

第20回 日本毒科学会学術年会
第2回日本毒科学会サテライトシンポジウム
トキシコキネテックスの意義と実際
予報資料集

平成5年7月28日(水)

千葉市民会館大ホール

1993 千葉

目次

資料0 (1頁)

緒言

慶応大学医学部薬理学教室
エーザイ (株) 研開情報部

加藤 隆一
五十嵐俊二

資料1 (1頁)

毒性研究におけるトキシコキネティクス導入の意義

慶応大学医学部薬理学教室

加藤 隆一

資料2 (16頁)

ICH2 and the development of a new "Note for guidance on toxicokinetics"

Dr. David E. Case (ZENECA Pharmaceuticals, UK)

資料3 (6頁)

日本に於けるトキシコキネティクスの実施状況

第一製薬 (株) 代謝分析センター

伯水 英夫

資料4 (6頁)

薬物動態試験との関連性

藤沢薬品 (株) 安全性研究所

野田 耕世

資料5 (5頁)

トキシコキネティクスの意義と問題点、事例紹介1

エーザイ (株) 安全性研究部

佐神 文郎

資料6 (11頁)

トキシコキネティクスの意義と問題点、事例紹介2

日本ロシュ (株) 研究所毒性病理部

堀井 郁夫

資料7 (6頁)

トキシコキネティクスの意義と問題点、事例紹介3

武田薬品 (株) 薬剤安全性研究所

馬屋原 宏

資料8 (11頁)

Toxicokinetics: The United States Pharmaceutical Industry View

Dr. Mitchell N. Cayen (Schering-Plough, USA)

系者 言

慶応大学医学部薬理学教室 加藤 隆一
エーザイ（株）研開情報部 五十嵐俊二

トキシコキネティクスの定義は、一般化学物質の安全性試験に関するOECDのガイドライン(1982)の中で、投与された試験化合物が試験動物の体内にどれ位存在したかを明らかにすべく、以下のごとく記述されている。

Definition: Toxicokinetics is the study of the absorption, distribution, excretion and metabolism of substances.

Information from toxicokinetic studies on the absorption, distribution, excretion and metabolism of a test substance is desirable to aid in the evaluation and interpretation of toxicological data.

同様の試験が、医薬品の動物を用いた安全性試験の中で試験動物が投与された薬物に暴露された量（Exposure）を測定し、確認することにより、その毒性試験（ヒトにおける安全性を評価する為の試験）の科学的妥当性を向上させる有力な手段として普及してきた。この目的で動物を用いた毒性試験の中で実施される薬物動態代謝試験を一般にトキシコキネティクスと称している。トキシコキネティクスの有用性は既に広く認知されており、事実、米国及び欧州の一部の国では既に毒性試験の必須検査項目と見なされ、医薬品の認可申請資料としてデータの提出が求められる場合がある。しかし、トキシコキネティクスの有用性（限界）に関する認識は国によって、個人によって様々であり、医薬品の開発に際し求められる試験の範囲、程度の指標が明示されることが必要となった。この要望に答えるべく、ICH（薬事規制のハーモニゼーションに関する国際会議）ではトキシコキネティクスのガイドラインの作成を検討している。本年10月のオーランド（米国）におけるICH-2では、日米欧の専門家会議が検討を進めている本ガイドラインの案が提示されるであろう。

この様な背景の中で、第2回日本毒科学会サテライトシンポジウムとしてトキシコキネティクスが取り上げられた。本シンポジウムは以下の趣意で企画された。

- 1) ICHで検討されているトキシコキネティクスのガイドライン（案）の概要を紹介して、基本的な考え方、国際的に今、求められている本試験の範囲と程度を明らかにする。
- 2) わが国におけるトキシコキネティクスの実施実態を紹介し、問題点を探る。
- 3) 事例紹介の中で、トキシコキネティクスの意義と限界を把握し、試験の進め方を考える。
- 4) ICH国際ガイドラインの作成に対し、我々日本が要望すべきこと、貢献すべきことを一緒に考える。

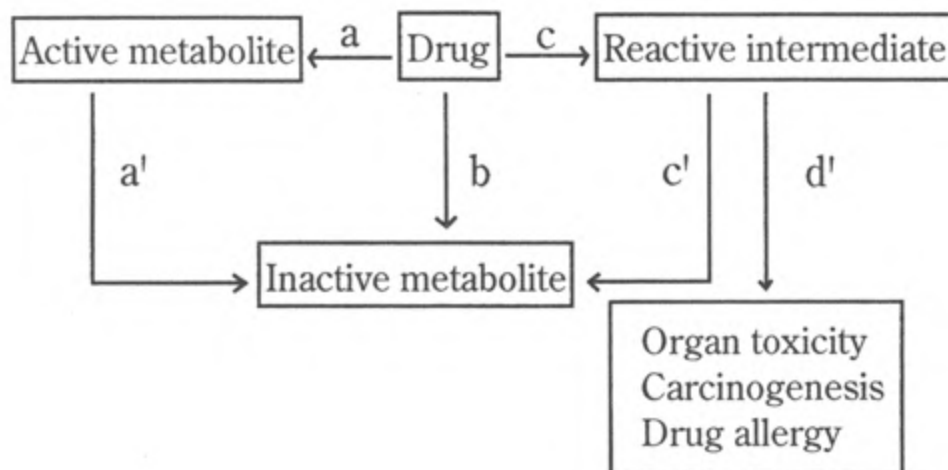
貴重な経験、あるいは、敢えて自社のホットなデータを発表して下さる講師の方々に感謝します。特に、本シンポジウムの為に、遠路ご足労を願うD. E. ケース博士（英国）並びにM. N. ケーヤン博士（米国）に重ねてお礼申し上げます。

毒性研究におけるToxicokinetics導入の意義

慶應大・医・薬理 加藤 隆一

投与された薬物などの化学物質が生体に如何なる反応を起すかを正しく評価するためには投与された物質がどのような形でどのような部位に存在するか、すなわちその物質の生体内動態(薬物動態・毒物動態)を把握しておくことが必要である。毒性発現においては投与された親化合物(parent compound)ばかりでなく、活性代謝物(active metabolite)や反応性中間体(reactive intermediate)の関与が大きいため、代謝物の生成・代謝を含めたtoxicokinetics、すなわち毒物動態(Toxicodotai)的研究が必要とされる。従来毒性研究においてはこのような毒物動態に関する配慮に欠ける傾向があり、それゆえ毒性研究におけるtoxicokinetics(toxicodotai)導入の意義は今後益々大きくなるものと考えられる。

Drug metabolism, efficacy and toxicity



ICH2 and the Development of a New 'Note for Guidance on Toxicokinetics' (ABSTRACT)

David Case (Zeneca Pharmaceuticals, UK)

Introduction

The organisation of the International Conference on Harmonization will be described together with the terms of reference for its activities.

The outcome of ICH1 (Brussels 1991) will be summarised and the programme for ICH2 (Orlando 1993) will be outlined - particularly as it relates to topics which involve toxicokinetics.

The remainder of the talk will focus on just two topics;

- 1) 'Toxicokinetics'
- 2) 'High Dose Selection in Carcinogenicity Studies'

Scope and Definition of Toxicokinetics

The history and use of the word 'toxicokinetics' will be discussed and the modern use and definitions of the word presented.

The definition adopted for ICH2 will be presented and discussed.

Regional Differences in the Practice of Toxicokinetics

Examples will be given of the way in which toxicokinetics is practised in the three territories which are involved with the ICH process: Europe, the USA and Japan.

Differences in the use and interpretation of the data will be discussed.

History of the 'Note for Guidance on Toxicokinetics'

The way in which the 'Note for Guidance' was developed will be described.

Drafts of this document have now been sent out to the six parties involved with ICH2 on three occasions (Draft 7: September 1992, Draft 9: March 1993, Draft 10: April 1993).

We have now collected all the comments on Draft 10 and the document is at a fairly advanced stage in its development. It is hoped to produce a new draft (Draft 11) during the summer - for presentation at the meeting in Orlando.

Content of the 'Note for Guidance'

The content of the Note for Guidance will be discussed and the major issues which have arisen in its development will be summarised.

The current situation with regard to GLP will be summarised.

High Dose Selection in Carcinogenicity Studies

This 'position paper' first produced by FDA in March 1993 will be discussed briefly - because it involves the way in which 'toxicokinetic' data will need to be generated in the sighting and main carcinogenicity studies with new therapeutic agents.

The ways in which the new proposals may affect the selection of dose levels in these studies will be presented.

追記： ICH2で起案を進めている "トキシコキネティクス" ガイドライン
(ドラフト10、製薬協基礎研究部会プロジェクト訳)を参考に添付する

NOTE FOR GUIDANCE ON TOXICOKINETICS
(A Guidance for Assessing Systemic Exposure in Toxicity Studies)
DRAFT 10

トキシコキネティクスに関する手引き書
(毒性試験における全身的な曝露の評価のための手引き)

第10草案

目 次

1. 緒 言
2. トキシコキネティクス(TK)の目的及び測定の対象となるパラメーター
3. TK試験の展開のための戦略
4. 考慮すべき一般的原則
 4. 1. 緒 言
 4. 2. 曝露の定量化
 4. 3. 試料採取時点の妥当性
 4. 4. 将来の毒性試験において適切な曝露を達成するための用量の設定に対する寄与
 4. 5. 毒性試験における曝露の評価範囲
 4. 6. 曝露による毒性所見の解釈を複雑にする要因
 4. 7. 随伴TKに使用される動物
 4. 8. 代謝物の測定
 4. 9. データの統計学的評価
 4. 10. 分析方法
 4. 11. 報告書
5. 各種毒性試験におけるTK —— 留意事項
 5. 1. 緒 言
 5. 2. 単回投与毒性試験
 5. 3. 反復投与毒性試験
 5. 4. 遺伝毒性試験
 5. 5. がん原性試験
 5. 6. 生殖毒性試験
6. 補足的注釈
7. 文 献

DC : 1992年3月30日

(製薬協基礎研究部会トキシコキネティクスプロジェクト委員会翻訳)

1. 緒言

トキシコキネティクス(以下TKと略す)とは、非臨床毒性試験を実施する際に、それらの試験の不可欠な構成要素として薬物動態学的データを収集し、これらのデータを毒性所見の解釈及びこれらと臨床における安全性の問題との関連についての説明に用いることと定義される(本文中の他の術語の定義については、注1を参照のこと)。

この手引き書では、TKをヒトに用いる医薬品の開発に限定して論じる¹⁾。

この手引き書は、TKの意味と応用を明確に理解すると共に、TKにおける試験戦略の立案のための手引きを用意することを目的に作成された。本手引き書は、これらの戦略を毒性試験の中に統合させる必要性について、安全性試験をサポートするためにTKを役立てることについて、及び各種毒性所見を解釈する場合のTKの役割について注意を喚起するであろう。

TKは、(医薬品)開発過程の不可欠な構成要素である。TKは薬物動態学的諸概念に基礎を置いており、その意味で生体内での薬物の分布及び生体内変換についてのすべての局面に関する因果関係を記述している。しかし、TKが毒性試験の一部分を構成すること、またその非臨床試験と臨床試験(3.参照)との橋渡しの性質により、その焦点は主として毒性試験の結果を解釈することであり、その薬物の基礎的な薬物動態学的パラメーターを明らかにすることにあるのではない。

TKの諸方法は、毒性試験に使用される動物種における複数回投与時の薬物動態学的データを入手するための最善の各種の手段を提供する。また、データを集める場合に最適のデザインを組むことにより、動物の過剰な使用が防がれるであろう。

医薬品の開発は、非臨床試験と臨床試験との間の継続的フィードバックを含む動的なプロセスであることから、TKの適用に対しては、いかなる固定化された細部にわたる手順も推奨されるものではない。TKの評価は、リスクと安全性を評価するために必要かつ十分な情報を提供できるように、柔軟なステップ・バイ・ステップなアプローチ及びケース・バイ・ケースな意志決定過程に基づいて実施されるべきである。

2. トキシコキネティクス(TK)の目的及び測定の対象となるパラメーター

TKの第1の目的は：

- 動物において達成された全身的な曝露並びにそれと用量段階及び毒性試験の時間的経過との関係を記述すること。

TKの二次的な目的は：

- 非臨床毒性試験における動物種と投与方法の選択をサポートすること(注1)。
- 毒性試験の中で得られた曝露を毒性所見と関連づけ、またこれらの所見の臨床における安全性との関連の評価に役立てること。
- 毒性所見に関連して、その後に実施される非臨床試験をデザインするのに役立つ情報を提供すること。

これらの目的は、個々の毒性試験の実施期間中の適当な時点で実施される各種の測定から、一種ないし数種の薬物動態学的パラメーター(注2)を求めることによって達成されるであろう。これらは、血漿(あるいは全血)または血清のパラメーターを含み、ケース・バイ・ケースを原則に選択されなければならない。

血漿中(あるいは全血中または血清中)のAUC, C_{max}, 及びC_(time)(注2)は、TKの研究において曝露を評価するために最も普通に使用されるパラメーターである。

データは体液中及び/あるいは組織中で測定された親化合物あるいは代謝物(単数あるいは複数)の濃度から得られる。これらのデータは毒性試験に用いた全ての動物から、あるいは代表的サブグループやサテライト群の動物から得られるであろう(4.7.及び注3参照)。

TKの測定は、通常毒性試験の一部を構成しており、このようなTKを本文書中では「随伴TK」と呼ぶ(注1)。これに代わるものとして、データはその毒性試験の諸条件を忠実に模倣した補助的研究(ancillary studies, 注1)からも得られるであろう。

TKの情報によってサポートされるであろう毒性試験には、単回及び反復投与毒性試験、生殖毒性試験、遺伝毒性試験、及びがん原性試験が含まれる。

3. TK試験の展開のための戦略

TKの戦略とは、毒性試験を理解し、リスクの評価のためヒトのデータと比較するという両方の観点から、得られた毒性学的データの価値を極大化することである。従って、TKデータの収集は非臨床及び臨床試験の進展に歩調を合わせて行うべきである。これは、分析方法を早期に開発しなければならないことを意味している(4.10.参照)。分析方法は継続的に改良されるべきであり、また、他の試験から代謝や種差に関する情報が集まるにつれて、分析対象物質や分析用生体試料を再検討しなければならない。

新薬開発にとって重要な点は、ヒトにおけるデータを早期に入手することであり、これによりTK戦略に対し意義深いフィードバックが可能となる。そのようなわけで、柔軟な手順が個々の新医薬品に対して明らかに必要とされる。

4. 考慮すべき一般的原則

4.1. 緒言

以下の各節に、個々の試験をデザインする際に考慮されるべきいくつかの基本原則を示す。

4.2. 曝露の定量化

全身的曝露を定量化することは、試験動物種に対する負荷の評価を可能にし、また種間、投与量の異なる群の間及び性の間での類似性及び相違を説明するのに役立つ。曝露は定められた時点での親化合物及び／あるいは代謝物の血漿(血清あるいは血液)中濃度、あるいはAUCsによって表されるであろう。例外的な状況においては、組織内濃度の測定を計画してもよい。毒性試験を計画する場合、(予想あるいは確立されている)治療用量でのヒトにおける用量依存性及び曝露を考慮に入れることにより、動物の毒性試験において適切な曝露が達成されるよう配慮すべきである。当該物質に対する薬物作用学的な種差が存在するかも知れないことも考慮すべきである。

