

マイクロドーズ臨床試験の安全性

馬屋原 宏
(株)国際医薬品臨床開発研究所

Safety of microdose clinical trials

Hiroshi Mayahara
International Clinical Research Organization for Medicine

Abstract

A microdose clinical trial is defined as the initial clinical trial conducted for the purpose of pharmacokinetic screening of the best candidate product among (several) candidates. It is conducted without following the ICH-M3 guideline, "The timing of non-clinical safety studies for the conduct of clinical trials". The dosages used in the microdose clinical trials are limited to less than one hundredth of the dose calculated to yield a pharmacological effect of the test substance based on primary pharmacodynamic data obtained *in vitro* and *in vivo*, and at a maximum dose of 100 µg. This is to minimize the risk of adverse events in the trials and to decrease the regulatory burden of supporting them. In the present study, the safety of microdose clinical trials and the non-clinical safety studies to support the trials are discussed from various points of view, such as TTC (Threshold of Toxicological Concern) of genotoxic impurities and the thresholds of carcinogenicity of chemicals. Due to the extremely low dosage used in the microdose clinical trials, the study concludes that the safety of a single microdose clinical trial can be secured if single-dose toxicity studies with two animal species are conducted as the minimum requirement. Other non-clinical safety studies should be considered on a voluntary basis only when special safety concerns are present.

Key words

microdose, clinical trials, non-clinical safety studies, TTC, Threshold of carcinogenicity

Rinsho Hyoka (Clinical Evaluation) 2006 ; 33 : 679 - 94.

はじめに

創薬ターゲットの多様化により新薬候補化合物の種類と数が増加の一途をたどる一方、臨床試験を開始した候補化合物のうち、上市にこぎつけるものの割合(臨床開発成功率)は低下しつつあり、これらの結果として新薬開発費用が年々高騰を続けている^{1,2)}。マイクロドーズ臨床試験は、このような情勢への対応策の一つとしてヨーロッパ連合(EU)及び米国政府によって行政主導で認可された初期の臨床試験(スクリーニングPhase I 試験³⁾、Phase 0 試験、あるいはfirst in human 試験)の一種であり、2003年に最初にEUで認可され^{4,5)}、続いて2006年に米国でも認可された⁶⁾。

各フェーズの臨床試験の実施に必要な非臨床試験とその実施時期は、ICH(医薬品規制の調和のための国際会議)において定められたICH-M3ガイドライン(臨床試験の実施のための非臨床試験の実施時期のガイドライン⁷⁾)に記載されている。しかし、このガイドラインは日・米・欧間で合意されない部分があつてもあり、結果として日本では臨床試験の前に欧米よりも多くの、あるいはより長期の非臨床試験の実施が要求されていた^{3,5,7,8)}。しかもその後のEUによるマイクロドーズ臨床試験の認可によって、ICH-M3ガイドラインに従わないスクリーニングPhase I 試験の認可に関してEUとFDAが歩調をそろえたこと、更に最近FDAがExploratory-IND⁶⁾を認可したことによって、初期臨床試験の認可条件における欧米と日本の地域差が更に拡大した。このため、国内でもICH-M3ガイドラインの改訂によるマイクロドーズ臨床試験の認可を要望する声が高まっている⁹⁾。また、2006年春のICH会議のBrainstorming Sessionにおいて、ICH-M3ガイドラインの見直しの方針が確認され、マイクロドーズ臨床試験やExploratory-INDを含む早期臨床試験も見直しの対象項目に挙がっている⁹⁾。このため、マイクロドーズ臨床試験は数年以内に日本に導入されると予想される。

マイクロドーズ臨床試験を国内においても実施

可能とするためにはマイクロドーズ臨床試験の安全性を検討し、その国内実施に必要な非臨床安全性試験の種類や内容を確定させ、必要ならばICH-M3ガイドラインを改定しなければならない。本論文の目的は、マイクロドーズ臨床試験の早期国内認可に資するため、マイクロドーズ臨床試験の安全性を種々の論点から検討し、マイクロドーズ臨床試験の実施に必要と考えられる非臨床試験の種類や内容を考察することにある。

1. EU型マイクロドーズ臨床試験とその実施要件

2003年1月、EUのEMA(欧州医薬品庁)は、Position Paper(政策方針書、以下PP)によってマイクロドーズ臨床試験^{4,5)}を認可した。マイクロドーズ臨床試験は、一般的な臨床試験を実施するための要件として日・米・欧で定めたICH-M3ガイドライン⁷⁾に記載された非臨床安全性試験の基準よりも少ない種類あるいは内容の安全性試験のもとに単回投与の臨床試験を実施可能にしたもので、その目的は、候補化合物の薬物動態学的スクリーニングや画像診断による新薬の開発をより合理的かつ効率的にし、新薬開発の時間とコストを削減することにある。非臨床安全性試験を軽減するための条件として、マイクロドーズ臨床試験における投与量は人体に薬効も毒性も生じないと考えられる極微量(予想臨床薬効量の100分の1未満かつ100 µg/human以下)に制限し、投与回数も1回に限定している。

健康成人を対象としたマイクロドーズ臨床試験は主に規制当局の審査を必要としない英国において1997年頃からEC(倫理委員会)の承認のもとで実施されてきたが¹⁰⁾、2001年にEU域内の医薬品規制を統一する目的でEU Directive 2001/20/ECが布告され、3年後の2004年5月からEU域内の全ての臨床試験が規制当局による事前審査の対象となった。このため、マイクロドーズ臨床試験も新たに規制の対象となり、上記PPが通知された⁵⁾。

EU型のマイクロドーズ臨床試験においては、

被験物質は通常、 ^{14}C でラベルされ、血漿中（あるいは尿中、糞中）薬物濃度はAMS（加速器質量分析法）で測定される。得られる情報は、総放射能のマスバランス、あるいはクロマトグラフィーを併用した場合は未変化体や代謝物のAUC、 $T_{1/2}$ 、 C_{max} 、 T_{max} 、分布容積、初回通過効果、生物学的利用率等である。これらの情報は複数の候補化合物の中からの最適化合物のスクリーニングに役立つだけでなく、ヒト特異的代謝物の早期発見にも役立つ。一方、薬物の臓器内局在、画像診断による薬の開発あるいは画像診断薬自体の開発には、被験薬を ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{18}F 等のポジトロン核種でラベルしておき、PET（陽電子放射断層撮影法）が使用される。

マイクロドーズ臨床試験の実施に必要な非臨床試験は、ICH-M3ガイドライン⁷⁾に準拠するが、in vitroの薬物代謝データ及びin vitroの薬動学的影響の比較データによって種の選択が正当化されるならば、安全性薬理試験、単回投与毒性試験、及び反復投与毒性試験のセット（2動物種、計5試験）を、拡張型単回投与毒性試験（1動物種、1試験）によって置換可能である。この「拡張型単回投与毒性試験」は、かつて1996年にFDA¹¹⁾がスクリーニングPhase I試験を認可したときに初めてFDAにより提唱されたものである。FDAは拡張型単回投与毒性試験のガイダンスを作成しなかったため、この試験の内容をPPという独立した文書にして、ガイドライン風に詳細に記載した点において、EUのマイクロドーズ臨床試験はFDAのスクリーニングPhase I試験の改良版であるといえる⁵⁾。拡張型単回投与毒性試験においては、通常の（ICH-M3基準の）単回投与毒性試験では要求されない1日後と14日後の血液検査・血液生化学的検査及び病理組織学的検査が要求される⁴⁾。EU型のマイクロドーズ臨床試験の要件である拡張型単回投与毒性試験では、通常の被験物質では明白な毒性を明らかにする必要があり、低毒性の被験物質ではヒトとの安全域が1,000倍あることを示す必要がある⁴⁾。すなわち低毒性の場合、ヒトにおける投与量は、動物で安全性が確認された最高投与量の

1,000分の1までとなる。

拡張型単回投与毒性試験のほかには遺伝毒性試験（*in vitro* 2種）及び必要に応じ局所刺激性試験が必要である。この他に、生命維持に特に重要な器官の機能に関する入手可能な全ての背景情報（例えばHERGチャンネルや活動電位などに対する影響等）も必要である。

