

薬生薬審発 0330 第 1 号
令和 2 年 3 月 30 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長
（公 印 省 略）

核酸医薬品の非臨床安全性評価に関するガイドラインについて

今般、核酸医薬品の非臨床安全性評価にあたっての留意点等を示したガイドラインについて、別添のとおり取りまとめましたので、貴管下関係事業者に対して周知方お願いいたします。

なお、本ガイドラインは、現時点における科学的知見に基づく基本的考え方をまとめたものであり、学問上の進歩等を反映した合理的根拠に基づいたものであれば、必ずしもここに示した方法を固守するよう求めるものではないことを申し添えます。

核酸医薬品の非臨床安全性評価に関するガイドライン

目次

1. 緒言
 - 1.1 目的
 - 1.2 背景
 - 1.3 適用範囲

2. 非臨床安全性試験
 - 2.1 評価戦略
 - 2.2 動物種を選択
 - 2.3 反復毒性試験のための試験デザイン
 - 2.4 試験の実施時期
 - 2.5 代謝物／分解物
 - 2.6 不純物
 - 2.7 ドラッグデリバリーシステム（DDS）製剤

3. 各論
 - 3.1 トキシコキネティクス及び薬物動態
 - 3.2 安全性薬理試験
 - 3.3 単回投与毒性試験
 - 3.4 反復投与毒性試験
 - 3.5 遺伝毒性試験
 - 3.6 生殖発生毒性試験
 - 3.7 がん原性試験
 - 3.8 局所刺激性試験
 - 3.9 免疫毒性試験
 - 3.10 光安全性

4. 参考文献

1. 緒言

1.1 目的

本ガイドラインの目的は、オリゴヌクレオチド製剤（以下「核酸医薬品」という。）の非臨床安全性評価において推奨される基本的な枠組みを示すことを主眼としている。

本ガイドラインは、3R（代替法の利用、使用動物数の削減、動物の苦痛の軽減）の原則に従い、ヒトに対する安全情報への付加価値の乏しい試験の実施を避けつつ、試験動物及びその他の資源を適正に活用することで、核酸医薬品の開発を促進し、患者を副作用から守ることを目的としている。

1.2 背景

核酸医薬品は、1970年代後半から継続的に創薬研究が行われ、1990年代後期には最初の核酸医薬品が承認された。その後開発が進み、製造販売承認申請される核酸医薬品の増加に伴い、多くの開発経験が蓄積されてきた。その中で、核酸医薬品の安全性に関する評価については、現在までのところ、特化したガイドラインは国内外で策定されていない。

医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイドラインである「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」¹⁾（以下「ICH S6(R1)」という。）において、「本ガイドラインに示される原則は、...（中略）...オリゴヌクレオチド製剤にも適用されうる。」と述べられているが、核酸医薬品については、バイオテクノロジー応用医薬品では考えにくい細胞内への作用や化学修飾による影響などについても検討する必要がある。したがって、核酸医薬品の非臨床安全性を評価する上では、ICH S6(R1)だけではなく、核酸医薬品に特有の生物学的特性や、化学合成医薬品（以下「化成品」という。）を対象にした他ガイドラインについても考慮する必要がある。

本ガイドラインは、これらの背景を踏まえて、核酸医薬品の非臨床安全性評価における基本的な原則や、各非臨床安全性試験を立案する上での留意点を提示するものである。

1.3 適用範囲

本ガイドラインは、有効成分として直鎖状に結合したリボ核酸ないしはデオキシリボ核酸、あるいは人工修飾核酸を構成成分とし、その塩基配列に依存したDNAやRNAとの特異的な結合（以下「ハイブリダイズ」という。）によって、新規の蛋白質の合成を介することなく生体反応を惹き起こす医薬品に適用される。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA、miRNAなどが含まれる。これらは天然型の核酸分子や化学修飾された核酸分子を用いて、主に化学合成によって製造されるが、これに限るものではない。

本ガイドラインに示される安全性評価の考え方は、アプタマーやデコイ核酸にも適用されうる。

一方、本ガイドラインは、mRNA、ゲノム編集に用いられるRNA、DNA/RNA ワクチン及びCpGオリゴなどには適用されない。

2. 非臨床安全性試験

核酸医薬品の非臨床安全性試験では、当該医薬品の薬理学的特性及び毒性学的特性を明

らかにするために、標的臓器、用量依存性、曝露量との関係、及び回復性等について評価される。また、通常、核酸医薬品の開発に必要な非臨床安全性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）に従って実施しなくてはならない。