更に、毒性試験をTK的に適切にモニタリングあるいはプロファイリングすることは、曝露が用量に対して非線形的に変化する場合には毒性学者に警告するのに役立つであろう(注4)。また、試験期間を通じて適切な曝露を記録することに役立つであろう。TKの情報は、単純な用量/体重比(あるいは体表面積比)よりもより望ましい種間の比較を可能にするであろう²⁾。

4.3. 試料採取時点の妥当性

随伴TK試験において、体液あるいは組織試料を採取する時点は必要なだけの頻度にするべきであるが、試験の正常な遂行を妨げるような、あるいは動物に対し生理学的に耐えられないストレスを与える程の高頻度にするべきではない(注5)。個々の試験において、試料採取の時点数は、曝露を明確に示すために適当かどうかということに基づいた理論的な裏付けが必要である(4.2.参照)。その理論的裏付けは、より早期の各毒性試験、パイロット試験あるいは用量設定試験、あるいは同じ動物モデルを用いた、または信頼性のある外挿を可能にする他のモデルを用いた独立した試験から集められた動態学的データに基づくべきである。

4.4. 将来の毒性試験において適切な曝露を達成するための用量の設定に対する寄与

4.4.1. 緒言

慢性毒性試験における用量設定は、毒性試験の最終目標(エンドポイント)及び試験動物種の薬物作用学的諸反応によって殆ど決定される。しかし、以下のTKの諸原則も用量設定に寄与するかも知れない。

4.4.2. 低用量

低用量、望ましくは無毒性量(注6)では、(すべての種類の)毒性試験における薬物の曝

露が、ヒトに治療用量を投与した後の定常状態での推定あるいは既知の曝露よりも通常高くなければならない。しかしながら、ある種の動物に対しては、投与可能最大量を投与した場合でさえもこの目的が達成されない場合もありうる。

4.4.3. 中間用量

中間用量における曝露は普通低(あるいは高)用量での曝露の適当な倍数(あるいは分数)となっているべきである。

4.4.4. 高用量

毒性試験の高用量は、通常種々の毒性学的考察によって決定される。しかし、高用量において達成される曝露は測定されるべきである。

薬物の吸収が曝露の頭打ちをもたらしていることをTKデータが示唆している場合は、最大の曝露をもたらす最も低い用量が実際に用いられる最高用量として容認されるべきである(特に他に用量を制限する要因が存在しない場合)(注7)。

選択された用量段階が非線形性の動態(注8)をもたらした場合、(すべての種類の)毒性試験における毒性学的所見の解釈には極めて入念な注意が払われるべきである。しかしながら、非線形性の動態は必ずしも毒性試験における用量水準の限界をもたらすものではなく、また必ずしも毒性所見を無効にするものでもない。このような状況では、TKは適切な安全係数を算出するために非常に役立つ可能性がある。

4.5. 毒性試験における曝露の評価範囲

毒性試験において、リスク評価のための根拠を提供できるよう十分な数の用量群について全身的曝露を測定すべきである(注9)。

4.6. 曝露による毒性試験の解釈を複雑にする要因

上述のように、曝露を評価することは毒性試験を説明したりヒトの曝露と比較するのに役立つであろうが、いくつかの注意すべき点がある。

蛋白結合性、組織への取込み、受容体の性質及び代謝プロファイルにおける種差を考慮すべきである。例えば、曝露は遊離(非結合型)薬物濃度と関係させて考えた方が良いかも知れない。更に、代謝物の薬理学的活性、代謝物の毒性、及びバイオテクノロジー生産物の抗原性も事態を複雑にする因子であるかもしれない。また、比較的低い血漿中濃度下でさえも、特定の器官あるいは組織に、投与された薬物及び/あるいは代謝物が高濃度で存在している可能性があることにも留意すべきである。

例えば、吸入や局所塗布や非経口といった、より低頻度で使用される投与経路を使用する場合に採用されるべきTKの戦略は、(臨床で)予定されている投与経路によって投与さ

れたその物質の薬物動態学的諸性質に基づくべきである。

4.7. 随伴TKに使用される動物

随伴TKは、主たる試験あるいは同一の条件下で飼育されている特別のサテライト群で使われる動物の全てかあるいは代表的な一部分のいずれかを用いて実施できるであろう(注1, 3及び5)。使用すべき動物数は適切なTKデータを得るのに丁度足りるだけの最少数であらねばならない。もし、主たる試験において雌雄の動物が使用されている場合には、何らかの正当な根拠がない限り、両性の動物で曝露を測定するのが普通である(注10)。

4.8. 代謝物の測定

TKの第一の目的は、毒性試験に使用された種が投与された薬物によって全身的にどれだけ曝露されたかを把握することである。しかしながら、TKの実施において、代謝物の血漿中あるいは他の体液中の濃度の測定が妥当であるような状況があるかもしれない(注11.)。即ち：

- 投与された化合物が「プロドラッグ」として作用し、そして、搬送された代謝物が主要な活性本体であるとみなされる場合。
- 化合物が薬理的あるいは毒性学的に活性な代謝物に代謝され、その化合物本体に加えてこれらの代謝物が薬理的あるいは毒性学的な反応に関し大きく寄与していると考えられる場合。
- 投与された化合物が非常に速やかに代謝され、その主代謝物の血漿中あるいは組織中濃度の測定をすることが毒性試験においてその化合物の投与後の曝露を評価する唯一の実際的な手段である場合(注12)。

4.9. データの統計学的評価

データは曝露の正しい評価を可能にするものでなければならない。しかしながら、動態学的パラメーターの個体内及び個体間の変動が大きいこと及びTKデータが少数の動物に由来していることのために、統計に関しては高度な精度は普通必要とされない。必要ならば平均値あるいは中間値を算出することを考慮すべきである。

ある種のケースでは、個々の動物に関するデータが群のデータの精密な統計学的解析よりも重要であるかも知れない。

4.10. 分析方法

TK研究に使われる分析方法は、個々の分析対象物質に特異的であり、また、十分な正確性と精密性をもつべきである³⁾。定量的限界はTKデータの発生において生じると予想されるレベルの範囲の測定に見合った精度をもつべきである。

分析対象物質及び生体試料(体液あるいは組織)の選択についても記述すべきである。また、(各動物種からの)各々のタイプの試料中の内因性の成分によってひきおこされる測定妨害の有無についても検討すべきである。通常、血漿あるいは全血がTK研究のためにまず選ばれる生体試料である。

もし、薬物が不斉中心をもつのであれば、更にその分析対象物質(ラセミ体あるいはエナンチオマー)を選択した正当な理由が示されねばならない。

非臨床試験に用いられた分析対象物質、生体試料及び分析方法は、臨床試験に用いられたそれらと可能な限り常に同一であるべきである。

4.11. 報告書

採用されたTKの方針の理論的裏付けが毒性試験の報告書あるいは独立した報告書中に記載されるべきである(5.1. 参照)。発生したTKデータは、それらの結果の評価及び毒性的所見の解釈との関係を含め包括的に説明されるべきである。

分析方法の概略は、報告書に記載するかまたは引用されるべきである。また、分析された生体試料及び測定された分析対象物質(4.8. 及び4.10. 参照)を選んだ根拠も記載されるべきである。

5. 各種毒性試験におけるTK —— 留意事項

5.1. 緒言

上で概観したTKの原則に基づき、各種毒性試験における留意事項を以下に述べる。曝露のモニタリングあるいはプロファイリングの頻度は、必要に応じ増減してもよい。

個々の動物から試料を採取することは、それらの動物における毒性所見の説明に役立つと考えられる場合には妥当なことであろう。

5.2. 単回投与毒性試験

これらの試験は、新薬開発の極く初期の、未だ生体試料分析法が開発される前に実施されることが多く、従ってこれらの試験のTK的なモニタリングは通常実施困難である。このような試験において血漿サンプルを採取し、後日の分析のために保存しておいてもよいが、その場合、採取された生体試料中の分析対象物質についての適切な安定性データが必要とされるであろう。

血漿サンプルを保管しておく代わりに、急性毒性試験の終了後に、毒性試験において生じた特定の疑問点に回答するために、補助的な薬物動態試験を実施してもよいであろう。

単回投与毒性試験の結果は、投与剤型の選択や、ある投与と次の投与との間における曝露の程度や持続性の予測に役立つであろう。このことは、その後の毒性試験で標的臓器に起こりうる予想外の過剰な曝露を回避することにも役立つであろう。

5.3. 反復投与毒性試験

投与方法(注13)及び動物種は、可能な場合常に薬物作用学的、薬物動態学的、代謝的及びTK的諸原則を考慮して選択すべきである。動物についてもヒトについても薬物動態学的データが通常全く存在しないごく初期の毒性試験にあっては、この条件の達成は困難かも知れない。

随伴TKは試験のデザインの中に適切に組み込まれるべきである。随伴TKは、最初の要(かなめ)となる反復投与毒性試験の開始時と終り頃に、適切な用量段階について曝露をプロファイリングあるいはモニタリング(注1)するに留めてもよい。その後、後日実施される試験のために採用される(TKの)方法は、最初の試験の結果及び予想(臨床)投与方法の変更に従って決められるであろう(注13)。特定の化合物に対して、あるいはそれ以前の毒性試験の解釈に際して問題が生じている時には、モニタリングあるいはプロファイリングの拡大実施が必要となろう。

5.4. 遺伝毒性試験

in vivo試験においては、標的組織における曝露の特色を明らかにすることが適切であろう。

5.5. がん原性(発がん性)試験

5.5.1. 見当づけあるいは用量設定試験

がん原性本試験を計画するのに役立つと思われるTKのデータを得るために、これらの試験の適切なモニタリングあるいはプロファイリングを実施すべきである(5.5.2. 参照)。より以前に実施された慢性毒性試験に含まれなかった動物種や系統あるいは投与ルートや投与方法を用いる場合、特に混餌投与ルートを初めて用いる際には特別の注意を払わねばならない。

5.5.2. がん原性本試験

投与方法及び種や系統の選択は、可能な限り入手可能な薬物動態学的あるいはTK的情報を基に決定すべきである。事実上、殆ど大多数のがん原性試験はラットとマウスを用いて実施されている。試験に使用された種における曝露が適当であることをTKのデータから再確認するよう努めねばならない。

TKデータは、臨床における曝露量に関する情報に照らして、また非線形の薬物動態(注8)が試験成績の解釈を複雑にしているような場合に投与量を設定するのに役立つであろう。混餌投与の場合には、適切なTKデータを得るために特に注意を払うべきであ

る(注14)。

がん原性本試験における投与量は、何段階かの倍数量を設けることにより、動物における全身の曝露がヒトにおける治療用量での最大曝露量の数倍を超えるように設定することが望ましく、またこの際、用量段階中に、曝露量が投与量に比例して増大する範囲内での可能な最大投与量を含むことが望ましい。しかしながら、この理想化された用量設定法は、種特異性という避け難い問題によって混乱させられていることもよく知られている。要するにこの手引き書において強調したい点は、がん原性試験の各時期に、適切な用量群について、未変化体あるいは適切な代謝物による動物の全身的な曝露量を測定する必要があるということである。そうすることにより、発がん頻度の陽性あるいは陰性試験成績を、動物モデルとヒトにおける曝露量の比較という正しい展望のもとで考察できるであろう。

実際問題として、がん原性試験の最高用量として「最大耐量」(MTD)が使用されて来た。しかしながら、MTDの概念は試験動物種及びヒトにおける曝露量を考慮することによってとって変えられるかも知れない⁴⁾。

比較的低毒性で変異原性のない化合物に対しては、まだ一般に受入れられているところの、毒性に基づいたエンドポイント(MTD)に加えて、適切ながん原性試験が実施されていることを保証するために、ヒトの曝露量と比較して十分に高いとみなせるようなレベルの動物の曝露を定義することが妥当であるとの合意が成立している。投与量でなく曝露量を比較することが重要であると考えられているが、これは前者が薬物動態における種間差を考慮に入れていないからである⁵⁾。

随伴TKでは、適当な用量段階について、その試験中のいくつかの時点で曝露を測定するに留めてもよいであろう。適切な測定の時点は、試験の初期、長期投与後例えば1年後、及び動物の生存率から測定可能な場合には投与期間の終り頃であろう。個々の試験の計画は、それ以前の諸試験から集められたデータを利用して化合物毎に選択されるべきである。

5.6. 生殖毒性試験

5.6.1. 緒言

生殖毒性試験の開始前に、ある程度の薬物動態学的情報を入手していることが望ましいが、これはそのような情報が種の選択や試験計画や投与スケジュールを整合させる必要性を示唆する可能性があるからである。この時点ではそれらの情報は洗練されたものである必要はなく、また妊娠中あるいは授乳中の動物から得られたものである必要もない⁶⁾。試験を評価する時点で、既に得られている結果に従って妊娠あるいは授乳動物からの薬物動態学的データが必要となるかも知れない⁶⁾。

生殖毒性試験プログラムの各セグメントにおいて達成される曝露を測定するために、TKの諸原則が応用されるべきである⁹⁾。雌のサテライト群をTKデータ収集の目的で使用することも可能である。

妊娠及び非妊娠動物間で薬物動態が異なる可能性を考慮すべきである。

5.6.2. 繁殖試験

一般的な原則が適用される(5.3.も参照)。これらの試験をモニターすることの必要性は、用いられた投与方法、及びその選択された種に関するそれ以前に実施した試験から既に得られている情報に依存するであろう。

5.6.3. 妊娠期・授乳期動物における試験

曝露期間における投与方法は、薬物動態学的及びTKの諸原則に基づいて選択されるべきである。

TKの範囲には、特定の日々における母動物、胚、胎児あるいは新生児の曝露量の評価が含まれるであろう(注15)。新生児の曝露に関する役割を明らかにするために乳汁への分泌を測定してもよい。胎盤移行及び乳汁への分泌を調べるための補助的研究も必要であろう。

試験物質の胎盤移行が証明されないような動物種における生殖毒性試験の解釈については、注意深くなければならない(注16)。

6. 補足的注釈

注1. 本「手引き書」中に登場する表現の定義：

分析対象物質(analyte)： 生物試料中の分析の対象となる化学物質

補助的研究(ancillary studies)： それ自体独立した薬物動態学的あるいは代謝研究でありながら、要(かなめ)となる毒性試験の条件を忠実に模倣した条件下で、特定の組み合わせのデータを生み出すようにデザインされた研究。

随伴トキシコキネティクス(concomitant toxicokinetics)： 毒性試験の対象となる動物を用いたTK的測定。群の全ての動物あるいはそれらを代表する一部の動物、あるいは特に設けられたサテライトグループの動物を用いる。

曝露(exposure)： 曝露は被験物質及び/あるいはその諸代謝物の試験種に対する局所的あるいは全身的な負荷を表す薬物動態学的パラメーターにより表される。血漿中

薬物濃度—時間曲線下面積(AUC)、及び/あるいは最高濃度が得られると推定される時点において測定された濃度 C_{max} 、あるいは他の選ばれた時間における濃度(C_{time})の測定が、最も普通のパラメーターである。特殊な場合には他のパラメーターがより妥当なこともある。

薬物作用学的あるいはトキシコダイナミックな諸効果が曝露を証明する証拠を提供することもあり、時には薬物動態学的諸パラメーターと置き換えることも可能かも知れない。

モニター(monitor)： C_{time} あるいは C_{max} を測定するために、1投薬間隔中に少数(例えば1～3時点の)血液試料を採取すること。

プロファイル(profile)：ある投与間隔中に C_{max} 及び/あるいは C_{time} 及び血漿中薬物濃度—時間曲線下面積(AUC)を測定するために(例えば4～8時点の)血液試料を採取すること。

