別添

「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）

目次

1. 毒性試験のための限界量

	質問	回答
1	「臨床における暴露量に対して 50 倍の暴露量」はどのように算出するのか。推定臨床治療暴露量又は第 I 相試験での最大暴露量のいずれと比較するのか、明確にしていただきたい。	通常、暴露比は、最高用量を投与された動物での曲線下面積（AUC : Area Under the Curve）の群平均値と、ヒトにおける推定治療用量でのAUCの群平均値を用いて算出すべきである。ただし、特別な場合には、その薬物が属するクラスに関する知見に基づいて、最高血漿中濃度（C_{max} : Maximum Plasma Concentration）に基づく暴露限界の設定が適切なこともあろう（例えば、薬物が痙攣を生じさせる可能性がある場合）。 この 50 倍アプローチを用いる場合、毒性試験の高用量は、第Ⅱ相試験及び第Ⅲ相試験で設定しようとする最高用量における推定臨床暴露量に対して 50 倍高い暴露量となるように選択すべきである。なお、米国における第Ⅲ相試験実施のための例外（ICH M3(R2) 第 1.5 節）、及び本 Q&A の質問 2 及び 3 に対する回答も参照されたい。第 I 相試験については、通常、治療用量での暴露を超えることから、その場合には暴露比が 50 倍を下回ってもよい。
2	暴露量の 50 倍アプローチを用いてもげっ歯類及び非げっ歯類の毒性試験で毒性所見がみられない場合、臨床用量を合意された上限（動物試験の最高用量で得られた暴露量の 1/50）まで増量してもヒトにおいて副作用がみられないのであれば、臨床用量をさらに増量することは可能か。	臨床用量が動物試験における最大暴露量の 1/50 に達するまで増量されても、ボランティア又は患者において投与に関連した副作用がみられないのであれば、短期の臨床試験（例えば 14 日間）については、臨床用量を動物試験の最大暴露量の 1/10 に達する用量又はヒトで副作用を起こす用

		量のいずれか低い方の用量まで、慎重に増量することができよう。これは、早期探索的臨床試験のアプローチ 4（臨床での最大耐量（MTD：Maximum Tolerated Dose）の評価を目的としない）において、ヒト初回投与試験実施のための同様の毒性試験に基づいて、無毒性量（NOAEL：No Observed Adverse Effect Level）の暴露量の 1/10 までの用量を最長 14 日間まで投与可能としていることとも一致している。
3	暴露量の 50 倍アプローチを用いて毒性試験の投与量を選択し、少なくとも 1 つの毒性試験で毒性所見はみられたものの、その所見が用量制限毒性ではない場合、臨床における暴露量の上限はどのようになるか。	臨床試験の投与量は、毒性試験で認められた毒性所見の NOAEL に基づいて増量することになろう。このような場合、50 倍の暴露比を必ずしも確保する必要はなく、臨床用量は、通常のリスク評価手法（例えば、その毒性所見の可逆性や臨床試験でのモニター可能性、適応症の重篤度、臨床試験での副作用など）によって設定すべきである。なお、米国における第Ⅲ相試験については例外規定があるので留意されたい（ICH M3(R2) 第 1.5 節）。
4	限界量として 50 倍の暴露量が適用されるのは低分子化合物のみか。	限界量として 50 倍の暴露量は低分子化合物のみに適用される。ICH M3(R2) 「1.3 ガイダンスの適用範囲」に記載したとおり、バイオテクノロジー応用医薬品については、本ガイダンスは、臨床開発に関連する非臨床試験の実施時期に関してのみの指針となる。バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床試験での高用量選択は低分子化合物に対する考え方とは異なる（ICH S6(R1) 参照）。

5	投与可能な最大用量（MFD：Maximum Feasible Dose）を検討する際に、試験実施者はどのような検討に基づいて適切な MFD を設定すべきか。	MFD とは、毒性試験において、投与用量を最大化させるというより、むしろ暴露量を最大化させる用量である。しかしながら、投与可能な調製検体の容量は、試験動物種の解剖学的及び生理学的特徴並びに調製検体の特性によって規定され、そのことが MFD に大きく影響する。また、調製検体の化学的、物理的な安定性も、毒性試験に使用する場合の重要な判断基準となり、MFD 決定のための媒体の選択を制約することがある。溶解性に限界がある場合、静脈内投与などのいくつかの投与経路では用量が制限されることがあるが、吸入や経口投与のような投与経路の場合には、通常、溶解性の限界は MFD の設定根拠として十分ではない。まず、動物に投与する前に、複数の媒体を用いて被験物質を調製し（例えば水系の媒体、非水系の媒体やさまざまな粘性の媒体）、それらの特徴を検討すべきであろう。次に、そのうち最も見込みのありそうな調製検体（通常 3 種類）を動物に投与し、どの調製検体で最大の暴露が得られるか検討すべきである。使用される媒体は、その使用条件下において問題となる毒性を引き起こさないことが、科学論文で十分に示されたものか、又は使用経験（試験実施者や規制当局の情報）によって裏づけられたものでなければならない。
6	用量制限毒性がいずれの動物種においても明らかでなく、かつ第Ⅲ相試験前に各々の動物種において 1 つの非臨床毒性試験しか実施されていない場合、どのように対応すべきか（米国における第Ⅲ相試験の実施のための推奨につ	一般毒性試験のための高用量選択の指針は、医薬品開発計画の期間や複雑さに関係なく適用される。米国における第Ⅲ相試験を実施するための推奨（ICH M3(R2) 第 1.5 節参照）に従って、毒性を明らかにするために、

	いて)。	MTD、MFD 又は限界量までの投与量での評価を行うべきである。
7	高用量選択及び臨床暴露量（AUC）の 50 倍の暴露比に関するガイダンスは、経口以外の投与経路（例えば、経皮や吸入）にも適用されるか。	全身暴露を目的とした薬物（経皮投与を含む）について、50 倍アプローチは適切であると考えられる。一方、局所での効果を目的とした局所投与薬物の局所毒性試験における高用量は、一般に、MFD 又は MTD に基づいて設定すべきであり、その用量では臨床における局所濃度や全身暴露量に達しないこともあろう。このような場合、50 倍の全身暴露比の考え方は適用されない。 全身での作用を目的とした吸入薬の吸入毒性試験における高用量は、臨床での全身暴露量（AUC）の 50 倍以上で、ヒトにおける推定肺沈着量の 10 倍以上となる用量が設定できよう。また、肺で局所的に作用するようにデザインされた吸入薬の高用量は、ヒトにおける推定肺沈着量の 50 倍以上で、臨床用量での暴露量（AUC）の 10 倍以上となる用量が設定できよう。
8	幼若動物を用いた試験において、「50 倍の暴露比」が適用されるか。また、生殖発生毒性試験での最高用量選択の際にも、「50 倍の暴露比」を用いることができるか。	幼若動物を用いる毒性試験で予め毒性が想定されない場合など、他のいくつかの毒性試験においても、最高用量の設定に臨床暴露量との暴露比に基づいた同様の原則が適用できる。生殖発生毒性試験の最高用量の選択に 50 倍の暴露比を適用できるかについては言及していないが、現行の ICH ガイダンスでは、別の要因によって用量が制限される場合があるものの、「高用量群では母動物に何らかのごく軽度の毒性が発現することが望ましい。」と記載されている（ICH S5(R2) 参照)。

9	非臨床試験での最高用量が、第 1.5 節で示されている 1000 mg/kg 若しくは 2000 mg/kg のような限界量又は MFD であって、さらにその用量で毒性が観察されない場合に、臨床開発試験ではどのような暴露限界を適用すべきか。	臨床用量は、限界量又は MFD で最小の暴露を示す動物種における血漿 AUC の 1/2 の暴露量に達する用量まで慎重に増量することができよう。この臨床暴露量においてヒトで副作用が認められないのであれば、リスク／ベネフィットを考慮した上で、さらに慎重な増量を行うこともできよう。

2. 代謝物

	質問	回答
1	「ヒトでみられた代謝物を非臨床試験で特徴づける必要があるのは、その代謝物の臨床での暴露量が、投与薬物に関連する総ての物質の暴露量の 10%を超え、かつ、ヒトにおける暴露量が毒性試験での最大暴露量よりも明らかに高い場合のみである。」における「明らかに高い」とはどのような意味か。	「明らかに高い」という表現は、統計学的に有意に高いことを意味するものではない。トキシコキネティクスの評価においては、通常、AUC（平均）の 2 倍以上の差に意味があると考えられている。したがって、動物での暴露量がヒトでみられた暴露量の少なくとも 50%以上あれば、一般に、代謝物の毒性の特徴づけは十分になされていると考えられる。場合によっては、例えば、ある代謝物がヒトの総暴露量の大部分を占めるような場合には、動物におけるその代謝物の暴露量はヒトでの暴露量を超えることが適切である（質問 12 を参照）。この場合には、当該代謝物がヒトでの暴露の多くを占めることから、動物においてヒトよりも高い暴露量を得ることが重要である。
2	10%の定義及び算出方法について説明していただきたい。	10%の閾値とは、ヒトの代謝物が、親薬物と代謝物について測定された総暴露量の 10%を超えることを指し、通常、群平均 AUC（例えば、0 時間から無限大までの AUC）に基づいて算出する。
3	代謝物の毒性の特徴づけが必要である場合、どのような *in vivo* の非臨床試験において代謝物の十分な全身暴露が達成されることが重要か。	一般毒性試験、がん原性試験（がん原性評価が必要な場合、ただし、がん原性評価が必要でない場合には *in vivo* の小核試験）及び胚／胎児発生毒性試験において、いずれも 1 種の動物種で、代謝物に対する十分な暴

		露が得られることが重要である。
4	代謝物について *in vitro* の遺伝毒性試験は推奨されるか。 代謝物の遺伝毒性の評価が必要な場合、定量的構造活性相関（QSAR：Quantitative Structure Activity Relationship）の評価で十分か、あるいは、遺伝毒性試験を実施すべきか。	この質問は ICH M3(R2) の適用範囲外である。
5	臨床的には放射性標識体を用いた定常状態での暴露評価は困難であり、放射性標識体を単回投与したヒトの吸収・分布・代謝・排泄（ADME：Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion）試験から得られた代謝物の暴露データを用いて、動物の毒性試験で観察された暴露量との比較を行うことでよいか。	ヒトでの単回投与データに基づいて、代謝物が投与薬物に関連する総ての物質の暴露量の 10%を超えるか否かの評価を行うことは可能である。一般に、非標識体を用いた方法では、特に多くの代謝物を有する薬物について、全ての代謝物の AUC を求めることはできない。このような場合、放射性標識体を用いたヒト単回投与試験から得られた投与薬物に関連する暴露の全体量についての評価は適切であり、代謝物が 10%を超えるかどうかを計算するための十分な根拠となる（放射性同位体で標識しない方法によって、代謝物が親薬物又は投与薬物に関連するいずれかの物質の 10%未満であるならば、その代謝物が投与薬物に関連する物質の総量の 10%を超えることはない。例えば、P+M1+M2+…Mn = 総量のとき、M1 が P の 10%未満であるか、あるいは他の M の 10%未満であれば、M1 は総量の 10%未満となる。この場合、M1 についてのさらなる安全性評価は必要とされない）。 開発の過程では、通常、ヒトにおける反復投与試験からも暴露データが得られ、この暴露データから代謝物の定常状態における暴露が 10%を超

