

事務連絡
平成31年3月15日

各 { 都道府県
保健所設置市
特別区 } 衛生主管部(局) 御中

厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課

「トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の評価)に関するガイダンス」
におけるマイクロサンプリング手法の利用に関する質疑応答集(Q&A)について

医薬品規制調和国際会議(以下「ICH」という。)における合意に基づくガイドラインである「ICH S3A トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の評価)に関するガイダンス」については、「トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の評価)に関するガイダンスについて」(平成8年7月2日付け薬審第443号厚生省薬務局審査課長通知)の別添としてお示ししています。

今般、ICHにおける合意に基づき、当該ガイドラインに係る質疑応答集が別添のとおり取りまとめられました。

以上、御了知の上、貴管下関係業者等に周知方御配慮願います。

ICH S3A 「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス」
におけるマイクロサンプリング手法の利用に関する質疑応答集（Q&A）

目次

| | |
|--|---|
| 序文 | 1 |
| 1. 緒言及び適用範囲 | 1 |
| 2. マイクロサンプリングの適用に関する基本原則 | 1 |
| 3. 安全性評価への影響 | 3 |
| 4. 生体試料中薬物濃度分析法に関する課題 | 4 |
| 5. 別紙： 本 Q&As と ICH S3A ガイドライン各項との対応 | 6 |

序文

S3A ガイドラインは 1994 年に発行された。しかし、近年、分析法の感度が向上したことで、マイクロサンプリング技術をトキシコキネティクス (TK) 評価において広く使用することが可能となった。本 Q&A 文書は、TK 試験にマイクロサンプリング法を導入するにあたって留意すべき点に焦点をあて、主試験群の動物で TK 評価を行うことの利点及び幾つかの限界、ならびに必要な TK サテライト動物数を減らす、あるいは無くすことによる 3Rs (代替法の利用、使用動物数の削減及び苦痛の軽減) への全体的に重要な寄与について述べたものである。

1. 緒言及び適用範囲

1.1 (Q1) マイクロサンプリングの定義は何か？

A1. 本 Q&A の目的において、マイクロサンプリングは、通常、薬物やその代謝物の濃度を測定し、その後、適切な TK パラメーターを算出するために、ごく微量の血液 (一般的には 50 μ L 以下) を採取する手法である。マイクロサンプリング技術に用いられる適切なマトリックスには、血液及び血液由来の血漿または血清があり、それらは液体または乾燥状態で輸送、保存され、その後測定に使用される。TK のためのマイクロサンプリングは、げっ歯類及び非げっ歯類に適用することができる。非血液由来のマトリックスに関するマイクロサンプリングは、本 Q&A 文書の適用範囲外とする。

1.2 (Q2) マイクロサンプリングのベネフィット/利点は何か？

A2. マイクロサンプリングは、採血量を最小限に留めることで、動物の痛みや苦痛を軽減し、げっ歯類及び非げっ歯類の動物福祉 (苦痛の軽減) に貢献することができる。また、マイクロサンプリングを用いる TK 評価が主試験群の動物で行われる場合には TK サテライト群をなくすことができる、あるいはマイクロサンプリングがげっ歯類を用いた試験で使用される場合には TK サテライト群で必要とされる動物数を減らすこともできる (使用動物数の削減)。特に、マウスにおいては、従来の採血量による TK 試験で、サテライト群として非常に多くの動物を必要とすることから、マイクロサンプリングは有用である。マイクロサンプリングの主な科学的メリットは、安全性に関するデータと薬物曝露との関連性を同じ動物で直接評価しうることである。

2. マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

2.1 (Q3) どのような種類の医薬品及びどのような種類の安全性試験にマイクロサンプリングを使用できるか？

A3. 一般にマイクロサンプリングは、バイオ医薬品を含む医薬品の大部分に適用できる。しかしながら、

全ての種類の分析対象物質について、利用可能な少量の試料による測定方法の感度が適切であるか、個々の事例で検討すべきである。

マイクロサンプリングはさまざまな種類の毒性試験、例えば、単回及び反復投与毒性試験、ならびに他の毒性試験（例えば、がん原性試験、幼若動物を用いる毒性試験や生殖発生毒性試験）に使用できる。マイクロサンプリングを適用する場合、ICH S3A: トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス（平成 8 年 7 月 2 日、薬審第 443 号）に記載されているように、代表するサブグループからのサンプリングが許容可能である。成獣から少量の血液を採取した際には、重要な獣医学的臨床病理パラメーター（訳注：血液学的検査値等）や病理学的パラメーターに影響が認められなかったとの報告例がある。一方、薬物濃度が低く、大部分あるいは全ての試料が定量限界未満（BLQ）の場合（例えば、局所あるいは吸入投与での曝露）、マイクロサンプリングは容認されない。しかし、マイクロサンプリングのための生体試料中薬物濃度分析法が、従来の試料量による分析法と同じ定量下限（LLOQ）を有する場合には、大部分あるいは全ての試料が BLQ であっても、マイクロサンプリングを使用することができる。