サテライト群(satellite group)：毒性試験の計画及び実施に含まれ、主試験に使用される動物と共に飼育されるが、主としてTKに使用される複数の群の動物。

サポート(support)：毒性試験に関して用いられる場合——毒性試験の計画を薬物動態学的及び代謝学的諸原則の観点から、検証あるいは確認すること。この過程は2つの独立した段階から成る——

- a) 試験動物が、投与された化合物及び/あるいはその代謝物によって適度な全身レベルまで曝露されたことをTKの諸原則を用いて確認すること(4.4.参照)。
- b) 使用された動物種における代謝のプロファイルに特に大きな問題がないことを確認すること；b)をサポートするデータは通常の場合、動物及びヒトにおける代謝試験のデータから得られるであろう。

バリデート(validate)：

分析法に関して用いられる場合——分析法の正確性、精密性、再現性、応答関数(注：濃度入力に対する機器の応答の特性を表す関数)及び特異性を、検査すべき生体試料及び定量すべき分析対象物質に関して確立すること³⁾。

注2. アメリカ臨床薬理学協会・薬物動態学命名委員会の「薬物動態学の記号、公式及び定義マニュアル」(フィラデルフィア, PA, 1982年5月)に従った記号及び定義

- | | |
|---------------|-------------------------------|
| C_{max} | —— 単回投与後の最高(ピーク)血漿中薬物濃度 |
| $C_{max, ss}$ | —— 定常状態での最高(ピーク)血漿中薬物濃度 |
| C_{time} | —— ある投与量の投与後の特定の時点における血漿中薬物濃度 |
| C^{ss} | —— 一定速度注入投与時における定常状態での血漿中薬物濃度 |

- t_{max} — 薬物投与後にピークあるいは最高(血漿中)薬物濃度に到達するまでの時間
- $AUC_{(0-t)}$ — 時間ゼロから時間 t までの濃度—時間曲線下面積。
 $AUC_{(0-\infty)}$ は、 $AUC_{(0-t)}$ の一つの特種なケースであることに注意。
- AUC^{SS} — 定常状態におけるある投薬間隔(r)内の濃度—時間曲線下面積
- Cl — 血漿からの薬物のクリアランス(他の体液中からのクリアランス値の場合は明記が必要である。例えば、 Cl_b は全血液からのクリアランス)(非経口投与の研究の場合に適用)。

ある種の化合物に対しては、他の測定、例えば尿中排泄の測定がより適切な場合もあろう。他のパラメーター、例えばバイオアベイラビリティ、半減期、非結合型薬物の割合、及び分布容積の算出は、TK的データを説明する場合に有用であろう。このように、パラメーター及び測定時点の選択は第4節に概略を述べた一般原則を考慮しつつ、ケース・バイ・ケースを原則に行うべきである。

注3. 毒性試験に対するサテライト群は、主試験に用いる動物に対するのと全く同一の環境下で飼育し、全く同一の投与操作及び飼育操作を行うべきである。

注4. 過剰な曝露は、薬物の体内からの消失過程の飽和による非線形的薬物動態の結果として思いがけなく起こりうる。異常に長い血漿中半減期を持つ化合物の毒性試験の過程でも曝露が増大する可能性がある。投与間隔中の比較的短時間に極端に高い血漿中 C_{max} 値に達するような化合物についても注意深い考察が必要である。

注5. 主試験に使用する動物からサンプルを採取する場合は、試験に用いた全ての動物を同一の方法で操作するために、全ての投薬された動物及び対照動物から試料を採取するか、あるいは(各群)同一サイズの代表的サブグループから採取するかのどちらかにするよう配慮しなければならない。

注6. この意味で、無毒性量とは、「何らかの薬物学的作用は認められてもよいが、予期しない副作用が認められない投与量」と定義される。

注7. 動物に経口投与可能な許容体積に限界があるために、溶液あるいは懸濁液の形で経口投与される比較的low毒性の化合物の可能最大投与量が制限される場合がある。

注8. これは、選択された投与量において、酵素誘導、酵素阻害、吸収の飽和、あるいはクリアランスの飽和などが、結果的に投与量に比例しない曝露をもたらすことがあれば起こりうる⁷⁾。

- 注9. 通常は対照群からのサンプルを測定する必要はないと考えられるが、対照群のサンプルも採取しておき、後日もし毒性所見の解釈や、あるいは測定法の検証のために役立つと思われる場合に測定してもよい。
- 注10. 薬物動態における性差は、ゲッ歯類においては珍しくないが、より高等な動物種ではまれである。
- 注11. もし、毒性試験の要(かなめ)となる動物種において、代謝物に関し十分な曝露が認められたならば、これらの代謝物についての独立した毒性試験は通常の場合不必要である。
- 注12. TK的な評価の一環としての各種代謝物の測定を行うことは、曝露の評価にのみ役立つものであって、反応性の高い中間代謝物の説明には不適切であると考えられている⁸⁾。
- 注13. 投与方法には、投与量、投与剤型、投与ルート及び投与頻度が含まれる。
- 注14. 混餌投与と強制経口投与あるいは予想臨床投与経路とは異なる投与経路との間で、曝露を比較するための別個の研究が必要となろう。
- 注15. それまでに一般毒性試験に用いられたことのない動物種を生殖毒性試験に用いる場合には、その種における薬物動態学的プロファイルを確立するための別個の薬物動態学的諸研究が必要となろう。胚-胎児コンパートメントに入る物質の移動を考慮に入れることは重要である⁹⁾。胎児の曝露は実際上最もしばしば評価されているパラメーターであり、「胎盤移行」と呼ばれている。
- 注16. もし、全胎児中の薬物濃度が母体の血漿中濃度の1%を超えないならば、通常の場合、胎盤透過性は証明されなかったと結論してもよい。

7. 文 献

1. Design of Toxicokinetic Studies. Smith D.A., Humphrey M.J., and Charuel, Xenobiotica, 1990, Vol. 20, No.11, 1187-1199.
2. Opportunities for Integration of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Toxicokinetics in Rational Drug Development, Peck C.C. et al., Pharmaceutical Research, 1992, Vol. 9, No.6, 826-833.
3. Analytical methods validation : Bioavailability, Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies, Shah, V.P. et al., European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 1991, Vol.16, No.4, 249-255.
4. Proceedings of The First International Conference on Harmonization Brussels 1991. Ed : D'Arcy, P.F. and Harron, D.W.G. (1992), pages 185 and 331.
5. ICH position paper : 'High Dose Selection for Carcinogenicity Studies', Draft 2, March 6th 1993.
6. ICH Tripartite Guideline : 'Guideline on Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products', Final Draft, Sept 1992.
7. Gibaldi M. and Perrier D., 'Pharmacokinetics' Second Edition, Chapter 7. Marcel Dekker Inc., New York (1982).
8. What is an appropriate measure of exposure when testing drugs for carcinogenicity in rodents ? Monro, A., Toxicology and Applied Pharmacology, 1992, 112, 171-181.

3. “日本に於けるトキシコキネティクスの実施状況”

第一製薬(株) 伯水 英夫

新薬創製のすべての過程、即ち探索段階から臨床までの薬効・毒性評価にそれを科学的に裏付ける、あるいは理解する研究手法として薬物動態研究が必須である事は今や論を待たない(Fig.1)。ことに、ヒトでの薬物の薬効・毒性をより精密に把握しようとする時、各薬物毎の体内動態特性との関連が極めて重要視されてきている。この傾向は欧米では特に明確である¹⁾。また、より合理的な創薬プロセスを考えた場合、前臨床での薬効・毒性評価においても同様な科学性が求められるし、更には、前臨床と臨床、即ち、動物とヒトの薬効・毒性評価を総合して考察する際に、相互の薬物動態特性を共通パラメーターとして考慮することは極めて有用である(Table1)。欧米から具体案が提出され、ICH-2で日・米・欧の調和が討議される Toxicokinetics 即ち、非臨床毒性試験を主として未変化体の血中濃度推移を測定することによる Pharmacokinetic parameterでfollowする研究手法は上記した観点からも極めて合理的である。一方、我が国においても、新薬の開発・評価における薬物動態研究の重要性は早くから認識され、昭和40年代の中頃から、丁度、系統的な動物での毒性試験が開始された頃とほぼ機を一にして始められており、申請データとしての提出も求められている。薬物動態試験(当時はADMEまたは吸排試験)開始当時は未だHPLC等の分析法が実用に供されておらず、速度論的解析法(Pharmacokinetics Analysis)も研究の緒に就いたばかりであった。実験手法としては RI標識体を用いた放射能での検出が主流であり、投与放射能での血中・組織中濃度推移、排泄、分布、代謝物パターン測定等が主な提出データであった。毒性評価に関連しては特に分布、蓄積性の評価に重点がおかれてきた。分布特性の評価は新薬開発に極めて重要であるが、その実験手法としての Radioautographyは当初から取り入れられ最近では定量化も可能な Radioluminographyも実施されようとしている。我が国では、薬物動態解析法、分析法の進歩をも考慮して薬物動態試験ガイドラインが2年前に制定されている^{2)・3)}。非臨床試験での薬物毎の詳細な体内動態特性を、薬効・毒性評価に関連して明確にする事が明記されているが、直接毒性試験に連携して実施することが義務づけられていない。

また、より詳細な分布特性を求める研究内容は伝統的に継承されている。従って、Toxicokineticsと薬物動態試験ガイドラインの求める研究内容、目的は結果的にはやや異なっており、昨年実施された、日本製薬協・第7分科会でのアンケート結果においても相互に補完し、両試験を並立して実施することが望ましいとの回答が多かった(Table2)。日本でも欧米での新薬認可申請の為に、必要に応じ Toxicokineticsが実施されているようであるが(Table2)、本格的な実施体制が整備されていないのが現況である。ICH-2での調和後、我が国では、薬物動態研究に関する2つのガイドラインが実施されることになるが、薬物動態試験ガイドラインに基づく詳細な体内動態研究内容をベースにした Toxicokineticsの展開が理想と思える。その一方、薬物動態試験ガイドラインの研究内容も Toxicokinetic実施を前提に両試験の実施が噛み合うよう見直しが必要と思われる。

最近、上市された血圧降下薬 Carvedilolは西ドイツ BH社からの導入品であるが、その開発に当たってはそれぞれの国情に合った物動態試験が両社で実施された。両社で実施したCarvedilol薬物動態研究の具体例から^{4),5),6)} 個々の動態試験の意味する所と、Toxicokineticsを中心とする薬物動態試験の国際的ハーモナイゼーションへむけての問題点を考察して見たい。

参考文献

- 1) Opportunities for Integration of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Toxicokinetics in Rational Drug Development. Peck C.C. et al., *Pharmaceutical Research*, 9, 826-833 (1992).
- 2) 医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1991, 監修 厚生省薬務局新医薬品課, 薬事日報社, 162-164p (1991).
- 3) Role of metabolism and pharmacokinetic studies in the discovery of new drugs—present and future perspectives. Humphrey M.J. and Smith D.A., *Xenobiotica*, 22, 743-755 (1972).
- 4) Carvedilolの体内動態(第2報), ラット反復経口投与における体内動態. 伯水英夫, 藤巻正慶 *薬物動態* 4, 651-665 (1989).
- 5) Carvedilolの体内動態(第5報), ラットにおける胎仔移行性. 伯水英夫, 藤巻正慶 *薬物動態* 4, 679-691 (1989).
- 6) Steady state serum concentration of carvedilol in dogs during chronic toxicity. Schaumann W. Boehringer Mannheim Investigation Report (1989).

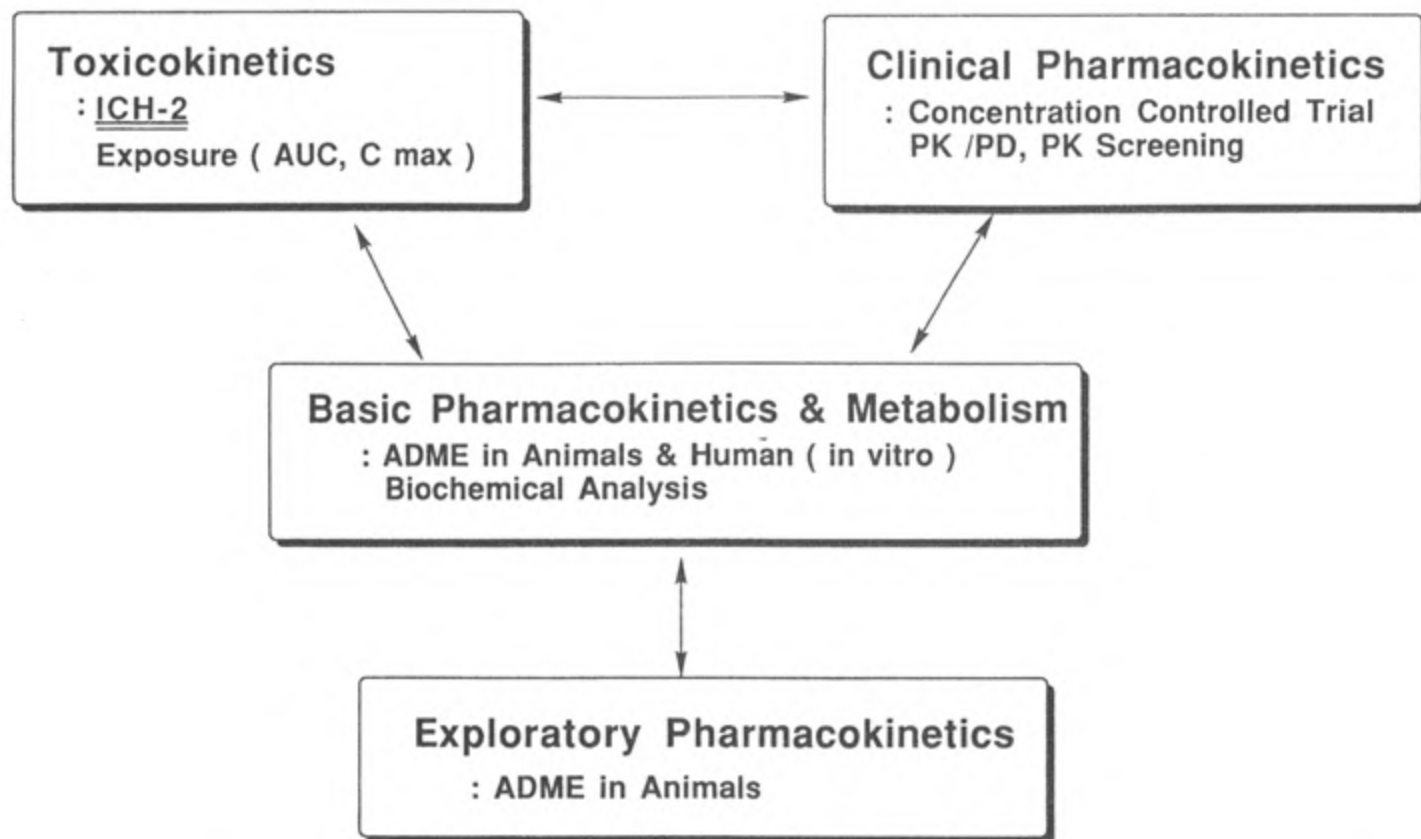


Fig. 1 The Roles of Pharmacokinetics in Drug Development Process.

Table 2

PRECLINICAL PHARMACOKINETIC AND PHARMACODYNAMIC STUDIES

from

"Conference Report. Opportunities for Integration of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Toxicokinetics in Rational Drug Development"
C.C. Peck, et al., *Pharmaceutical Research*, 9, 826 (1992).