2. 米国型マイクロドーズ臨床試験とその実施条件

1996年にFDAが認可したスクリーニングPhase I試験¹¹⁾は、一時運用が停止された後、スクリーニングIND制度¹²⁾となり、2005年末まで運用されてきたが、この制度も欠陥が多く、殆ど利用されていないとして、その改良版であるExploratory-IND（以下探索IND）ガイダンス⁶⁾が2006年1月、FDAから発表された。このガイダンスには以下の3種の初期臨床試験が含まれていて、EUのマイクロドーズ臨床試験よりも多様性に富んでいる：

- i) マイクロドーズ臨床試験（米国型のマイクロドーズ臨床試験）
- ii) 薬理学的臨床至適用量決定のための初期臨床試験
- iii) 作用機序（MOA）検討用の臨床試験

米国型のマイクロドーズ臨床試験の投与量の上限や投与回数はEUの場合と同じである。但し、米国のガイダンスにはEUのガイダンスにはない、「タンパクは、合成薬との分子量の相違により、投与量の上限を30 nanomoles以下とする」の文言がある。実施に必要な非臨床試験としては、EUと同様に「拡張型単回投与毒性試験」を推奨している。しかし、その中で要求はEUと異なる。すなわち、非臨床安全性試験においては最小限の毒性の発現を確認するか、またはたとえば100倍の安全域を確認すればよい⁶⁾（EUでは明白な毒性もしくは1,000倍の安全域を確認する必要がある）。また、マイクロドーズは環境からの曝露と同程度であるという理由から、遺伝毒性試験も安全性薬

理試験も不要としている。EUのPPにある、安全性薬理学的背景情報の必要性に関する言及もない。すなわち、米国型マイクロドーズ臨床試験ではEU型よりも一層の規制緩和がなされている。

3. マイクロドーズ臨床試験の安全性に関する検討

一般に薬物の毒性には急性毒性、慢性毒性及び特殊毒性（遺伝毒性、がん原性など）がある。マイクロドーズ臨床試験は単回投与なので、慢性毒性は無関係である。そこで、マイクロドーズ臨床試験の安全性を、マイクロドーズの投与により急性毒性が危惧されるかどうか、及びマイクロドーズの投与による、遺伝毒性やがん原性のリスクはあるかどうかについて検討する。後者は、遺伝毒性物質のTTC（Threshold of Toxicological Concern、毒性学的懸念の閾値）に関する最新の規制との比較、及び発がん性の閾値との比較の両面から考察する。

3.1 急性毒性との比較による考察

マイクロドーズの投与量がどれほど微量であるかを直感的に理解するために、筆者ら¹³⁾は、マイクロドーズ臨床試験の投与量の100 µg/humanをOTC薬の風邪薬の1日用量の約1.5 gと比較し、その15,000分の1であると説明している。「マイクロドーズの上限値の100 µg/humanは、毎日欠かさず摂取した場合、15,000日間、つまり41年間以上も摂取し続けて、その合計投与量がようやく普通の風邪薬の1日投与量となる量である」と言えば、その微量さと、よほどの猛毒物質でなければ安全性を危惧する必要が無いであろうことが実感できよう。

日本でも規制当局によるマイクロドーズ投与の安全性に関する文献的検討が始まり、その結果の一部が2005年6月の第32回日本トキシコロジー学会学術年会で中間報告されている¹⁴⁻¹⁶⁾。大野¹⁴⁾は、文献調査により単回投与での致死量が100 mg/kg以下の約400物質について、LD50とそれ

らのマイクロドーズ試験で投与される用量を比較し、2 µg/kg以下で致死的なのはボツリヌストキシンとダイオキシンだけであり、これらのような例外的に強い急性毒性物質を排除するために、単回投与毒性試験は必要であると報告した。また、広瀬ら¹⁵⁾は、化審法申請物質約700物質を調査し、NOEL（No Observed Effect Level、無作用量）がマイクロドーズ以下のものが約20種あるが、うち半数はLD50（半数致死量）が1,000 mg/kg以上で、危険のすくないものであり、LD50とNOELの相関性は低いと報告した。また、笛木ら¹⁶⁾は、承認申請された新薬の調査データを解析し、制がん剤、活性型ビタミン、あるいはホルモンなどの生理活性物質にはマイクロドーズでも何らかの薬理活性や毒性が見られるものがあるが、マイクロドーズ臨床試験の実施要件の一つである予想臨床投与量の100分の1未満という条件によって、その予想臨床投与量の計算値に大きな間違いが無ければ、これらの薬物はマイクロドーズ臨床試験の対象から除外されるため、マイクロドーズ臨床試験の安全性に特に問題は無いようであり、また、拡張型単回投与毒性試験は必要ないかもしれないと報告した。

以上の検討結果を要約すると、通常型の単回投与毒性試験を実施しておけば、急性毒性の観点からは新薬候補化合物の単回のマイクロドーズ臨床試験の安全性は確保されると考えられる。ただし、ヒト特異性が極めて高いヒト化モノクローナル抗体の場合など、種差が大きい場合は、別に慎重な扱いが必要である。これについては4項で論じる。

3.2 遺伝毒性物質のTTC（Threshold of Toxicological Concern）との比較による考察

TTC（毒性学的懸念の閾値）とは、全ての化合物に関し、その化合物特有の毒性の有無にかかわらず、それ以下ではヒトの健康にリスクを与えないと考えられる1日許容摂取量をいう¹⁷⁻²⁰⁾。以下、単回マイクロドーズ臨床試験の安全性を、医薬品

に不純物として含まれる遺伝毒性物質に関する規制であるTTCの基準値に関する最新の規制の面から検証する。

2006年6月、EUのEMA（欧州医薬品庁）は、医薬品中に不純物として含まれる遺伝毒性物質の1日許容摂取量に関するガイドライン¹⁷⁾を発表した。4年間の検討を経て最終化されたこのガイドラインでは、医薬品に含まれる不純物を二つのカテゴリーに分けて、それぞれについてヒトの1日許容摂取量を記載している。カテゴリー1は閾値と関連したメカニズムの証拠を十分に備えたもの、カテゴリー2は閾値と関連したメカニズムの証拠を十分に備えていないものである。カテゴリー1に属する化学物質には、細胞分裂時の紡錘系への作用、topoisomerase阻害、DNA合成阻害、防衛機構の過負荷、生理学的かく乱等の作用機序をもつものが含まれる。カテゴリー1の化学物質の場合には、EUガイドラインは最適の動物種を選び、NOEL（無作用量）あるいはLOEL（Lowest Effect Level、最小作用量）及び適切なUF（Uncertainty Factor、不確実係数）を用いて1日許容摂取量を求めるよう勧めている。

ほとんど全ての新薬候補化合物は開発の初期段階ではカテゴリー2に分類される。EUガイドラインは、カテゴリー2の医薬品中に不純物として含まれる遺伝毒性物質の許容摂取量のTTCの考え方を採用して、上限を1.5 µg/human/dayとしている。

放射線や化学物質の発がん性に閾値があるかどうかは古くから議論されてきた。後述のように閾値の存在を裏付ける報告が最近増えてはいるが、現時点においても遺伝毒性発がん性物質の作用に閾値があるとする決定的な理論はなく、その値を算出するための一般的方法もない¹⁸⁾。したがって歴史的に、規制当局は遺伝毒性発がん性物質の規制に際して、安全保証の立場から化学物質の発がん性には閾値が無いとする立場で実質安全量（VSD, Virtually Safe Dose）、規制上の閾値（TOR, Threshold of Regulation）、あるいは許容1日摂取量（ADI, Acceptable Daily Intake）などの規制値を決めざるを得なかった。

最近ではVSD、TORあるいはADIに代わって、TTC（Threshold of Toxicological Concern、毒学的懸念の閾値）がよく使用される。TTCは化学物質の遺伝毒性には閾値が無いと仮定し、ヒト生涯の発がんリスクが100万分の1以下であればそのリスクは無視できるとして計算した量であり、通常1.5 µg/human/dayとされる¹⁷⁻²⁰⁾。この危険率100万分の1以下、1日許容摂取量1.5 µg以下という数値は、もともと米国FDAが食品と接触する容器や包装から食品に移行する遺伝毒性物質の1日許容摂取量の上限値として定めた数値であるが¹⁹⁾、その後食品添加物や医薬品中の不純物にもTTCの概念の適用が一般化してきた。

