

目 次

第1章 非臨床試験 — ICH及び内外ガイドラインへの対応と新しい試み	
第1節 単回投与毒性試験 〈橋本正晴〉	37
1. はじめに	37
2. ICH でなにが合意されたか(ICH の合意事項)	37
3. FDA の単回投与毒性試験ガイドライン	38
4. 単回投与毒性試験の目的と試験内容	40
5. 単回投与毒性試験の実施までに得られている情報の活用	41
6. 単回投与毒性試験実施上の考慮すべき点	41
6.1 動物種の選択	41
6.2 投与経路	42
6.3 投与回数	43
6.4 用量段階	44
6.5 観 察	45
6.6 発現した毒性所見についての考察	46
7. 安全性薬理試験との関連	46
8. おわりに	47
第2節 反復投与毒性試験 〈野村 護〉	49
1. はじめに	49
2. 試験の目的と非臨床毒性試験の考え方	49
3. 予備試験	50
4. ヒト試験(Phase I試験)への対応	50
5. ICH での合意事項と今後の方向性	52
6. トキシコキネティクス	53
6.1 定義と目的	53
6.2 生体試料中薬物濃度定量法バリデーション	53
6.3 プロファイリングと後付試験	54
6.4 TK試験と測定時点	55
7. 法的規制試験(レギュレーション試験)	56
7.1 目 的	60
7.2 試験計画	60
(1) 目 的	60
(2) 動物種	60
(3) 性	60

(4) 動物数	60
(5) 飼育方法	60
(6) 環境条件	60
(7) 被験物質	60
(8) 用量設定	61
(9) 投与期間	61
(10) 投与経路	61
(11) 投与回数	62
(12) 投与用量	62
(13) 観察項目	62
(14) TK測定	63
(15) 終了時の検査事項	63
(16) データ解析と評価および結論	63
8. 不純物の反復投与試験	63
9. 反復投与毒性試験の評価とヒトへの外挿	64
反復投与毒性試験計画書のチェックリスト	66
第3節 遺伝毒性試験	〈島田弘康〉 76
1. 遺伝毒性試験ガイドラインの概略	76
2. 各試験法の解説と実施上の問題点	76
2.1 細菌を用いる復帰突然変異試験	76
(1) 使用菌株	77
(2) 最高用量の設定基準および用量段階	77
(3) 試験法	78
(4) 陽性対照薬	78
(5) プレート数	78
(6) 復帰変異コロニーの観察	78
(7) 試験の成立条件	78
(8) 結果の表示	78
(9) 結果の判定	78
(10) 試験の再現性	79
2.2 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	79
(1) 使用細胞	79
(2) 試験法	79
(3) 最高用量の設定基準および用量段階	80
(4) 対 照	80
(5) プレート数	80

(6) 染色体異常の観察	80
(7) 試験の成立条件	80
(8) 結果の表示	81
(9) 結果の判定	81
2.3 マウスリンフォーマ TK 試験	81
(1) 使用細胞	81
(2) 試験法	82
(3) 最高用量の設定基準および用量段階	82
(4) 対 照	84
(5) プレート数(処理系列数)	84
(6) 細胞毒性および突然変異の検出	84
(7) スモールコロニーおよびラージコロニーの判定	85
(8) 試験の成立条件	85
(9) 結果の表示	85
(10) 結果の判定	85
2.4 げっ歯類を用いる小核試験	85
(1) 使用動物	85
(2) 被験物質の調製	85
(3) 投与経路	86
(4) 最高用量の設定基準および用量段階	86
(5) 投与回数とサンプリング時間	86
(6) 観察細胞数	86
(7) 結果の表示	86
(8) 試験の成立条件	86
(9) 結果の判定	87
(10) 陰性の場合の曝露証明	87
3. ICH ガイドラインの問題点	87
英国 COM ガイドラインの問題点	88
4. 光遺伝毒性	88
5. ICH 毒性試験ガイドラインにおける遺伝毒性試験の役割	89
6. 日本の他の遺伝毒性ガイドラインとの関係	90
7. 遺伝毒性試験の展望	90
第4節 がん原性試験	〈高橋道人／臼居敏仁〉 94
1. がん原性試験の実施が必要な医薬品	94
1.1 臨床での投薬期間が長期にわたる場合	94
(1) 適用患者対象からみたがん原性試験の必要性	95

(2) 全身曝露および局所適用	95
(3) 内因性ペプチドおよび蛋白製剤あるいはそのアナログ	95
1.2 がん原性が懸念される場合	96
(1) 遺伝毒性試験の成績からがん原性が懸念される場合	96
(2) 製品レベルの曝露によりヒトにがん原性を引き起こす恐れが前もって 示されている場合、あるいは同種同効の医薬品にヒトに関連するよう ながん原性が知られている場合	96
(3) 構造活性相関から遺伝毒性またはがん原性が示唆される場合	97
(4) 反復投与毒性試験において前腫瘍性変化などがみられる場合	97
(5) 親化合物(未変化体)または代謝物が長期間組織に停滞し局所の組織変化 あるいは病的変化を引き起こす場合	97
2. がん原性試験における用量設定	97
2.1 最大耐量およびその他の指標	97
2.2 用量設定試験の実施にあたっての一般的事項	98
(1) 高用量選択における毒性学的指標	98
(2) 高用量選択における薬物動態学的指標	99
(3) 高用量選択における吸収の飽和する量	100
(4) 高用量選択における薬力学的指標	100
(5) 投与可能最大量	100
(6) 高用量選択におけるその他の指標	100
(7) 限界量	100
2.3 がん原性試験における中用量および低用量の選択	100
3. がん原性を検索・評価する方法	101
3.1 げっ歯類を用いた長期がん原性試験	101
(1) 医薬品のデータベース調査からの情報	101
(2) メカニズム研究における有用性	102
(3) 代謝動態	102
(4) 実用面	102
3.2 がん原性検出のための第二の <i>in vivo</i> 試験	102
(1) <i>In vivo</i> 追加試験の種類	102
(2) 短期・中期 <i>in vivo</i> げっ歯類試験系を選択したとき考慮すべき点	103
3.3 メカニズム研究	103
(1) 細胞レベルの変化	103
(2) 生化学的測定	103
(3) 追加の遺伝毒性試験の必要性	103
(4) 試験計画の工夫	104
4. がん原性の評価	104