The objectives of preclinical pharmacokinetic and metabolism studies are to obtain information which is useful for (a) toxicity and safety evaluation studies in animals, by supporting study design, dosing regimen development, and interpretation of toxicity data, and (b) initial safety and tolerance studies in man, by providing pharmacokinetic and pharmacodynamic data that may be helpful in dosing regimen development and dose escalation in normal subjects and patients. Informative preclinical information can be helpful in expediting the drug development process.

The following specific kinds of studies will often be of value.

- A. Development of methodologies for quantitation of drug and metabolite concentrations in biologic fluids.
- B. Mass balance-metabolism profile and metabolite pharmacology :
Determination of metabolic pathways and qualitative and/or quantitative measurement of major metabolites in blood, plasma or serum, urine, and other relevant fluids or tissues.
- C. Pharmacokinetic and biological fluid concentration monitoring.
- D. Relation of systemic drug concentrations to pharmacodynamic end points.
- E. Systemic drug concentration monitoring in long-term toxicology studies.
- F. Protein binding.
- G. Tissue distribution.
- H. Placental transfer kinetic studies may complement reproduction studies.

Table 3(1)

Questionnaire study on Toxicokinetics by JPMA, April 1992

(50 responses / 57 companies)

I. Do you perform Toxicokinetic Studies?

1. When necessary	-----	22	(39 %)
2. Usually, but separately from Pharmacokinetic Studies	-----	18	(32 %)
3. Usually, and as a part of Pharmacokinetic Studies	-----	7	(13 %)
4. Planning to perform	-----	5	(9 %)
5. No work, yet	-----	4	(7 %)

II. Relative Necessity of Toxicokinetic Studies

1. Repeated dose Toxicity Testing	-----	39	(32 %)
2. Single dose Toxicity Testing	-----	21	(17 %)
3. Carcinogenicity Testing	-----	22	(20 %)
5. Drug Dependency Testing	-----	3	(2 %)
6. Mutagenicity Testing	-----	3	(2 %)
7. Others (Species & Sex Difference, Linearity, Dose Setting, etc.)	-----	1 - 5	(1 - 4 %)

III. Test Item - Preferred Standpoint for Testing

(48 responses / 50 companies)

	Toxicokinetics	Pharmacokinetics
1. Dose, Route, Formulation		
Absorbability	12	<u>24</u>
Dose Dependency	2	<u>9</u>
2. Exposure Monitoring in Toxicology		
Single Dose	<u>6</u>	0
Multiple Dose	<u>45</u>	0
Reproduction	<u>6</u>	0
Carcinogenicity	<u>5</u>	0
Drug Dependency	<u>1</u>	0
3. Interpretation of Toxicity		
Species Difference	1	<u>12</u>
Sex Difference	1	<u>9</u>
Enzyme Induction	1	<u>4</u>
Protein Binding	0	<u>5</u>
Fetal Transfer	0	<u>5</u>

Table 3(2)

VI. Relation between Pharmacokinetics and Toxicokinetics-----International Harmonization of Guidelines

- | | | |
|--|-------|-------------|
| 1. In addition to animal pharmacokinetic studies, kinetic studies should be integrated into toxicological testing. | ----- | 32 (65 %) |
| 2. Toxicokinetic testing should be added to the Japanese requirements for animal pharmacokinetic studies. | ----- | 5 (19 %) |
| 3. The scope of Japanese guidelines for pharmacokinetics is broad and includes toxicological considerations. Thus, no additional studies are needed. | ----- | 9 (18 %) |
| 4. Others (No guidelines necessary, already too many animal studies, etc.) | ----- | 3 (6 %) |

V. Toxicokinetic Measurement-----Relation toGLP Control of Animals

- | | | |
|--|-------|-------------|
| 1. Samples collected in GLP measured in ADME or Analytical Laboratories under non-GLP | ----- | 36 (74 %) |
| 2. Samples measured in Toxicology Lab. under GLP by Analytical Method developed in ADME Lab. | ----- | 5 (9 %) |
| 3. Samples measured in Toxicology Lab. under GLP by Analytical method developed independently. | ----- | 7 (13 %) |
| 4. Samples measured in ADME Lab. under GLP Controls | ----- | 1 (2 %) |
| 5. Others (case by case, only non GLP, etc.) | ----- | 5 (9 %) |

IV. Objectives of Kinetic Studies in Repeat dose Toxicology

- | | | |
|---|-------|-------------|
| 1. Absorbability | ----- | 38 (35 %) |
| 2. Dose Dependency | ----- | 25 (23 %) |
| 3. Drug Accumulation | ----- | 18 (16 %) |
| 4. Species & Sex Differences | ----- | 8 (7 %) |
| 5. Mechanism of Toxicity | ----- | 6 (5 %) |
| 6. Dose Setting | ----- | 3 (2 %) |
| 7. Others (Enzyme Induction, Tissue transfer, Metabolism, etc.) | ----- | 6 (5 %) |

薬物動態試験との関連性

藤沢薬品・安全性研究所 野田 耕世

日本における薬物動態ガイドライン

1. 非臨床薬物動態
 - (1) 薬物動態試験ガイドライン (1991年)
2. ヒト薬物動態
 - (1) 薬効群別ガイドライン (1980年代～)
 - (2) 生物学的同等性に関する試験基準 (1982年)
 - (3) 新医薬品の臨床評価に関する一般指針 (1992年)
 - (4) 高齢者の臨床試験に関する国際ガイドライン (案) (1993年)
 - (5) その他
 - 小児医薬品開発のためのガイドライン (1982年)
 - 徐放性製剤の設計及び評価 (1988年)

ECにおける薬物動態ガイドライン

1. 非臨床薬物動態
 - (1) Pharmacokinetics and metabolic studies in the safety evaluation of new drugs in animals (1983年)
2. ヒト薬物動態
 - (1) Pharmacokinetic studies in man (1987年)
 - (2) Clinical investigation on medical products in the elderly (1988年)
 - (3) Investigation of bioavailability and bioequivalence (1992年)

USAにおける薬物動態ガイドライン

1. 非臨床薬物動態

- (1) Guideline for the format and content of the nonclinical pharmacology/toxicology section of an application (1987年)

2. ヒト薬物動態

- (1) Guideline for submitting and conducting pharmacokinetic, bioavailability and bioequivalence studies (1984年)
- (2) Guideline for the format and content of the human pharmacokinetics and bioavailability section of an application (1987年)
- (3) Bioavailability and bioequivalence requirements (1989年)
- (4) Guideline for the study of drugs likely to be used in the elderly (1989年)

薬物動態試験の特徴

EC : Toxicokinetics

USA : Human pharmacokinetics

JPN : Animal pharmacokinetics

薬物動態試験ガイドライン

目的：動物での体内動態を明確にする。

- 動物での毒性、薬理試験の設定と結果の評価・理解
- ヒトでの有効性、安全性を確保するための適切な使用方法の設定

薬物動態試験は被験物質の薬効、毒性と関連付けて実施されることが望まれる。(解説)

試験方法

- 動物種
- 投与経路
- 投与量
- 投与間隔、投与期間

検討項目

- 分布
高濃度分布もしくは高い蓄積性がみられた部位の化学的存在形態
- 代謝
変動要因(動物種、年齢、性、病態、酵素誘導、阻害等)

薬物動態を考慮した非臨床安全性評価研究

1. 定量法を確立する。
2. 毒性試験に先立ち、試験に用いられる動物における予定された投与剤型、投与量での薬物動態を把握し、適切な用量設定を行う。
3. 設定通りの薬物負荷で試験が行われたことを確認する。
4. 毒性所見と薬物の定量的関係から毒性学的無影響量(濃度)を求める。
5. 薬物動態の種差を考慮しヒトでの毒性発現量(濃度)を推定する。

毒性試験に関連した薬物動態データ

I 毒性試験実施前

1. 定量分析法の確立

精度, 正確さ, 再現性

2. 薬効用量を単回投与後の血中濃度

C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$, AUC

バイオアベイラビリティ, 初回通過効果

3. 毒性試験予定投与量を単回投与時の血中濃度

線形性

4. 各種投与剤型での血中濃度

溶液, 懸濁液, 原末

吸収性の悪い薬物や脂溶性の高い薬物については可溶化等の工夫を行う。

5. 摂餌の影響

絶食及び非絶食投与時の血中濃度

.....

● 毒性試験の条件設定

II 前臨床段階

1. 標識化合物を用いた吸収率

血中濃度, 尿中排泄率

2. 全身オートラジオグラフィー

雄性, 妊娠ラット

3. 臓器及び組織内濃度
放射能, 未変化体, 代謝物
4. 蛋白結合と血球移行性
in vitro (ラット, イヌ, ヒト)
5. In vitro代謝
S9, 肝ミクロゾーム又は遊離肝細胞 (ラット, イヌ, ヒト)
6. In vivo代謝
7. 酵素誘導, 阻害
8. 標識化合物を用いた mass balance

-
- 吸収及び代謝の種差
 - モニターすべき濃度 (遊離型又はtotal濃度)
 - 標的臓器, 組織
 - 残留, 蓄積性の予測

III 臨床段階

1. ヒトでのファーマコキネティクス
2. ヒトでの代謝物
血液, 尿, 糞
3. 乳汁中移行
4. 標識化合物を反復投与時の体内動態

5. 代替投与経路での同等性の検討
6. 体内動態に及ぼす加齢の影響
7. その他の薬物動態試験

-
- 動物とヒトの比較
 - モニターすべき化合物（未変化体 and/or 代謝物）
 - 臓器蓄積性と標的臓器毒性
 - 毒性発現機序
 - 毒性の総合評価



トキシコキネティックスの意義と問題点

- 事例紹介 1 -

エーザイ㈱安全性研究部

佐神 文郎

1. エーザイにおけるトキシコキネティックス (TK) 研究の流れ

前臨床における安全性研究の国際的ハーモナイゼーションに対応し、TKへの取り組みは、一段とその重要性が認識されている。当社においてもこれまで、多くの試行錯誤を繰り返しながら、TKに取り組んできたが、今回はその中のいくつかの事例を主にイヌを中心に紹介し、その問題点のいくつかを報告する。

TKの主たる目的は、試験デザインへの情報提供と試験の保証および試験結果の評価に資することであり、これらの目的は前臨床における安全性試験の中で生かされ、実施されている。そのプロセスを大まかに示すと、以下の如く：①ファーマコキネティックス (PK) パラメータの予備的検討、②試験デザインの検討、③試験のモニタリングが実施され、さらに安全性評価に至る過程で、④肝薬物代謝酵素の測定、⑤毒性所見、⑥ADME情報が加わり、総合的に被験薬物の安全性が評価される。

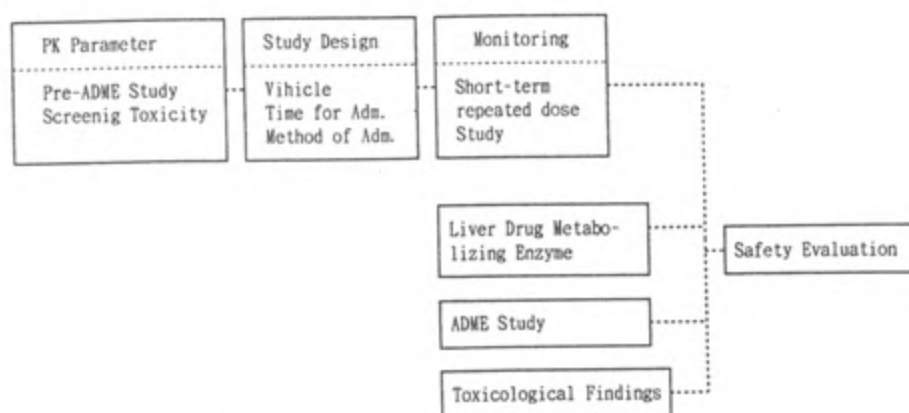


Fig.1 Flow Chart of Toxicokinetics Study at Eisai Co., Ltd.

2. TK実施上の留意点

2-1. 投与剤形の検討

毒性試験においても投与剤形の薬物動態に及ぼす影響は大きく、特に経口投与の際には、被験物質の吸収に大きく寄与しており、その選択は重要である。従って、毒性試験における試験デザインの際に、TKをベースに至適投与剤形を決定する。

Fig. 2は、毒性試験用量で経口吸収性が頭打ちとなった化合物AのDOSE-AUC関係を示したもので、この化合物は媒体にPolyethylene glycol 400 (PEG400)を使用し、線形性をより改善したケースである (Fig. 3)。

また、酸に対して不安定な化合物Bは、胃内pHを6前後にコントロールした際の高いBioavailability (BA)を示した実験結果から、短期反復投与試験では腸溶錠を検討し、投与剤形とした。(Fig. 4, 5)。すなわち、Exposureに対して、問題となる化合物の際にはその特性に対応した投与剤形の検討と、その裏付けとなるTKデータが必要と考える。

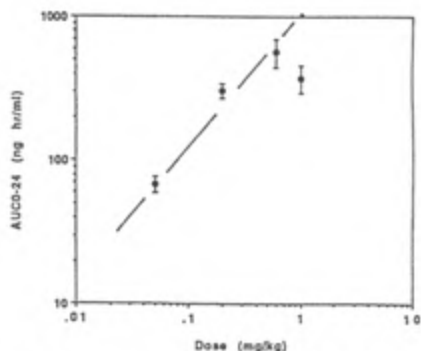


Fig. 2 Relationship between dose and AUC0-24hr after oral administration of Compound A (solid mixture with mannitol) in beagle dogs

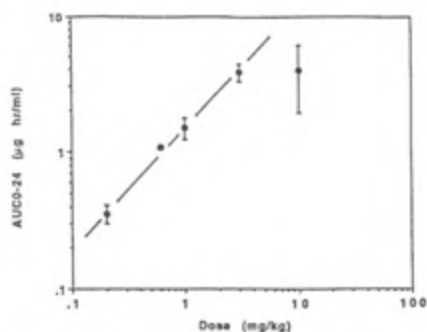


Fig. 3 Relationship between dose and AUC0-24hr after oral administration of Compound A (PEG400 solution) in beagle dogs

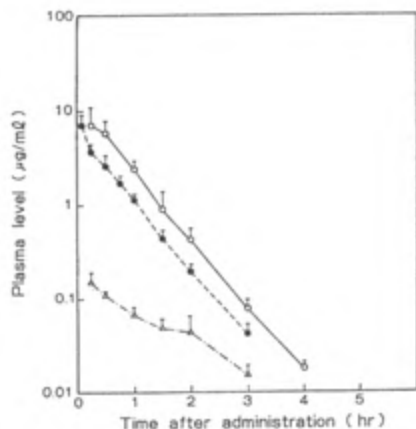


Fig. 4 Plasma levels of unchanged Compound B after oral (100mg/dog) or intravenous (50mg/eog) administration of Compound B in beagle dogs (n=3, mean±S.E.)

key : ○ : p.o., high gastric pH
● : i.v., high gastric pH
△ : p.o., low gastric pH
▲ : i.v., low gastric pH

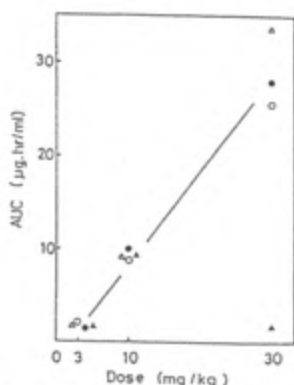


Fig. 5 Relationship between dose and AUC after 7-days oral repeated administration of Compound B in beagle dogs