TTCの概念による1日許容摂取量の1.5 µg以下という数値に、どのような根拠があるかという点、米国では毎年約100万人のがん患者が発生するので、特定の薬物を生涯にわたって摂取した場合の新たながん患者の発生率が、この100万人に対し年に1人以下であれば無視できるとして定められた実質的安全量（VSD）を根拠とするものであった。FDAは、この決定に際し数百種のがん性物質のがん原性試験の成績を用い、混餌または飲水中の薬物濃度が0.5 ppb（1 ppbは10億分の1）であれば、その濃度はそれらのがん性物質の殆どが有害作用を示さない投与量に対し2,000倍以上の安全係数を持ち、例外的な一部に対しても安全係数が200以上であることを確認した。ヒトの1日の固形食物摂取量を1,500 g、液体の摂取量を1,500 mlと仮定し、これらが共に0.5 ppbの不純物を含むと仮定した場合、不純物の1日摂取量は3,000 g × 0.5 ppb = 1.5 µgとなり、これを1日許容摂取量と定めた^{18, 19)}。

このTTC値1.5 µg/human/dayをマイクロドーズの上限値100 µg/human/dayと比較すると、被験物質が遺伝毒性陽性物質であれば、そのマイクロドーズはEUガイドラインに記載された1日許容摂取量の上限1.5 µgの約75倍高い。しかしここで注意すべきは、この1.5 µg/human/dayという許容量が生涯摂取の場合の1日許容摂取量であり、生涯摂取と単回投与の間には（寿命70年とし

て)合計投与量で $365 \times 70 = 2万5千倍$ 以上の差があることである。したがって、単回投与の場合の許容摂取量は $1.5 \mu\text{g}$ よりも相当大きな値になるはずである。事実、このEUガイドライン¹⁷⁾には、「ある種の状況、例えば投与期間が短い場合、生命を脅かす疾病の治療の場合、余命が5年以内の場合などは $1.5 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ よりも大きな1日許容摂取量が許される」と書いてある。しかし、残念ながらこのガイドラインには単回投与の場合の1日許容摂取量の具体的な数値は示されていない。その理由は恐らく、このガイドラインが市販後長期使用される医薬品に含まれる不純物を規制することを目的としているためと考えられる。

ところが最近、遺伝毒性物質の1日許容摂取量に関し、上記EUガイドラインの不記載部分を補い、投与期間に応じた1日許容摂取量を段階的に論じた重要な論文²⁰⁾がMuellerを筆頭とするPhRMA(米国製薬協)のグループによって発表された。この論文には世界のトップ製薬企業の24名の著者が名を連ねており、その中にはICHの元FDA代表であったDeGeorgeも含まれている。この論文によれば、生涯投与の場合の医薬品に含まれる遺伝毒性不純物の1日許容摂取量をEUガイドラインと同じく $1.5 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ とし、EUガイドラインに記載が無かった投薬期間が1ヶ月まで、1ヶ月超3ヶ月まで、3ヶ月超6ヶ月まで、6ヶ月超1年まで、及び1年超の投薬期間の場合に、許容摂取量を段階的にそれぞれ120, 40, 20, 10, 及び $1.5 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ とした。これらの数値がどのように算出されたかといえば、発がん性のリスクを遺伝毒性物質の総投与量に比例すると仮定して、投薬期間が1年の場合、その許容1日摂取量は単純計算では寿命を70年として、 $1.5 \mu\text{g} \times 70 = 100 \mu\text{g}/\text{human}$ となるところを10倍の安全域を取って $10 \mu\text{g}/\text{human}$ とし、以下6ヶ月までをその2倍の20, 3ヶ月までを4倍の40, 1ヶ月までを12倍の $120 \mu\text{g}/\text{human}$ としたものである。マイクロドーズ臨床試験の投与上限量の $100 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ は、このPhRMA論文の1ヶ月以内投薬の場合の許容摂取量の $120 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ 以下と

いう基準を満たしている。しかもこの $120 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ は1ヶ月投与の場合の計算値であり、単回投与の場合はさらに余裕があることになる。ただし、約30倍の安全域があるとか、これを先の10倍の安全域に積算して、合計300倍の安全域があると単純にいうことはできない。なぜなら上記計算はDNA障害性が薬物の合計投与量に比例する、すなわち線形性を有するとの仮定に基づいて計算された結果であるが、強い毒物の場合、投与量の増加が代謝・排泄機能の飽和や毒性の出現によるクリアランスの低下をもたらす、結果的に血中薬物濃度の非線形的上昇をもたらす可能性があり、毒性の出現や程度を線形と仮定しての議論は不適切だからである。

マイクロドーズ臨床試験の投与上限量の $100 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ と、PhRMAグループ論文の1ヶ月以内投薬の場合の許容摂取量の $120 \mu\text{g}/\text{human}/\text{day}$ が近いことから、余り安全域がないと感じられる人もあるかもしれないが、元々この数値が、100万人に一人以下のがん患者の増加率というリスクを基に計算されていることを考えるべきである。高齢化社会となり、死因の3人に1人はがんといわれ、他の病気が原因で死亡する人も、殆どが腫瘍を持っているといわれる現代では、この100万人に一人以下のがん患者の増加率というリスクは、非現実的とも言えるほどの保守的な数値であり、その基準より低ければ安全性に危惧すべき問題はないと考えられる。

以上の検討結果を要約すると、遺伝毒性物質のTTCに関する最新のEUガイドライン¹⁷⁾の不記載部分を投薬期間に対応させて段階的に補うPhRMAグループの論文²⁰⁾に照らして、マイクロドーズは1ヶ月までの投薬時の許容1日摂取量の範囲以下であり、遺伝毒性の観点からは単回マイクロドーズ臨床試験の安全性に関し危惧すべき問題はないと結論される。

3.3 遺伝毒性発がん物質の発がん性の閾値との比較による考察

遺伝毒性が全く、あるいは十分に確認されてい

ない物質のマイクロドーズの単回投与に、遺伝毒性やその結果としての発がん性のリスクがあるかどうかを、「発がん性の閾値」との比較の観点から検討する。

ある物質を動物あるいはヒトに生涯投与しても、発がん性も、自然発がん率の増加も示さないような投与量の最大値を、その物質の「発がん性の閾値」という。通常、がん原性試験は生涯投与しても寿命に大きく影響しない範囲で被験物質の用量設定がされているため、ある物質のマイクロドーズがその物質の「発がん性の閾値」よりも低ければ、その単回投与は動物に生涯投与しても問題がない量を1回だけ投与することになり、極端な種差が無ければ単回投与によるヒトの発がん性のリスクは無視できると考えてよい。

前節で検討したように、規制当局は歴史的に化学物質の遺伝毒性やがん原性には閾値がないという立場でTOCやTTCの値を決めて食品や医薬品中の発がん性物質のリスクをコントロールしてきた。しかし最近、従来から閾値がないと考えられてきた種類のがん原性物質に、明白な閾値あるいは少なくとも見かけ上の閾値があることを示す研究結果が多数発表されている。たとえば福島ら²¹⁾は、食品中の焦げた物質に含まれる発がん物質である2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f] quinoxaline (MelQx)のラットを用いた長期微量投与試験において、3種類のエンドポイント(肝細胞がんの発生、前がん病変のGST-P 巢の発現、及びDNA付加体形成)を検討した結果、DNA付加体の形成には閾値が認められなかったが、肝細胞がんの発生とGST-P 巢の発現のグラフでは立ち上がりの値が高用量側に移動しており、1 ppm以下の3-4桁の範囲で対照との差がないこと、すなわち明白な閾値の存在を示した。また、Fukushimaら²²⁾は、食品由来の肝がんの原因物質である2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (Ph1P)は、ラットの結腸において、30 ppm以下の低用量で異常な膿胞(ACF)の発生を誘導しないことを示した。また、8-hydroxy-2'-deoxyguanosineも、400 ppm以下ではACFを誘