第5節 生殖発生毒性試験	〈江馬 眞／峯島 浩〉	105
1. はじめに		105
2. 生殖発生毒性試験ガイドラインの変遷		105
3. 三極調整ガイドラインの考え方		106
4. 生殖発生毒性試験に関わる他のガイドライン		106
5. 試験方法		107
5.1 試験検査項目		107
(1) 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験(I試験)		107
(2) 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験(II試験)		107
(3) 胚・胎児発生への影響に関する試験(III試験)		110
5.2 試験デザインの選択について		110
(1) 三試験計画法		110
(2) 単一試験計画法／二試験計画法(げっ歯類)		112
(3) その他の試験計画法		112
5.3 使用動物の選択		112
5.4 動物数		113
5.5 投与方法		113
5.6 対照群		113
5.7 投与量		113
5.8 キネティクス		114
5.9 試験結果の評価		114
6. <i>In vitro</i> 試験とその有用性		115
第6節 神経毒性試験	〈今井 清〉	118
1. はじめに		118
2. 神経毒性試験ガイドラインの比較		119
3. 各試験法における問題点		124
4. 発達神経毒性試験ガイドラインについて		126
5. 毒性試験法ガイドラインの運用について		127
6. おわりに		129
第7節 免疫毒性試験	〈吉田貴彦〉	131
1. 免疫毒性試験の概略		131
2. 免疫毒性とは		131
3. 免疫毒性の範囲		132
4. 免疫毒性試験法の概要		132

5. 免疫毒性的検索法の組み合わせ	134
6. 実験動物の選定	134
6.1 実験動物の系統	134
6.2 実験動物の性別	135
6.3 実験動物の週齢	136
7. 免疫毒性実験デザインの建て方	136
7.1 被検物質の曝露の場と免疫応答が惹起される場との関係	136
(1) <i>In vivo</i> 曝露, <i>in vivo</i> 処置, <i>in vivo</i> 測定	136
(2) <i>In vivo</i> 曝露, <i>in vivo</i> 処置, <i>in vitro</i> 測定	136
(3) <i>In vivo</i> 曝露, <i>in vitro</i> 測定, (無処置)	136
(4) <i>In vivo</i> 曝露, <i>in vitro</i> 処置, <i>in vitro</i> 測定	137
(5) <i>In vitro</i> 曝露, <i>in vivo</i> 処置, <i>in vitro</i> 測定	137
(6) <i>In vitro</i> 曝露, <i>in vitro</i> 処置, <i>in vitro</i> 測定	137
(7) <i>In vitro</i> 曝露, <i>in vitro</i> 測定, (無処置)	137
7.2 被検物質の曝露と評価法としての免疫応答との時間的關係	137
(1) 被検物質曝露の先行	137
(2) 被検物質曝露の同時進行	137
8. 被検物質の曝露	138
8.1 被検物質の作用時期	138
8.2 被検物質の投与(曝露)経路	138
9. 他の生体影響との関係	138
10. 免疫毒性試験法(各論)	138
10.1 抗体産生応答(antibody producing response)	138
10.2 リンパ球増殖活性(lymphocyte proliferation test)	139
(1) マイトゲン刺激幼若化応答(mitogen response)	139
(2) 混合リンパ球応答(mixed lymphocyte response, MLR)	139
10.3 細胞表面抗原の検索	139
10.4 細胞傷害性試験(cytotoxicity test, CT)	140
(1) ナチュラルキラー細胞(natural killer cell, NK cell)活性	140
(2) 細胞傷害性Tリンパ球(cytotoxic T lymphocyte, CTL)活性	140
10.5 抗原性試験	140
10.6 免疫担当細胞機能試験	141
10.7 即時型過敏症試験(immediate type hypersensitivity)	141
(1) 能動全身アナフィラキシー試験(ASA)	141
(2) 受動皮膚アナフィラキシー試験(PCA)	141
(3) ELISAによる特異的IgE測定	141
10.8 遅延型過敏症試験(delayed type hypersensitivity, DTH)	141
10.9 宿主抵抗性試験	141

(1) 感染抵抗性試験(細菌, ウイルス, 原虫, 真菌など)	142
(2) 腫瘍抵抗性試験	142
(3) 移植片拒絶反応試験(graft rejection test)	142
10. 10 液性因子などの測定	142
(1) 酵素免疫測定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)	143
(2) 生物学的測定法(bioassay)	143
(3) 逆転写 PCR 法(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)	143
10. 11 特殊な試験法 — 組織薄切培養法	143
11. 抗原性試験	143
11. 1 アレルギー反応	144
11. 2 アレルギー反応の種類	144
(1) I型アレルギー	144
(2) II型アレルギー	144
(3) III型アレルギー	144
(4) IV型アレルギー	144
(5) V型アレルギー	144
12. 抗原性試験(各論)	145
12. 1 能動全身アナフィラキシー試験(active systemic anaphylaxis test, ASA)	145
12. 2 特異的 IgE の測定	145
(1) 受動皮膚アナフィラキシー試験(passive cutaneous anaphylaxy test, PCA)	145
(2) ELISA 法	146
12. 3 遅延型過敏症試験(delayed type hypersensitivity, DTH)	146
(1) モルモット maximization test(Guinea Pig Maximization Test)	146
(2) 足底過敏症試験(foot-pad reaction)	146
(3) 接触性過敏症試験(contact hypersensitivity)	146
12. 4 局所リンパ節試験(local lymph node assay, LLNA)	146
12. 5 マウス膝窩リンパ節試験(popliteal lymph node assay, PLNA)	147
13. あとがき	147
第 8 節 依存性試験	(鈴木 勉) 149
1. はじめに	149
2. 精神依存の評価法	150
2. 1 Preference 法	150
2. 2 薬物自己投与方法	150
(1) 静脈内自己投与方法	150
(2) その他の方法	153
2. 3 Conditioned place preference(CPP)法	153