○ : Male 0 day, ● : Male 6 day, △ : Female 0 day, ▲ : Female 6 day

2-2. 食餌効果の検討

経口投与において食餌効果の見られる薬物は多く、そのTKによる投与時刻（給餌時期）の設定も重要である。食餌効果には、給餌によりT_{max}の遅延やAUCの低下を示すものや、逆にAUCが増加する例もあり、被験物質の物性に起因するので、その情報をもとに、定形的な投与条件との比較データも必要とされる。Fig. 6は、一般に食餌効果で吸収の増加する脂溶性薬物の1例で、明らかに食餌効果としてAUCの著明な改善が認められる。

Fig. 7は、食餌効果としてC_{max}やAUCの低下が見られる例で、この結果より、本化合物の投与時の給餌は、投与後約2時間と設定した。

2-3. カプセル中の添加物（防腐剤）の影響

イヌの経口投与には通常大型のゼラチンカプセルが使用されるが、市販のカプセルの一部には、添加物として防腐剤が添加されており、分析時に妨害ピークとなり、分析条件の変更を余儀なくされた1例を紹介する（当日詳細発表）。

2-4. 月齢差

幼若動物と性成熟動物との間で薬物動態への影響が認められた例について、その機序についても考察する（当日詳細発表）。

2-5. 採血量による影響

TKにおいては、当然相当量の血液採取が必要があり、その際の採血量のTKに及ぼす影響も無視できない。特に、ラットにおいては採血量の設定が大きな課題であり、その薬物動態への影響例を紹介する（当日詳細発表）。

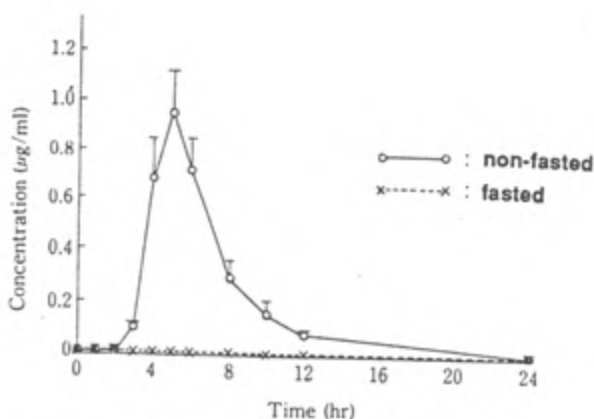


Fig. 6 Plasma levels of unchanged Compound C after oral administration (150mg/man) in Human

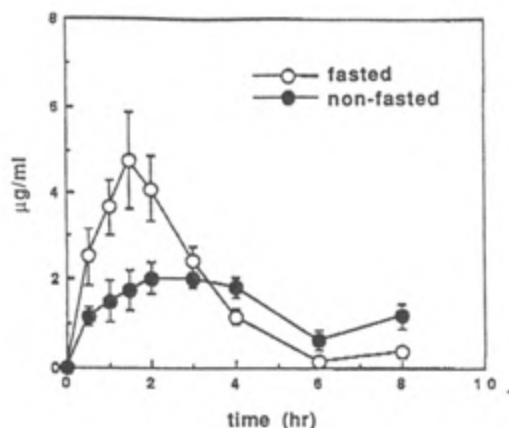


Fig.7 Plasma levels of unchanged Compound D after oral (150mg/dog) administration in beagle dogs.

3. TK研究の事例

3-1. 非線形性

毒性試験の高用量レベルで、良好な DOSE - AUC 関係を有している薬物は少なく、多くの場合非線形性が認められる。非線形には2種類あり、高用量において Cmax, AUC が用量公比以上に増大する、正の非線形と高用量において Cmax, AUC が頭打ちとなる負の非線形とがある。正の非線形の原因として化合物代謝飽和と思われる化合物 G (Fig. 8) と代謝阻害が示唆される化合物 H (Fig. 9, Table 1) を示した。また、負の非線形として吸収の頭打ちを示す薬剤として、先に紹介した化合物 A (Fig. 2) があげられる。

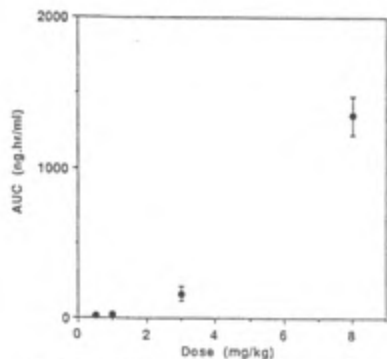


Fig. 9 Relationship between Dose and AUC of Compound H after oral administration to beagles.

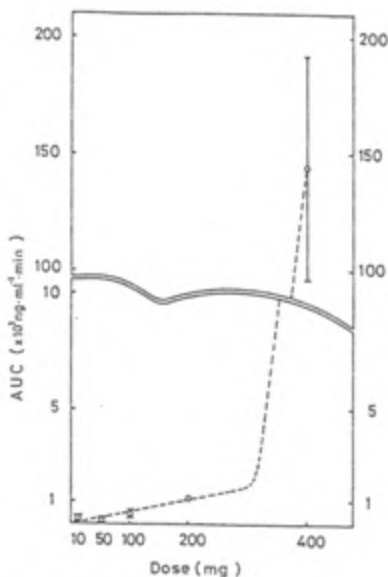


Fig. 8 Relationship between Dose and AUC of Compound G after oral administration to beagle dogs

Table 1 Metabolism of Compound H in hepatic Ms of beagle dogs administered Compound H orally for 13 weeks

Sex	Metabolite	Dose (mg/kg)			
		Control	0.1	1	3
		(metabolite formed / nmol/mg protein / 30min)			
Male	M-1, M-2	1.93±0.09	1.86±0.19	1.62±0.07	1.00±0.16**
and	M-3	0.73±0.05	0.84±0.12	0.93±0.28	0.56±0.02**
Female	M-5	4.15±0.31	4.55±0.17	4.44±0.41	4.20±0.27

Means±S.E. (n=3)
* Significant at $p < 0.05$
** Significant at $p < 0.01$

連続投与により肝の薬物代謝酵素誘導によるAuto-inductionによりAUCが著しく低下した化合物J (Fig. 10) と、連続投与によりAUCが増大した化合物H (Fig. 11) を示したが、これらはいずれも投与開始4週にはSteady Stateに達している。

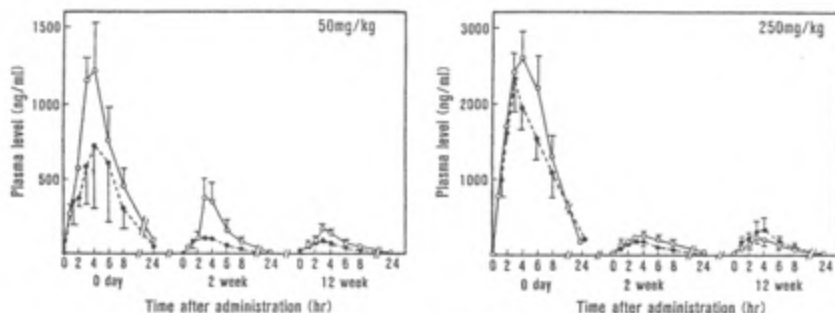


Fig. 10 Concentration of Comp. J in plasma during repeated oral administration to beagle dogs. Each point represents mean±S.E. of 3 animals. —○— : male, —●— : female

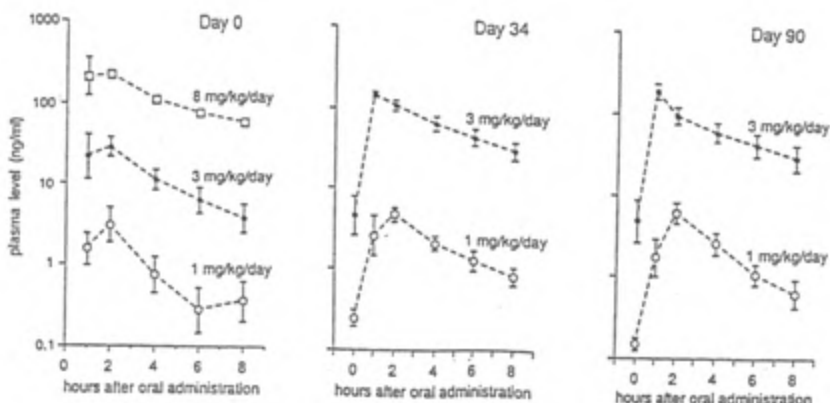


Fig. 11 Plasma concentration of Compound H during repeated oral administration to beagle dogs (mean \pm S.E. of 6 animals)

3-2. 薬効・毒性による影響

TKは、薬剤の持つ薬理作用もしくは毒性に起因して二次的に変動するケースも多く、その1例を紹介する（当日詳細発表）。

3-3. 嘔吐による影響

嘔吐に対する感受性の高いイヌにおいては、薬物のExposureの確認から、TKはより重要となる。嘔吐はその機序から、反射性的のもと、薬物が体循環に入り中枢性に発現するものと大きく分かれるが、中枢性の嘔吐の場合にはその発現血中濃度が重要となり、その例の幾つかを紹介する（当日詳細発表）。

3-4. 肝薬物代謝酵素活性の変動

反復投与と毒性試験において、TKで薬物代謝酵素誘導が示唆される場合や、肝重量や肝の病理組織学的観察において薬物代謝酵素誘導が示唆される場合など、直接肝における薬物代謝酵素活性を確認しておくことは、肝の所見を毒性学的に評価する上で重要である。また、肝薬物代謝酵素チトクロームP-450 (CYP450) の変動の分子種レベルでの詳細な観察も必要となる場合があり、これらのケースについて紹介する（詳細当日発表）。

4. 結語

TKは、まだ緒についたばかりでその実施に際しては、予測しえない結果も多く、問題点もいくつかあげられる。演者らはこれまで、多くの課題を克服しつつADME研究機能との密接な連携のもとに、TK研究を実施してきたが、この中で得られた情報はいずれも、毒性試験のデザインや評価の上では飛躍的な意味を持つ価値の高いものであった。

一例として、今回の発表の中で示すように、反復投与試験におけるTKパラメーターの連続投与による変動は、4週間でSteady Stateに達しており、以後同様な推移を示したことは、長期反復投与試験のデザインに重要な情報となった。

今後TKの結果をADME試験の情報と関連させ評価すること、さらにはTKとADME試験を効果的に実施することにより、安全性研究がより科学的に、より精度の高まるものと考えられる。

以上、これからのさらなるTK研究の充実により、安全性研究のより一層の充実が期待される。

トキシコキネティックスの意義と問題点

事例紹介 2

日本ロシュ (株) 研究所
毒性・病理部 堀井郁夫

—— 医薬品開発研究上トキシコキネティックス (TK) 試験には
本質的に何が求められているのか? ——

TKデータについて、従来より欧米諸国での申請時にその対応が要求されたり、また、最近ICHにおいての検討・討議事項にも挙げられ、医薬品開発研究上その対応が求められ、種々の形で具体化されてきている。毒性研究業務を実施している研究者、特に安全性を評価する者にとっては、TK試験の意義について、実際面で明確にし、種々の切り口でもって評価の対象としなければならない大きな課題を目の前にしている。

一般的には、TKの必要性・意義を考慮する上で、学問的体系等から述べるのはそれほど難しい事ではない。いわゆる「たてまえ論」とか「べき論」で論ずるのは容易であり、おそらく次の示すような事項が示される事になる。

- (1) 毒性試験における投与剤型・投与量・代替投与経路の選択
- (2) 毒性試験用量での薬物動態解明
- (3) 毒性試験結果の評価 (無影響量と毒性量決定) への一助
- (4) 毒性発現機序解明のための一助
- (5) 毒性試験結果とヒトへの外挿性を比較薬物動態から予測

ここに列挙した事項は、すべて理想論的にとられがちである。しかし、TKがdisciplineとして科学的体系上に存在しにくいという点から科学的でないとかその必要性が希薄であるとかの論点にまでは達し得ない。すなわち、毒科学的にも薬物動態学的 (PK) にもその接点において科学的レベルが更に高くなってきた時点では、上記事項の一つ一つは充分意味のあるものになり、充分なdataの積み重ねの中から新しい展開も生じてくるであろう。

現実的には、TKの必要性・意義を言及するにあたり、医薬品開発研究上、開発段階のタイミング毎にTKをどのように組み込んで行けばよいかを検討してみると自らその糸口、やるべき順番は見えてくる。図1に医薬品開発上の毒性試験、TK試験 (一部、薬物動態試験を含む) の関連を示した。

近年の医薬品探索研究では、毒性学・病理学的アプローチが医薬品の探索研究の極めて初期の時点からなされるのが通常であろう。その時点で、おそらく探索毒性試験とともにかなりのTK分野の研究が実施され、医薬品開発上の重

要な方向性付けに寄与・貢献する。すなわち、この時点で実験動物種の種類、剤型選択、代謝・蓄積性の検討等の重要な点について、TK試験を一つの切り口として検討される。

その後、安全性評価に重要な毒性試験 (Pivotal Tox. Study; 単回・反復投与毒性試験、生殖・発生毒性試験、癌原性試験等のうち毒性評価上の主要な試験) については、TK試験を考慮する事となり、まず各試験の開始時点で投与方法や投与量の選択が検討され、その時点でもTKが大きなその選択要因の一端を担う事になるであろう。その後は、毒作用確認・安全性評価のための種々の試験 (主としてIND/NDA用) が実施されcase by caseでその中にTK試験が組み込まれていく事になる。このように、現実的に医薬品開発のタイミングと合わせて考えると、現時点ではTKの必要性・意義は次の何点かに集約できるかもしれない。

- (1) TKプロフィールを知る事による投与量 (特に最小投与量) の選択および投与方法の検討
- (2) TKプロフィール、実験動物での毒作用/薬効、ヒトでのPKプロフィール、ヒトでの薬効/副作用の相互比較

TKによりこれらの点を知ることは、毒性試験で薬物の安全性を評価する上で医薬品開発上、重要なことである。

TKを実施していく上で、考慮すべき要因は多くあり、(1)動物種差、性差、(2)投与剤型、溶媒、経路、(3)摂餌効果、(4)採血方法、採血ポイント、モニターポイント等、種々である。これらの諸要因は、対象となる薬物毎に異なってくるものでありcase by caseで対応すべきものであろう。

このような背景をもとに、以下に実際にロシュグループとして国際的レベルでどのようにTK試験に取り組んできたか、また今後どのような展開をしていくかについて示すとともに、その中でも特に小動物におけるTK試験実施上の問題点 (大動物の場合は従来のPK試験の方法論でかなり対応できる) およびその対応について示す。

1. ロシュにおけるトキシコキネティクス (TK) 試験の現状

1-1. 過去5年間におけるTK試験実施状況

過去5年間において、ロシュグループ (スイス、英国、米国、日本) の安全性研究所で実施されたTK試験の報告数は約100報である。正式レポートに登録されていないものがこの他約50報ある。その内訳は、欧米 (特にヨーロッパ) での申請を対象としていたために約90%がスイスおよび英国で実施されたものである。対象動物は、小動物ではラット、が88%、マウスが7%、ウサギが5%で、大動物ではイヌが40%、マーモセットが36%、サル (カニ

クイ) が21%、ヒヒが2%であった。試験期間別にみると単回および4週までのTK試験が約半数を占め、13週および26週が40%位を占めている。当然の事であるが、小動物の場合、長期になればなる程gavageの試験が減りfeed-admixの試験が多くなっている。

1-2. 採血のタイミングとポイント

表1, 2, 3にラット (gavageまたはfeed-admix) の採血タイミングとポイントおよび大動物の採血タイミングとポイントの実際例を集計したものを示す。

サンプリング・スケジュールとサンプリング・ポイントについては、表に示しているように、当然の事ながら薬物のタイプによって種々である。基本的にはgavageの試験では投与初日、約1週間目、最終投与日に近い日を選択され、必要に応じて投与期間の中間点を選択され、サンプリング・ポイントは、TK Profileがみられるようなポイントが選択されている。feed-admixの場合は、投与開始1週間以内に1点、投与期間の中間点、投与終了日に近い1点が選ばれ、サンプリング・ポイントは早朝 (8:00) と必要に応じて午後のポイントが選ばれている。これらサンプリング・スケジュールおよびサンプリング・ポイントの選択は、薬物毎にPilot studyのTK data等を参考にしている。これらのサンプリング・スケジュール/ポイントから得られたデータより C_{max} 、AUC、 $t_{1/2}$ 等のパラメーターを求め、TK Profileを検討している。

1-3. 社内ガイドラインの例

本報では、ガイドラインの詳細は、省略するが (当日スライドにて紹介) 上記1-2の基準となるもので、TKの基本概念と各種動物の標準的なサンプリング・スケジュールとサンプリング・ポイント等を示したものである。

1-4. TKデータの意義 (探索毒性試験との関係、Dose設定、etc.)