導しなかった。さらに、PH1PのDNA付加体形成は、低用量(0.01 ppm以下)では認められなかった。したがって、ACFの発生を誘導する用量は付加体の形成が見られる用量の約5,000倍となる。これらの結果は、遺伝毒性発がん物質による結腸における発がん性についてのNOEL(無作用量)あるいは生物学的閾値の存在を強く示唆するものである。

発がん性だけでなく、DNAに対する変異原性にも閾値の存在を示す報告も多い。Hoshiら²³⁾は、Big Blueトランスジェニックラットを用いて肝における変異原性と発がん性を比較検討した結果、MelQxを16週間投与するとマーカー遺伝子である*LacI*変異が10 ppmで有意に増加し、100 ppmでは著明に増加した。一方GST-P陽性細胞巢は100 ppmでのみ有意に増加した。これらのことはMelQxの変異原性にも閾値があることを示している。さらにFukushimaら²²⁾は、発がんの二段階仮説に則り、MelQxのラット肝におけるイニシエーション活性をフェノバルビタールをプロモーターとする系でGSY-P陽性細胞を指標として検討した結果、100及び10 ppmではGSY-P陽性細胞の有意な増加がみられたが、1 ppm以下の4桁では対照からの増加は認められず、イニシエーション作用の閾値の存在を明白に示した。

変異原性の閾値は細菌においても示されている。祖父尼ら²⁴⁾は、綿密な検討の結果、DNA修復能が欠損している細菌(MGT-欠損株)において明らかに変異コロニーを誘発する低い用量域の各種アルキル化剤を、DNA修復能の正常な株に作用させても変異コロニーが形成されないこと、すなわちDNA修復能の存在する株では変異原性物質の作用に明らかな生物学的閾値が存在することを示した。

以上の事実は、遺伝毒性発がん物質の毒性に閾値がないとする歴史的な前提を否定するものであり、現在の規制の体系の見直しが必要なることを示している。また、同時に、マイクロドーズ臨床試験の投与量が、これらの閾値以下の投与量であれば、たとえ投与される物質に遺伝毒性があったと

しても、その発がん性に関して危惧すべき問題はないことを示唆している。

そこで上記の、発がん性の閾値の存在を示す報告中の、通常の閾値以下の量、たとえば1 ppmとマイクロドーズの上限量である100 $\mu\text{g}/\text{human}$ を比較してみよう。体重300 gのラットが毎日、自らの体重の10分の1の餌を摂取すると仮定すれば、その餌に1 ppmの割合で含まれる発がん性物質の1日摂取量は $30\text{ g} \times 1\text{ ppm} = 30 \times 10^6\ \mu\text{g} \times 100\text{ 万分の}1 = 30\ \mu\text{g}$ となる。これを体重60 kgのヒトに換算すると、 $30\ \mu\text{g} \times 60 \div 0.3 = 6,000\ \mu\text{g}$ (/human)となる。マイクロドーズの上限量の100 $\mu\text{g}/\text{human}$ は、この60分の1にあたる。通常、動物とヒトの間で投与量を換算する場合、体表面積による補正を行う必要があり、ラットの場合の通常の補正值の6で割ってもなお10倍の安全域がある。しかもこれらの発がん性試験は中期発がん性試験なので、投与期間は16週間または32週間あり、イニシエーション試験でも4週間である。すなわち単回投与のマイクロドーズとの合計投与量の比が28倍から224倍あるので、それだけの安全域が積算され、合計280倍から2,240倍の安全域があることになる。以上をまとめると、1 ppm以下で発がん性の閾値を示すような発がん性物質に対し、マイクロドーズの上限である100 $\mu\text{g}/\text{human}$ は2桁から3桁の安全域を持ち、マイクロドーズ臨床試験の安全性に危惧すべき問題は無いことを示した。

一方、発がん性の閾値問題に関してWaddell²⁵ - 27)は最近、ユニークな貢献をしている。彼は米国NTPのデータベースを利用して約500種以上の化合物のがん原性試験のデータを彼独自のグラフに表示することで、各種化合物の発がん性に閾値が存在することを明確に示している。Waddellは、縦軸をがんが発生した動物の増加率(自然発生がんの頻度を差し引いてある)、横軸は1分子から 10^{23} 分子までを対数表示したグラフにNTPから得たがん原性試験のデータをプロットし、ほぼ直線状にプロットされるデータから最適直線を求め、その直線と横軸との交点を「発がん性の閾値」と

定義している。Waddellの「発がん性の閾値」は、化合物、動物種、性、臓器、腫瘍の種類により特有の値であり、「投与された分子数/kg/day」で表される。このようにして求めた発がん性の閾値は、強い発がん性を持つ化合物では 10^{17} 分子/kg/day、弱いものでは 10^{21} 分子/kg/dayの範囲にある^{13, 25 - 27)}。

発がん性の閾値を示すWaddellのグラフの横軸上にそれらの発がん性物質のマイクロドーズをプロットすればマイクロドーズと閾値との関係すなわち安全性が直感的に理解できる。発がん性の閾値とそれらの物質のマイクロドーズを比較すると、弱い発がん性物質の単純投与量比較では発がん性の閾値とマイクロドーズとの間に約3桁の安全域がある(Fig. 1)。強い発がん性物質N-nitrosodiethylamine(NDEA)ではマイクロドーズと発がん性の閾値はほぼ同じレベルである(Fig. 2)。しかし合計投与量比較では、強い発がん性を持つNDEAでも約3桁の安全域がある(Fig. 3)。弱いものでは約6桁以上の安全域がある。またNDEAによる前がん病変altered fociの形成にも閾値が存在するが、この閾値に対してもマイクロドーズは2桁以上の安全域を持つことが示された(Fig. 4)。一方、NDEAによるDNA付加体の形成のデータ²⁸⁾は曲線上にプロットされ、したがって理論的に閾値を持たない可能性がある(Fig. 5)。しかしこの曲線はマイクロドーズに近づくとはほとんど横軸と重なり、事実上の閾値をもつと考えてよい。

以上の考察から、医薬品候補化合物の単回のマイクロドーズは、遺伝毒性発がん性物質の発がん性の閾値に関する最近の中期発がん性試験データに照らしても、また過去の500種以上の物質の生涯投与によるがん原性試験データの解析から得られた発がん性の閾値の情報に照らしても、発がん性や前がん病変の閾値よりも2桁から6桁以上の安全域を持つことから、マイクロドーズ臨床試験の発がん性に関するリスクは無視できるほど小さいと結論される。

4. マイクロドーズ臨床試験の実施に必要な非臨床安全性試験

各フェーズの臨床試験(治験)を実施するために必要な非臨床安全性試験は、ICH-M3 ガイドラインに記載されているが、それらの非臨床安全性試験の種類や方法は、固定・不変のものではない。同ガイドラインの「適用範囲」の項には、以下のような記述がある。「近年、開発される治験薬の種類は大きく変化している(例:バイオテクノロジー応用医薬品)。このような医薬品に対しては、既存の安全性評価方式が必ずしも適切とは言えず(中略)、これらの事例では、特定の試験の簡略化、延期、または省略もありうる。」

マイクロドーズ臨床試験は、通常Phase I 試験に用いられる投与量よりも何桁も低い投与量を用い、しかも予想臨床投与量の100分の1未満という条件もあるため、毒性発現の可能性が非常に低い。従って、適切な根拠に基づいて特定の試験

の簡略化、延期、または省略も可能と考えられる。EUのPPでは、適切な種の選択の基に拡張型単回投与毒性試験を実施すれば(通常型)単回投与毒性試験、安全性薬理試験、及び反復投与毒性試験を省略できるとしている。また米国も、拡張型単回投与毒性試験を実施すれば(通常型)単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験を省略できるほか、マイクロドーズ臨床試験における投与量が通常環境からの曝露と同程度であるという理由で、安全性薬理試験も遺伝毒性試験も省略できるとしている。

前章での考察に基づき、マイクロドーズ臨床試験を国内に導入する場合に、必要な非臨床安全性試験について考察する。最初に、ここでいう「必要な」の意味を定義しておく。本稿では「必要な」の意味を、被験者の安全性を確保するために、「規制当局がminimum requirementとして新薬開発者に要求すべき」という意味に用いる。すなわち、製薬企業が種々の理由、たとえば候補化合物のスクリーニングに際して情報が多い方がよいとか、治

Fig. 1 Threshold of carcinogenicity of ethyl benzene, a weak carcinogen, and its microdose (M) (“M” was added with permission of Waddell.)