(1) CPP法の考え方, 手技と意義	153
(2) CPP法の注意点	156
(3) CPP法の問題点と有効活用法	156
2.4 薬物弁別	158
3. 身体依存の評価法	158
3.1 オピオイド型薬物の身体依存性試験	159
(1) 注射法(細谷法)	159
(2) Pellet法	160
(3) Slow release emulsion (SRE法)	161
(4) Infusion法	162
(5) 薬物混入飼料法(Drug-admixed food ; DAF)	162
(6) その他	163
3.2 バルビツール酸型薬物の身体依存性試験	164
(1) Drinking法	165
(2) 注射法	165
(3) DAF法(薬物混入飼料法)	165
(4) その他	167
4. まとめ	168
第9節 刺激性試験 (杉山真理子)	173
1. はじめに	173
2. 動物実験代替法の考え方	173
3. 皮膚刺激性試験	174
3.1 皮膚刺激性のメカニズム	174
3.2 皮膚一次刺激性試験	175
Federal Register法概略	175
3.3 連続皮膚刺激性試験	176
連続皮膚刺激性試験概略	177
3.4 皮膚刺激性試験代替法	177
(1) 単層培養細胞を用いる細胞毒性試験	177
(2) 摘出皮膚及び3次元培養ヒト皮膚モデルを用いる細胞毒性試験	178
4. 眼刺激性試験	179
4.1 眼粘膜刺激性試験の目的	179
4.2 眼刺激性試験(眼粘膜刺激性試験)	179
4.3 眼刺激性試験代替法	180
5. 光毒性試験	181
5.1 光毒性試験のメカニズム	181

5.2	動物を用いる方法	182
	光毒性試験概略	182
5.3	光毒性試験代替法	183
	3T3 NRU PTの概要	184
5.4	EU/COLIPAバリデーションの経緯とOECDガイドライン案	185
5.5	光毒性試験と使用光源について	188
6.	おわりに	188
第10節	感覚器毒性試験—眼科学的検査—	〈久野博司〉 192
1.	はじめに	192
2.	視覚	192
2.1	眼の解剖	194
2.2	眼の発生	194
2.3	網膜の組織構造	196
3.	眼科学的検査	197
3.1	外観の検査	198
	(1) 対称性の観察	198
	(2) 眼からの分泌物	198
	(3) 眼の発赤	199
	(4) 痛みおよび視覚の喪失	199
	(5) 涙膜の完全性	199
3.2	倒像検眼鏡検査法	200
3.3	細隙燈顕微鏡検査法	201
3.4	組織検査への連続性	202
	眼科写真撮影	202
4.	ラットにおける眼の背景病変	203
5.	まとめ	208
第11節	感覚器毒性試験(視覚, 聴覚)—電気生理学的手法—	〈中山直樹〉 212
	はじめに	212
1.	視覚機能検査	212
1.1	網膜の機能検査について	212
	(1) フラッシュ刺激によるビーグル犬のF-ERG (a波, b波, 律動様小波)	213
	(2) パターンリバーサル刺激によるビーグル犬のP-ERG	214
	(3) カニクイザルc波	219
1.2	視覚伝導路の機能検査について	222

(1) ビーグル犬の F-VEP および P-VEP の検討	223
(2) エタンブトール(EB)反復経口投与によるビーグル犬の 視覚障害(P-VEPの異常)	225
2. 聴覚機能検査	227
聴性脳幹反応(ABR)について	228
ビーグル犬の ABR の検討	228
第 12 節 安全性薬理試験	233
(橋本宗弘)	233
1. はじめに	233
2. ガイドラインの概要	237
3. ガイドラインの解説	238
ヒト医薬品に関する安全性薬理試験ガイドライン (Guideline on Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals(STA))	238
[1] 序 論(Introduction)	238
[1.1] 本ガイドラインの目的(Objectives Of The Guideline)	238
[1.2] 背 景 (Background)	238
[1.3] ガイドラインの適用範囲(Scope Of The Guideline)	240
[1.4] 一般原則(General Principle)	240
[1.5] 安全性薬理の定義(Definition Of Safety Pharmacology)	241
[2] ガイドライン(Guideline)	241
[2.1] 試験の目的(Objectives Of Studies)	241
[2.2] 安全性薬理試験の選択及び計画における一般的配慮 (General Considerations In Selection And Design Of Safety Pharmacology Studies)	242
[2.3] 試験系(Test Systems)	243
[2.3.1] 試験系についての一般的配慮(General Considerations On Test Systems)	243
[2.3.2] <i>In vivo</i> 及び <i>in vitro</i> 試験の使用(Use Of In Vivo And In Vitro Studies)	243
[2.3.3] 実験計画(Experimental Design)	244
[2.3.3.1] 例数と対照群の使用(Sample Size And Use Of Controls)	244
[2.3.3.2] 投与経路(Route Of Administration)	244
[2.4] 被験物質の用量もしくは濃度(Dose Levels Or Concentrations Of Test Substance)	245
[2.4.1] <i>In vivo</i> 試験(In Vivo Studies)	245
[2.4.2] <i>In vitro</i> 試験(In Vitro Studies)	245
[2.5] 投与期間(Duration Of Dosing)	246
[2.6] 代謝物, 異性体及び最終製剤についての試験 (Studies On Metabolites, Isomers And Finished Products)	246
[2.7] 安全性薬理コアバッテリー(Safety Pharmacology Core Battery)	247
[2.7.1] 中枢神経系(Central Nervous System)	247