当日、スライドにて紹介予定

2. 小動物（ラット、マウス）におけるTK試験実施上の問題点

2-1. タイム・ポイントの選択

我々のプロトコールの一例（1ポイント3例の場合）を以下に紹介する。

採血のポイント (Time course)	投与後	1	2	3	5	24	時間
	採血実施時期						
採血する動物の番号	week 4 & 10	1	2	3	4	5	
		6	7	8	9	10	
		11	12	13	14	15	

2-2. 強制経口投与試験と摂餌試験

①摂餌行動と採血ポイント

齧歯類での慢性および癌原性試験などの長期投与毒性試験では、摂餌投与法により実施されるケースが多いのが実情である。そこで、ラットおよびマウスでのTK試験の実施にあたり、適正な採血時間を設定するために24時間にわたり1時間毎の摂餌行動のモニターを行った（図2, 3）。

ラットでは一日の約70%、マウスでは約60%の摂餌量が暗期時間帯（AM7:00 - PM7:00）に摂取され、図に示した摂餌パターンからラットで午前6時、マウスでは午後10時頃がコンスタントな摂餌行動を示す時間帯であり、採血時間として適切な時間であると判断している。

また、ラットでは頻回の眼窩静脈叢採血により眼障害の見られた動物では、摂餌行動が昼夜逆転するなどの影響がみられ、摂餌投与で経時的に眼窩静脈叢採血を実施する場合、眼障害を与えないような採血手技が必要なことも示唆されている。

②比較TK試験の必要性

毒性試験を経口投与にて実施する場合、短期の反復投与試験（2～4週）では、gavageにて強制経口投与するケースが多く、長期の反復投与試験（13～26週）ではfeed-admixで対応することが多い。ここに示したTK profile（図4）は、ある薬物のgavageとfeed-admixにおけるサンプリング・スケジュールおよびサンプリング・ポイントのサンプリング・スケジュールおよびサンプリング・ポイントのTK profileを示したものである。

このようなTK profileと発現した毒作用を比較検討し、当該薬物のもつ毒性学的な特性を知る事は重要である。

薬物のタイプによりAUC依存的に毒作用が強く現われるものと C_{max} 依存的に毒作用が表現されるものと種々である。このように医薬品開発上、毒性試験がその試験のタイプによりgavageであったりfeed-admixであった場

合は、gavageとfeed-admixの場合の比較毒性試験と並行した比較TK試験を実施し、そのデータを基に全体として個々の毒性試験を評価する必要もある。

3. TKプロフィール、実験動物での毒作用／薬効、ヒトでのPKプロフィール、ヒトでの薬効／副作用の比較

preclinical data on doseおよびclinical data on doseを明確にし、それに関するexposure (TK/PK)、毒作用、薬理効果等が相互比較して評価できるようなTK dataを含めたIntegrated summary tableを作成する事はTK dataと毒作用、そしてヒトへの外挿という点から有効な手段である。

比較表は、当日スライドにて示す。

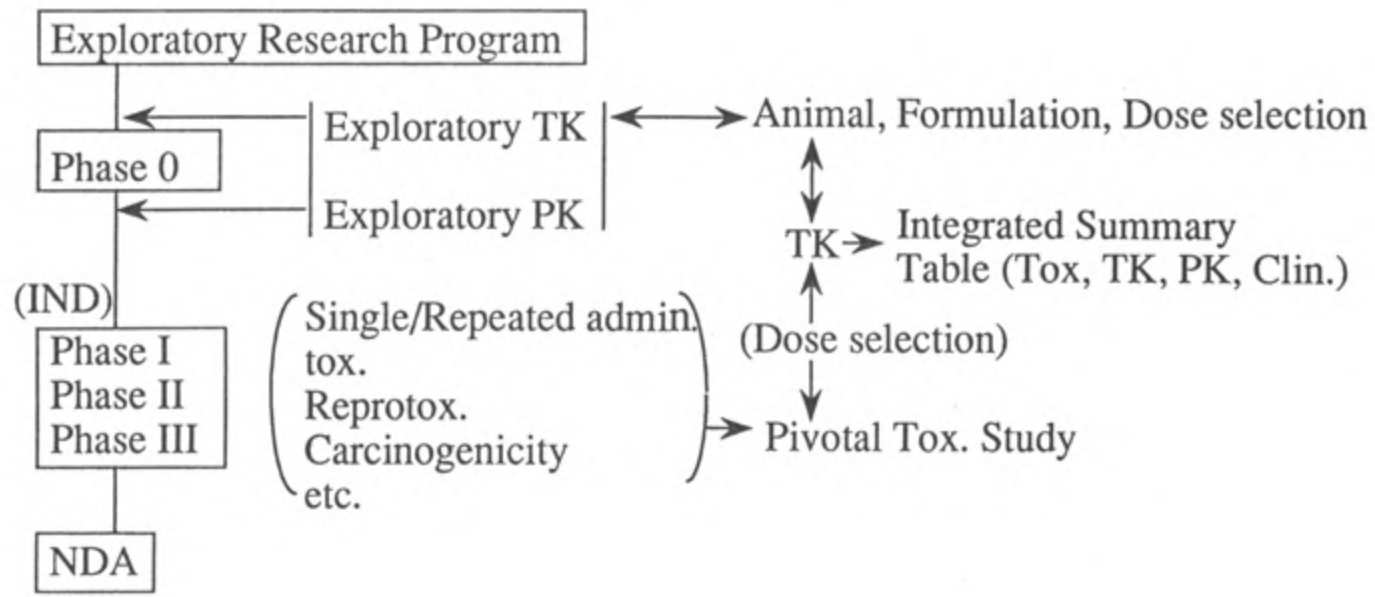


Fig.1 TK study in drug-development process

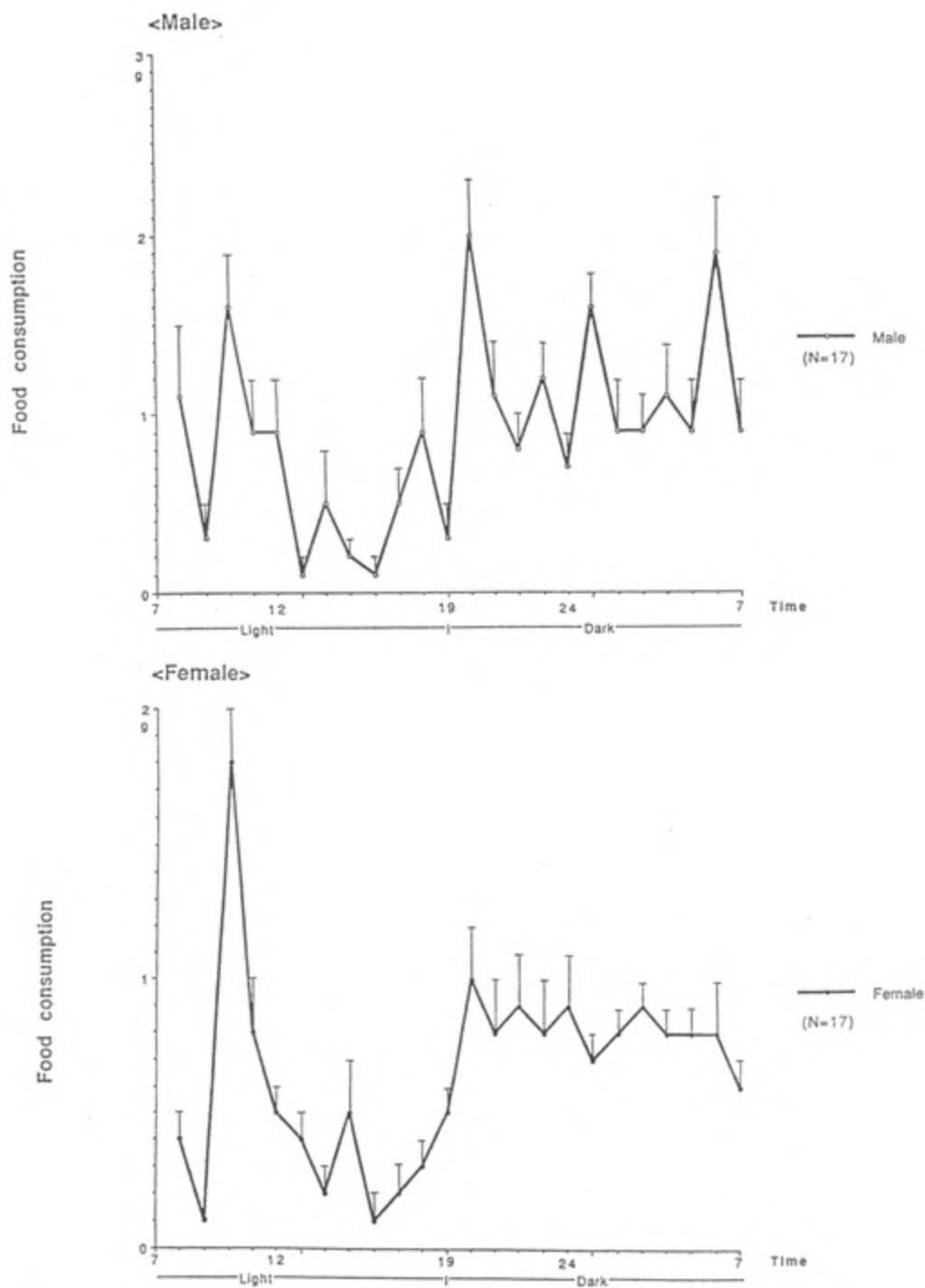


Fig. 2 Pattern of food consumption in a day --- rat

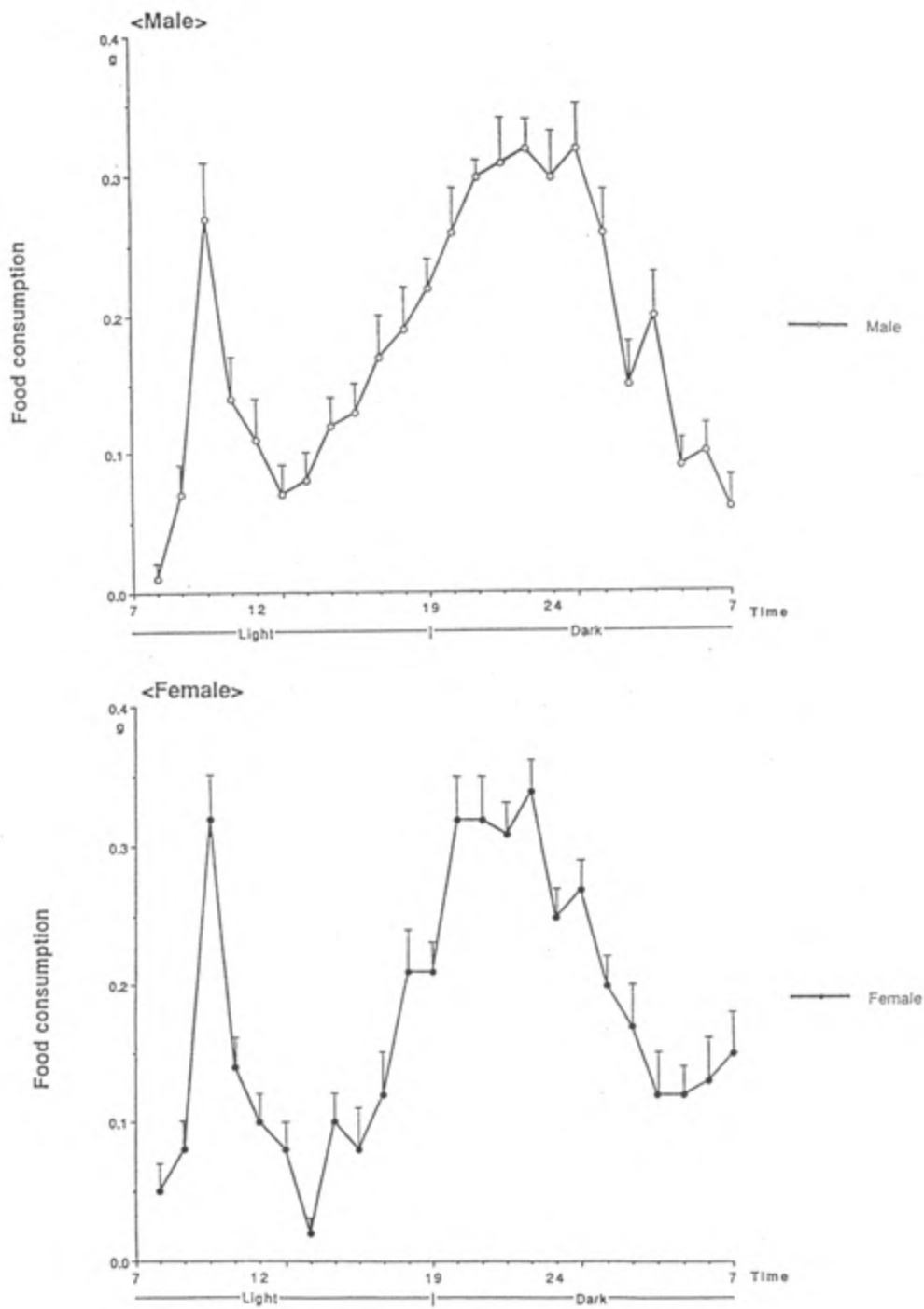
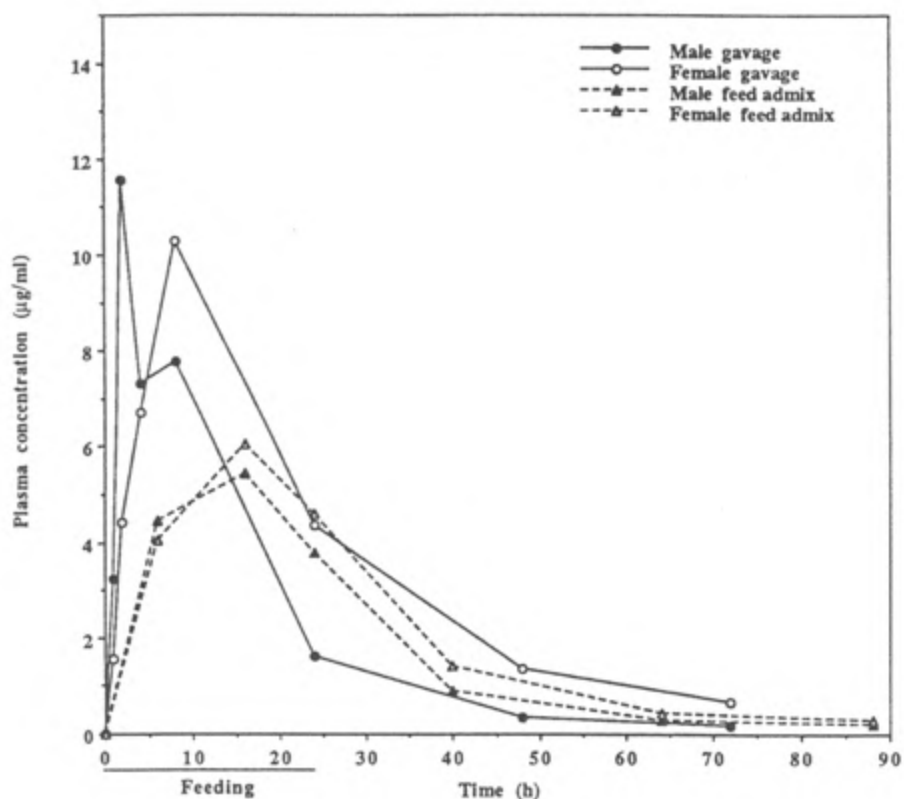