弱い発がん性物質エチルベンゼンのがん原性の閾値(Waddell²⁵)とそのマイクロドーズ(M)との比較。4種の発がん性の閾値は約10の20乗から10の21乗分子/kgの範囲にある。これに対しマイクロドーズは約10の17乗なので、3桁から4桁の安全域がある。合計投与量比較ならばこれにさらに約3桁の安全域が加わる。(Waddellの許可を得て“M”を加筆、以下同様)

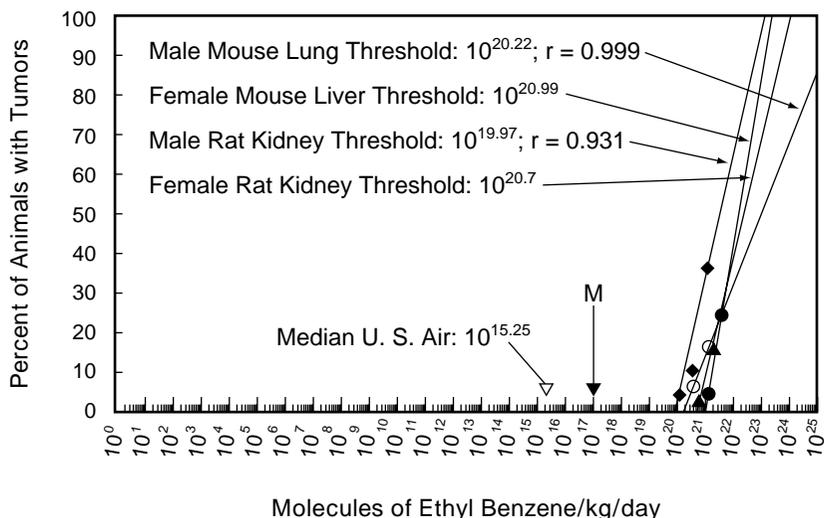


Fig. 2 Threshold of carcinogenicity of N-nitrosodiethylamine, one of the strongest carcinogen, and its microdose (M)

強い発がん性物質 N-nitrosodiethylamine (NDEA) のがん原性の閾値 (Waddell²⁶⁾) とそのマイクロドーズ (M) との比較 . NDEA の発がん性の閾値は約 10 の 17 乗なので , マイクロドーズとほぼ同じオーダーにある . ただし , 合計投与量比較ならば NDEA の発がん性の閾値は約 3 桁右に移動するので , 約 3 桁の安全域がある .

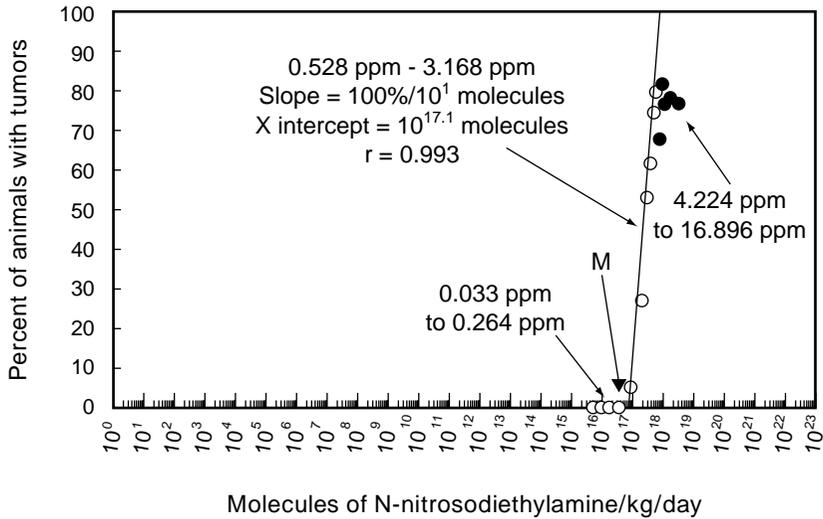


Fig. 3 Threshold of carcinogenicity of N-nitrosodiethylamine, shown as cumulative dose, and its microdose (M)

強い発がん性物質 N-nitrosodiethylamine (NDEA) のがん原性の閾値 (Waddell²⁶⁾) とそのマイクロドーズ (M) との比較 . 合計投与量で表示すると NDEA の発がん性の閾値は約 3 桁右に移動して約 10 の 20 乗以上になり , そのマイクロドーズ (M) に対し 3 桁以上の安全域がある .

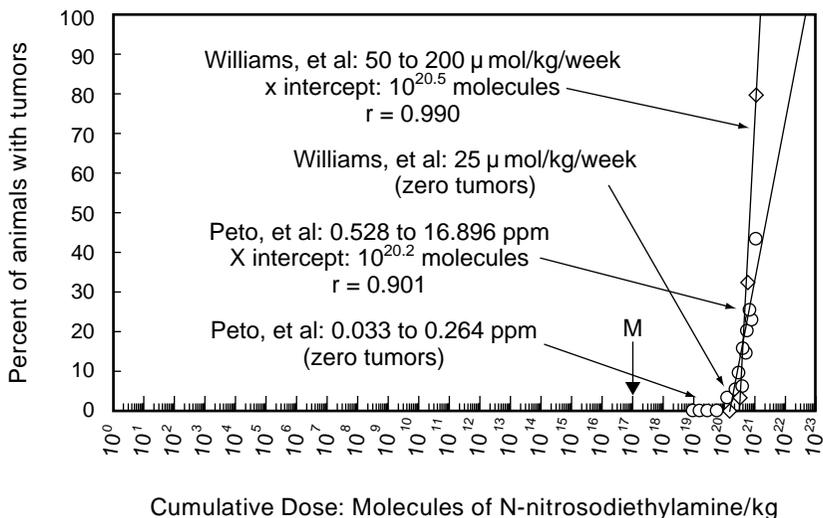


Fig. 4 Threshold of hepatocellular altered foci by N-nitrosodiethyl-amine, shown as cumulative dose, and its microdose (M)

強い発がん性物質 N-nitrosodiethylamine (NDEA) の発がん性の閾値 (Waddell ら ²⁷⁾) 及び肝臓の前がん病変の閾値とそのマイクロドーズ (M) との比較 . 合計投与量表示 . 前がん病変の閾値は発がん性の閾値よりも約 1桁低くなるが , それでもそのマイクロドーズに対し 2桁以上の安全域がある .