2.2 (Q4) TK 試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A4. 他の動態サンプリングのアプローチと同様に、マイクロサンプリング技術を適切に導入するため、分析結果の信頼性を保証しうる生体試料中薬物濃度分析法の開発及び適格化（あるいは各地域の規制ガイドライン/ガイダンスに従った GLP 試験のためのバリデーション）がなされるべきである。LLOQ、真度、精度、保存前に希釈のため用いるマトリックスの効果、及び試料採取、保存及び前処理の全ての期間における生体マトリックス中の分析対象物質の安定性などの分析上の特性は、マイクロサンプリング法を確立するために慎重に評価すべきである。従来法をいくつかの試験で既に使用していて、マイクロサンプリングを他の試験に適用する際には、当該マトリックスについて、マイクロサンプリングと従来法との間の曝露量に関する類似性を示すことが必要となるかもしれない。この曝露量の比較は、提供される試料の状態が大きく異なる場合（例えば、マイクロサンプリングによる乾燥試料と、従来法による液体試料の比較）、特に重要である。適切な濃度範囲で AUC や Cmax を解析できる独立した薬物動態（PK）試験を行うことで、2 種の方法間の類似性を比較することができる。この PK 試験は、必要な場合、マイクロサンプリング法が含まれる本試験（訳注：最終的な試験）の実施に先立って完了されるべきである。比較のための独立した PK 試験は、例えば同じ部位から採取された血液、血漿または血清を同様の分析条件にて測定する場合など、個々の状況に応じて、適切な科学的正当性が認められる場合に省略できる。この比較を行う際には、サンプリングのばらつきを確認するため、少数の動物からマイクロサンプリングにより、少数の時点で複数回採血を行い、その後、分析対象物質の濃度測定を行うことを検討できる。曝露の比較のため、理想的には、TK 試験を通して、さらに臨床試験を通じて、同じマト

リックスを使用すべきである。異なる試験において異なるマトリックスが使用される場合、マトリックス間の薬物濃度の相関は、血液学的パラメーター、血漿タンパク結合率、血液/血漿（又は血清）薬物濃度比のような種々の要因を考慮して明らかにされるべきであり、それにより、異なるマトリックスを用いたそれぞれの測定から全身曝露を適切に評価することが可能である。

2.3 (Q5) マイクロサンプリングでは、どのような血液採取法が使用できるか？

A5. 血液は、キャピラリーチューブや他の適切な微量採取器具を用いて、尾静脈や伏在静脈などから採取することができる。採取された血液及び血液由来の血漿や血清は、液体又は乾燥状態で、薬物濃度の測定に用いることができる。液体試料は、保存や輸送、そしてそれに続く分析の前に、適切な溶媒やブランクマトリックスで希釈可能な場合もある。試料を、通常、セルロース基材あるいは他の種類の基材に直接塗布して乾燥させる乾燥試料法もまた使用できる。カード/デバイス上の一部である一定の直径範囲の打ち抜き、あるいはスポット全体が、抽出及び分析に用いられる。近年及び現在も続いている技術進歩により、正確な量の血液を採取することができ、追加の容量測定を行わずに、試料全体を分析に使用することが可能なマイクロサンプリング法もある。加えて、新規に開発された技術も、十分なバリデーションを行うことで利用を検討することができる。

3. 安全性評価への影響

3.1 (Q6) 主試験群の毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A6. 主試験群の動物においてマイクロサンプリングを実施する際には、動物の生理学的状態に及ぼす血液採取の影響を考慮することが重要である。考慮すべき主な要因としては、1) 一定期間内における採血量と採血回数、2) 被験薬物の特性（例えば、赤血球への影響、抗凝固作用や血液力学特性）、3) 試験系（例えば、動物種、週齢、体重、総血液量）、及び 4) 採血部位があげられる。頻回で繰り返しの採血は、血液学的パラメーターなどの生理学的データに影響を及ぼす可能性があるため、マイクロサンプリングであっても、試料採取（採血）のプロトコールは適切に設定すべきである。体重、摂餌量、血液学的パラメーター（例えば、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、電解質、総タンパク質）の変化や、採血部位への影響（例えば、組織の損傷や炎症）など関連する動物データを記録することが推奨される。これらパラメーターの評価において、被験薬群と同じ回数及び量の試料を採取された対照動物との比較を行うことは、その試験での疑わしい影響が被験薬に起因するものか、あるいは試験手順によるものかを明らかにするために重要であろう。以前の試験において、被験薬による血液学的パラメーターの変化が頻回の血液採取によって悪化した可能性がある場合、あるいは被験薬の薬理学的作用がこのような影響を引き起こすことが疑われる場合には、マイクロサンプリング技術を使用するとしても、TK評価の目的のためにサテライト群の動物を使用する必要があるだろう。あるいはその