[2.7.2] 心血管系 (Cardiovascular System)	248
[2.7.3] 呼吸器系 (Respiratory System)	249
[2.8] フォローアップ及び補足的安全性薬理試験 (Follow-up and Supplemental Safety Pharmacology Studies)	249
[2.8.1] 安全性薬理コアバッテリーに対するフォローアップ試験 (Follow-up Studies For Safety Pharmacology Core Battery)	249
[2.8.1.1] 中枢神経系 (Central Nervous System)	250
[2.8.1.2] 心血管系 (Cardiovascular System)	250
[2.8.1.3] 呼吸器系 (Respiratory System)	250
[2.8.2] 補足的安全性薬理試験 (Supplemental Safety Pharmacology Studies)	250
[2.8.2.1] 腎/尿系 (Renal/Urinary System)	250
[2.8.2.2] 自律神経系 (Autonomic Nervous System)	250
[2.8.2.3] 胃腸管系 (Gastrointestinal System)	250
[2.8.2.4] 他の器官系 (Other Organ Systems)	250
[2.9] 試験が不必要な条件 (Conditions Under Which Studies Are Not Necessary)	251
[2.10] 臨床開発に関連した安全性薬理試験の実施時期 (Timing Of Safety Pharmacology Studies In Relation To Clinical Development)	251
[2.10.1] 初めてヒトに投与する前の試験 (Studies Prior To First Administration In Humans)	251
[2.10.2] 臨床開発中の試験 (Studies During Clinical Development)	252
[2.10.3] 承認前の試験 (Studies Before Approval)	252
[2.11] GLP の適用 (Application Of Good Laboratory Practices)	252
[3] 注 (Notes)	254
4. まとめ	254

Step 4 ガイドライン原文 : GUIDELINE ON SAFETY PHARMACOLOGY STUDIES FOR HUMAN PHARMACEUTICALS (S7A)	256
---	-----

第13節 薬物動態試験	〈吉田武美〉	264
1. はじめに		264
2. 試験方法		264
2.1 被験物質		264
2.2 試験系		265
(1) 投与経路		265
(2) 投与量		266
(3) 投与期間, 投与間隔		266
(4) 定量法		266

3. 検討事項	266
3.1 吸収に関する試験	266
(1) 吸収が問題になった例	267
(2) 吸収に関連する最近の動向	267
3.2 分布に関する試験	267
3.3 胎盤・胎児移行性試験	268
(1) 胎盤の構造の種差	268
(2) 医薬品の胎児移行による毒性発現	268
(3) 胎盤移行に関する最近の動向	269
3.4 薬物の血中存在状態(分布を左右する因子)	269
3.5 組織分布が問題になった例	269
4. 代謝に関する試験	270
4.1 薬物代謝酵素誘導剤や阻害剤と代謝阻害が問題となった例	271
4.2 最近の動向	271
5. 排泄に関する試験	272
5.1 乳汁移行性試験	272
乳汁移行の事例	272
5.2 排泄が問題となった例	273
5.3 最近の動向	273
6. 薬物動態試験の展望	273
7. 薬物動態試験結果の解釈と評価の留意点	275
8. おわりに	276
第14節 非臨床安全性試験の実施時期 (大野泰雄)	278
1. 序	278
2. ICH 合意文書の主な内容と背景	283
2.1 一般原則	283
2.2 安全性薬理試験	283
2.3 トキシコキネティクス及び薬物動態試験	283
2.4 単回投与毒性試験	283
2.5 反復投与毒性試験	284
2.6 局所刺激性試験	285
2.7 遺伝毒性試験	285
2.8 がん原性試験	285
2.9 生殖毒性試験	285
2.10 幼若動物を用いた試験	286
3. 最後に	287

第15節 毒性試験の統計解析	〈浜田知久馬〉	289
1. 試験の目的とデータ解析の考え方		289
2. 計量データの解析		289
2.1 パラメトリックとノンパラメトリック		289
2.2 検定の多重性		290
2.3 多重比較		291
(1) Dunnett 検定		291
(2) Tukey 検定		292
(3) Williams 検定		292
(4) その他の多重比較法		293
2.4 分散分析と多重比較		294
3. 計数データの解析		295
4. 毒性試験に特有な統計解析手法		296
4.1 単回投与毒性試験		296
Probit 法		296
4.2 反復投与毒性試験		297
決定樹		297
4.3 がん原性試験		299
(1) 生存時間解析手法		299
(2) Peto 検定		299
4.4 変異原性試験の統計解析		301
(1) Ames 試験		302
(2) 染色体異常試験		303
(3) 小核試験		303
4.5 生殖・発生毒性試験		303
第16節 試験のアウトソーシング	〈松澤利明〉	305
1. はじめに		305
2. ICH		306
3. 技術革新の進展		307
4. アウトソーシング		308
4.1 医薬品研究開発におけるアウトソーシングの必要性		308
(1) 医薬品研究開発費の高騰化		308
(2) 医薬品研究開発期間の長期化		309
(3) 医薬品研究開発競争の激化		310
(4) 医薬品研究開発のグローバル化		310
4.2 研究開発の自己完結型からの脱却		310

4.3	アウトソーシングは経営戦略の手段	311
4.4	アウトソーシングの戦略的計画	311
4.5	アウトソーシングを判断するための技術的基準	312
4.6	アウトソーシングの決断	313
5.	医薬品研究開発業務における受託機関	313
6.	医薬品委受託市場のサイズ	313
7.	前臨床試験の受委託	314
7.1	医薬品探索研究・萌芽研究の支援	314
7.2	前臨床試験と CRO	315
(1)	Quality System の構築	315
(2)	GLP	315
(3)	動物福祉・アーチファクト	316
(4)	試験責任者	316
(5)	新技術	317
(6)	研究と試験	317
(7)	最終報告書は商品である	317
(8)	試験の適正価格	317
8.	アウトソーシングのマネジメント	317
8.1	空洞化	317
8.2	アウトソーシングの組織と運営	318
9.	アウトソーシングにおけるリスク	318
9.1	契約	318
9.2	アウトソーシングのラショナルと危機管理方式	318
9.3	天災と人災	319
9.4	研究開発アウトソーシングの機密管理上の人的諸問題	319
10.	おわりに	319
Appendix 1	日本の主なゲノム・バイオベンチャー企業	320
Appendix 2	化学物質等安全性試験研究協議会(安研協)加盟の CRO 一覧	321
Appendix 3	化学物質等安全性試験研究協議会(安研協)加盟の CRO の実施試験一覧	322
Appendix 4	主に前臨床試験の日本の CRO 一覧	323
Appendix 5	主に前臨床支援の日本 CRO の実施試験一覧	323
Appendix 6	日本に代理店等がある欧米の非臨床 CRO 一覧	324
Appendix 7	日本に代理店等がある欧米の CRO の実施試験一覧	325
第 17 節	コモン・テクニカル・ドキュメント —非臨床試験—	〈河合睦文〉 326
1.	背景と経過	326
2.	CTD の全体構成	326