開発中の核酸医薬品が、現在治療法のない生命を脅かす疾病又は重篤な疾病を対象とする場合には、個々の事例に応じて、特定の試験について実施時期の延期、簡略化、省略などもありうる。進行がんに適用する場合には、「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」²⁾ (ICH S9) を参照すること。

2.1 評価戦略

核酸医薬品の非臨床安全性評価においては、各製品の特性を十分に把握した上で、核酸医薬品特有の観点から評価戦略を検討する必要がある。すなわち、アプタマーやデコイ核酸などを除く多くの核酸医薬品では、標的とする塩基配列にハイブリダイズすることにより薬理作用（以下「オンターゲット作用」という。）を発現し、オンターゲット作用の延長線上で、過剰な薬理作用による悪影響としてオンターゲット毒性を惹起すると考えられる。このオンターゲット毒性を評価する上では、種特異性及び標的特異性が高いことから、ICH S6 (R1)が参考になると考えられる。

一方、オンターゲット作用以外の意図しない影響（以下「オフターゲット毒性」という。）としては、標的以外の類似した塩基配列にハイブリダイズすることによる毒性（以下「ハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット毒性」という。）や、ハイブリダイズを介さずに核酸医薬品の構造及び物理的・化学的性質によって惹起される毒性（以下「ハイブリダイゼーションに起因しないオフターゲット毒性」という。）が考えられる。ハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット毒性については、ヒトと動物ではゲノム配列が異なることから、ヒトでの安全性を動物試験で追究するのではなく、ヒトのゲノム DNA や RNA 情報を用いた *in silico* 解析、あるいはヒト細胞を用いた *in vitro* 遺伝子発現解析などを用いて評価することが推奨される。また、ハイブリダイゼーションに起因しないオフターゲット毒性については、核酸医薬品の物性（化学修飾など）によって惹起されることから、化成品の非臨床安全性評価が参考になると考えられる。さらに、核酸医薬品の構造及び物理的・化学的性質に起因する共通の作用（クラスエフェクト）も報告されている。このような情報は、開発する核酸医薬品の非臨床安全性評価の参考になりうる。

2.2 動物種の選択

核酸医薬品の非臨床安全性試験では、他の医薬品と同様に、2種の動物を用いて評価すべきと考えられる。

オフターゲット毒性を評価するためには、化成品と同様にげっ歯類と非げっ歯類を用いるべきである。2種の動物のうち、2種もしくは1種が薬理作用を発現する動物種であればオンターゲット毒性の評価も併せて可能と考えられる。もし、オンターゲット毒性を評価しうる適切な動物種が得られない場合には、いずれかの1種でオンターゲット作用を示す相同核酸（以下「サロゲート」という。）を用いた試験を考慮すべきである。

2.3 反復毒性試験のための試験デザイン

2.3.1 用量設定

1) 高用量の設定

用量設定においては、核酸医薬品のオンターゲット毒性及びオフターゲット毒性を考慮して設定する必要がある。オンターゲット毒性については、ICH S6 (R1)を参考に、PK-PD アプローチを利用して、非臨床試験に用いる動物種において意図する薬理作用が最大となる用量を高用量とすることを検討する。一方、オフターゲット毒性については、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」³⁾ (以下「ICH M3 (R2)」という。)を参考に、①最大耐量 (MTD)、②曝露の飽和が起こる量、③投与可能な最大用量 (MFD)、④臨床曝露量の 50 倍あるいは⑤限界量 (1000 mg/kg) を目処に設定することが考えられる。

以上の意図する薬理作用が最大となる用量、あるいは上記①～⑤のうち、低い用量を選択する根拠がないかぎり、最も高い用量を反復投与毒性試験の高用量群として設定すべきである。

2) 用量段階

用量設定については、用量反応関係がみられるように 3 段階の投与群を設けることが望ましい。なお、サロゲートを評価する際には、独立した試験を実施する必要はなく、サロゲートによる過剰な薬理作用による影響が確認できる 1 群を追加することでよい。

2.3.2 投与経路・投与頻度

予定される臨床適用経路を用い、予測されるヒトの動態プロファイルを考慮して投与頻度を設定することが望ましい。臨床適用経路以外を利用する場合には、その適切性を説明する必要がある。

2.3.3 試験期間

反復投与毒性試験の試験期間は、ICH M3 (R2)³⁾ が参考になる。

2.3.4 回復性

回復性の評価は、「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集 (Q&A)」⁴⁾が参考になる。

2.4 試験の実施時期

核酸医薬品の非臨床安全性試験の実施時期は、ICH M3 (R2)³⁾が参考になる。

2.5 代謝物／分解物

ヌクレアーゼによって分解された天然型の核酸成分には、安全性上の特段の懸念はないと考えられる。一方、化学修飾部分を含む代謝物/分解物は、従来の化成品と同様に、ICH M3 (R2)³⁾に準じて非臨床安全性を評価する必要がある。