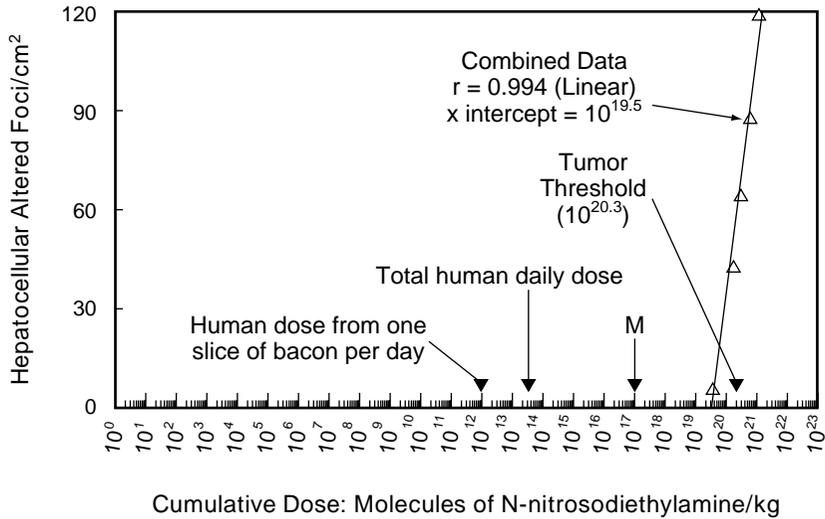
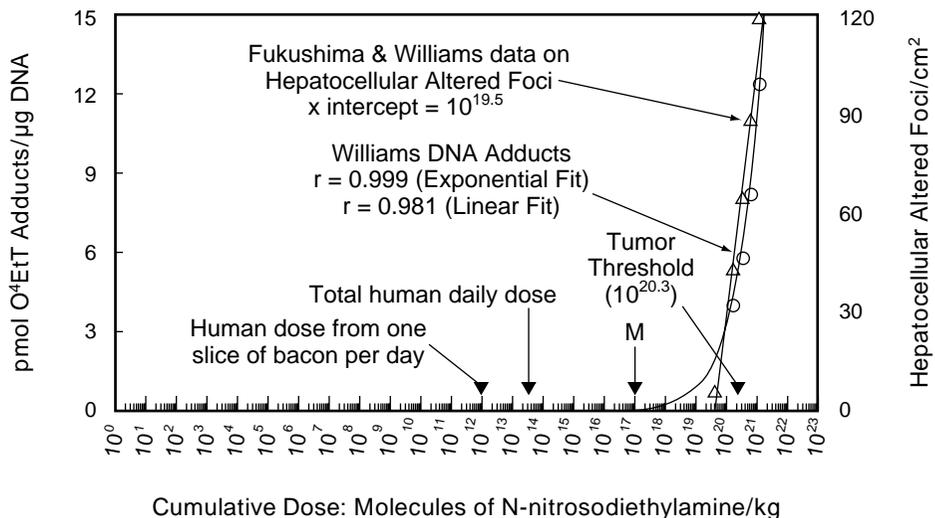


Fig. 5 Thresholds of carcinogenicity, hepatocellular altered foci, and DNA adducts by N-nitrosodiethylamine, shown as cumulative dose, and its microdose (M)

強い発がん性物質 N-nitrosodiethylamine (NDEA) の発がん性の閾値 (Waddell ら ²⁷⁾) , 肝臓の前がん病変の閾値 , 及び DNA 付加体の形成を合計投与量表示した . DNA 付加体の形成は曲線の方がよくフィットするため , 理論的には閾値を持たないと考えられるが , マイクロドーズ (M) 前後で横軸とほとんど重なり , 事実上の閾値があると考えてよい .



験審査委員会や規制当局の審査に際して印象が良くなるとか、治験に際して被験者のインフォームドコンセントが得やすいであろうとか、あるいは、いずれ承認申請のときにデータが使えるからなどの理由から、規制当局によって要求される試験以外に独自の判断で非臨床安全性試験を実施するのは自由であるが、これら自主的に行う試験と、規制当局がminimum requirementとして要求すべき試験とは明確に区別して論じなければならない。

4.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は、3.1で論じたように、トキシン類のような極端な急性毒性物質の混入を排除するために実施する必要がある。またこの試験は、ヒトと動物で大きな種差があった場合に、ヒトに発現するかもしれない急性毒性を予測する意味もある。これらの目的には通常型の単回投与毒性試験で十分である。この試験ではげっ歯類と非げっ歯類の両性を用い、投与経路は臨床予定経路とする。この試験では急性毒性症状を確認し、毒性が強い候補化合物の場合は、げっ歯類の最小致死量を求める。非げっ歯類では急性毒性症状の確認を目的とし、特に理由がない限り死亡するまで用量を上げる必要はない。毒性が弱い被験物質では安全域1,000（理由があれば100）まで用量を上げる。観察された急性毒性症状の種類や重大性に応じ、必要があれば他の検査項目を追加する。

ヒト特異性が極めて高いヒト化モノクローナル抗体の場合など、バイオ医薬品は薬効や毒性の種差が大きいいため、動物試験からヒトへの外挿が困難である。このような場合、最初の一人のヒトへの投与や、用量を増加して行う試験の最初の一人への投与は極めて慎重に行うべきである。この「慎重に」の内容には、救急体制の完備、投与液の処方や濃度、投与速度、一人の被験者への投与と次の被験者への投与との間隔、1回の臨床試験に含まれるボランティアの人数等も含まれる²⁸⁾。

4.2 拡張型単回投与毒性試験

拡張型単回投与毒性試験の実施には多くの問題

点がある。第1に、種の選択が容易でない点である。この試験が実施できる条件として、「種の選択がin vitro代謝の比較データ及びin vitroにおける一次動薬力学的/生物学的活性の比較データに基づいて正当化されるならば」という条件がついているが、選択可能な実験動物種が少ない現状ではこの要求を満たすことは必ずしも容易ではない。この条件が満たされなければ拡張型単回投与毒性試験は実施できないことになる。

第2に、EUとFDAの拡張型単回投与毒性試験で、観察すべき毒性の程度や確認すべき安全域のエンドポイントが異なることである。このことは、この試験の目的が必ずしも明白でないことを意味する。

第3に、EUのPPでは、拡張型単回投与毒性試験によって安全性薬理試験を置換できるとしながら、安全性薬理学的な背景情報の必要性を述べている点である。その薬物のクラスの安全性薬理学的情報を得ておくという意味であればそれは当然のことであり、わざわざ書くまでも無いことであるが、もしそのような情報を得るために別途試験を組む必要があるとすれば、そのような試験は安全性薬理試験そのもの、またはその一部であり、「拡張型単回投与毒性試験によって安全性薬理試験を置換できる」とした、その前のPPの記述と矛盾する。

第4に、拡張型単回投与毒性試験では、投与後1日と14日後の2回、血液検査、血液生化学的検査、及び病理組織学的検査が要求されるが、病理組織学的検査を例にとると、これらの検査から意味のある情報が得られることは余り期待できないことである。その理由は、薬効量やそれ以下の用量での単回投与が明白な病理組織学的変化をもたらすことは、その薬物の標的器官を除き稀であると考えられるからである。しかも薬効レベルでの標的器官の形態学的変化ならば当然薬効薬理試験で把握されている筈である。一方、薬効量を超える毒性発現用量ではその薬物固有の変化に加えて中毒症状による非特異的な強い変化が加わり、投与量が増加するほど後者が強く現れる結果、その

薬物固有の変化を非特異的な中毒反応による変化から分離することが容易でないと考えられる。毒性試験の長い歴史の中で、単回投与毒性試験に対しては、血液検査、血液生化学的検査、及び病理組織学的検査が通常要求されてこなかったことには、それなりの理由があるはずである。筆者は少なくともその理由の一つは、急性毒性試験ではそれらの検査から意味のある情報を得にくいことが経験的に分かっていたからであろうと考えている。

第5に、上記の1から4はいずれも拡張型単回投与毒性試験の実用性に疑問があることを示唆するものであるが、それには明確な理由があることである。拡張型単回投与毒性試験は、1996年にFDAがスクリーニングPhase I試験の認可に際して、単回投与の臨床試験の実施には反復投与毒性試験は不要とした代償として、反復投与毒性試験の検査項目である血液検査、血液生化学検査及び病理組織学検査を単回投与毒性試験の検査項目に加えることによって成立した試験であった。しかしFDAは、通常型単回投与毒性試験のガイダンスに簡単な加筆をすることによってこの規制改革を行い、その後ついに、拡張型単回投与毒性試験に特化したガイダンスを作成しなかった。このため、この試験の内容は最初から不明確であった。さらに問題なのは、FDAがこの規制緩和を、PhRMA(米国製薬協)に相談せずに、全くの行政主導で行ったことである^{3, 29)}。すなわち拡張型単回投与毒性試験は、毒性学や病理組織学の研究者もしくはPhRMAの作業グループの検討から生まれた実用的な試験ではなく、FDAの行政官が机上で考えた試験であった。筆者は1996年当時、ICH-Topic M3(臨床試験の実施のための非臨床安全性試験の実施時期のガイドライン)を審議するExpert Working Group(EWG, 専門家作業部会)のラポーター(議長役)を担当していたので、米国のFDA及びPhRMA(米国製薬協)の代表と親しく意見を交換することができ、スクリーニングPhase I試験の認可と拡張型単回投与毒性試験の成立の経緯を詳細に知りうる立場にあった。これらの経緯については、FDAによるスクリーニング

Phase I試験の認可に対して、当時PhRMAの代表が不快感を表明していたことなどを含め、1999年の第4回医薬品開発基礎研究会における講演²⁹⁾及び同年の解説論文³⁾に詳細な記録がある。