3. CTD-非臨床試験の構成	328
4. 試験報告書の配列	328
5. 非臨床試験におけるモジュール2の構成	329
6. Overview	329
7. Written Summary と Tabulated Summary	330
8. CTD 作成のための基本的要素	330
9. ICH-Safety ガイドラインとの対照	331
10. CTD Implementation	331
11. CTD 作成要領 — 実務上のまとめ	331

第II章 創薬段階での非臨床評価

第1節 ハイスループット・トキシコロジー	(堀井郁夫)	335
1. はじめに		335
2. なぜ、ハイスループット・トキシコロジーが必要なのか?		335
2.1 新薬開発過程における創薬から新薬申請までの研究のパラダイムシフト		335
2.2 ハイスループット・トキシコロジーで何を評価するのか?		336
2.3 ハイスループット・トキシコロジーの有効性 — いかによりスループット・トキシコロジーは貢献できるか? —		336
3. ハイスループット・トキシコロジー手法の導入		337
3.1 創薬の過程(リード創製・展開)期における安全性評価: 構造毒性相関とハイスループット・トキシコロジー		337
3.2 ハイスループット・スクリーニングにおける測定の自動化と技術		337
3.3 <i>In vitro</i> 及び <i>in vivo</i> ハイスループット・トキシコロジーの導入		338
4. ハイスループット・トキシコロジーの適用と実施時期		339
5. 実際例の紹介		340
5.1 <i>In vivo</i> スクリーニング・システムの例 — 標準的なプロトコール —		341
5.2 <i>In vitro</i> 細胞培養の例		341
(1) <i>In vitro</i> 抗真菌剤開発におけるラット初代培養肝細胞と 真菌の共培養系を用いた形態解析による評価法		342
(2) ラット初代培養肝細胞を用いた封入体形成評価法		343
(3) <i>In vitro</i> 神経毒性評価系としてのラット脳スフェロイド(SP)系の検討		343
(4) <i>In vitro</i> 甲状腺スフェロイド培養系の毒性試験系の検討		343
(5) ラット胎児初代培養肺細胞を用いた <i>in vitro</i> 毒性評価系の検討		344
6. 将来の展望		344

第2節 トキシコゲノミクス・トキシコプロテオミクス

..... (堀井郁夫/Laura Suter-Dick/Silvio Albertini)	348
1. はじめに	348
1.1 トキシコゲノミクス	348
1.2 トキシコプロテオミクス	349
2. トキシコゲノミクスの適用と最終目的	349
トキシコゲノミクスの適用	349
3. トキシコゲノミクスとトキシコプロテオミクスの技術	350
3.1 遺伝子発現分析	350
3.2 DNA-アレイ	350
3.3 二次元ゲル電気泳動	350
3.4 遺伝子発現と蛋白質産生の関係	351
4. トキシコゲノミクス・トキシコプロテオミクスの 試験デザイン・バリデーション及び対象遺伝子	352
5. 活性代謝物を介する肝臓毒性作用での例 (アセトアミノフェン, 四塩化炭素, チオアセトアミド)	352
5.1 トキシコゲノミクスからみた毒作用機序解明のための化合物の選定	353
5.2 試験のデザイン	353
5.3 試験結果及び考察	353
(1) 血液生化学的検査及び病理組織学的検査	353
(2) 遺伝子チップによる遺伝子発現分析	353
(3) 蛋白発現分析	354
6. 胆汁うっ滞障害を示す肝毒性作用の例	355
6.1 化合物と試験デザイン	355
6.2 試験結果及び考察	355
7. 公表論文の概説及びその考察	356
8. 今後の展望	357

第3節 ヒト肝細胞の調製, 保存, 及び代謝・毒性研究への利用

..... (大野泰雄/籾内桃子)	360
1. 序	360
2. 調製法	360
3. 培養法	361
4. ヒト肝細胞の代謝研究への利用	362
4.1 遊離直後の肝細胞を用いた代謝研究	362
4.2 初代培養肝細胞を用いた代謝研究	363
4.3 ヒト肝細胞を用いた薬物代謝阻害の検討	363
4.4 薬物代謝酵素誘導能の検討	363

5. 毒性研究への応用	366
6. 肝細胞の保存法	366
6.1 肝臓の冷蔵保存	366
6.2 肝細胞の凍結保存	367
(1) 肝細胞の保存液	367
(2) 肝細胞の凍結法	368
(3) 凍結肝細胞の融解	368
(4) 初代肝細胞の形態学的変化	368
(5) 肝細胞の肝機能に及ぼす凍結融解の影響	369
7. まとめ	371
第4節 モデル動物の利用と評価 —脳—	〈石川和宏／山田清文／鍋島俊隆〉 377
1. 精神病モデル	377
1.1 精神分裂病モデル	377
(1) 遺伝子正常型モデル	377
(2) 遺伝子操作型モデル	379
1.2 不安モデル	379
(1) 遺伝子正常型モデル	379
(2) 遺伝子操作型モデル	379
1.3 うつモデル	380
(1) 行動抑制惹起動物(遺伝子正常型モデル)	380
(2) 遺伝子操作型モデル	380
2. てんかんモデル	380
3. アルツハイマー病(Alzheimer disease : AD)	380
3.1 遺伝子正常型モデル	380
3.2 遺伝子操作型モデル	381
4. パーキンソン病(Parkinson's disease : PD)	382
5. ポリグルタミン病	383
6. 今後の展望	383
第5節 モデル動物の利用と評価 —心血管—	〈橋本敬太郎〉 387
1. 高血圧モデル	387
1.1 自然発症高血圧ラット(Spontaneously Hypertensive Rat, SHR)	388
1.2 腎性高血圧モデル	388
1.3 遺伝子改変モデル	388
2. 心不全モデル	388