2.6 不純物

核酸医薬品に含まれる不純物については、「核酸医薬品の品質の担保と評価において考慮すべき事項」⁵⁾を参考にオリゴヌクレオチド類縁物質、有機低分子不純物、残留溶媒及び元

素不純物などに分類することができる。核酸医薬品の製造工程では可能な限り不純物を低減した上で、品質及び非臨床試験の試験成績や公表データなどの情報をもとにヒトへの安全性を評価する必要がある。

2.6.1 オリゴヌクレオチド類縁物質

オリゴヌクレオチド類縁物質は、類似した物理化学的性質を示し、類縁物質を個々に分離できないことから、多くの場合、「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」⁶⁾ (以下「ICH Q3A」という。)に基づいて安全性確認をすることは困難である。したがって、核酸医薬品に含まれるオリゴヌクレオチド類縁物質の安全性は、原薬あるいは製剤を用いた非臨床安全性試験の試験成績 (不純物プロファイル、毒性プロファイルなど) を踏まえて評価する。

なお、ハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット遺伝子に関する *in silico* 解析において、ミスマッチ配列等を含めた検討がなされている場合には、主要なオリゴヌクレオチド類縁物質のハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット遺伝子についても検討がなされたものと考えられる。また、各オリゴヌクレオチド類縁物質は有効成分と比較して十分に低値であることを前提にすれば、オリゴヌクレオチド類縁物質ごとにハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット毒性を評価する意義は低い。

2.6.2 その他

原薬あるいは製剤の不純物プロファイルを踏まえ、有機低分子不純物は ICH Q3A、「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」⁷⁾ (ICH Q3B) 及び「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理ガイドライン」⁸⁾ (ICH M7)、残留溶媒は「医薬品の残留溶媒ガイドライン」⁹⁾ (ICH Q3C)、元素不純物は「医薬品の元素不純物ガイドライン」¹⁰⁾ (ICH Q3D) を参考に安全性を評価する。

2.7 ドラッグデリバリーシステム (DDS) 製剤

コンジュゲート製剤やリポソーム製剤などの DDS 製剤については、製剤としての安全性評価が重要である。構成成分 (例えば、タンパク、脂質、糖など) である担体の安全性については、得られている情報を活用した上で、懸念の程度に応じて適切な毒性試験で評価する。

3. 各論

3.1 トキシコキネティクス及び薬物動態

核酸医薬品の毒性試験における全身曝露の評価は、「トキシコキネティクス (毒性試験における全体的曝露の評価) に関するガイダンス」¹¹⁾ (ICH S3A) に準じて実施すべきである。

3.2 安全性薬理試験

主要な生理的機能 (中枢神経系、心血管系及び呼吸器系) に対する望ましくない薬力学的作用については、「安全性薬理試験ガイドライン」¹²⁾ (ICH S7A) を参考に評価すべきであるが、必ずしも独立した安全性薬理試験の実施は必要ない。なお、核酸医薬品が、hERG チャンネル等のイオンチャンネルへ作用する可能性は考えにくいことから、hERG 試験等の *in*

in vitro 評価を実施する意義は低い。ただし、*in vivo* での心血管系評価等の知見をさらに追究する目的であれば *in vitro* での評価を検討することも考えられる。

3.3 単回投与毒性試験

用量漸増試験、短期間用量設定試験、薬理試験及び反復投与毒性試験などから急性毒性の情報が得られる場合には、独立した単回投与毒性試験の実施は推奨されない。

3.4 反復投与毒性試験

本試験は、反復投与による特定臓器への核酸医薬品の集積や、毒性プロファイルの推移を評価するために実施される。推奨される試験期間や試験の実施時期については、ICH M3 (R2)⁴⁾を参照すること。

3.5 遺伝毒性試験

天然型核酸のみから構成される核酸医薬品の遺伝毒性試験は不要である。

一方、化学修飾された核酸医薬品の評価は、「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス」¹³⁾ (ICH S2 (R1)) を参照すること。