第6に、拡張型単回投与毒性試験は、その採用により人的・資源的・時間的にコストを軽減できることがその主な目的であったはずである。ところが、拡張型単回投与毒性試験を実施することでこれらのメリットが得られるかどうかは必ずしも明白でない。元FDAのWilson³⁰⁾は、「拡張型単回投与毒性試験を実施する場合、報告書をまとめるのに要する日数も、試験費用も、必要な動物数も、2週間あるいは4週間反復投与毒性試験に等しいか、あるいはそれらを超えるであろう。」と述べている。ただし、被験物質の必要量は少なく済むので、そのメリットが重視される場合には実施する意味もあるが、そのような判断は製薬企業がすべきことであり、規制当局が拡張型単回投与毒性試験を要求する理由にはならない。以上から、マイクロドーズ臨床試験の国内導入時に、拡張型単回投与毒性試験を日本でも義務づけるべきかどうかを検討する際には、特に何を目的にこの試験を採用するのかについて慎重な検討が必要であろう。

4.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験は、FDAの方針と同様、被験者の安全を確保する目的で規制当局が要求する必要はないと考えられる。その理由は、安全性薬理試験のガイドライン³¹⁾に、「安全性薬理試験とは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」と定義されていることから、薬効薬理試験が実施済みであり、その結果に基づいて計算された予想臨床投与量の100分の1未満に投与量が設定されているマイクロドーズ臨床試験では、予想臨床投与量の計算が大きく間違っていない限り、生命維持に特に重要な器官への重篤な影響が発現するリスクが極めて低いからである。予想臨床投与量の計算を間違えた場合、

あるいは間違えなくとも、種差の存在で予測が正確でなかった場合も当然あるであろうが、100 μ g/human 以下という第2の縛りは、そのような場合に備えて設けられた一般的歯止めであることを理解すべきである。

4.4 反復投与毒性試験

単回投与の臨床試験の実施に反復投与毒性試験のデータが必要でないことは、MornroとMehta³²⁾が1996年の論文でいくつかの根拠を示して主張して以来、FDAのスクリーニングPhase I試験やEU及びFDAのマイクロドーズ臨床試験のコンセプトの前提となっており、単回投与のマイクロドーズ臨床試験の安全性の確保という意味からはこれを否定する理由はないであろう。

4.5 局所刺激性試験

局所刺激性試験は、必要に応じて実施すればよい。マイクロドーズ臨床試験を実施するための単回投与毒性試験は通常ヒトの臨床使用経路で実施されるため、通常、単回投与毒性試験の中で局所刺激性も評価できる。この場合は、別途局所刺激性試験を実施する必要はない。

4.6 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験については、EUは必要とし、米国は不要としている。国内では多くの製薬企業が臨床試験の開始までに自主的に遺伝毒性試験を実施すると考えられる。しかし、本稿の3.1及び3.2で論じたように、マイクロドーズ臨床試験に限れば、その投与量は医薬品中に含まれる遺伝毒性陽性の不純物の基準以下なので、マイクロドーズ臨床試験の実施に際し規制当局が遺伝毒性試験を要求する必要はないと考えられる。FDA³³⁾は、「単回投与の臨床試験であればその被験物質の遺伝毒性試験の結果の如何にかかわらず認可する。遺伝毒性試験の成績は反復投与の臨床試験の開始までに必要である」と述べている。これはマイクロドーズに限らず、また臨床試験のステージにもかわらないFDAの方針である。この方針は、FDA

が新薬開発の促進のために単回投与の臨床試験を一貫して重視していること^{3,6,11,12)}、及びその実施のために規制をできるだけ軽減しようとしている姿勢を示している。わが国も、安全性に危惧すべき問題がない単回のマイクロドーズ臨床試験に限っては、遺伝毒性試験の成績を要求しなくてもよいと思われる。

4.7 生殖毒性試験

生殖毒性(催奇形性)には、ある投与量以下では影響が無い量、すなわち閾値が存在することは教科書的な事実である³⁴⁻³⁶⁾。例えばヒトに対して強力な催奇形性を持つ物質の一つであるサリドマイドでもDNOAEL(Developmental No Observed Adverse Effect Level, 発生学的無毒性量)が存在し、マウス、ラット、ウサギでそれぞれ31, 25, 及び12 mg/kg/dayである³⁷⁾。これらの値はマイクロドーズの上限値の約500 ~ 1,500倍以上であり、通常の化学物質の場合には生殖毒性(催奇形性)の観点から単回マイクロドーズ臨床試験に危惧すべき問題はないと考えられる。ただし、単回マイクロドーズ臨床試験に参加するボランティアは通常男性であると考えられる。男性生殖器官に対する毒性は、通常の投与量での初期の臨床試験においては、動物による遺伝毒性試験と反復投与毒性試験の病理組織学的検査で評価できると考えられている³²⁾。しかし単回マイクロドーズ臨床試験の場合は、前に述べたように規制当局が遺伝毒性試験を義務付ける必要性は低い。また、マイクロドーズ臨床試験のような極微量の単回投与で組織に明確な形態学的変化が生じる可能性はきわめて低い。特に、血管-精巣関門がある精巣において毒性変化を病理組織学的に検出するためには、一般に最短でも2週間から4週間、理想的には精子形成の1周期である9週間以上の反復投与が必要であるとされていること^{7,8)}を考えると、単回微量投与のマイクロドーズ臨床試験の前に精巣の病理組織学的検査を行う必要性は極めて乏しい。更に、精巣毒性物質の多くは精子形成の特定のステージに影響を与えるが、ヒトの精巣は部分部分

によって異なるステージの精子形成が行われているため、例えば精巢毒性があったとしても、単回微量投与であれば、その影響は全く現れずに過ぎるであろう。もしその物質がかなりの割合の精祖細胞を不可逆的に殺すような強力な細胞毒性物質であれば影響が現れるであろうが、そのような強力な細胞毒性をもつ候補化合物は薬効薬理試験や単回投与毒性試験の際に強い毒性を示すことによって排除されているはずである。

最近では構造活性相関の研究が進み、候補化合物全体あるいはその部分の化学構造からの *in silico* の毒性評価が可能になりつつある^{20, 38-40}。このような最新の方法を用いた検討を行い、かつ投与量が極微量であることを勧告しても、なお候補化合物が生殖器官毒性をもつ懸念があれば、生殖毒性試験の実施を検討する必要があるが、社会的生殖年齢を過ぎた男性や閉経後の女性を臨床試験の対象にすれば胚や胎児への影響は避けることができる。

以上をまとめると、マイクロドーズ臨床試験の実施に必要な、すなわち規制当局が minimum requirement として要求すべき非臨床安全性試験は、通常型の単回投与毒性試験だけでよいと考えられる。ただし、特別の理由がある場合には、その単回投与毒性試験の中でサテライト群を設け、あるいは後追いの単回投与毒性試験を追加して、その中で特定の検査項目を追加すればよい。その他の非臨床安全性試験の実施は、新薬開発者の自由裁量に任せてよい。