2.1	容量負荷心不全モデル	389
2.2	圧負荷心不全モデル	389
2.3	心機能亢進誘発心不全モデル	389
2.4	心筋障害心不全モデル	390
3.	心筋虚血モデル	390
3.1	狭心症モデル	390
3.2	心筋梗塞モデル	391
4.	不整脈モデル	392
5.	動脈硬化モデル	396
	おわりに	396
第6節	モデル動物の利用と評価 - 老化 -	〈細川昌則〉 397
1.	はじめに	397
2.	老化研究に用いられる実験動物	397
2.1	2種類の実験動物	397
2.2	老化研究に用いる実験動物に求められる条件	397
3.	老化研究で用いられる観察項目	398
3.1	寿命	398
3.2	老化の生物学的指標(バイオマーカー)と個体の老化度の測定	398
3.3	老化度判定基準と老化の定義	399
3.4	実験上の諸問題	400
	(1) 測定に用いる動物の歴齢	400
	(2) 個体間変動の増加	401
	(3) 病理変化	401
	(4) 性差	401
	(5) 飼育環境と飼料	402
	(6) 亜系統差	402
	(7) モデルとしての種の特長	402
4.	特定の老化研究のモデル動物	402
4.1	SAM系統マウス	402
	(1) 老年期脳機能障害	404
	(2) 老年性骨粗鬆症	404
	(3) 老年期免疫機能障害	404
4.2	Klothoマウス	405
5.	老年性疾患の遺伝子解析	405
6.	おわりに	405

第7節	モデル動物の利用と評価	—骨粗鬆症—	〈田中公一〉	407
1.	はじめに			407
2.	三極におけるガイドラインの概要			407
3.	骨粗鬆症モデル動物			408
3.1	成熟卵巣摘除ラット			408
3.2	大型リモデリング動物による骨粗鬆症モデル			410
3.3	その他の骨粗鬆症モデル			410
4.	将来展望			412
第8節	モデル動物の利用と評価	—2型糖尿病—	〈戸辺一之／門脇 孝〉	419
1.	はじめに			419
2.	インスリンの情報伝達			419
3.	IRSファミリー (Insulin Receptor Substrate family) — IRS-1 (pp185), IRS-2 (4PS/pp190), IRS-3 (pp60), IRS-4 (pp160)			420
4.	インスリン受容体及びインスリン受容体基質-1, -2, -3, -4欠損マウスの表現型			420
4.1	IRS-1欠損マウス, IRS-2欠損マウス			421
4.2	IRS-3欠損マウス			423
4.3	IRS-4欠損マウス			424
4.4	まとめ			424
5.	IRS-2欠損マウスでのDNAチップを用いた遺伝子発現の検討			424
5.1	SREBP-1遺伝子			424
5.2	SREBP蛋白質			425
5.3	IRS-2欠損マウスでのSREBP-1遺伝子の発現上昇機序			426
5.4	脂肪細胞でのSREBP-1の発現の検討			429
5.5	まとめ			429
第9節	モデル動物の利用と評価	—肥満—	〈荒木一司／藤原俊彦〉	432
	序			432
1.	遺伝的モデル動物			432
1.1	Zucker Fatty rat など (<i>fa</i> 遺伝子を原因とする肥満モデル)			432
1.2	Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat (OLETF rat)			433
1.3	<i>ob/ob</i> マウス, <i>db/db</i> マウス			434
1.4	KK マウス			434
1.5	<i>A^y</i> マウス			435
1.6	遺伝子組み換え動物 (トランスジェニックマウス, ノックアウトマウス)			435
2.	非遺伝的モデル動物			435

2.1	正常動物	435
2.2	高脂肪食負荷動物	436
2.3	視床下部破壊ラット	436
2.4	その他(げっ歯類以外)	436
3.	薬効評価	437
3.1	評価項目	437
3.2	投与方法	438
3.3	単回投与時の薬効評価	438
	(1) 絶食動物に対する評価	438
	(2) 無処置動物に対する評価	438
3.4	長期投与時の薬効評価	438
	おわりに	439
第10節	モデル動物の利用と評価 -免疫異常-	(井上智彰) 441
1.	はじめに	441
2.	免疫不全モデル動物	441
	ヒト細胞の宿主としての免疫不全マウス	441
	(1) 免疫不全マウスの選択	441
	(2) ヒトリンパ系, 造血系の移入	441
	(3) ヒト免疫異常病態細胞の移入	442
3.	アレルギーモデル動物	443
4.	自己免疫疾患モデル動物	444
4.1	関節炎モデル	444
4.2	多発性硬化症(Multiple sclerosis, MS)モデル	444
4.3	全身性紅斑性狼瘡(Systemic lupus erythematosus, SLE)モデル	445
5.	おわりに	445
第11節	モデル動物の利用と評価 -癌-(Human Xenograft Model)	(藤田史子/藤田昌英) 449
	はじめに	449
1.	ヌードマウス移植ヒト癌に対する各種抗癌剤の感受性スペクトル	451
2.	新規抗癌剤の開発におけるヌードマウス移植ヒト癌パネルの有用性	453
3.	ヌードマウス移植ヒト癌パネルの新規薬剤に対する	
	前臨床評価系としての予言性	456
3.1	実験化学療法とドナー患者での治療との直接対比	456
3.2	各薬剤の臨床第Ⅱ相試験における癌種別の有効率と相対する	
	ヌードマウス移植ヒト癌に対する奏効率との相関性	456