代替として、科学的に妥当であるならば、マイクロサンプリングと共にスパースサンプリング（少数回の試料採取）*を用いることも可能である。

*TK 試験におけるスパースサンプリングでは、通常、投与群の各動物から、少数の定められた時点で血液採取が行われる。採血は異なる動物に対して異なる時点に割り当てられ、反復されることも多く、その後、被験物質の濃度－時間挙動について統計学的な推論が行われる。適切な試験デザインを用いることで、試験担当者は動物の健康状態に影響を及ぼさないように試料数と採血量を抑えつつ、試験における通常のトキシコキネティクス試験の目的を達成することができる。

4. 生体試料中薬物濃度分析法に関する課題

4.1 (Q7) 液体又は乾燥試料の処理の際、生体試料中薬物濃度分析法開発やバリデーションにおいて考慮すべき点は何か？

A7. マイクロサンプリングにより採取した試料を分析する場合、各規制地域の生体試料中薬物濃度分析ガイドライン/ガイダンスに規定された分析法バリデーションを行うことに加えて、以下の点を考慮すべきである。

液体試料では、以下の事項を考慮すべきである。1) ピペッティングなどによる、試料の均一性の確保、2) 少量試料の取扱い事項（該当する場合、例えば、保存中の潜在的凍結/乾燥効果、及びそれに続く凍結融解過程）、3) 限られた試料量による LLOQ の上昇の可能性、4) 微量容器/キャピラリーへの抗凝固剤の添加による試料希釈の影響、5) 採取容器への分析対象物質の吸着増加の可能性（すなわち容量に対する表面積の割合の上昇）、6) 試料の適切な保存状態の維持、7) 数種の採取方法を使用した場合における、汚染のリスク及び反復的な試料採取の困難性。

乾燥試料技術（例えば、セルロース又は非セルロースカード、ポリマーマトリックスなどへのスポット）では、薬物の回収率が十分で再現性があり、薬物の検出時にマトリックスによる妨害効果が十分小さい方法を選択することが重要である。乾燥スポットの一部を打ち抜く方法を用いる場合、特に低分子の薬物では、分析対象物質の検出がヘマトクリット値の違いにより影響を受けないことが重要である。ヘマトクリットによる分析対象物質の検出への影響は、ヘマトクリット値が異なる血液を使用し、既知濃度の被験薬を添加して測定することにより評価可能である。同一のスポットから打ち抜いた複数の試料の分析対象物質の値を評価することで、あるいは例えば放射性標識体を用いた評価により、スポットの均一性を確認することも重要である。正確な量の血液をデバイス上に採取し、その後、試料全体を分析に使用することで、これらの問題は最小限にすることができる。

Incurred sample reanalysis (ISR) は、各地域のガイドライン/ガイダンスに記載がある場合、それに従って実施すべきである。ISR を実施する場合には、十分な試料量又は複製数（例えば、スポット、容器、

又はチップ) が ISR 用に確保されるよう注意が必要である。

5. 別紙: 本 Q&As と ICH S3A ガイドライン各項との対応

| ICH S3A ガイドライン の項目 | 1: はじめに | 2: トキシコキネティクス (TK) の目的及び測定されるパラメーター | 3: 一般原則 | 4: トキシコキネティクス (TK) の個々の毒性試験における留意点 | 5: 注 | 6: 参照 (他の ICH ガイドライン) |
|-----------------------|---------|-------------------------------------|-------------|------------------------------------|------|-----------------------|
| 1.1 (Q1) | 1 | | 3.10 | | 注 1 | |
| 1.2 (Q2) | 1 | | 3.5 | | 注 1 | |
| 2.1 (Q3) | | 2 | | 4 | | |
| 2.2 (Q4) | | | 3.1 3.10 | | | |
| 2.3 (Q5) | | | 3.10 | | | |
| 3.1 (Q6) | | | 3.3 3.5 | | | |
| 4.1 (Q7) | | | 3.10 | | 注 1 | |