		えることが示唆されるのであれば、その代謝物について追加の非臨床評価を考慮すべきである。 一般に、代謝物の毒性を特徴づける必要があるかの判断は、非臨床試験と臨床での単回投与試験から得られた暴露データを比較することで可能となる。反復投与後のみに、投与薬物に関連する総ての物質の暴露量の10%を超えることが示された代謝物については、定常状態における暴露レベル（臨床及び非臨床）を用いて暴露比の適切性を評価すべきである。
6	ガイダンスでは、「ヒトでみられた代謝物を非臨床試験で特徴づける必要があるのは、その代謝物の臨床での暴露量が、投与薬物に関連する総ての物質の暴露量の 10%を超え、かつ、ヒトにおける暴露量が毒性試験での最大暴露量よりも明らかに高い場合のみである。」としている。 ヒトの代謝物の暴露量と毒性試験における当該代謝物の最大暴露量を比較するとき、動物の暴露量は、常に動物試験から得られた最大暴露量とすべきか、あるいは、場合によっては、NOAEL、無作用量（NOEL：No Observed Effect Level）又は MTD での暴露量を用いるほうが適切か。	動物において MTD で観察された標的器官の毒性プロファイルには親薬物と代謝物が関与していることから、懸念となる毒性がヒトで適切にモニターでき、かつ、許容できないリスクを有するものでなければ、ヒトと動物の暴露量の比較は、治療用量におけるヒトの最大暴露量と動物の MTD での暴露量で実施すべきである。一方、MTD における毒性がヒトでモニター可能でなく、又は許容できないリスクを有するのであれば、暴露量の比較は、懸念となる毒性についての NOAEL での暴露量で実施すべきである。
7	非臨床の代謝物に関するデータは、開発段階のどの時点で入手すればよいか。	ICH M3(R2) 第 3 節 第 1 段落に記載しているように，動物及びヒトの代謝に関する *in vitro* 試験成績の評価は、ヒト臨床試験の前に行われるべきである。また、試験動物種とヒトでの代謝に関する *in vivo* 試験成績は、多数の被験者への暴露又は長期間の投与を行う前（通常、第 III 相試験前）

		に入手しておくべきである。
8	毒性学的懸念がないと考えられる代謝物について説明していただきたい。「多くのグルタチオン抱合体」という表現の「多くの」とは何を意味するのか。化学的な転移をする可能性のあるアシルグルクロナイドは懸念となる例か。化学的に反応性の高い代謝物についてどのように対処したらよいか。	比較的まれな例外もあるが、多くのグルタチオン抱合体は反応性代謝物との抱合によって生成し、毒物学的に懸念のない排泄型代謝物を形成する。多くのグルクロナイドは、化学的転移を起こす例（例えば、反応性アシルグルクロナイド）を除いて、懸念がない。化学的に高い反応性を持つ代謝物は、毒性学的な懸念があるものの、その半減期は短いことから、通常は血漿中に蓄積しない。一般に、反応性の高い代謝物は不安定であるため、個別に試験することは現実的ではない。しかし、これらの反応性代謝物は薬物の非臨床毒性の全体に関与していると考えられる。
9	非臨床試験で特徴づける必要がある代謝物について、安全性薬理試験を実施すべきか。	通常、安全性薬理に関するエンドポイントを評価する臨床試験は、第 I 相試験において実施されることから、これらのエンドポイントは、代謝物の完全な特徴づけがなされる前に、すでにヒトで評価されていることになる。したがって、代謝物の特徴づけのための非臨床の安全性薬理試験は、通常、必要ではない。しかし、ヒトにおいて親化合物を用いた非臨床試験から予測できなかった安全性薬理学的な徴候がみられた場合には、その機序をより理解するために、ヒトの代謝物について追加の安全性薬理試験の実施が考慮されよう（ICH S7A 及び B 参照）。
10	ICH M3(R2) 第 3 節 第 1 段落の「*in vitro* での生化学的な情報」とは何か。	*in vitro* での生化学的な情報には、標準的な *in vitro* での薬物代謝評価（例えば、CYP 阻害、PXR 活性化アッセイなど）が含まれる。また、肝ミクロソームや肝細胞を用いた試験や、薬物トランスポータを介する薬物相

		互作用の可能性に関する試験も含まれよう。
11	代謝物に関する非臨床試験のデザイン（種、期間、試験のタイプなど）はどのようにすべきか。	一般に、このような詳細な点については、ICH M3(R2) の適用範囲外である。試験デザインは、規制当局と相談しながら、科学的判断に基づき、個々の事例に応じて考慮すべきである。なお、他の質問（例えば、質問3及び9）に対する回答も参照されたい。
12	プロドラッグ（すなわち、薬理活性の大部分が代謝物による場合）にも ICH M3(R2) の代謝物についてのガイダンスは適用されるか。	本ガイダンスは、プロドラッグに特化して言及していない。ヒトと同様に、毒性試験に用いる動物種においてもプロドラッグが活性代謝物に変換されるのであれば、ICH M3(R2) で推奨されている標準的な試験アプローチを使用できる。活性代謝物がその動物種において十分に生成されないのであれば、毒性学的評価の対象となる分子は活性代謝物であることから、代謝物について推奨されている以上の追加試験を実施することが適切であろう。この場合には、活性代謝物の非臨床試験の実施時期は第3節の代謝物の非臨床試験について示されたものではなく、ICH M3(R2) で概説されている通常のタイムラインに従うべきである。

3. 毒性の回復性

	質問	回答
1	どのような場合に回復性の評価が適切と考えられるか。また、完全な回復性を示すことが重要か、あるいは完全に回復性する可能性を示すことで十分か。	ICH M3(R2) 「1.4 一般原則」では、以下のように述べられている。:「非臨床安全性評価の主たる目的は、標的臓器、用量依存性、暴露との関係、及び適切な場合には回復性についての毒性の特徴を明らかにすることである。」 毒性の回復性（すなわち、元の状態又は正常な状態に戻ること）の評価は、非臨床試験で重篤な毒性が認められ、臨床においても有害影響につながる可能性がある場合に実施すべきである。その評価は、回復性試験又は科学的評価に基づいて行うことができる。 回復性の科学的評価には、病変の範囲と重篤度、影響がみられた器官系の再生能、及びその影響を生じる他の薬物の知見を含めることができる。したがって、ある有害影響の回復性の有無を結論づけるために、回復群の設定や回復性試験の実施が常に重要であるというわけではない。また、完全な回復性を示すことは必須ではない。通常、回復傾向（発生頻度又は重篤度の低下）と、最終的には完全に回復するであろうという科学的評価で十分である。完全な回復が予測できない場合には、臨床でのリスク評価の際にその点を考慮すべきである。 一般に、投与期間終了後の休薬期間を設けた毒性試験が必要とされるの

		は、科学的評価においてその毒性の回復性が予測できず、かつ、以下のいずれかのような場合である。 1. 重篤な毒性が、臨床での暴露量に比較的近い暴露量（例えば、臨床暴露量の 10 倍以下）でみられた場合 2. その毒性が、ヒトにおいて病態生理学的に進行した段階にならないと検出されず、かつ、その時点ではすでに臓器機能の明らかな低下が想定される場合（この場合には、10 倍を超える暴露量であっても回復性の評価を考慮すべきである） 一方、以下のいずれかのような場合には、通常、投与期間終了後の休薬期間を設けた毒性試験は必要ない。 3. その毒性が、重篤となる前の初期段階で、ヒトにおいて容易にモニターできる場合 4. その毒性が、ヒトには無関係であることが知られている場合（例えば、げっ歯類のハーダー腺の毒性） 5. その毒性が、臨床的に意味があるとは考えられない高暴露量でのみ観察される場合（例外として、上記の 2 を参照） 6. その毒性が、類薬で誘発される毒性と同様であり、従前の類薬での臨床経験に基づいて、リスク管理が可能と考えられる場合 回復性試験が求められる場合、その試験成績は、非臨床において有害影

		響がみられた試験期間と同等の期間の臨床試験を実施するために必要である。しかし、非臨床で有害影響が観察されない試験期間と同等の期間の臨床試験を実施する場合には、通常、回復性試験は必要ではない。 ある特定の病変の回復性が、短期間（例えば、2 週間又は 1 ヵ月間）の毒性試験において示されており、その病変がより長期の試験で重篤化しないのであれば、一般に、長期毒性試験においてその回復性を繰り返し評価する必要はない。 回復性試験が求められる場合、ある特定の臨床試験をサポートするために、より早期に回復性試験を実施する必要がないのであれば、慢性毒性試験の中での実施が効率的であり、懸念となるすべての毒性について 1 つの試験において評価できる。

4. 配合剤のための毒性試験

	質問	回答
1	後期開発ステージにある 2 つ（又はそれ以上）の成分を含む配合剤について、一方の成分が既に承認されている用量／暴露量よりも高くなる場合に、配合剤の毒性試験の実施は重要か。あるいは、既に得られている非臨床データや低用量での臨床経験から、非臨床評価を行うことで十分か。	これまでに 2 つの成分を併用した臨床経験がある場合は、併用によって毒性学的に大きな懸念を生じないのであれば、一般に、一方の成分の用量／暴露量が増加しても配合剤の毒性試験の実施は推奨されない。この毒性学的懸念の程度は、新たな暴露比、個々の成分の既知の安全性プロファイル、併用投与による臨床経験の程度及びヒトで起こりうる副作用のモニタリングの可能性により決まるであろう。用量／暴露量の増加が毒性学的懸念の原因となる場合には、その懸念を検討するための試験は、通常、配合剤の臨床試験の開始前までに完了しておくべきである。各成分の併用投与による臨床経験がない場合は、ICH M3(R2) 第 17 節の第 4 段落を参照されたい。
2	第 17 節では、「非臨床の胚／胎児発生毒性試験においていずれの成分についてもヒトの発生へのリスクがないことが示されている場合には、個々の成分の特徴から考えて、配合剤とすることでヒトに有害影響を生じる懸念がない限り、配合剤を用いた胚／胎児発生への影響を評価する必要はない。」とされている。この記述は欧州医薬品庁（EMA：European Medicines Agency）ガイダンスと一致するが、米国食品医薬品局（FDA : Food and Drug Administration）ガイダンスとは一致していない。FDA ガイダンスでは、「上市薬や新規成分	ICH ガイダンスの記述は 3 極の合意事項であり、当該トピックについて現時点での各規制当局の推奨事項を反映している。

	について、既に、重篤な胚／胎児発生毒性リスクを有する（例えば、上市薬が FDA 薬剤胎児危険度分類基準の D 又は X に分類されている）ことが知られているのでなければ、配合剤の胚／胎児発生毒性試験を実施すべきである」とされている。ICH ガイダンスが、このような違いがある各地域のガイダンスの上位に位置づけられることを明確にしていただきたい。	
3	現行のガイダンスでは、「臨床での十分な併用投与経験」がある後期開発ステージの配合剤について、毒性学的に大きな懸念がない限り、配合剤としての毒性試験は、一般的に必要ないとされている。「臨床での十分な併用投与経験」とは何を指すのか。特に、配合剤の毒性試験を実施することなく、どのようにして臨床での「十分な」併用投与経験が得られるのか。このガイダンスは併用投与経験がある市販後の製品のみに適用されるようにもみえるが、そのような解釈でよいか。	第 17 節は、市販後の製品のみに適用されるものではない。ICH M3(R2) において、臨床での十分な併用投与経験とは、第Ⅲ相臨床試験あるいは市販後のデータがあることと定義されている。十分な臨床経験は、併用投与が行われる通常の臨床診療の結果として得られる。 後期開発ステージにある 2 つ以上の成分の併用投与は、高血圧、糖尿病、HIV、C 型肝炎及びがんなどに対する標準治療又は併用療法への付加療法として、臨床開発の多くの治療領域で一般的に行なわれている。
4	用量が固定されていない配合剤において、成分の一つが、すでに複数の品目が承認されている薬効クラスに属するのであれば、そのクラスの個々の同種同効薬について配合剤の毒性試験を実施する必要があるか。	一般に、配合剤の毒性試験は、特定の薬剤を意図して配合する場合（同一包装又は単一投与剤型）、あるいはその薬剤の製品情報において他の特定の薬剤との併用が推奨される場合に適用される。ガイダンスでは、この質問に述べられているような状況での、配合剤の毒性試験について言及していない。ある薬物との併用に特別な懸念がある場合には、その薬物を用いた配合剤の毒性試験を実施すべきである。薬物のクラスに関連して懸念となる理由があるならば、その同種同効薬の中の代表的な薬物を用いた配合剤の毒性試験が参考となろう（質問 3 の回答を参照）。この