4. ノドマウス移植ヒト癌パネルの実験的 Phase III Study への応用	456
5. ノドマウス移植ヒト癌における生物学的特性	459
おわりに	461
第 12 節 モデル動物の利用と評価 -肝障害- ……〈伊藤晃成/堀江利治/鈴木洋史/杉山雄一〉	464
1. はじめに	464
2. 薬剤性肝障害	464
3. アセトアミノフェン	464
4. 四塩化炭素	465
5. クッパー細胞	466
6. 胆汁排泄過程の欠損モデル	468
7. mdr2 ノックアウトマウスの確立とその利用	470
8. 最後に	471
第 13 節 モデル動物の利用と評価 -腎障害- ……〈玄番宗一〉	473
1. 腎臓の働き	473
2. 腎臓疾患と症状	474
2.1 浮腫	474
2.2 蛋白尿	474
2.3 高血圧症	474
2.4 貧血	474
2.5 骨病変	475
2.6 尿毒症	475
2.7 電解質異常・酸塩基平衡障害	475
2.8 高脂血症	475
2.9 高尿酸血症	475
2.10 掻痒症	475
2.11 血小板の活性化	475
3. 腎疾患モデル	476
3.1 糸球体腎炎	476
(1) メサングウム増殖性糸球体腎炎	476
(2) 膜性糸球体腎炎(膜性腎症)	477
(3) 巣状糸球体硬化症(Focal glomerular sclerosis)	477
3.2 尿細管間質性腎炎	478
(1) 抗尿管基底膜抗体による間質性腎炎モデル	478
(2) 薬物性間質性腎炎	478

3.3	急性腎不全	478
(1)	虚血性急性腎不全	478
(2)	グリセロール急性腎不全	479
(3)	重金属誘発性急性腎不全	479
(4)	薬物性急性腎不全	479
3.4	慢性腎不全	479
(1)	部分腎臓摘出ラット	480
(2)	アデニン誘発慢性腎不全	480
3.5	糖尿病性腎症	480
3.6	ループス腎炎モデル	480
4.	薬物による腎毒性	481
5.	腎臓における安全性評価法	483
第14節	薬物代謝予測	〈池田敏彦〉 486
1.	はじめに	486
2.	代謝感受性のスクリーニング	487
3.	P450 基質・阻害剤のスクリーニング	489
4.	代謝の定性的予測	490
4.1	有機化学的に酸化を受けやすい部位は代謝(酸化あるいは水酸化)される	491
(1)	アルキル基は ω 位あるいは $\omega-1$ 位が水酸化される。 ω 水酸化体はアルデヒドを経てカルボン酸になる。 $\omega-1$ 位の水酸基はカルボニル基に変化する。	492
(2)	長鎖アルキル基は長鎖カルボン酸となり、 β 酸化によって鎖長短縮を受ける。	493
4.2	電子密度の高い部位が水酸化されやすい	494
4.3	エステルおよびアミドは加水分解される	497
4.4	還元できる官能基は還元される	497
4.5	他の薬物代謝に関する一般則	498
(1)	一級アミンはアルデヒドを経てカルボン酸にまで酸化されるか アセチル抱合される。	498
(2)	フェノールはカテコールになり、カテコールはモノメチル化される。	499
(3)	スルフヒドリル基(SH基)は酸化されてジスルフィド(S-S基)になる。 一部グルタチオンとS-S結合による抱合を受けるかS-メチル化される。 S-メチル化体はスルホキシドおよびスルホンになる。	500
(4)	窒素を含む複素環化合物はN原子に隣接した部位に酸化を受ける。	500
5.	おわりに	501

第15節 QT延長 — <i>in vitro</i> システムの応用	〈重信弘毅〉	504
はじめに		504
1. QT延長の基礎		504
1.1 活動電位と心電図		504
1.2 活動電位のイオン機構		505
1.3 活動電位持続時間		506
1.4 QT延長または活動電位持続時間延長と不整脈		507
1.5 活動電位持続時間の測定		507
1.6 活動電位持続時間に影響を及ぼす薬物		508
2. QT延長を起こす薬物と活動電位持続時間		509
2.1 テルフェナジン		509
2.2 シサプリド		509
2.3 その他の薬物		510
2.4 先天性QT延長症候群(LQTS; long QT syndrome)		510
3. QT延長の指標としての活動電位持続時間測定の実際		510
3.1 <i>In vitro</i> でのAPD延長と臨床上のQT延長との相関性		510
3.2 標本の選択		511
おわりに		512
第16節 テレメトリーシステム	〈鬼頭 剛〉	513
1. はじめに		513
2. テレメトリーシステムとは		513
2.1 歴史およびシステムについて		513
2.2 システム構築の留意点		514
2.3 テレメトリーシステムの長所と短所		515
3. 生体リズム		515
3.1 時間薬理学		515
3.2 時間毒性学		515
4. テレメトリーシステムの測定方法		516
4.1 テレメトリー測定のパリテーション		517
(1) 血圧(収縮期圧, 拡張期圧)		517
(2) 心電図および心拍数		517
(3) 呼吸数		517
4.2 麻酔下と無麻酔下の成績		519
4.3 拘束下と無拘束下の成績		519
4.4 他の測定方法		520
(1) 眼内圧測定		520