3.6 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は、臨床での適用及び予想される対象疾患により実施の必要性が検討され、原則として「医薬品の生殖発生毒性試験評価」¹⁴⁾ (ICH S5 (R3)) に従って検討されるべきである。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、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では、通常げっ歯類が用いられる。一方、胚・胎児発生に関する試験では、通常げっ歯類及びウサギが利用される。これらの動物種が臨床候補品に対して薬理作用を示さない場合には、生殖発生毒性試験における動物種の適切性を考慮すると、ヒト以外の霊長類などを用いた臨床候補品の評価に固執せず、胚・胎児発生に関する試験に汎用される動物種 (げっ歯類やウサギ) を優先して、サロゲートを用いてオンターゲット毒性を評価することも可能である¹⁴⁾。各試験の実施時期については、ICH M3 (R2)⁴⁾が参考になる。

受胎能や胎児への有害作用を示唆する十分な科学的根拠 (例えば、作用機序、遺伝子改変動物の表現型、クラスエフェクト) から、リスクコミュニケーションに必要な生殖発生に関する十分な情報が得られる場合には、必ずしも非臨床試験は必要でない。

3.7 がん原性試験

がん原性試験の要否及び実施については、「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」¹⁵⁾ (ICH S1A)、「医薬品のがん原性を検出するための試験に関するガイダンス」¹⁶⁾ (ICH S1B) 及び「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」¹⁷⁾ (ICH S1C (R2)) が参考になる。作用機序からがん原性の懸念 (免疫抑制による影響など) がある場合や、遺伝毒性試験や反復投与毒性試験、あるいはハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット毒性評価により、がん原性の懸念が裏付けられる場合、当該懸念を

非臨床安全性試験で否定することは困難であることから、必ずしもがん原性試験を実施するのではなく、むしろ臨床でのリスクとベネフィットを考慮した上で適切なリスクコミュニケーションに努めるべきである。

3.8 局所刺激性試験

反復投与毒性試験の投与部位などから評価することが可能である場合には、独立した局所刺激性試験の実施は必要ない。

3.9 免疫毒性試験

反復投与毒性試験などから評価することが可能である場合には、独立した免疫毒性試験の実施は推奨されない。実施が必要とされる場合は、「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」¹⁸⁾ (ICH S8) を参照すること。

3.10 光安全性

化学修飾された核酸については、光安全性に特段の懸念がある場合には、「医薬品の光安全性評価ガイドライン」¹⁹⁾ (ICH S10) を参考に光安全性を評価する必要がある。

4. 参考文献

- 1) 「「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について」(平成 24 年 3 月 23 日付け薬食審査発 0323 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 2) 「抗悪性腫瘍薬の非臨床に関するガイドラインについて」(平成 22 年 6 月 4 日付け薬食審査発 0604 第 1 号厚生労働省医薬食品局管理課長通知)
- 3) 「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について」(平成 22 年 2 月 19 日付け薬食審査発 0219 第 4 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 4) 「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集 (Q&A) について」(平成 24 年 8 月 16 日付け厚生労働省医薬食品局審査管理課事務連絡)
- 5) 「核酸医薬品の品質の担保と評価において考慮すべき事項について」(平成 30 年 9 月 27 日付け薬生薬審発 0927 第 3 号厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長通知)
- 6) 「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改定について」(平成 14 年 12 月 16 日付け医薬審発第 1216001 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知)
- 7) 「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について」(平成 15 年 6 月 24 日付け医薬審発第 0624001 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知)
- 8) 「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理ガイドラインについて」(平成 27 年 11 月 10 日付け薬生審査発 1110 第 3 号厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課長通知)

- 9) 「医薬品の残留溶媒ガイドラインについて」(平成 10 年 3 月 30 日付け医薬審第 307 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知)
- 10) ICH Q3D(R1) Guideline: Guideline for Elemental Impurities; March 2019
- 11) 「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管理課長通知)
- 12) 「安全性薬理試験ガイドラインについて」(平成 13 年 6 月 21 日付け医薬審発第 902 号厚生労働省医薬局審査管理課長通知)
- 13) 「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて」(平成 24 年 9 月 20 日付け薬食審査発 0920 第 2 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 14) ICH S5(R3) Guideline: Detection of Toxicity to Reproduction for Human Pharmaceuticals; February 2020
- 15) 「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンスについて」(平成 9 年 4 月 14 日付け薬審第 315 号厚生省薬務局審査課長通知)
- 16) 「「医薬品のがん原性を検出するための試験に関するガイダンス」について」(平成 10 年 7 月 9 日付け医薬審第 548 号厚生省医薬安全局審査管理課長通知)
- 17) 「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」(平成 20 年 11 月 27 日付け薬食審査発第 1127001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 18) 「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて」(平成 18 年 4 月 18 日付け薬食審査第 0418001 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 19) 「医薬品の光安全性評価ガイドラインについて」(平成 26 年 5 月 21 日付け薬食審査発 0521 第 1 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)