		場合には、試験に用いた薬剤の選択の根拠を示すべきである。
5	配合剤の毒性試験を実施する場合に、用量、期間及び検査項目をどのように設定すればよいか。	ICH M3(R2) は、主に、医薬品の臨床開発に関連する非臨床試験の実施時期や期間について言及している。臨床試験の実施ために配合剤の毒性試験が必要な場合、投与期間は 90 日間（この期間は製造販売承認も支持する）を最長として臨床試験期間に相当する期間とすべきである。臨床使用期間によっては、製造販売承認のために、より短い期間の毒性試験でもよい。特定の毒性学的懸念を明らかにすることを目的とした配合剤の毒性試験を実施する場合は、個々の薬剤の使用経験に基づいて、その懸念を適切に検討できる投与期間とすべきである。 配合剤の毒性試験では、一般毒性試験で用いられる標準的な検査項目だけではなく、個々の薬剤の薬理学的、毒性学的及び薬物動態（PK：Pharmacokinetics）学的プロファイルに関する知見や利用可能な臨床データから予期される既知の毒性について、その相加及び相乗効果を評価できる検査項目を設けるべきである。実験デザインの詳細（すなわち、動物種の選択、投与用量及び投与頻度の妥当性）については本ガイダンスの適用範囲外であるが、投与用量は、懸念となる原因についての検討が可能で、臨床での暴露量との適切な暴露比を与えるものとすべきである（例えば、早期開発ステージにある 2 つの成分を用いた試験実施時)。
6	複数（例えば、3 つ以上）の成分の併用投与に懸念がある場合、毒性試験において複数の成分の併用をどのように評価すべきか。	3 つ以上の成分を用いる配合剤の毒性試験は、その実施や解釈が複雑となることもあるため、一般に、初期の試験では 2 つを超えない成分の配

		合について評価することがより現実的である。追加試験については、初期の試験の結果次第であり、個々の事例に応じて、また、適切な規制当局との協議を踏まえて、考慮すべきである。
7	副作用を軽減する目的で、他の成分を加えた配合剤を開発する場合、そのような配合効果は臨床又は非臨床の薬理試験によって評価されるであろう。これらの薬理試験は配合剤の毒性試験の代わりとなるか。	配合剤の毒性試験が必要である場合には、抗悪性腫瘍剤を除いて（ICH S9参照）、一般に、配合剤の薬理試験で置き換えることはできない。配合剤の毒性試験の目的は、ヒトに対して予測できないような危険を引き起こす可能性のある毒性を評価することである。これらの毒性のエンドポイントは、通常、薬理試験では十分に評価されない。配合剤の毒性試験を必要としない状況については，ガイダンスの第 17 節で述べられている。
8	第17節では、配合することでヒトでの発生リスクが懸念され、配合剤の胚／胎児発生毒性試験が必要となる場合には、製造販売承認申請前に実施すべきとされている。臨床試験に妊娠可能な女性を組入れる前までに、配合剤の胚／胎児発生毒性試験を実施する必要はないか、明らかにしていただきたい。	ガイダンスに述べられているように、配合剤の胚／胎児発生毒性試験は製造販売承認申請前に実施すべきである。配合剤の胚／胎児発生毒性試験が完了する前に妊娠可能な女性を臨床試験に組み入れる場合には、第11.3節に概略を示したように、インフォームドコンセントを含めて、胚又は胎児への意図しない暴露によるリスクを最小限にするための適切な予防策をとるべきである。
9	ICH M3(R2)「1.3 ガイダンスの適用範囲」では、「開発中の医薬品が、現在治療法のない生命を脅かす疾病又は重篤な疾病（例えば末期がん、抵抗性 HIV 感染症及び先天的酵素欠損症）を適応とする場合、個々の事例に応じて毒性学的評価と臨床開発を進め、最適かつ迅速な医薬品開発が行われることが必要である。」とされている。一方、ICH M3(R2) 「17. 配合剤のための非臨床	一般に、臨床的に意味のある条件下において、特段の懸念となる理由がないのであれば、末期がん、結核及び HIV 治療薬について配合剤の毒性試験は必要ないとの考えは容認できる。また、C 型肝炎治療のための抗ウイルス薬についても、通常、配合剤の毒性試験は必要とされない。さらに、現在のところ効果的な治療法がない重篤な疾病や生命を脅かす疾

	試験」では特に述べられていないが、一般に、特段の懸念となる理由がないのであれば、末期がんや HIV 治療薬について配合剤の毒性試験は必要でないと考えられている。この点を確認したい。また、最近通知された FDA の HCV ガイドラインにあるような HCV 治療薬や、標準的な臨床診療としてカクテル療法が用いられる治療領域においても同様の考えでよいか。	病に対して、薬物の配合が標準的な臨床診療である場合には同様なアプローチが適用できよう。
10	少なくとも成分の 1 つがバイオテクノロジー応用医薬品である配合剤の場合に、「17. 配合剤のための非臨床試験」は同様に適用されるか。あるいは、「1.3 ガイダンスの適用範囲」で示されているように、試験の実施時期に関してのみの適用となるのか。また、後者である場合に、推奨される試験の種類や必要性について、どのガイダンスが適用されるのか。	バイオテクノロジー応用医薬品について、適切な非臨床安全性試験は ICH S6(R1) に従って決定されるべきである。しかし、そのガイダンスでは配合剤の毒性試験に関して言及していない。バイオテクノロジー応用成分とそうでない成分を配合する場合、配合剤の非臨床試験のデザインやその実施可能性は複雑であり、個々の事例に応じて考慮すべきである。そのような試験の根拠については、ICH S6(R1) や ICH M3(R2) の原則に基づき、科学的な妥当性が明確に示されるべきである。
11	配合剤開発における妊娠可能な女性の組入れに関する考察で、「･･･、個々の成分を用いた試験において胚／胎児発生へのリスクが示されている場合には、ヒトの発生に対する有害影響の可能性がすでに同定されていると考えられるので、配合剤を用いた試験は推奨されない。」とされている。「胚／胎児発生へのリスクが示されている」とはどのような場合か。配合剤に関する FDA のガイダンスでは、薬剤胎児危険度分類基準の D 及び X の化合物がこれに相当するとされている。ICH においても同様か。	胚／胎児発生へのリスクを示す所見としては、意味のある暴露比（臨床暴露量の約 10 倍以内）で観察された生殖に関する有害影響や、薬物の薬理作用に直接関連した生殖に関する有害影響などがある。このような場合には、既に患者に対する重大なリスクが同定されていることから、たとえ配合剤を用いた試験で増強作用がみられたとしても、その有害影響を最小化するための患者への注意喚起に変更はないであろう。したがって、個々の成分のうちの 1 つが胚／胎児発生へのリスクを示すのであれば、配合剤の生殖発生毒性試験は推奨されない。この情報は、薬剤胎児

		危険度分類基準に関わらず、リスクコミュニケーションの一部として患者や医師にとって有用なものとなろう。例えば、一方の成分の試験において、臨床暴露量の 10 倍程度で胎児死亡又は奇形が示された場合に、たとえそれが 1 種の動物のみで観察されたとしても、その情報が当該医薬品の添付文書に記載されているのであれば、配合剤の試験は必要ではない。
12	第 17 節では、薬理試験や、薬力学的又は薬物動態学的な薬物相互作用試験について言及されていない。これらの試験の実施の必要性とその時期について示していただきたい。	個々の薬物の薬力学的活性や、CYP450 への影響も含めた薬物動態学的プロファイルに関する知見は、配合される前までに得られているであろう。薬力学的相互作用の可能性については、個々の成分の、又は配合時における非臨床及び臨床経験に基づいて予測されることから、非臨床での薬力学的相互作用に関する試験は必要ではない。薬理学的な情報から、毒性に繋がるような相互作用の可能性が示されるのであれば、配合剤の非臨床毒性試験が必要となろう。 薬物動態学的相互作用に関する懸念については、初回投与量を個々の薬物で適切と想定される用量よりも下げるか、又は臨床で薬物動態学的な薬物相互作用試験を行うことによって対処できよう。

5. 安全性薬理

	質問	回答
1	ICH M3(R2) では、安全性薬理の *in vivo* での評価は、可能な範囲内で、毒性試験へ組み込んで実施することを考慮すべきとしている。これは、一般毒性試験の一部分として実施された安全性薬理の評価が、独立して実施された安全性薬理試験の評価よりも詳細でなくとも容認できるということか。	そうではない。一般毒性試験の一部分として実施された安全性薬理の評価にも、独立して実施された安全性薬理試験と同様の厳密さが求められる。手法が適切に評価されているならば、最新の技術を用いることもできる。

6. 早期探索的臨床試験

	質問	回答
1	早期探索的臨床試験を片性で実施する場合に、必要となる拡張型単回投与毒性試験を両性で実施する必要があるか。	早期探索的臨床試験は本格的な開発を前提として実施するものでない。したがって、片性のみで探索的臨床試験を実施しようとする場合、単回投与毒性試験はその性に限ることができる。しかし、性に特異的でない毒性の同定やその特徴を明らかにする際に、通常は、両性でみられた影響を合わせて評価することから、質問のようなケースでは、投与翌日の検査に供する群あたりの動物数を増やすべきである。片性を用いた拡張型単回投与毒性試験における動物数は、投与翌日の検査では 15 匹/群（げっ歯類）又は 5 匹/群（非げっ歯類）、14 日目の検査では 7 匹/群（げっ歯類）又は 3 匹/群（非げっ歯類）とすべきである。
2a	アプローチ 3、4 及び 5 の違いを明確にしていただきたい。	アプローチ 3 は、単回投与臨床試験であり、MTD、MFD 又は限界量までの用量を用いたげっ歯類及び非げっ歯類の拡張型単回投与毒性試験の実施が必要となる。 アプローチ 4 は、反復投与臨床試験（14 日まで）であり、早期探索的臨床試験においてヒトで予測される暴露の数倍を基に用量が設定された 14 日間毒性試験（げっ歯類及び非げっ歯類）の実施が必要となる。両動物種で毒性がみられない場合、最高臨床用量は、動物試験での最高用量における両種のうちいずれか低い方の暴露の 1/10 を超えない用量が推奨

		される。毒性が認められた場合には、後述の 2b の回答を参照のこと。 アプローチ 5 は、反復投与臨床試験（14 日まで）であり、MTD、MFD 又は限界量までの用量を用いたげっ歯類の 14 日間毒性試験、及び非げっ歯類がげっ歯類よりも感受性が高くないことを示すための非げっ歯類のいわゆる確認試験（少なくとも、早期探索的臨床試験と同等の期間）の実施が必要となる。この場合、早期探索的臨床試験における適切な最大暴露は、毒性試験での所見によって決定されるべきである。 このように、アプローチ 4 と 5 は、その実施のために必要となる非臨床毒性試験が標準的な試験法からどのように改変されているか、また、どのように臨床暴露の上限が設定されているかについて違いがある。アプローチ 5 では、おそらく、アプローチ 4 よりも使用される薬物量が少ないが、安全性リスクの同定において、げっ歯類に負うところが大きい。アプローチ 4 は、げっ歯類と非げっ歯類の重みづけが等しいが、いずれの動物種においても標的臓器毒性を同定できないことがあろう。この場合には、適切な安全域が存在するという知見があれば、臨床試験を実施できる。 一連の例示は、早期探索的臨床試験のアプローチが柔軟性に富んでいることを示しており、試験実施者はその目的にかなう最適な試験を実施できる。ここに示したアプローチは、あくまでも一例であって、試験実施者は代替法を提案することもでき、必ずしもそれが提示されたアプロー