謝 辞

本稿執筆にあたり、ご校閲と貴重なご助言を頂きました、国立医薬品食品衛生研究所・大野 泰雄 副所長及び[※]日本オルガノン薬事業本部・海野 隆氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 福原浩行. 医薬品の世界初上市から各国における上市までの期間 日本の医薬品へのアクセス改善に向けて. 政策研リサーチペーパー. 2006 [31] 1-61.
- 2) Kola I, Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2004; 3: 711-6.
- 3) 馬屋原 宏. Screening Phase I と FDA 型単回投与毒性試験. 薬物動態. 1999; 14(3): 243-50.
- 4) EU The European Medicines Agency (EMA), Evaluation of Medicines for Human Use. Position Paper on non-clinical safety studies to support clinical trials with a single microdose. CPMP/SWP/2599/02/Rev 1, London, 2004 Jun 23.
- 5) 馬屋原 宏. 「単回 microdose 臨床試験」(EU 型スクリーニング Phase I 試験)とその実施のための非臨床安全性試験. 臨床評価. 2004; 31(2): 331-50.
- 6) US FDA, Department of Health and Human Services, CDER. Guidance for Industry, Investigators and Reviewers, Exploratory IND Studies. 2005 Jan 12.
- 7) 厚生労働省. 医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン. In: 医薬品非臨床試験研究会, 監修. 医薬品非臨床試験ガイドライン解説 2002. 薬事日報社; 2002.p.281-7.
- 8) 馬屋原 宏. M3 医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン. In: 日本製薬工業会 ICH プロジェクト委員会編集委員会, 編. 医薬品開発の国際調和の歩み ICH6 まで. 東京: じほう社; 2003.p.219-24.
- 9) 杉山雄一, 栗原千絵子, 馬屋原 宏, 須原哲也, 池田敏彦, 伊藤勝彦, 矢野恒夫, 三浦慎一, 西村伸太郎, 大塚峯三, 小野俊介, 大野泰雄. マイクロドーズ臨床試験の実施基盤 指針作成への提言. 臨床評価. 2006; 33(3): 649-77.
- 10) Xceleron-Accelerating drug development. [cited 2006]. Available from: <http://www.xceleron.co.uk>
- 11) US FDA. Single-dose acute toxicity testing for pharmaceuticals; Revised Guidance; Availability, Notice. *Federal Register*. 1996 Aug 26: 43933-5.
- 12) US FDA. Office of Review Management and Pharmaceutical Sciences, Center for Drug Evaluation and Research, FDA. Screening INDs. Manual of Policies and Procedures (MAPP) 6030.4. 2001 May 9.
- 13) 馬屋原 宏, 山根尚恵, 菊池康基. 「欧米におけるスクリーニング Phase I 試験」, 特集スクリーニング Phase I 試験. 臨床薬理. 2005; 36(1): 7-18.
- 14) 大野泰雄. マイクロドーズ試験の毒性学的根拠 文献的調査の結果. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会; 2005 Jun 30; 東京.
- 15) 広瀬明彦, 蒲田栄一. 工業化学物質の安全性評価の見地から. 第32回日本トキシコロジー学会学術年会; 2005 Jun 30; 東京.
- 16) 笛木 修, 荒戸照世. マイクロドーズ試験実施に際

- する拡張型単回投与毒性試験実施の必要性について
近年の承認データからの考察 .第32回日本トキシコロジー学会学術年会 ; 2005 Jun 30 ; 東京 .
- 17) EU EMEA/CHMP . Guideline on the limits of genotoxic impurities. CPMP/SWP/5199/02. EMEA/CHMP/QWP/251344/2006, London, 2006 Jun 28 .
- 18) 林 裕造 . 遺伝毒性発がん物質の閾値問題を解決する道 リスクアナリシスの立場から . *Environ. Mutagen Res* . 2005 ; 27 : 81-9 .
- 19) US FDA : Department of Food and Human Service . Food additives : Threshold of regulation for substances used in food contact articles . *Federal Register* . 1993 ; 58 : 52719-29 .
- 20) Mueller L , Mauthe RJ , Riley CM , Andino MM , De Antonis D , Beels C , DeGeorge J , et al . A rationale for determining, testing, und controlling specific impurities in pharmaceuticals that possesses potential for genotoxicity . *Regul. Toxicol. Pharmacol* . 2006 ; 44 : 198-211 .
- 21) 福島昭治 , 鰐淵英機 , 森村圭一郎 , 魏 民 . 遺伝毒性発がん性物質の閾値問題 微量でも本当に危険なのか . *Environ. Mutagen Res* . 2005 ; 27 : 75-9 .
- 22) Fukushima S , Wanibuchi H , Morimura K , et al . Existence of a threshold for induction of aberrant crypt foci in the rat colon with low doses of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*] pyridine . *Toxicol Sci* . 2004 ; 80 : 109-14 .
- 23) Hoshi M , Morimura K , Wei M , Okochi A , Ushijima T , Takaoka K , Fukushima S . No-observed effect levels for carcinogenicity and for in vivo mutagenicity of a genotoxic carcinogen . *Toxicol Sci* . 2004 ; 80 : 1-7 .
- 24) 祖父尼 俊雄 , 能美健彦 , 太田敏博 , 林 真 . 遺伝毒性 : DNA 直接作用物質に閾値は存在するのか ! ? . *Environ. Mutagen Res* . 2005 ; 27 : 61-73 .
- 25) Waddell WJ . Thresholds of carcinogenicity of flavors . *Toxicol. Sci* . 2002 ; 68 : 275-9 .
- 26) Waddell WJ . Threshold for carcinogenicity of *N*-nitrosodiethylamine for esophageal tumors in rats . *Food Chem Toxicol* . 2003 ; 41 : 739-41 .
- 27) Waddell WJ , Fukushima S , Williams GM . Concordance of thresholds for carcinogenicity of *N*-nitrosodiethylamine . *Arch Toxicol* . 2006 Jun ; 80 (6) : 305-9 . Epub. 2005 Nov 25 .
- 28) UK ABPI . Early Stage Clinical Trial Taskforce. Joint ABPI / BIA Report. 2006-07-04 [cited 2006 Jul 26] . Available from : http://www.abpi.org.uk/information/pdfs/BIAABPI_taskforce2.pdf
- 29) 馬屋原 宏 . 質の高い臨床試験を目指して 非臨床の立場から . 第 4 回医薬品開発基礎研究会シンポジウム ; 1999 Nov 26 ; 昭和大学上條講堂 , 東京 . 講演記録 ; 1999.p.46-61 [cited 2006 Aug 22] . Available from : <http://www10.showa-u.ac.jp/iyakuhin/iyaku4.pdf>
- 30) Wilson S . Nonclinical development of radiopharmaceuticals:Regulatory considerations for the United States Food and Drug Administration . In : M Schwaiger , Dinkelborg , Schweinfurth , editors . *Ernst Schering Research Foundation Workshop 48: From Morphological Imaging to Molecular Targeting* . Berlin : Springer ; 2004.p.151-65 .
- 31) 厚生労働省 . 安全性薬理試験ガイドライン . In : 医薬品非臨床試験研究会 , 監修 . 医薬品非臨床試験ガイドライン解説 2002 . 薬事日報社 ; 2002.p.238-45 .
- 32) Monro A , Mehta D . Are single-dose toxicology studies in animals adequate to support single-doses of a new drug in humans? . *Clin Pharmacol Ther* . 1996 ; 59 : 258-64 .
- 33) Jacobson-Kram D , Jacobs A . Use of genotoxicity data to support clinical trials of positive genotox findings on a candidate pharmaceutical of impurity.... Now what? . *Intern. J. Toxicol* . 2005 ; 24(3) : 129-34 .
- 34) 亀山義郎 . 環境因子による発生異常の成立 . In : 谷村 孝 , 編 . 毒性試験講座 11 , 発生毒性 . 東京 : 地人書館 ; 1992.p.77-84 .
- 35) 塩田浩平 . 化学物質の生殖・発生毒性 . 毒素・薬毒物と中毒 9 , 科学と生物 . 2002 ; 40(4) : 263-8 .
- 36) Brent RL . Environmental causes of human congenital malformations : The pediatrician's role in dealing with these complex clinical problems caused by a multiplicity of environment and genetic factors . *Pediatrics* . 2004 ; 113(4) : 957-68 .
- 37) Teo SK , Denny KH , Stirling DI , Thomas SD , Morseth S , Hoberman AM . Effects of thalidomide on developmental, peri- and postnatal function in female New Zealand White rabbits and offspring . *Toxicol. Sci* . 2004 ; 81 : 379-89 .
- 38) Hareng L , Pellizzer C , Bremen S , Shwarz M , Hartung T . The integrated project ReProTect : a novel approach in reproductive toxicity hazard assessment . *Reprod. Toxicol* . 2005 ; 20(3) : 441-52 .
- 39) Bhogal N , Grindon C , Combes R , Balls M . Toxicity testing:creating a revolution based on new technologies . *Trends in Biotech* . 2005 ; 23(6) : 299-307 .
- 40) Vedani A , Dobler M , Lill MA . The challenge of predicting drug toxicity in silico . *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol* . 2006 ; 99(3) : 187-94 .