(2) 子宮内圧の測定	521
(3) 左心室内圧, 肺動脈圧測定	521
(4) 胃腸管運動測定	521
(5) 脳波測定	522
5. テレメトリーシステムの応用(I)	522
5.1 薬効評価系	522
5.2 病態モデルにおける測定	523
5.3 安全性薬理試験	524
6. テレメトリーシステムの応用(II)機器の組み合わせ	524
6.1 持続注入装置	524
6.2 自動採血装置	525
7. テレメトリーシステムの将来の展望	525
7.1 送信機の性能アップと小型・軽量化	525
7.2 GLP 適合機器の可能性	525
7.3 新規テレメトリーシステム	526
第III章 データベースの利用	
第1節 構造活性相関による毒性予測	〈田辺和俊〉 531
1. はじめに	531
2. 毒性データベース	532
3. 構造活性相関による毒性予測	532
4. 毒性予測システム	533
4.1 TOPKAT	533
4.2 CASE	534
4.3 REPAD	534
4.4 COMPACT	534
4.5 FALS	534
4.6 CAESAR	534
5. 各システムの比較評価	535
6. 今後の課題	535
6.1 信頼性の高い毒性データの増加	536
6.2 生体内における毒性発現機構の解明	536
6.3 新規の解析技術の開発	536
第2節 非臨床試験とバイオインフォマティクス	〈土居洋文〉 538
1. インターネットによる検索	538

1. 1	Cancer genome anatomy project (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ncicgap/)	539
1. 2	Electronic PCR (http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/genome/sts/ePCR.cgi)	542
1. 3	Gene expression omnibus (http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/geo/)	542
1. 4	Human genome resources (http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/genome/guide/)	543
1. 5	Human/mouse homology map (http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/Homology/)	543
1. 6	LocusLink (http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/LocusLink/) および OMIM	545
2.	非臨床試験とバイオデータベース	547
3.	バイオインフォマティクスに期待されるもの	548

第IV章 GLP

第1節	各国GLPとQA業務	〈野村 章〉	553
1.	沿革		553
2.	GLPの効用		554
3.	各種責任者のGLP上の役割分担と責任について		555
3. 1	運営管理者の役割分担と責任		555
3. 2	試験責任者の役割分担と責任		555
3. 3	信頼性保証部門の役割分担と責任		556
	(1) ISO 9000, ISO 14000とQAU		556
	(2) ISO 9000内部品質監査員の養成		556
	(3) ISO 14000		557
3. 4	資料保存施設管理責任者の役割分担と責任		558
3. 5	共通の役割分担と責任		558
3. 6	各責任者の相互連携		559
	(1) SD・運営管理者		559
	(2) 運営管理者・QAU		559
	(3) QAU・SD		559
	(4) 資料保存施設管理責任者・QAU		559
	(5) 運営管理者・資料保存施設管理責任者		559
4.	行政査察への対応		559
5.	異常事態・問題点への対応		560
5. 1	問題解決の基本原則		560
5. 2	質問と解説		560
6.	GLP試験実施の実際		561
	施設の構築と維持		561
7.	ISO 10006とGLP		561
8.	GLP施設の開設から閉鎖まで		561
9.	QAU業務		562

10. おわりに	563
第2節 試験計画書・最終報告書 (馬屋原宏)	564
1. 試験計画書	564
1.1 試験計画書とは何か	564
1.2 試験計画書の必要性	564
1.3 試験計画書の作成と承認	564
(1) 試験計画書の作成者	564
(2) 試験計画書の承認者	565
1.4 GLPによる試験計画書の記載事項	565
1.5 試験計画書の実務的記載事項	565
(1) 表紙への記載事項(例)	566
(2) 第2頁への記載事項(例)	566
(3) 第3頁以降の記載事項(例)	566
1.6 試験計画書作成上の注意点	568
(1) 省令 GLP中のその他の試験計画書関連項目	568
(2) 試験計画書の作成時期	569
(3) 試験開始日の定義	569
(4) 試験計画書の「後日記載」について	569
1.7 試験計画書の変更	570
2. 最終報告書	570
2.1 最終報告書とは何か	570
科学論文と毒性試験最終報告書の違い	571
2.2 GLPによる最終報告書の記載事項	571
2.3 最終報告書の記載事項に関する厚生省と欧米の相違点	572
2.4 GLPにおけるその他の最終報告書関連の記載	573
2.5 厚生省 GLP 査察と医薬品機構 GLP 調査	574
2.6 厚生省信頼性基準と信頼性基準適合性調査	574
2.7 最終報告書の作成手順	575
2.8 最終報告書作成システムの構築	576
(1) オリジナルの最終報告書は和文がよいか英文がよいか	576
(2) 和文報告書と英文報告書の関係	576
(3) 最終報告書の作成者と作成分担者の関係	576
(4) 最終報告書の構成と分担部門報告書の扱い	577
(5) 試験の一部を外部委託した場合の最終報告書の構成	577
(6) 試験を委託する場合の注意	577
(7) 試験を海外受託機関に委託した場合の利点と欠点	577

(8) 最終報告書の品質管理(QC)と品質保証(QA)のシステム	578
(9) 最終報告書の校閲システム	578
(10) 最終報告書の保管と改訂のシステム	579
2.9 おわりに	579
第3節 非GLP試験における信頼性調査	〈橋爪武司〉 580
1. 適合性書面調査	580
2. 適合性書面調査への準備・対応	580
2.1 調査対象	581
2.2 申請の手続き	581
(1) 承認調査申請書	582
(2) 調査手数料	582
2.3 書面調査の実施	582
(1) 搬入資料詳細目録及び搬入しない資料目録	582
(2) 関連する様式	582
3. 試験成績の信頼性	582
3.1 試験実施の構成要素の整備	582
3.2 データ及び文書類の管理	582
3.3 信頼性保証システムの構築	583
4. 非GLP試験の調査ポイント	583
4.1 データ調査のポイント	583
4.2 新医薬品申請資料の信頼性調査の内容	583
4.3 信頼性の基準の遵守	584
4.4 非GLP試験の調査項目	584
5. 信頼性書面調査の事例	584
5.1 品質試験の信頼性調査	584
(1) ロ：物理化学的性質並びに規格及び試験方法に関する主な指摘事項	584
(2) ハ：安定性に関する主な指摘事項	584
5.2 動物試験の信頼性調査	585
(1) ホ：薬理試験の調査事例	586
(2) ヘ：吸収，分布，代謝，排泄	587
6. 新医薬品適合性書面調査に向けた今後の対応	587
6.1 当面の課題	587
6.2 今後の課題対応	588
おわりに	588