		チのうちの一つに合致する必要はない。
2b	アプローチ 4 では、アプローチ 3 や 5 よりも最高臨床用量の設定がより厳しくなっているが、その理由について説明していただきたい。	アプローチ 4 は、いずれの動物種においても、第 1.5 節で述べられている標準的な高用量の設定基準（MTD、MFD、50 倍の暴露比又は限界量）に依らない唯一のアプローチである。 アプローチ 4 では、げっ歯類及び非げっ歯類の試験での高用量が、ヒトで予測される暴露量の数倍を目安に設定されている。したがって、いずれの動物種においても第1.5節で推奨されている高用量は適用されない。これはアプローチ 3 や 5 と対照的であり、アプローチ 3 では両動物種で、また、アプローチ 5 ではげっ歯類において、標準的な高用量の設定基準が適用される。この標準的な高用量の設定基準を適用することによって、アプローチ 3 及び 5 では、ヒトで発現するかもしれない毒性を見落とす可能性は少なくなろう。 アプローチ4では、いずれの動物種においても暴露の数倍を目安に高用量が設定されていることから、ヒトで生じる可能性のある毒性を同定できないこともあろう。この場合には、臨床でのモニタリングを行う上で懸念すべき用量制限毒性が明らかとなっていないことから、臨床暴露量の上限をより慎重に設定すべきであろう（例えば、いずれかの種での低い方の暴露の1/10）。１種において毒性が同定された場合には、臨床暴露量の上限は、毒性を示した動物種から得られたNOAELでの暴露量、又は、毒性を示さなかった動物種におけるNOAEL（訳注：ここでは最高用量と

		同義）の暴露量の1/2のいずれか低いほうに基づいて設定される。この場合、アプローチ4での臨床暴露量の上限は、両動物種で毒性が認められなかったケースよりも高く設定することができる。アプローチ4における臨床暴露量の上限は、それが毒性に基づく場合には、アプローチ5での臨床暴露量の上限と同様である。アプローチ4において、両動物種で用量制限毒性が示された場合には、第1.5節で推奨されている毒性試験の最高用量の要件を両動物種ともに満たしており、最高臨床用量は、第 I 相試験のために用いられる標準的なリスクアセスメントに基づいて、臨床でのMTDを検討することができる。
2c	毒性がみられた場合に（例えば、アプローチ 3 及び 5）、臨床での最大許容用量（NOAEL 又は NOAEL の 1/2 の暴露）の設定が通常とは異なる理由を説明していただきたい。なお、通常では、(1) 毒性が重篤でなく、又は、モニターできる場合に、NOAEL の暴露量を超えて臨床用量を設定することは認められており、(2) 毒性が重篤で、かつ、モニターできない場合には、一般に、NOAEL の 1/10 の暴露量が最高臨床用量の上限とされている。	ICH M3(R2) 第 1.5 節や第 5 節で示されている標準的な毒性試験に比べて、非臨床試験についての要件が限定されることから、早期探索的臨床試験における最大暴露量は、標準的な第 I 相試験と比較して、より厳しく制限されている。例えば、アプローチ 3 においては、標準的な最短 2 週間の試験ではなく、拡張型単回投与毒性試験が推奨されており、非げっ歯類の試験は、実際には確認試験としての位置づけであって、NOAEL を決定するための動物数を用量あたり 3 匹までとすることができる（表 1 及びアプローチ 5 を参照）。NOAEL の根拠となる毒性が重篤でなくモニターできるのであれば、最大臨床暴露量は、NOAEL での暴露量の 1/2 までが許容され、一方、そうでない場合には、用量制限毒性の特徴に基づいて、適切な暴露比を設定することが必要であろう。

3	早期探索的臨床試験での最大臨床暴露量を検討する際に、アプローチ 3 及び 5 において、MFD を MTD と同様に扱う理由を説明していただきたい。いずれの動物種でも MFD で毒性が観察されない場合には、アプローチ 4 の両動物種で毒性がみられない場合と同様（すなわち、臨床暴露量の上限を最高用量での暴露の 1/2 ではなく 1/10）に扱うべきではないか。	毒性試験の最高用量として MFD が用いられた場合には、より高い用量や暴露について検討することができない。最高用量として MFD を用いて毒性がみられないのであれば、限界量で毒性が同定されない場合（すなわち、限界量が NOAEL）と同様であり、最大臨床暴露量を NOAEL（訳注：ここでは MFD）での AUC の 1/2 までとすることができる（第 1.5 節及び本 Q&A「1. 毒性試験のための限界量」の回答 9 を参照）。早期探索的臨床試験のコンセプトの下で十分な臨床試験を遂行するためにも、最高用量が MFD であっても臨床暴露量の上限を最高用量での暴露の 1/10 とする必要はない。一方、アプローチ 4 において毒性が同定されない場合には、より高い用量で動物試験を実施し、薬物の毒性プロファイルを明らかにすることが可能と考えられることから、より厳しい安全限界の設定が推奨される。
4	ICH M3(R2) では早期探索的臨床試験で容認される最高用量（最大暴露量）の設定について助言しているが、標準的な第 I 相試験や臨床開発試験での最高用量の設定にはほとんど言及していない。標準的な第 I 相試験での最高用量についても、早期探索的臨床試験（ICH M3(R2) 表 3）で示されている原則に基づいて設定することは可能か。	非臨床試験のパッケージが ICH M3(R2) 第 5.1 節で示されている一般的な推奨要件を満たしているのであれば、標準的なリスクアセスメント（例えば、所見の回復性の有無やモニターの可否、適応疾患の重篤性、臨床試験での有害作用など。ICH M3(R2) 第 6 節及び各極のガイダンスを参照）に基づいて、臨床開発の第 I 相試験における最高臨床用量を設定することができる。この方法によれば、通常は、早期探索的臨床試験で推奨されるものよりも高い臨床用量が可能となるであろう。しかしながら、第 I 相試験の最高臨床用量をより低く設定してもよい（例えば、早期探

		索的アプローチで示された原則に基づいて)。
5	バイオテクノロジー応用医薬品について、早期探索的臨床試験を行う場合の適切な開発戦略について説明していただきたい。	早期探索的臨床試験のアプローチは、バイオテクノロジー応用医薬品についても適用することができる。バイオテクノロジー応用医薬品は多様な分子構造や標的（例えば、ペプチド、ポリペプチド、治療タンパクやモノクローナル抗体）を有している。バイオテクノロジー応用医薬品の早期探索的臨床試験のデザインやその実施のために必要な毒性試験については、ICH S6(R1) で示されているその特殊性を考慮すべきである。これには、暴露期間、動物やヒトでの免疫原性の可能性、標的に対する薬力学的機序によって用量制限毒性が発現する可能性などがある。ICH S6(R1) では、早期探索的臨床試験アプローチについて、適切な規制当局と議論することを推奨している。 例えば、モノクローナル抗体のようなバイオテクノロジー応用医薬品は、げっ歯類において活性を示さないことがあり、このような場合には、唯一の適切な動物種として非ヒト霊長類を毒性試験に用いることから、げっ歯類での毒性試験と非げっ歯類での確認試験によって実施が認められるアプローチ 5 のような方法を適用することはできないであろう。また、バイオテクノロジー応用医薬品の標準的な毒性試験において、通常、高用量は、MTD や MFD（これらがより低くないのであれば）又は限界量ではなく、数倍（すなわち、最大臨床暴露量の 10 倍）の暴露に基づいて設定されている。したがって、アプローチ 4 で推奨されている高用量は、バイオテクノロジー応用医薬品で標準的に推奨されるものと実質的な相

		違はない。
6	100 μg以下の用量を用いる早期探索的臨床試験のアプローチの 1 及び 2 において、経口投与では動物種間の暴露量の換算を体表面積（mg/m^2）で行うのに対して、静脈内投与では体重（mg/kg）に基づく理由を説明していただきたい。	投与される薬物が微量であることを考慮すると、静脈内投与において、体重換算（mg/kg）に基づいて設定されるNOAELの 1/100 の用量は、リスク軽減の面からも、十分に慎重なアプローチとなっている。経口投与においては、静脈内投与と比べて、より慎重なスケーリングファクターを用いることが適切と考えられ、マイクロドーズ試験での用量比の決定には、静脈内投与では体重換算（mg/kg）、経口投与では体表面積換算（mg/m^2）が用いられる。経口投与では、動物種間で吸収が異なる可能性が高く、したがって、静脈内投与で用いられる体重換算（mg/kg）ではなく、より慎重な体表面積換算（mg/m^2）が用いられる。
7	ガイダンスではアプローチ 1 について以下のように述べられている。 a）「総投与量は 100 μg 以下（投与間隔の制限なし）かつ、総投与量は無毒性量の 1/100 以下及び薬効量の 1/100 以下（静脈内投与では体重換算、経口投与では体表面積換算）」 また、一方では、以下のようにも述べられている。 b）「1 種（通常、げっ歯類）における拡張型単回投与毒性試験（脚注 c 及び d を参照）。投与経路は、トキシコキネティクス付きで予定臨床経路とするか、あるいは静脈内投与。最高用量は臨床投与量の 1000 倍（静脈内投与では体重換算、経口投与では体表面積換算）とすることができる」	動物における NOAEL の 1/100 は臨床用量を制限する基準の一つである。記述 b)については、用量に基づいた臨床との暴露比ではなく、マイクロドーズアプローチのための動物試験での限界量について言及したものである。

	暴露比を NOAEL の 100 倍、又は 1000 倍のいずれとすべきか明らかにされたい。	
8	ポジトロン断層撮影（PET）トレーサーについて、アプローチ 1 及び 2 では経口又は静脈内投与での TK は必要ないことを確認されたい。	臨床でのマイクロドーズ試験を実施するのに必要な非臨床毒性試験は、その試験が静脈内投与で実施されないのであれば、全身暴露が生じていることを示すために、TK の評価を行うべきである。しかし、PET トレーサーによっては、臨床での用量は極めて微量であり、このような場合には十分な TK プロファイルを得ることは可能ではないであろう。
9	早期探索的臨床試験において、必要となる原薬・製剤、製造工程及び品質の管理（CMC：Chemistry, Manufacturing and Control）について説明していただきたい。	ICH M3(R2) では、早期探索的臨床試験で必要となる CMC について言及していない。規制当局からの助言や各極のガイダンスを参考されたい。
10	変異原性を示す可能性のある不純物の評価（例えば、構造活性相関（SAR：Structure-Activity Relationship）あるいは試験の実施）は早期探索的臨床試験を実施するために必要か。	被験物質は CMC の観点から適切なものとすべきである。アプローチ 1 及び 2（マイクロドーズ試験）では、親化合物や不純物の SAR や遺伝毒性試験は推奨されていない。より高い用量で長期投与される他の早期探索的臨床試験のアプローチについては、利用可能な変異原性不純物に関するガイダンスに従うべきである。

