLPの構成要素

 - GLPによる質の担保

 - GLPの文書体系

 - GLP準拠試験受託企業

- ▶ 研究室レベルでの実験



以降のスライドの項目立て

GLP (Good Laboratory Practice)

- ▶ 動物実験などのうち、医薬品、医療機器、農薬、飼料添加物、動物用医薬品、動物用医療機器、化学物質などの承認申請のために行われる安全性に関する非臨床試験実施に関する「試験実施規範」
- ▶ 医薬品、医療機器、再生医療等製品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（省令）が定められている
- ▶ 非臨床試験を実施する際に守るべき信頼性保証のために定められる
- ▶ 試験所に適応され、「優良な試験所の基準」となる
- ▶ ハード面とソフト面から構成



GLPの適用

- ▶ 薬効薬理試験はGLP適用試験である必要はない
- ▶ 非臨床安全性試験は通常GLP適用試験であることが求められる
- ▶ （例外）先端的な治療概念の治療法（例：がん治療用ウイルス）では完全にGLP準拠で実施できる企業がなく、可能な限りGLPに準拠した形で行う場合もある



GLP省令

第1章 総則

第1条 趣旨

第2条 定義

第3条 試験の実施に係る基準

第4条 試験委託者の責務

第2章 職員及び組織

第5条 職員

第6条 運営管理者

第7条 試験責任者

第8条 信頼性保証部門

第3章 試験施設及び機器

第9条 試験施設

第10条 機器

第4章 試験施設等における操作

第11条 標準操作手順書

第12条 動物の飼育管理

第5章 被験物質等の取扱い

第13条 被験物質及び対照物質の
取扱い

第14条 試薬及び溶液

第6章 試験計画書及び試験の実施

第15条 試験計画書

第16条 試験の実施

第7章 報告及び保存

第17条 最終報告書

第18条 試験関係資料の保存

第8章 複数の場所にわたって実施 される試験

第19条 遵守事項

GLPの構成要素（ハード面とソフト面）

▶ ハード面に関する規定

- ① 試験施設内の各種設備の構造、広さ、配置等に関する規定
- ② 試験データの収集、測定、または解析に使用される機器及び施設の環境制御に使用される機械等に関する規定

▶ ソフト面に関する規定

- ① 試験施設の職員及び組織
- ② 試験の適正実施、信頼性の確保のための社内調査
（信頼性保証部門責任者の設置）
- ③ 試験操作等の標準化
- ④ 被験物質及び対照物質の取扱い
- ⑤ 試験計画の立案、実施
- ⑥ 試験の報告及び記録等の保存



GLPによる質の担保

- ▶ 我が国では、GLP（適用）試験は、通常は有効な「GLP適合確認書」を保有する施設で、GLP適用下で実施された試験を指す
- ▶ GLP適合確認書は、PMDAによるGLP適合性試験を受け、合格した後に発行される
- ▶ GLPに準拠したと主張しても、GLP適合確認書を有さない施設で実施した場合、GLP試験と見なされないこともありえる

▶ 委託先の選定に際しては必須の確認事項

GLPの標準業務手順書

第十一条 運営管理者は、次に掲げる事項に関する実施方法及び手順を記載した標準操作手順書を作成しなければならない。

- 1 被験物質及び対照物質の管理
- 2 施設設備又は機器の保守点検及び修理
- 3 動物飼育施設の整備
- 4 実験動物の飼育及び管理
- 5 実験動物の一般症状等の観察
- 6 試験の操作、測定、検査及び分析
- 7 ひん死の動物及び動物の死体の取扱い
- 8 動物の剖検及び死後解剖検査
- 9 標本の採取及び識別
- 10 病理組織学的検査
- 11 生データの管理
- 12 信頼性保証部門が行う業務
- 13 試験従事者の健康管理
- 14 その他必要な事項

試験計画書

第十五条 試験責任者は、試験ごとに、次に掲げる事項を記載した試験計画書を作成し、運営管理者の承認を受けなければならない。

- 一 表題と試験目的
- 二 試験施設の名称及び所在地
- 三 試験が委託された場合にあっては、試験委託者の氏名及び住所（法人にあっては、その名称及び主たる事務所の所在地）
- 四 試験責任者の氏名
- 五 被験物質及び対照物質に関する事項
- 六 試験系に関する事項
- 七 試験の実施方法に関する事項
- 八 生データの解析に使用する統計学的方法に関する事項
- 九 その他保存される記録及び資料に関する事項
- 十 運営管理者及び試験責任者の署名又は記名押印及びその日付
- 十一 その他試験の計画のために必要な事項