Fig. 3 Pattern of food consumption in a day --- mouse



Toxicokinetic parameters

Administration method	sex	Cmax (μ g/ml)	Tmax (h)	AUC (μ g · h/ml)	Dose (mg/kg)	AUC/Dose
Gavage	male	11.56	2	162.7	100	1.63
	female	10.30	8	262.3	100	2.62
feed admix	male	5.43	16	151.3	83	1.82
	female	6.03	16	184.4	82	2.25

Fig. 4 Comparative toxicokinetics of XXXX administered with gavage and feed-admix in rats

Table 1 Sampling schedule and points in rat studies (Gavage)

Terms week (days)	Sampling day (day)	Sampling time (hr)
1 (7)	1, 7	0, 0.5, 1, 2, 4, 7, 12
2 (14)	1, 7, 14 2, 7, 14	1, 6, 24 1
4 (28)	1, 14, 28 1, 7, 14, 27 1, 9, 16, 25 2, 7/8, 14/15, 26/27 1, 16	1, (6), 24 1, 6, 24 1, 3, 5, 7 5min. 1, 4, 24
13 (91)	1, 27, 90	1, 2, 3, 5, 24

Table 2 Sampling schedule and points in rat studies (feed admix)

Terms week (days)	Sampling day (day)	Sampling time (time)
4 (28)		8:00, 14:00 (15:00)
13 (91)	3, 36, 80 pre, 4, 12, 35, 77 pre, 5, 11, 35, 77 pre, 27, 90	8:00, 15:00 8:00 8:00 8:00, 15:00
52 (365)	4, 16, 39, 87, 171, 353	8:00 8:00, 15:00

Table 3 Sampling schedule and points in dog, monkey, and marmoset studies (P.O.)

Terms week (days)	Sampling day (day)	Sampling time (hr)
1-2 (14)	1, 7, 14 (mon.)	2, 6, 24
	1, 7, 14 (mon.)	pre, 1, 2, 4, 6, 24
	1, 7 (mar.; 1 wk)	1, 3
	2, 7, 14 (mar.)	1, 3, 24
	1, 8 (dog; 2 wk)	1, 2, 4, 6, 24
4 (28)	1, 15, 28 (mar.)	1, 6, 24
	1, 14, 28 (mon.)	2, 6, 24
	1, 14, 28 (dog)	pre, 1, 3, 6, 8, 24
	1, 9/10, 23/24 (mom.)	0, 0.5, 1, 3, 5, 7, 24
	1, 7, 29 (mar.)	1, 3, (10, 30min., 1h)
	1, 15, 27 (dog)	1 / 1, 3
	1, 15, 27 (dog)	1, 2, 6, 24
26 (182)	1, 15, 28, 99, 182 (mar.)	1 / 1, 3
	1, 7, 28, 91, 182 (dog, baboon)	1, 2, 4, 6, 24

mon. : monkey

mar. : marmoset

トキシコキネティクスの意義と問題点

事例紹介 3

武田薬品工業株式会社
薬剤安全性研究所
馬屋原 宏

1. 当社におけるトキシコキネティクス(TK)の実施状況

当社におけるTKは、12年前に始まったが、そのときの目的はがん原性試験を混餌で実施する際の用量設定のための参考データを得るために、強制経口投与と混餌投与時の血中薬物濃度を測定することであった。その後、特にイヌで投与限界量まで投与しても殆ど毒性が発現しない薬物に対し、毒性試験時の用量に上限を設ける手段として血中濃度の飽和の有無を確認することを目的に、約7年前にTKが本格的に始まった。さらに4-5年前からFDAやEC諸国へのINDあるいはNDA申請に際し、TKデータの提出を求められるケースが相次いだため、TKデータを取るケースが増え、約3年前からは殆ど全ての毒性試験でTKデータを取るようになった。このため増大する測定サンプル数への対応に悩まされている。以下、毒性が殆ど認められない薬物Aの場合を例に当社におけるTK実施状況とその問題点を紹介する。

薬物Aは極めて低毒性の化合物であり、ラット及びマウスの急性毒性は po , sc , ip のいずれも5000 mg/kg以上であった。ただし、 sc , ip では各用量で運動性低下、刺激反応性の低下などの毒性症状が認められた。 po では何らの所見も認められなかった。

アラビアゴム懸濁液によるラット4週間経口投与毒性試験(用量: 1000, 2000, 3000 mg/kg/日)を実施したところ、3000 mg/kg/日でも何らの毒性所見も認められなかった。より長期の臨床試験のためにラット13週間経口投与毒性試験(投与量: 0, 300, 1000, 3000 mg/kg/日)を実施したが、やはり何らの毒性所見も認められなかった。

以上の成績からイヌでも低毒性であることが予想されたこと、また毒性試験における必要検体量の節約という観点から、血中濃度が頭打ちとなる用量を知るため、イヌでは絶食下カプセル投与でのascending dose試験(用量: 1000→2000→3000 mg/kg)で血中未変化体濃度を測定した。その結果、3000 mg/kgでも頭打ちにはなっていないが、2000と3000 mg/kgでの差はごく僅かであった(Table 1)。

Table 1. T_{max} and C_{max} of parent compound A after a single oral administration in capsule to dogs

Dose (mg/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/ml)
1000	2	68
2000	2	113
3000	2	134

毒性所見としては、投薬各群でASTの上昇及び肝小葉中心性の細胞壊死、3000 mg/kgでALTの上昇がみられ、肝毒性が示唆された。続いて13週間経口投与毒性試験(投与量: 0, 100, 300, 1000 mg/kg)を実施したが、300 mg/kg以上で肝臓に限局性の炎症性細胞浸潤が認められたのみで、先の2週間投与試験で1000 mg/kg/日群にみられた肝細胞壊死やASTの上昇は認められず、毒性は2週間投与の場合よりもむしろ軽減した。

以上の毒性試験が実施されたのは7年前のことであり、当時は毒性試験の中では血中濃度測定を実施していなかった。薬物Aの当時の予想臨床投与量は数mg/manであり、従って3000 mg/kgは臨床投与量の数万倍になることから国内での臨床試験は問題なく開始された。

その後他の薬物BをFDAにIND申請した。この薬物Bも低毒性で、薬効に起因する変化以外に著明な毒性は認められていなかった。FDAの審査官は、"(It appears that) there is a different philosophy in conducting toxicity studies in Europe and Asia vis-a-vis the United States. It appears that the former do not dose to elicit toxicity while in the U.S. doses are chosen to elicit toxicity."というコメントと共に、もっと高用量の毒性データを追加すること及び血中濃度データを提出することを求めて来た。

以上の情勢から先の薬物AのIND申請に際しても①毒性を発現させること、②TKデータをとること、の二つが必ず要求されると考えられた。そこで薬物Aの毒性が発現しない原因をPK及びTK的に明らかにし、また出来るだけ高い吸収を得るための試みが本格的に始まった。以下に実施した測定の内容とそれらの結果を略記する。

A) PK的検討事項(吸収性の検討)

1) 血漿中未変化体濃度の種差(5 mg/kg, po, C_{max} , $AUC_{0-\infty}$)

結果: げっ歯類 : マウス>モルモット>ハムスター \geq ラット
非げっ歯類: イヌ>サル \gg ウサギ

結論: 毒性試験はマウス、ラット及びイヌで進めてよい。

2) 剤型、給餌との関係(イヌ, 100 mg/kg)

結果: ①非絶食・懸濁液>②非絶食・カプセル>③絶食・カプセル
条件①は条件③の約5~6倍吸収が高い。

3) 粒子径と吸収性(非絶食イヌ, 100 mg/kg)

Formulation	Particle size (μm)	Parent drug		M-II	
		AUC_{0-24} ($\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	Ratio	AUC_{0-24} ($\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	Ratio
Capsule	5	1361	1.0	10430	1.0
	20	822	0.6	5919	0.6
	80	297	0.2	2013	0.2
Suspension	5	1205	0.9	10225	1.0
	20	798	0.6	6274	0.6

結果: 粒子径5 μm は80 μm の約5倍吸収がよい。

4) ラセミ体、異性体の吸収性(マウス、po)

結果：血漿中濃度：異性体投与>>ラセミ体投与

(未変化体：24~240倍、M-II：17~120倍)

B) TK的検討

1) イヌascending dose試験での血中濃度(前述)

結果：3000 mg/kgでも頭打ちせず。

2) イヌ、絶食下、カプセルと懸濁液の血中濃度比較(300 mg/kg)

結果：大差なし。

3) イヌ、絶食下、カプセル、26週(用量：30, 100, 300, 1000 mg/kg)の血中濃度

結果：30 mg/kgからヒトよりexposure大、しかし毒性所見なし。

4) イヌ、非絶食、懸濁液、po、2週間予備(用量：30, 300, 1000 mg/kg)での血中濃度

結果：AUCがカプセルの約3-5倍高い。

結論：今後の試験は非絶食、懸濁液投与で実施する。

5) ラット、混餌、26週(用量：30, 100, 300, 1000 mg/kg/日、採血時刻との関係；
2日, 4週, 22週)

結果：19:00 \geq 9:00>14:00、3000 mg/kgのC_{max}はヒトと同等かやや高い。連投でやや低下する。毒性所見なし。

6) ラット、懸濁液、7日(用量：300, 1000, 3000 mg/kg/日)

結果：3000 mg/kgのAUCがヒトの5~10倍。毒性症状なし。

7) ラット、混餌13週がん原性予備(用量：1000, 2000, 4000 mg/kg=5%、採血時刻との関係)

結果：20:00が最大、用量依存性殆どなし、C_{max}はヒトの3~10倍。4000 mg/kgで軽度肝・腎毒性。

結論：がん原性本試験の高用量は4000 mg/kg/日とする。

8) マウス、混餌、13週がん原性予備(用量：300, 1000, 3000, 8000 mg/kg=5%、採血時刻との関係)

結果：C_{max}は20:00が最大、8000 mg/kg/日でC_{max}はヒトの約3倍。3000 mg/kg以上で軽度肝毒。

結論：がん原性の高用量は8000 mg/kg/日とする。

9) 光学異性体による2週経口投与予備毒性試験(ラット、イヌ)

結果：異性体の180 mg/kgでラセミ体の3000 mg/kg以上の毒性(肝毒)が発現する。

結論：毒性のプロファイルは光学異性体による毒性試験で明らかにできる。

さて、薬物Aの毒性試験は、最も吸収が高くなる投与条件のもとで、マウスは8000 mg/kg/日、ラットは4000 mg/kg/日、イヌでは3000 mg/kg/日で実施されている(すべて投与限界量)。薬物Aの予定臨床投与量は4-8 mg/man/日(0.08-0.16 mg/kg/日)なので、上記の用量のヒト用量に対する比は約10万~2万倍ということになる。先にFDAの審査官のコメントを引用したが、①毒性プロファイルを明らかにすること、②ヒトの血中濃度を動物のそれが上まわること、の2条件をあくまでも満足させようとする、このような高用量とな

るが、果たして臨床用量の10万倍もの高用量を投与してやっと出現してくる毒性に、どれ程の科学的意味(ヒトへの外挿性)があるのか疑問に思わざるを得ない。TKガイドライン作定に当たっては、このようなケースもあることを十分に考慮すべきであろう。

2. 動物のexposureはなぜヒトより低くなるか

Fig. 1, 2は製薬協加盟の数社の反復投与毒性試験からのTKデータを五十嵐部会長がまとめたものである¹⁾。Fig. 1は毒性用量と血中濃度の関係を表している。横軸は動物で毒性が発現したときの用量がヒト臨床用量の何倍であるかを、縦軸はそのときの動物の血中未変化体濃度が臨床での血中濃度の何倍になるかを示している。この図から分かることは、毒性用量には薬物によって臨床用量の4倍から30000倍もの開きがあり、毒性用量での血中未変化体濃度も臨床血中濃度の1/2倍から10000倍もの開きがある。殆どのデータは $Y = X$ の斜線より下に位置しており、しかもこの線からの離れ方は用量と無関係なので、動物における血中濃度(C_{max})は一般にヒトよりも低い(1/100~1)ことが示唆される。

Fig. 2は、動物における反復投与毒性試験での無毒性量における血中未変化体濃度が臨床における血中濃度の何倍になるか(即ち血中濃度の安全係数)を、60試験について度数分布表にしたものである。

この係数には1/3倍~1000倍ものバラツキがあるが、60試験中11試験(18%)は臨床血中濃度より下である。即ちガイドライン(Draft 10)の4.4.2項が機械的に適用されるとこれらの薬物のうち約1/5はdropすることになるので、この条項については要注意である。

同用量を投与したときヒトよりも動物でexposureが低くなる現象は、“Interspecies Scaling”、即ち動物が小型化するほど代謝速度が速くなり、従って薬物の血中からの消失が早くなる現象²⁾である程度説明可能である。しかし前述のように薬物によるバラツキが大きいため、個々の薬物に関しヒトと動物の差を実験せずに予言するのは困難である。

3. TKのアルゴリズムを考える

海外申請の場合の経験あるいはTKのドラフトガイドラインを見ても、全ての毒性試験でexposureのデータが必要とされるようである。しかし全ての毒性試験で完璧なTKデータを確保するには多数の動物と人手と時間と経費を要する。従って、ガイドライン作定に当たっては合理的に動物数を減らす仕組みを盛り込んでおくことが不可欠と考えられる。このような仕組みとしては2つ考えられる。第1は「より以前の試験で十分なTKデータを取ってあれば、即ちプロファイリングしてあれば、同種のより長期の毒性試験ではモニタリングでよい」とすること、第2は「プロファイリングに必要な動物の数を合理的に減らすこと」である。またbasicなPKデータや他の種類の試験からのTKデータを合理的に利用することも必要である。このような観点からTKデータ獲得のための各試験のアルゴリズムの1案を考えてみた(Fig. 3)。この図で線は情報の流れを、a)はTKを予備的に実施、または採血しておき必要に応じ実施、b)は原則としてfull scaleでプロファイリングを実施、c)はモニタリングを主として実施する。これはあくまでも未完成の私案であり、ご批判を得て更に改良していきたい。