7. 生殖毒性

	質問	回答
1a	後注の 4：予備的な胚／胎児発生毒性試験での「十分な用量段階」について説明していただきたい。これは母動物に対する毒性が少なくとも 1 用量で認められることを意味するのか。生存胎児が 1 又は 2 つの用量段階でしか得られなかった場合も十分であるか。	予備試験についても、最終的な胚／胎児発生毒性試験と同じ用量設定基準を用いるべきである（ICH S5(R2) 参照）。
1b	後注の 4：文中では「1 群当たり最低でも 6 匹の母動物」としている。これは最低でも 1 群あたり 6 腹の評価が必要ということか。	そうではない。妊娠雌動物で同腹児の全てが失われることもある。妊娠が予想される雌動物の数が 1 群当たり最低 6 匹となるようにして投与を開始し、生存した全腹で評価する。
2a	男性のみを適応とする医薬品について、胚／胎児発生毒性試験は必要か。また、薬物や代謝物が精液中へ移行しないことを示すことは必要か。	ICH M3 (R2) では、男性のみに使用予定の医薬品の胚／胎児発生毒性試験には言及していない。男性のみを適用とする医薬品の胚／胎児発生毒性試験については、個々の事例に応じて考慮すべきである。
2b	生殖に対するリスクが評価されるまで、男性のみの臨床試験において避妊を行うべきか。	生殖及び発生に対するリスクについて言及できるようになるまで、通常、男性での避妊は実施される。

8. 幼若動物試験

	質問	回答
1	懸念される特定の問題に対処するため、幼若動物を用いた毒性試験を行う場合、適切な投与期間について説明していただきたい。	幼若動物を用いた毒性試験の具体的なデザインについては、ICH M3(R2)の適用範囲外である。しかし、一般に、このような試験の期間は、対処すべき毒性や関連する器官系、及び先行する試験から得られた情報によって決まるであろう。試験のデザイン及び期間は、その医薬品が、対象となる患者集団において発達中の器官系に影響を及ぼす可能性について明らかにするものでなくてはならない。 動物の使用を減らすために、通常の反復投与毒性試験や、児が十分に薬物暴露されている出生前及び出生後の毒性試験に発達指標を組み入れることによって、懸念される特定の問題を評価できる場合もある。
2	2 種の動物を用いた試験の実施が必要となる場合を明確にする必要があろう。ガイダンスでは、「幼若動物での毒性試験が必要な場合は、通常、適切な 1 種の動物種で十分であると考えられ、可能であればげっ歯類を用いることが望ましい」とされている。別の動物種を用いる 2 番目の試験の実施が科学的に妥当と考えられる事例の多くについて予め提示することは困難であろうが、逆に、合理的な理由とならない例について示していただきたい。	成人のデータがない場合（すなわち、小児のみの適用）、又は、発達に関して多くの懸念事項があり、1 種の動物種だけではその懸念について適切に対処できない場合を除いて、2 種を用いた幼若動物試験が推奨されることはないであろう。単に、新規性が高い薬物という理由や、1 種の幼若試験において認められた毒性所見を確認する目的、又は、行動に対する影響が既知若しくは予測しうる薬物について、さらにその影響を検討する目的で、2 種目の動物を用いた幼若試験を実施する必要はない。

3	小児のみの適用の場合に何が必要であるか明らかにしていただきたい。成人のデータが全くない場合に、小児集団での PK 試験を実施するための幼若動物試験は必要ないか。また、2 種目の動物は必要ないか。	一般に、たとえ当該医薬品が成人での開発を意図していない場合、成人被験者でのデータやその実施根拠となる非臨床データ（2 種）は小児の臨床試験の前までには利用可能であろう。ICH M3(R2)「12. 小児における臨床試験」では、成人での臨床試験が小児の臨床試験に先行して実施され、さらに、幼若動物を用いた毒性試験が小児集団での短期の PK 試験を実施するために重要ではないと考えられる場合の、一般的な推奨を示している。しかし、成人でのデータがなく、医薬品が小児患者のみを対象として開発されるのであれば、小児の PK 試験を実施するためには 2 種における幼若動物試験の実施が適切であろう。

M3(R2) Implementation Working Group

M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals

Questions & Answers (R2)

Current version
dated 5 March 2012

International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use

ICH Secretariat, Chemin Louis-Dunant 15, P.O. Box 195, 1211 Geneva 20, Switzerland
Telephone: +41 (22) 338 32 06, Telefax: +41 (22) 338 32 30
admin@ich.org, http://www.ich.org

In order to facilitate the implementation of the M3(R2) Guideline, the ICH Experts have developed a series of Q&As:

M3(R2) Q&As (R2) Document History

Code	History	Date
M3(R2) Q&As	Approval by the ICH Steering Committee under *Step 4*	15 June 2011
M3(R2) Q&As (R1)	Approval by the ICH Steering Committee under *Step 4* of a newly added Section 4 on Combination Drug Toxicity Testing.	20 December 2011
M3(R2) Q&As (R2)	Approval by the ICH Steering Committee under *Step 4* of a newly added question in Section 1 on Limit Dose for Toxicity Studies and 4 newly added Sections on: Safety Pharmacology; Exploratory Clinical Trials; Reproductive Toxicity; and Juvenile Animal Studies.	5 March 2012

Reference

ICH M3(R2)	Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals	June 2009

TABLE OF CONTENTS

M3(R2) Questions and Answers

1. LIMIT DOSE FOR TOXICITY STUDIES

Date of Approval		Questions	Answers
1	**June 2011**	Can you provide a definition of a 50-fold clinical exposure margin in terms of how it is calculated and whether it relates to the intended therapeutic clinical exposure or the maximum exposure achieved in Phase I trials?	Generally, the exposure margins should be calculated using the group/cohort mean Area Under the Curve (AUC) values for animals at the highest dose tested and for humans at the anticipated therapeutic exposure. In some special cases, based on prior knowledge of the compound class, exposure limits based on C_{max} might also be appropriate (e.g., if it is suspected that the drug could cause seizures). Using the 50-fold approach, the high dose in the toxicity studies should be selected to produce a 50-fold exposure margin over the anticipated clinical exposure at the highest dose proposed for phase II and III studies; see exception for phase III trials in the United States (Section 1.5 of ICH M3(R2)) and answers to Question 2 and Question 3. For phase I clinical trials it is recognized that the therapeutic exposure generally will be exceeded and smaller margins are appropriate (for example, see answers to Question 2 and Question 3).

2	**June 2011**	When using the 50-fold exposure approach and there are no adverse findings in the rodent and non-rodent toxicity studies, if the clinical dose is escalated up to the agreed limit (1/50th of the exposure achieved at the top dose in animal studies) and there are no adverse findings in humans, is it possible to escalate the clinical dose further?	In this situation, if the clinical dose is escalated to 1/50th of the maximum exposure in the animal studies and no treatment-related adverse effects are noted in volunteers/patients, for short-term clinical studies (e.g., 14 days duration) the clinical dose could be cautiously further escalated up to 1/10th of the maximum exposure in the animal studies, or to a dose that produces adverse effects in humans, whichever occurs first. This is reasonable because exploratory trials Approach 4 (not intended to evaluate an Maximum Tolerated Dose (MTD)) supports dosing for 14 days up to 1/10th the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) exposure with the same First-In-Human enabling toxicity studies.
3	**June 2011**	When toxicity study doses were selected by using the 50-fold exposure approach and there are adverse findings in at least one of the toxicity studies, but the findings are not dose-limiting, what is the limitation for clinical exposure?	Doses might be escalated in the clinical studies based on the NOAEL for the adverse findings identified in the toxicity studies. The clinical doses should not be limited by the 50-fold margin in this case but should be based on standard risk assessment approaches (e.g., whether the findings are reversible and/or monitorable, the severity of the indication, adverse effects in clinical studies, etc.). Note the exception for phase III trials in the United States (Section 1.5 of ICH M3(R2)).
4	**June 2011**	Does the 50-fold exposure limit only apply to small molecules?	Yes, the 50-fold margin of exposure limit dose applies to small molecules only. As stated in the scope section of ICH M3(R2), this Guideline only applies to biologics with regard to timing of nonclinical studies relative to clinical development. High dose selection for nonclinical studies of biologics is different from that for small molecules (see ICH S6(R1)).

5	**June 2011**	When making a Maximum Feasible Dose (MFD) argument, to what lengths should the sponsor go to justify the MFD?	The MFD should be a dose that attempts to maximize exposure in toxicity studies, rather than maximize the administered dose. However, formulation volumes that can be administered should be based on anatomical and physiological attributes of the test species and properties of the formulation, and can impact the MFD. In addition, the chemical and physical stability of the formulation are important criteria for suitability for use in toxicity studies and could limit the selection of vehicles for determining the MFD. Solubility limits can restrict the dose for some routes, such as intravenous. Solubility limits are not usually considered sufficient to justify the MFD for some other routes of administration, such as inhalation or oral. The characteristics of multiple formulations of the test article, with a range of properties (e.g., aqueous and non-aqueous and various viscosities), should be investigated prior to dosing in animals. The most promising formulations (generally three) should be evaluated in animals to determine that which produces maximal exposure. The vehicles used should be well characterized in the scientific literature or selected based on experience (sponsor or regulatory agency information) to provide confidence that they will not cause significant toxicity under conditions of use.
6	**June 2011**	What if dose-limiting toxicity is not identified in any species and there is only one nonclinical toxicity study in each species before the Phase III study (re: Phase III recommendation for the United States)?	The guidelines for high dose selection for general toxicity studies apply irrespective of the length or complexity of the drug development paradigm. In accord with the recommendation to support phase III studies in the United States (see Section 1.5 of ICH M3(R2)), an assessment of doses up to an MTD, MFD or limit dose should be conducted in an attempt to identify toxicity.

7	**June 2011**	Does the guidance on high dose selection and the 50-fold margin of clinical AUC, apply to routes other than oral (e.g., dermal, inhalation)?	For any drug intended to provide systemic exposure (including transdermal) the 50-fold approach is considered appropriate. For topical drugs intended to produce local effects, the high dose in topical toxicity studies should generally be based on the MFD or MTD and might not achieve high local concentrations or high systemic exposures compared to those achieved clinically. In this case, a 50-fold systemic margin is not relevant. For inhaled drugs with intended systemic action, the high dose in an inhalation toxicity study could be one that produces an AUC value of greater than or equal to 50-fold the clinical systemic exposure and a 10-fold margin over the calculated deposited lung dose. For inhaled drugs that are designed to work locally in the lung, the high dose could be one that achieved a calculated deposited lung dose of 50 times the calculated clinical deposited lung dose and produced a 10-fold margin over the AUC achieved in humans at the clinical dose.
8	**June 2011**	Does the 50-fold margin apply to juvenile animal studies? Can the 50-fold margin be used to select the top dose for reproductive toxicity studies?	Similar principles of reliance on exposure margins to limit the top dose should be applicable to some other types of toxicity testing, such as juvenile animal toxicity studies where toxicity is not anticipated. Use of a 50-fold margin for top doses in reproductive toxicity studies has not been addressed; however, current ICH guidance states that minimal toxicity is expected to be induced in the high-dose dams although other factors can also limit the dose (see ICH S5(R2)).
9	**March 2012**	What exposure limits should be applied for clinical development studies when the top dose for the nonclinical studies is the limit dose such as 1000 mg/kg or 2000 mg/kg described in Section 1.5 or an MFD and no toxicity is observed at this dose?	The clinical dose could be conservatively escalated up to one that produced a plasma AUC exposure of ½ that seen in the animal species that gives the lowest exposure at the limit dose or MFD. If there are no adverse effects in humans at this clinical exposure, further careful escalation might be justified based on risk/benefit considerations.