2 試験責任者は、試験計画書を変更する場合には、その日付、変更箇所及び理由を文書により記録し、これを署名又は記名押印の上試験計画書とともに保存しなければならない



組織：GLP適合性調査 チェックリストより

- ▶ 運営管理者
- ▶ 試験責任者（指名対象となり得るすべての職員を記載
- ▶ 資料保管施設管理責任者
- ▶ 被験物質等取扱責任者（定められている場合）
- ▶ 動物飼育管理責任者（定められている場合）
- ▶ 病理検査責任者（定められている場合）及び病理組織学的検査における検鏡実施者（対象となる者がいる場合）
- ▶ 信頼性保証部門（QAU）を担当するすべての者
- ▶ 機器管理責任者（定められている場合）
- ▶ その他の責任者（定められている場合）



GLP準拠試験受託企業

- ▶ GLPに準拠するためにはハード面とソフト面での要求を満たす必要がある
- ▶ GLP適合施設となるためには、PMDAのGLP適合性調査を受ける必要がある。
- ▶ 実験動物種を継続的に確保する必要がある

→

- ▶ GLP準拠試験受託企業が存在し、GLP試験を受託している
- ▶ 企業により開発品目、動物種により得手不得手がある



自施設の経験を含めると理解しやすい。

研究室での実験とGLP適応試験の差異

- ▶ GLP適合施設となるためには、ハード面・ソフト面で整備・運営し「GLP適合確認書」を取得する必要がある
- ▶ 実際には、アカデミアで非臨床安全性試験を実施するためのGLP適合施設となることは困難である
- ▶ TR開発においては、薬効薬理試験等を研究室で行うことがあるため、記録、組織、構造等GLPを念頭において研究を行う体制が必要と考えられる
- ▶ GLPとは、非臨床試験段階という開発初期の閉ざされた状況でも、そのデータの再現性を保証する意図もあることに留意する



医療開発における非臨床試験の現状

- ▶ GLP試験は、受託試験機関に委託する
- ▶ 必要な試験及び内容は対面助言で確定するが、PMDAあるいは受託試験機関と詳細まで議論できる専門家はアカデミアでは少ない
- ▶ 通常の実験と同様に実施し、特に試験デザイン、記録の面でPMDAに提出できる資料とならないことが多い
- ▶ 治験で用いるものと同等の製品の規格決定及び製造、対面助言での実施すべき非臨床試験の決定、非臨床試験の委託と結果の受領までに時間を要し、多くの外部資金の研究機関内で終了しないことが多い



動物モデルの限界

- ▶ 特に再生医療等製品では、人由来細胞を用いることから、免疫不全動物を利用する必要があるが、人とは異なる環境に置かれる（サイトカインや栄養素、血球の形態等）
- ▶ がん免疫療法等では、人の免疫反応を動物で再現できない
- ▶ がん治療用ウイルスは人細胞への感染のみを示すことが多く、動物細胞に感染しないため毒性の評価が困難
- ▶ 臨床適用経路の観点から大動物を用いる場合は免疫抑制剤を使用することが多く、薬剤の影響を受けやすい
- ▶ 疾患モデル動物を使用した場合、正常マウスと検査値や生体反応が異なることがある



免疫不全モデルの特徴

造腫瘍試験、単回投与/反復投与毒性試験等試験の種類、
用いる製品によって使用種を考慮する必要がある

- ▶ ノードマウス：胸腺の劣化・欠損で成熟T細胞の欠損
- ▶ SCIDマウス：T/B細胞の欠損
- ▶ NOGマウス：T/B細胞の欠損、補体活性の減衰、マクロファージ機能不全、NK細胞の欠損、樹状細胞の機能不全
- ▶ ノードラット

利用できる動物種、GLP受託企業で取り扱う動物種に留意
する必要がある

研究者、PIを対象とする場合、各マウスの特徴を含めることを検討する。
多くの再生医療等製品ではNOGマウスを用いることが多い

可能な限りでの非臨床試験対応

- ▶ 人とは異なる動物種で、可能な限り人に外挿するために情報を収集するのが非臨床試験
- ▶ 最適な種類や試験を検討するためには、海外規制当局からの情報、文献、CRO及びPMDAとの交渉から十分に検討する必要がある（薬事戦略相談は、相談者側の見解について助言を与えるものであり、オープン・クエスチョンに助言を与えるものではない）
- ▶ 実施には、種特異的な反応により他の種で試験を改めて実施することも珍しくない

自施設の経験を含めると理解しやすい。