文献

- 1) T. Igarashi: The use and abuse of toxicokinetics: what dose actual data tells us? Drug Information Journal, in press.
- 2) J. Mordenti and W. Chappell: The use of interspecies scaling in toxicokinetics. in "Toxicokinetics and New Drug Development", ed. by A. Yacobi, J. P. Skelly and V. K. Batra, Pergamon Press, pp 42-96 (1989)

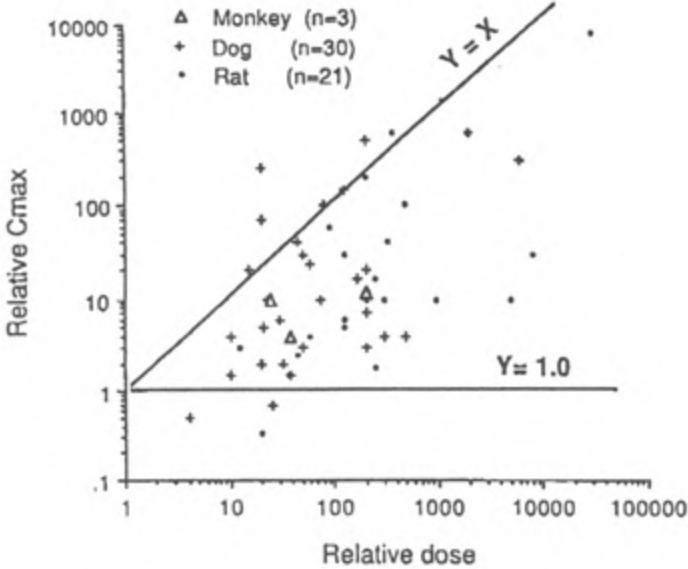


FIG. 1 Distribution of toxic dose and toxic plasma concentration in rats, dogs and monkeys (data of individual studies)

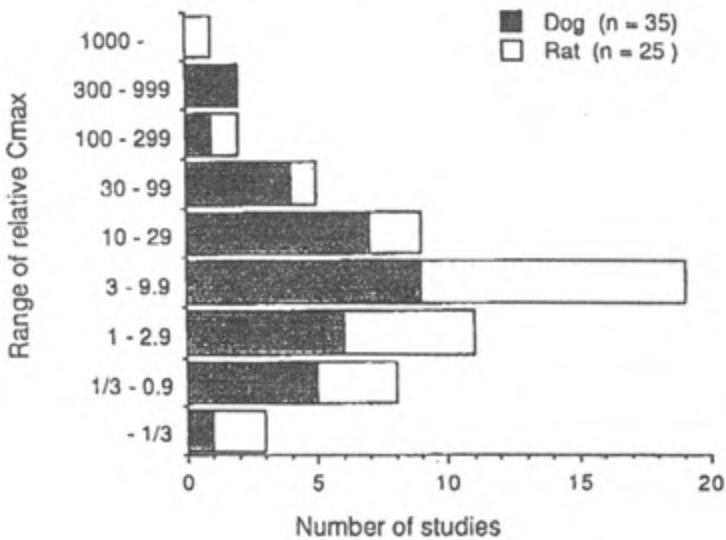
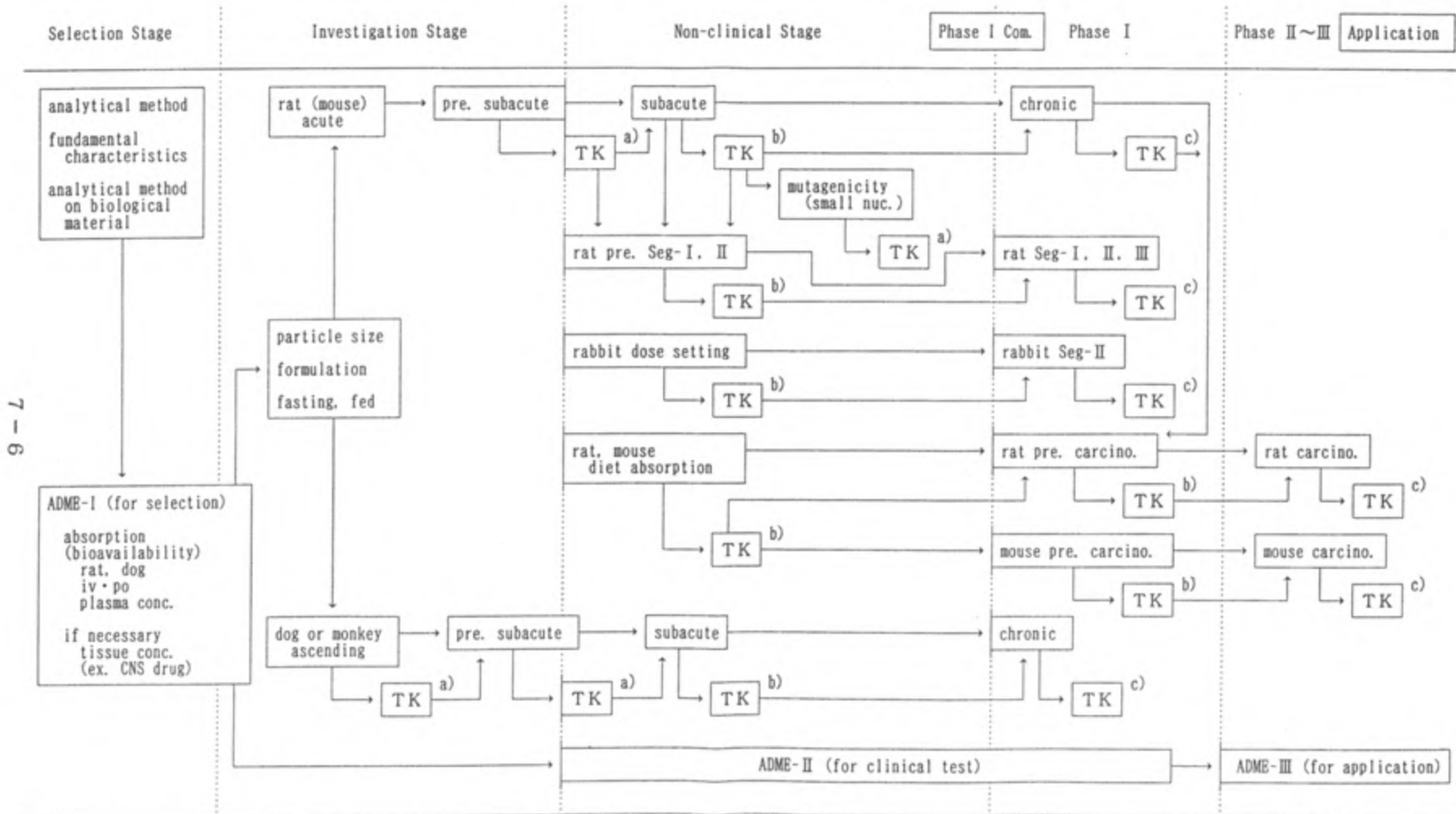


FIG. 2 Distribution of non-toxic plasma concentrations in rat and dog studies

Fig.3 Algorithm on the use of TK information in toxicity studies



Note : a) Conduct preliminary TK or stock blood samples for future determination.
 b) Conduct profiling in full scale in general.
 c) Conduct monitoring in general.

('93.7 H. Mayahara)

**TOXICOKINETICS: THE UNITED STATES PHARMACEUTICAL
INDUSTRY VIEW**

**Mitchell N. Cayen
Department of Drug Metabolism and Pharmacokinetics
Schering-Plough Research Institute
Kenilworth, NJ, USA**

TOXICOKINETICS: DEFINITION ISSUES

- Emerging scientific discipline
 - No uniform definition
 - Generally comprises pharmacokinetics at toxicological doses
 - Some include all preclinical ADME
 - Need for harmonization of definitions
 - Definitions less relevant than goals
-

WHAT IS TOXICOKINETICS?

- Combination of two disciplines: toxicology and pharmacokinetics
 - A tool to help interpret toxicity data
 - Focus is not to characterize pharmacokinetics of new drug candidate
-

DIFFERENCE BETWEEN TOXICOKINETICS AND TRADITIONAL PHARMACOKINETICS:

DOSE

Toxicokinetics is considered a natural extension of preclinical safety and pharmacokinetics programs. It has evolved slowly, but is not a separate science. It plays an integral role in planning safety studies and interpreting safety data.

Role of Kinetics in Typical Pre-IND Drug Development Programs

DRUG DISCOVERY

- Assay development + semi-validation
- Preliminary kinetics in pharmacological species
- Other goal-oriented ADME
- Possibly support two-week toxicity studies (concomitant blood levels)

PRE-IND

- Validate assay in toxicological species
- Synthesize radiolabelled drug
- Evaluate metabolism in toxicological species
- Support pre-IND (generally 3-month) toxicity studies.
- Conduct studies to support AME study in man:
 - Single dose tissue distribution of radioactivity in rats
 - Balance study of radioactivity in rodent and non-rodent

Kinetics in Pre-IND Programs: Goals and Strategies

- Support drug discovery with goal-oriented studies
 - Determine what should be analyzed, i.e., drug and/or metabolite(s)
 - Develop and validate suitable assay
 - Demonstrate dose-related exposure in toxicity studies
 - Perform sufficient ADME studies to support pharmacology and toxicity studies
-

Goals of Toxicokinetics

- Help explain unexpected toxicity: too high exposure?
 - Help explain lack of toxicity: lack of absorption?
 - Relate plasma drug levels to toxic response
 - Help understand and interpret species differences
 - Help extrapolate from animals to man: safe human dose?
-

TOXICOKINETICS CAN BE USED TO CALCULATE SO-CALLED
"SAFETY MARGINS" IN HUMANS

HUMAN SAFETY MARGIN: Exposure at highest no-effect dose in animals
Exposure at therapeutic dose in man

"Exposure" is based usually on AUC and/or C_{max}

TOXICOKINETICS IN INTERPRETATION OF TOXICITY STUDIES: SOME EXAMPLES

- Species-specific toxic metabolite
 - Doses may be too high
 - Dose range of non-linear pharmacokinetics
 - Enzyme induction
 - Species differences in protein binding
-
-

TOXICOKINETIC STRATEGIES IN NORTH AMERICA

- Virtually all toxicity studies have a toxicokinetic component
- A toxicokinetic program is a step-by-step approach using compound-specific decisions
- Required decisions in program implementation:
 - What to measure: drug and/or metabolite(s)?
 - Appropriate exposure data: total or unbound drug?
 - Appropriate exposure parameter: AUC and/or Cmax?
 - Informative goal-oriented ADME studies
- Toxicokinetics support of reproductive toxicology programs is being debated

TOXICOKINETICS: RECOMMENDED BACKGROUND DATA

RECOMMENDED DATA	PURPOSE
Biotransformation/major metabolites	Decision to measure drug and/or metabolite
Assay development and validation	Tool to measure exposure
Plasma protein binding	Decision to express data as total or unbound drug

Toxicokinetic data are generally elicited by measuring plasma concentrations of drug and/or metabolite(s).

Types of Toxicokinetic Studies

TYPE	APPROACH	PURPOSE
CONCOMITANT (DURING TOXICITY STUDY)	USE STUDY ANIMALS OR ADDITIONAL ANIMALS	RELATE DOSE AND EXPOSURE WITH TIME
ANCILLARY: PROSPECTIVE	DEDICATED STUDY WITH SEVERAL DOSES	ASSIST IN DOSE SELECTION FOR CHRONIC STUDIES
ANCILLARY: RETROSPECTIVE	DEDICATED STUDY WITH PREVIOUSLY USED TOXICOLOGICAL DOSES	EVALUATE DOSE- RELATED EXPOSURE IN COMPLETED STUDIES

TOXICOKINETICS: LIMITATIONS

- May be no relationship between exposure and target organ toxicity, i.e., may not predict toxicity
- Restricted selection of toxicology species, i.e., limited utility in species selection
- Dose selection in carcinogenicity studies:
 Exposure vs MTD
- May not be useful in influencing decision to proceed to man

TOXICOKINETICS: SOME FDA RECOMMENDATIONS AND SUGGESTIONS

- Develop specific and sensitive assay for drug and/or metabolite
- Compare metabolite profiles in toxicity species and man
- Evaluate protein binding
- Goal directed radiolabelled studies:
 - identify metabolites
 - tissue accumulation vs target organ toxicity
- Monitor systemic drug levels and try to correlate with toxicity
- Develop database on exposure vs dose/time; evaluate utility in extrapolation to man

FDA CHALLENGE

INTEGRATE PHARMACOKINETICS, PHARMACODYNAMICS, TOXICOKINETICS AND TOXICODYNAMICS INTO RATIONAL DRUG DEVELOPMENT

PHARMACODYNAMICS

- In Theory: Target pharmacological action (e.g., cholesterol lowering, anti-epileptic activity)
- In Practice: A readily detectable pharmacological endpoint (e.g., anti-bacterial activity; blood pressure lowering)

TOXICODYNAMICS

- In Theory: A toxicological effect, i.e., (target organ) toxicity (e.g., centrilobular hypertrophy)
 - In Practice:
 - Same as above, if readily detectable (e.g., elevated transaminases)
 - More in theory than practice?
-

PK/PD AND TK/TD

"A full understanding of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of a new drug in preclinical animal species and humans provides a scientific framework for efficient and rational drug development. (This) should lead to identification of dosing regimens for individual patients that optimize a therapeutic outcome".

Peck et.al., 1992

PK/PD and TK/TD Correlations

PURPOSES AND GOALS

- Aid in development of human dosage regimens
- Help to indicate likely steepness of the dose-response curve in man
- Help to assess suitability of animal models used in toxicology as predictive/comparable to man
- Aid in adjusting dosage regimens for individual patients

IMPLEMENTATION - ESTABLISH THE FOLLOWING RELATIONSHIPS:

- Dose-concentration
 - Dose-pharmacological effect (or surrogate for effect)
 - Dose-toxicity
 - Concentration-pharmacological effect
 - Concentration - toxicity
-

PHARMACODYNAMICS (PD) AND TOXICODYNAMICS (TD)

Some drugs elicit readily available PD and/or TD activities which are amenable to PK/PD and TK/TD correlations. Sponsor must provide justification, based on case-by-case basis, for which drugs such correlations cannot be obtained.

DRUG METABOLISM AND KINETICS

VIEW FROM NORTH AMERICA OF JAPANESE AND NORTH AMERICAN / EUROPEAN PROGRAMS

GEOGRAPHICAL REGION	PRIMARY FOCUS	SECONDARY FOCUS
Japan	ADME (especially tissue distribution)	Pharmacokinetics
North America and Europe	Pharmacokinetics, toxicokinetics and "M" of ADME	ADE

- All geographical regions have failed to take into account the different properties of biotechnology-derived drugs.
- Need for International Harmonization is considered critical so as to optimize drug development resources.

TOXICOKINETICS IN NORTH AMERICA

GENERAL FOCUS

- Part of virtually all toxicity studies
- Early identification of components to be assayed
- Rapid assay development and validation
- Generally measured using assay for drug in plasma
- Support with relevant ADME data
- Can be used to help
 - interpret toxicity findings
 - plan clinical programs
- Recognize limitations, e.g., plasma levels may not correlate with toxicity
- TK program should be a case-by-case and step-by-step approach