2. METABOLITES

Date of Approval		Questions	Answers
1	**June 2011**	What does "significantly greater" mean in "Nonclinical characterization of a human metabolite(s) is only warranted when that metabolite(s) is observed at exposures greater than 10% of total drug-related exposure and at significantly greater levels in humans than the maximum exposure seen in the toxicity studies."?	The term "significantly greater" is not meant to imply a statistically greater level. Differences of ≥ 2 fold in (mean) AUC are generally considered meaningful in toxicokinetic evaluations. Thus, characterization of metabolite toxicity would generally be considered adequate when animal exposure is at least 50% the exposure seen in humans. In some cases, for example when a metabolite composes the majority of the total human exposure, it is appropriate for exposure to the metabolite in animals to exceed that in humans (see also Question 12). In this latter case it is important to achieve a higher exposure to the metabolite in animals because this metabolite constitutes the bulk of human exposure.
2	**June 2011**	What is the definition and calculation method of 10%?	The 10% threshold refers to when a human metabolite comprises greater than 10% of the measured total exposure to drug and metabolites, usually based on group mean AUC (e.g., $AUC_{0\text{-}inf}$).
3	**June 2011**	When characterization of metabolite toxicity is warranted, in what type(s) of *in vivo* nonclinical studies is it important that adequate systemic exposure to a metabolite be achieved?	It is important to have adequate exposure to the metabolite in one species used in the general toxicity evaluation, one species used in a carcinogenicity study when carcinogenicity evaluation is warranted (or one species used in an *in vivo* micronucleus study when carcinogenicity evaluation is not warranted), and one species used in an embryo-fetal development study.
4	**June 2011**	Are *in vitro* genotoxicity studies recommended for metabolites? When genotoxicity assessment is warranted for a metabolite, is Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) assessment sufficient or should genotoxicity studies be conducted?	This topic is outside the scope of ICH M3(R2).

5	**June 2011**	Is the metabolite exposure data provided from the single dose radiolabeled human Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME) study sufficient for comparison to the exposures observed in animal toxicity studies without evaluation of steady state levels which can not be done with radiolabel clinically?	An evaluation of whether a metabolite is 10% of the total drug-related exposure can be based on single dose data in humans. It is not generally feasible to measure AUC of all metabolites by non-radiolabeled methods, particularly for those drugs that have many metabolites. In such cases, a single dose radiolabeled study provides a reasonable estimate of human total drug-related exposure and is an adequate basis for calculating whether a metabolite exceeds 10%. (A metabolite can not be more than 10% of the total drug-related material if non-radiolabeled methods indicate that a metabolite is less than 10% of the parent or of any drug-related component(s). For example, $P+M_1+M_2+\ldots M_n$ = total; if M_1 is less than 10% of P or M_1 is less than 10% of any M then M_1 is less than 10% of the total. In this case, no further assessment of that metabolite is warranted.) If during development exposure data normally collected from multiple dose human studies indicate that steady state levels of a metabolite exceed 10%, then additional nonclinical evaluation of the metabolite should be considered. Generally, exposure data from nonclinical studies and single dose clinical studies can be compared to determine if further metabolite toxicity characterization is warranted. For those metabolites that have been determined to exceed 10% of drug-related material in humans only after repeated dosing, steady state levels (clinical and nonclinical) should be used to assess the adequacy of the exposure margins.

6	**June 2011**	The guidance says: "Nonclinical characterization of a human metabolite(s) is only warranted when that metabolite(s) is observed at exposures greater than 10% of total drug-related exposure and at significantly greater levels in humans than the maximum exposure seen in the toxicity studies." When a human metabolite exposure is compared to the maximum exposure of that metabolite in toxicity studies, should it always be to the highest exposure achieved in the animal studies or is it more appropriate in some cases to use the exposure at the NOAEL, NOEL, or MTD?	Because the parent drug and metabolites contribute to the target organ toxicity profile observed in animals at the MTD, the exposure comparisons across species should be conducted at the MTD in the animal compared to the maximum exposure in humans at the therapeutic dose, assuming the toxicity of concern can be adequately monitored in humans and does not pose an unacceptable risk. If the toxicity at the MTD is not monitorable in humans or poses an unacceptable risk, then the exposure comparison should be conducted at the NOAEL for the toxicity of concern.
7	**June 2011**	When in development should data on nonclinical metabolites be available?	As described in Section 3, Paragraph 1 of ICH M3(R2), *in vitro* metabolism data for animals and humans should be evaluated before initiating human clinical trials. Data on *in vivo* metabolism in test species and humans should be available before exposing large numbers of human subjects or treating for long duration (generally before Phase III).
8	**June 2011**	Clarification is sought on metabolites that may not be of toxicological concern. What is meant by “most” in the phrase “most glutathione conjugates”? Would acyl-glucuronides that can undergo chemical rearrangement be an example of a concern? What do we do about chemically reactive metabolites?	Although there are relatively rare exceptions, most glutathione conjugates are formed by conjugation with reactive metabolites to form excretory metabolites that are not of toxicological concern. Most glucuronides are not of concern, except those that undergo chemical rearrangement (e.g., reactive acyl glucuronides). Highly chemically reactive metabolites, while of toxicologic concern, do not generally accumulate in plasma due to their short half-life. Generally, it is not feasible to test highly reactive metabolites independently because of their instability, but they are assumed to contribute to the overall nonclinical toxicity of the drug.

9	**June 2011**	Should safety pharmacology studies be conducted for metabolites that warrant nonclinical characterization?	Clinical studies assessing safety pharmacology endpoints are generally conducted during Phase I. These endpoints will have already been assessed in humans before a full characterization of the metabolites is conducted. Therefore, nonclinical safety pharmacology studies are generally not warranted for the characterization of metabolites. However, if a safety pharmacology signal is seen in humans that was not predicted by nonclinical studies with the parent then additional safety pharmacology studies of these human metabolites can be considered to better understand the mechanism (see ICH S7A and B).
10	**June 2011**	What does "*in vitro* biochemical information" mean in Section 3, Paragraph 1 of ICH M3(R2)?	*In vitro* biochemical information includes standard *in vitro* metabolic evaluation (e.g., CYP inhibition, PXR activation assays, etc.). It can include studies with hepatic microsomes/hepatocytes or studies on potential interactions via drug transporters.
11	**June 2011**	What should be the design of nonclinical studies for metabolites (species, duration, study type, etc.)?	This level of detail is generally out of scope for ICH M3(R2); study design should be considered on a case-by-case basis using scientific judgment in consultation with regulatory agencies. Also see answers to other Questions (e.g., Questions 3 and 9).
12	**June 2011**	Does the guidance on metabolites in ICH M3(R2) apply to a prodrug (i.e., when a metabolite provides most of the pharmacologic activity)?	The guidance does not specifically address prodrugs. If the animal species converts the prodrug to the active metabolite similarly to humans, then a standard testing approach as recommended in ICH M3(R2) can be used. If the active metabolite is not adequately produced in the animal species, then the target molecule for toxicologic evaluation is the active metabolite and therefore additional testing beyond that recommended for metabolites can be appropriate. Timing of the nonclinical testing of the active metabolite in this case should follow the general timelines as outlined in ICH M3(R2) rather than the timing indicated for metabolite testing in Section 3.

3. REVERSIBILITY OF TOXICITY

Date of Approval		Questions	Answers
1	**June 2011**	When is assessment of reversibility considered to be appropriate and is it important to demonstrate full reversibility or is it sufficient to demonstrate the potential for full reversibility?	*ICH M3(R2) states the following in Section 1.4, General Principles: "The goals of the nonclinical safety evaluation generally include a characterization of toxic effects with respect to target organs, dose dependence, relationship to exposure, and, when appropriate, potential reversibility."* Evaluation of the potential for reversibility of toxicity (i.e., return to the original or normal condition) should be provided when there is severe toxicity in a nonclinical study with potential adverse clinical impact. The evaluation can be based on a study of reversibility or on a scientific assessment. The scientific assessment of reversibility can include the extent and severity of the pathologic lesion, the regenerative capacity of the organ system showing the effect and knowledge of other drugs causing the effect. Thus, recovery arms or studies are not always critical to conclude whether an adverse effect is reversible. The demonstration of full reversibility is not considered essential. A trend towards reversibility (decrease in incidence or severity), and scientific assessment that this would eventually progress to full reversibility, are generally sufficient. If full reversibility is not anticipated, this should be considered in the clinical risk assessment. A toxicity study that includes a terminal non-dosing period is generally warranted if a scientific assessment cannot predict whether the toxicity will be reversible and if: 1. there is severe toxicity at clinically relevant exposures (e.g., ≤10-fold the clinical exposure); or 2. the toxicity is only detectable at an advanced stage of the pathophysiology in humans and where significant reduction in organ function is expected. (The assessment of reversibility in this case should be considered even at >10-fold exposure

Date of Approval		Questions	Answers
			multiples.) A toxicity study that includes a terminal non-dosing period is generally not warranted when the toxicity: 3. can be readily monitored in humans at an early stage before the toxicity becomes severe; or 4. is known to be irrelevant to humans (e.g., rodent Harderian gland toxicity); or 5. is only observed at high exposures not considered clinically relevant (see 2 above for exception); or 6. is similar to that induced by related agents, and the toxicity based on prior clinical experience with these related agents is considered a manageable risk. If a study of reversibility is called for, it should be available to support clinical studies of a duration similar to those at which the adverse effects were seen nonclinically. However, a reversibility study is generally not warranted to support clinical trials of a duration equivalent to that at which the adverse effect was not observed nonclinically. If a particular lesion is demonstrated to be reversible in a short duration (e.g., 2 weeks or 1 month) study, and does not progress in severity in longer term studies, repeating the reversibility assessment in longer term toxicity studies is generally not warranted. If a reversibility study is warranted it is efficient to conduct it as part of a chronic study so that all toxicities of concern can be assessed in a single study provided that it is not critical to conduct it earlier to support a specific clinical trial.

4. COMBINATION DRUG TOXICITY TESTING

Date of Approval		Questions	Answers
1	**December 2011**	If two (or more) late stage entities are combined but for one of them the human dosage/exposure will be higher than that already approved, is it important to conduct a combination toxicity study or are the existing nonclinical data and clinical experience with the lower dose considered adequate to address the nonclinical assessment ?	If there has been previous clinical experience with the two entities used together, a combination toxicity study would generally not be recommended for an increase in dose/exposure of one of the entities unless this gave cause for significant toxicological concern. The level of concern would depend on the new exposure margins, the established safety profile of the individual agents, the degree of experience with the co-administration and the ability to monitor any potential adverse effects in humans. If the increase in dose/exposure does cause concern, and a study is conducted to address that concern, then it should generally be completed before carrying out clinical studies with the combination. If there is no clinical experience with the entities used together, see paragraph 4 of Section 17 of ICH M3(R2).
2	**December 2011**	Section 17 states: "If nonclinical embryo-fetal studies have indicated that neither agent poses a potential human developmental risk, combination studies are not recommended unless concerns exist, based on the properties of individual components, that their combination could give rise to a hazard for humans." While this statement is in line with EMA guidance it contradicts FDA guidance which states "Embryo-fetal development studies of the combination should be conducted unless the marketed drug substance or the New Molecular Entity (NME) is already known to have significant risk for developmental toxicity (e.g., the marketed drug has been assigned a pregnancy category "D" or "X"). Please provide clarity regarding the precedence of ICH guidance over regional guidances in those areas where such differences occur.	Statements made in ICH Guidelines represent an agreed position across the participating bodies and reflect each regulatory body's current recommendations on a given topic.

Date of Approval		Questions	Answers
3	**December 2011**	The current guidance states that combinations of late stage products for which there is adequate clinical experience of co-administration, combination toxicity studies are generally not recommended unless there is a significant toxicologic concern. In this context, what is considered "adequate clinical experience with co-administration"? Specifically, how do you get "adequate" clinical experience with the combination without having done combination toxicity testing? This guidance seems only to apply to marketed products that have been used together. Was that the intent?	This section of the guidance was not intended to only apply to marketed products. Adequate clinical experience is defined in ICH M3(R2) as data from Phase III clinical studies and/or postmarketing use. Adequate clinical experience can be the result of common clinical practice with drug combinations. Co-administration of two or more late stage entities is a common practice in many therapeutic areas of clinical development where add-on therapy to the standard of care or combination therapy is common, such as with hypertension, diabetes, HIV, hepatitis C, and cancer.
4	**December 2011**	For non-fixed-dose combinations, where one of the agents is a member of a class containing multiple approved products, should each member of the class be tested in a combination toxicity study?	Generally, combination toxicity studies are recommended when there is an intent to combine (co-package or administer in a single dosage form) specific drugs, or where the product information of one drug recommends co-use with another specified drug. There is no recommendation for combination toxicity testing in the guidance for the situation described in this question. When there is a specific cause for concern with an agent, combination toxicity testing should be done with the agent. When there is a class-related cause for concern, a combination toxicity study with a representative agent in the class could be informative (see also answer to Question 3). A rationale should be provided for the agent selected for testing.
5	**December 2011**	How are dosage, duration and endpoint of a combination toxicity study selected?	ICH M3(R2) is intended primarily to address the timing and duration of nonclinical studies relative to clinical development. Provided a nonclinical combination toxicity study is warranted to support the combination clinical trial, the duration of the study should be equivalent to that of the clinical trial it is intended to support, up to a maximum of 90 days (which would also support marketing). A combination study of shorter duration can be used to support marketing, depending on the duration of clinical use. A

Date of Approval		Questions	Answers
			combination toxicity study intended to address a particular cause for toxicological concern, based on the experience with the individual agents, should be of a duration that is appropriate to address the concern. The combination toxicity study should incorporate end-points to evaluate additive and synergistic effects for known toxicities that might be predicted from what is known of the pharmacological, toxicological and pharmacokinetics (PK) profiles of the individual entities, as well as the available clinical data, and standard end-points typically used in a general toxicity study. Detailed discussion of experimental design (i.e., choice of species, dose and dosing frequency justifications, etc.) is outside the scope of this guidance. However, dosages should be appropriate to address any identified cause for concern or to provide exposure margins that are clinically relevant (e.g., when conducting a study with two early stage agents).
6	**December 2011**	When there is a cause for concern for multiple entities being used together (e.g., more than two), how should the multiple entity combinations be assessed in the toxicity studies?	Because of the potential complexity of performing and interpreting a combination toxicity study with more than two entities, it is generally more practical for initial studies to evaluate combinations of no more than two entities. Additional testing would then depend on the outcome of these studies and should be considered on a case-by-case basis, and in consultation with appropriate regulatory authorities.
7	**December 2011**	If a compound is being developed which aims to reduce another compound's side effect, such combination effects would be evaluated in clinical or nonclinical pharmacology studies. Do the pharmacology studies replace the combination toxicity study?	When combination toxicity studies are warranted, they generally can not be replaced by combination pharmacology studies except for anticancer pharmaceuticals (see ICH S9). The purpose of a combination toxicity study is to evaluate toxicity endpoints that could give rise to an unanticipated hazard for humans. These toxicity endpoints are not usually adequately evaluated in the pharmacology studies. Situations where combination toxicity studies are not warranted are described in Section 17 of the

Date of Approval		Questions	Answers
			guidance.
8	**December 2011**	Section 17 indicates that where there is a concern for a potential human developmental risk of a combination, and a combination embryo-fetal development study is warranted, such a study should be available to support the marketing application. Clarification is sought regarding the need to perform such a study prior to the commencement of a clinical trial that includes Women Of Child-Bearing Potential (WOCBP).	As described in the guidance, the combination embryo-fetal toxicity study should be provided to support marketing. Any trial enrolling WOCBP prior to completion of a combination embryo-fetal development study should include appropriate precautions, including informed consent, to minimise the risk of unintentional exposure of the embryo or fetus as outlined in Section 11.3.
9	**December 2011**	The scope section of ICH M3(R2) states that "Pharmaceuticals under development for indications in life-threatening or serious diseases (e.g., advanced cancer, resistant HIV infection, and congenital enzyme deficiency diseases) without current effective therapy also warrant a case-by-case approach to both the toxicological evaluation and clinical development in order to optimise and expedite drug development." Although not specifically stated in the combination section of ICH M3(R2), it is generally accepted that combination toxicity studies on advanced cancer and HIV products are not warranted unless there is a specific cause for concern. Can this be confirmed? Would this also extend to HCV products, as in the recently issued FDA HCV guideline, and for other therapeutic areas where 'cocktails' of drugs are standard clinical practice?	It is accepted that combination toxicity studies on advanced cancer, tuberculosis, and HIV products are generally not warranted unless there is a specific cause for concern under clinically relevant conditions. Combination toxicity studies are also not generally warranted for antiviral agents for treatment of Hepatitis C. There are other situations where combinations of drugs are standard clinical practice for serious or life-threatening conditions without current effective therapies and a similar approach might also apply.

Date of Approval		Questions	Answers
10	**December 2011**	In case of combinations with at least one biotechnology-derived product: does Section 17 *Combination Drug Toxicity Testing* apply as such or only with regard to timing as suggested in the scope of the guidance? And in case of the latter which guidance would (still) apply in order to decide if and which types of studies would be recommended?	For biotechnology-derived products appropriate nonclinical safety studies should be determined in accordance with ICH S6(R1). However, the topic of combination toxicity studies is not addressed by that guidance. When the combination consists of a biotechnology-derived component and a non-biotechnology-derived component, the design and feasibility of any nonclinical combination study are complex and should be considered on a case-by-case basis. The rationale for such a study should be clearly scientifically justified, using the principles of ICH S6(R1) and ICH M3(R2).
11	**December 2011**	In the discussion of inclusion of WOCBP in combination drug development it states "where […] individual agent(s) have shown findings indicative of embryo-fetal risk, combination studies are not recommended as a potential human developmental hazard has already been identified." What is meant by the phrase "have shown findings indicative of embryo-fetal risk"? FDA's guidance on combination drugs references pregnancy category “D” or “X” only as yielding this exclusion. Is this the intent for the ICH as well?	A finding indicative of embryo-fetal risk includes any observations for reproductive hazard at relevant exposure multiples (within approximately an order of magnitude of the clinical exposure) or directly related to the pharmacodynamics of the drug. In these cases, recommendations about patient actions to minimize the identified hazard would likely be unchanged even if data from a combination study showed an enhanced effect, because a significant risk to patients has already been identified. Therefore, combination reproductive toxicity studies are not recommended when a finding with one of the individual agents indicates embryo-fetal risk; that information would be made available to patients and physicians as part of the risk communication, irrespective of pregnancy category. For example, if studies with one of the agents showed fetal death or terata at approximately 10-fold the clinical exposure, even if observed in only one species, a combination study would not be warranted, provided that this information was present in the single agent product labeling.

Date of Approval		Questions	Answers
12	**December 2011**	There is no mention about pharmacology studies, and pharmacodynamic or pharmacokinetic drug-drug interaction studies in Section 17. Please indicate whether and when these studies are necessary to be conducted.	Presumably, the pharmacodynamic activities and pharmacokinetic profile, including the effects on the CYP450s of the individual drugs, are known before the drugs are combined. Because potential pharmacodynamic interactions are anticipated based on the nonclinical and clinical experiences with the individual entities or their combination, no nonclinical pharmacodynamic interaction studies are warranted. If the pharmacology information indicates potential interactions that could lead to toxicity, then combination nonclinical toxicity studies might be warranted. Concerns regarding pharmacokinetic interactions can often be addressed by lowering the initial doses administered below those that might be appropriate for the individual drugs or by conducting a clinical pharmacokinetic drug-drug interaction study.

5. SAFETY PHARMACOLOGY

Date of Approval		Questions	Answers
1	**March 2012**	ICH M3(R2) states that including the *in vivo* safety pharmacology evaluations in toxicity studies to the extent feasible should be considered. Does this mean that it is acceptable for the safety pharmacology assessment conducted as part of general toxicity studies to be less thorough than that obtained in stand alone safety pharmacology studies?	No. Assessment of safety pharmacology as part of the general toxicity studies should provide rigor similar to that in stand-alone safety pharmacology studies. This can be achieved with current technology, provided the methods have been adequately assessed.

6. EXPLORATORY CLINICAL TRIALS

Date of Approval		Questions	Answers
1	**March 2012**	To support exploratory clinical trials, why do the extended single dose studies have to be done in both sexes when the clinical exploratory studies are likely to be done in one sex?	Exploratory clinical studies do not represent a commitment to full development. Therefore, when intent is to conduct the exploratory clinical study in one sex only, the single-dose toxicity studies can be restricted to that sex. However, in such cases, animal group sizes for the Day 2 termination should be increased, as it is normal to combine effects from both sexes with respect to identifying and characterizing toxicities that are not sex-specific. For extended single-dose toxicity studies using a single sex, the usual animal numbers should be 15/group (rodents) or 5/group (non-rodents) for the Day 2 termination, and 7/group (rodents) or 3/group (non-rodents) for the Day 14 termination.
2a	**March 2012**	Could the differences between Approaches 3, 4, and 5 be clarified?	Approach 3 involves just a single dose in humans supported by extended single-dose toxicity studies in rodents and non-rodents conducted up to the animal MTD, MFD or limit dose. Approach 4 involves multi-dose clinical trials (up to 14 days) supported by 14-day toxicity studies (in rodents and non-rodents) in which dose selection for animals is based on multiples of proposed human exposure in the exploratory clinical trial. If no toxicity is observed in either species, it is recommended that the maximum clinical dose not exceed $\frac{1}{10th}$ the lower exposure (AUC) in either species at the highest dose tested in the animals. If toxicity is observed see answer to 2b below. Approach 5 involves multi-dose clinical trials (up to 14 days) supported by a 14-day study in rodents up to the MTD, MFD or limit dose and a non-rodent 'confirmatory' study (at least equivalent to the duration of the exploratory clinical trial) that indicates that the non-rodent is not more sensitive than the rodent. In this case, the highest exposure appropriate in the exploratory clinical trial should be determined by the findings in the toxicity studies. Thus, the differences between Approach 4 and Approach 5 include

Date of Approval		Questions	Answers
			how the standard nonclinical toxicity study recommendations are modified, and how the clinical exposure limit is established. Approach 5 probably uses less drug than Approach 4, but relies heavily on the rodent for identifying safety risks. Approach 4 gives equal weight to the rodent and non-rodent, but might not identify target organ toxicity in either species. In this case, clinical progression is supported by the knowledge that a reasonable safety margin exists. The series of examples are intended to provide sponsors flexibility in exploratory clinical trial approaches so that they can do what best fits their purpose. The approaches given are only examples, and sponsors can propose alternatives that do not fit neatly into one of the described approaches.

Date of Approval		Questions	Answers
2b	**March 2012**	Why does Approach 4 have a more stringent maximum clinical dose than Approaches 3 and 5?	Approach 4 is the only one of these approaches which does not rely on the standard high-dose criteria described in Section 1.5 (MTD, MFD, 50X exposure multiple, or limit dose) in at least one species. In Approach 4, the high dose in both the rodent and non-rodent studies is based on multiples of the proposed human exposure, and thus the high-dose selection recommendations described in Section 1.5 are not applied to either species. This is in contrast to Approach 3, in which the standard high-dose criteria should be met in both species, and in contrast to Approach 5, in which the standard high-dose criteria should be met in rodents. In Approach 3 and Approach 5, the use of standard high-dose selection criteria reduces the uncertainty around potential unidentified toxicities that might be relevant to humans. Since Approach 4 uses exposure multiples for the high-dose selection in both species, it is possible that potential toxicity might not be identified in either species. In this case, more conservative limits on clinical exposure (e.g., $\frac{1}{10th}$ the exposure obtained using the lower exposure of the two species) are recommended because the dose-limiting toxicities of potential concern for clinical monitoring have not been identified. If toxicity is identified in one species, then the limit on clinical exposure is based on the NOAEL exposure in the species with toxicity or ½ the NOAEL exposure in the species without toxicity, whichever is lower. This can yield a higher limit in Approach 4 than in the case where toxicity in neither species has been observed. The limit on clinical exposure for Approach 4 when based on toxicity can be comparable to the limit on clinical exposure in Approach 5. If dose-limiting toxicity is identified in both species using Approach 4, then the high-dose recommendations of Section 1.5 have been met or exceeded in both species and a maximum clinical dose can be based on standard risk assessment used for Phase I trials and a clinical MTD can be explored.

Date of Approval		Questions	Answers
2c	**March 2012**	In cases where toxicity is demonstrated (e.g., Approaches 3 and 5) why is the maximum allowable human dose (equal to or ½ the NOAEL) different from usual practice; i.e., (1) where toxicity is non serious and/or monitorable, human doses above the NOAEL would normally be allowed, and (2) where toxicity is serious and non-monitorable the maximum human dose would usually be limited to ⅒th the NOAEL.	The more stringent limits on maximum exposure in exploratory clinical trials compared to standard Phase I trials are consistent with the more limited nonclinical requirements compared with the standard toxicity study requirements described in Section 1.5 and Section 5 in ICH M3(R2). For example, in Approach 3, extended single-dose studies are recommended rather than the typical recommendation of a study of at least 2 weeks' duration (see Table 1 and Approach 5); the non-rodent study is only confirmatory in nature and can be limited to 3 animals at a single dose level targeted to be a NOAEL. The recommendation that the maximum human exposure allowed could be up to ½ the NOAEL exposure assumes that the toxicity defining the NOAEL is not severe and is monitorable. If this is not the case, it might be appropriate to adjust the exposure margin based on the nature of the dose-limiting toxicity.
3	**March 2012**	Why is an MFD treated like an MTD in Approaches 3 and 5 when considering the maximum clinical exposure in the exploratory clinical trial? If no toxicity is observed in either species when using an MFD, shouldn't this be treated similarly to the case in Approach 4 when there is no toxicity in either species (i.e., limit the clinical exposure to ⅒th rather than ½ the exposure at the highest dose tested)?	In any situation in which the MFD is used as the top dose for a toxicity study, it is simply not possible to test a higher dose/exposure. If the top dose used is the MFD and no toxicity is observed, this situation is similar to that of the limit dose when toxicity has not been identified (i.e., the limit dose is the NOAEL) where clinical exposures up to ½ the AUC at the NOAEL can be used (see Section 1.5 of M3(R2) and Limit Dose Question and Answer 9). The ⅒th exposure limit is not applied when the high dose is limited by an MFD because this could prevent adequate clinical testing of a drug under the exploratory clinical trial concept. When no toxicity is identified using Approach 4, a more stringent safety limit has been recommended because it would have been possible to test higher doses in animals to characterize the toxicity profile of the drug.

Date of Approval		Questions	Answers
4	**March 2012**	The M3(R2) guidance provides advice on establishing the maximum dose (exposure) permitted in exploratory clinical trials but provides minimal guidance for establishing the maximum dose in standard Phase I or clinical development trials. Can the maximum dose in standard Phase I trials be based on the principles described for exploratory clinical trials (Table 3 of ICH M3(R2)?	When the package of nonclinical studies meets the general recommendations of Section 5.1 of ICH M3(R2), then the maximum clinical dose for a clinical development Phase I study can be based on standard risk assessments (e.g., whether the findings are reversible and/or monitorable, the severity of the indication, adverse effects in clinical studies, etc.; also see Section 6 of ICH M3(R2) and regional guidances). This would normally support a higher clinical dose than that recommended for exploratory clinical trials. However, a sponsor has the option to set a lower maximum clinical dose for a Phase I study (e.g., based on the principles described for exploratory approaches).
5	**March 2012**	What are reasonable strategies for exploratory clinical trials with biotechnology-derived products?	Exploratory clinical trial approaches can be applicable to biotechnology-derived products. Biotechnology-derived products include a wide variety of molecular structures and targets (e.g., peptides, polypeptides, therapeutic proteins and monoclonal antibodies). The designs of the exploratory clinical trial and supporting toxicity studies for biotechnology-derived products should reflect their special features as described in ICH S6(R1). This includes the duration of exposure, the potential for immunogenicity in animals or humans, and the possibility that dose-limiting toxicity might be due to on-target, pharmacodynamic-related mechanisms. ICH S6(R1) recommends that exploratory clinical trial approaches be discussed with the appropriate regulatory authorities. Note that some biotechnology-derived products, for example monoclonal antibodies, are not active in rodents and in such cases a nonhuman primate can be used as a single relevant species for toxicity testing. In such cases, an approach analogous to Approach 5 would not be applicable since it relies on a rodent toxicity study and confirmatory non-rodent study. Also, for standard toxicity studies of biotechnology-derived products, the high dose is routinely based on exposure multiples (i.e., 10X the maximum clinical

Date of Approval		Questions	Answers
			exposure) rather than on an MTD, an MFD (unless these are lower) or a limit dose. Thus, the high dose recommendation in Approach 4 is not substantially different from the standard recommendations for biotechnology-derived products.
6	**March 2012**	In exploratory Approach 1 and 2 that use doses of <100 µg, why is the cross-species exposure conversion for intravenous administration based on mg/kg and not mg/m^2 as it is for oral administration?	The i.v. approach of using mg/kg and permitting dosing with $\frac{1}{100th}$ of the NOAEL reflects a conservative risk mitigation strategy considering the low levels of drug being administered. The use of mg/kg for i.v. and mg/m^2 for oral administration when determining dose multiples for microdose studies reflects the thinking that it is appropriate to use a more conservative scaling factor for oral versus i.v. administration. With oral administration, there is the additional complexity of potential differences in absorption between species and, therefore, the more conservative mg/m^2 basis was used rather than the mg/kg basis used for i.v. administration.
7	**March 2012**	For Approach 1, the guidance says: a) Total dose ≤ 100 µg (no inter-dose interval limitations) AND Total dose ≤ $\frac{1}{100th}$ NOAEL and ≤ $\frac{1}{100th}$ pharmacologically active dose (scaled on mg/kg for i.v. and mg/m^2 for oral) But it also says: b) Extended single dose toxicity study (see footnotes c and d) in one species, usually rodent, by intended route of administration with toxicokinetic data, or via the i.v. route. A maximum dose of 1000-fold the clinical dose on a mg/kg basis for i.v. and mg/m^2 for oral administration can be used. It is unclear whether the margin of exposure should be 100 fold the NOAEL or 1000-fold.	The $\frac{1}{100th}$ the NOAEL in the animals is one of the criteria that could limit the clinical dose. Statement b) refers to defining a limit dose for testing in animals for the microdose approaches rather than a clinical margin based on dose.

Date of Approval		Questions	Answers
8	**March 2012**	For Positron Emission Tomography (PET) tracers, please confirm that for Approach 1 and 2 Toxicokinetics (TK) is not needed for either oral or i.v. administration.	A nonclinical toxicity study conducted to support a clinical microdose trial should include TK assessment unless the study is conducted by the intravenous route. This is to demonstrate that systemic exposure has occurred. However, it is recognized that for some PET tracers the clinical microdose can be very low and in such cases it might not be possible to characterize a full TK profile.
9	**March 2012**	What are the Chemistry, Manufacturing and Control (CMC) needs for an exploratory clinical trial?	CMC needs for exploratory clinical trials were not addressed in ICH M3(R2). Consult appropriate regulatory authorities and regional guidances.
10	**March 2012**	Does evaluation of potential mutagenic impurities (e.g., Structure-Activity Relationship (SAR) or testing) apply to exploratory clinical trial support?	The drug substance should be considered appropriate from a CMC perspective. For Approaches 1 and 2 (microdose studies), SAR or genotoxicity testing is not recommended for the parent drug or for the impurities. For other exploratory clinical trial approaches where higher doses and longer treatments are used, available guidance on mutagenic impurities should be followed.

7. REPRODUCTIVE TOXICITY

Date of Approval		Questions	Answers
1a	**March 2012**	End-note 4: In the preliminary Embryo-Fetal Developmental study: What is the definition of "adequate dose levels"? Does this mean maternal toxicity at least one dose level? If only one or 2 dose levels have surviving fetuses, would that be adequate?	The same dose selection criteria used for a definitive embryo-fetal development study should be used for the preliminary study (see ICH S5(R2)).
1b	**March 2012**	End-note 4: The text specifies a minimum of 6 dams per group. Does this mean a minimum of 6 litters per group need to be evaluated?	No. Sometimes pregnant females have total loss of litters. Dosing should be initiated with a minimum of six presumed pregnant females per group, with all surviving litters evaluated.

Date of Approval		Questions	Answers
2a	**March 2012**	Are embryo-fetal development studies or the demonstration that the drug and/or metabolites do not partition into semen necessary for male only products?	The ICH M3(R2) guidance does not address recommendations for embryo-fetal development studies in products intended for use only in males. Embryo-fetal development studies for a male-only drug should be considered on a case-by-case basis.
2b	**March 2012**	Should contraception be used in male-only studies until reproductive risks have been evaluated?	It is general practice to use contraception in males until the potential for reproductive and developmental risk has been addressed.

8. JUVENILE ANIMAL STUDIES

Date of Approval		Questions	Answers
1	**March 2012**	What is the appropriate duration of treatment for a toxicity study using juvenile animals to address a specific issue of concern?	Specific aspects of the design of juvenile toxicity studies are outside the scope of ICH M3(R2). However, in general, the duration of such a study will depend on the toxicity to be addressed, the organ system involved and the information available from previous studies. The design and duration of the study should address the concerns for the product's potential to affect the developing organ systems of the intended clinical population. To reduce animal use, the specific issue of concern can sometimes be evaluated by incorporation of developmental endpoints into a general repeated-dose toxicity study or into a pre/postnatal toxicity study in which the pups were adequately exposed to the drug.

Date of Approval		Questions	Answers
2	**March 2012**	Clarify when a second species might be needed. The guidance states that when a juvenile animal toxicity study is warranted one relevant species (preferably rodents) is generally considered adequate. It may be difficult to prospectively describe the majority of instances where a second study in another species is scientifically justified, but can parameters be described that are not reasonable justifications?	There are few circumstances for which juvenile animal studies in two species would be recommended besides an absence of adult human data (i.e., a pediatric-only indication) or where there are multiple specific issues of developmental concern and no one species is able to address them adequately. Some situations for which a juvenile study in a second species is not warranted include: solely because a therapeutic is first-in-class, to verify adverse findings in a juvenile study in one species, or to further examine behavioral effects of agents for which such effects are known or can be expected.
3	**March 2012**	Please clarify what is needed for pediatric-only indications. Wouldn't a juvenile animal study be needed to support a PK study in pediatric populations, if you don't have any adult data? Wouldn't a second species be needed?	Generally, data from adult human volunteers and the supporting nonclinical data (in two species) will be available prior to pediatric clinical trials even when the product is not intended for development in adults. Section 12 of ICH M3(R2), *Clinical Trials in Pediatric Populations*, generally provides recommendations for the situation in which adult clinical trials precede pediatric trials and indicates that juvenile animal toxicity studies are not considered important to support short term PK trials in pediatric populations. However, if data from adult humans are not available and the drug will be developed only for pediatric subjects, then this is a case where juvenile animal studies in two species would be appropriate to support pediatric PK trials.