

- 代謝促進剤もしくは阻害剤の使用
- 試験内での陽性対照物質及び比較対照化合物の使用 (3.1.1節参照)
- その時点までに評価されなかった他のチャネルの阻害
- 多時点における電気生理学的パラメータの測定
- 被験物質が心拍数や自律神経緊張度に及ぼす作用、あるいは振戦、痙攣、嘔吐などの毒性など、覚醒動物においてデータ解釈を制限するような妨害作用

2.3.6 統合的リスク評価

統合的リスク評価は、フォローアップ試験の結果や他の関連する情報を含めた非臨床試験成績の評価である。統合的リスク評価は、科学的根拠に基づき、被験物質ごとに個別に行わなければならない。この評価は、臨床試験の進め方及びその成績の解釈に役立てることが出来る。可能であれば、治験薬概要書 (Investigator's Brochure) 及び非臨床に関する概括評価 (Nonclinical Overview) (ICH M4) にこの評価を記載すべきである。この統合的リスク評価では、医薬品開発の段階に応じて、さらに次の事項を考慮すべきである：

- 測定法の感度と特異度
- S7Bの測定法における比較対照化合物に対する被験物質の作用の強さ
- 再分極に影響を及ぼす曝露量と、非臨床試験動物において主要な薬力学的効果を引き起こす曝露量あるいはヒトにおいて予想される治療効果を引き起こす曝露量との関係
- ヒトと動物との代謝の違い及び代謝物が QT 間隔延長へ及ぼす影響

2.3.7 リスクの裏付け

リスクの裏付け (evidence of risk) とは、ある被験物質がヒトにおいて心室再分極を遅延させ、QT 間隔を延長させる可能性に関する統合的リスク評価から得られる総括的結論である。

2.4 臨床開発に関連した S7B 非臨床試験及び統合的リスク評価の実施時期

心室再分極遅延及び QT 間隔延長のリスクを評価する S7B 非臨床試験は、その薬剤をヒトへ初めて投与する前に実施するよう考慮されるべきである。これらの結果は、統合的リスク評価の一部として、その後の臨床試験の進め方及びその結果の解釈に役立つ。

3. 試験系

3.1 試験系に関する配慮事項

本節では、被験物質による心室再分極遅延や QT 間隔の延長の可能性を評価するために現在使用されている方法論の概要を述べる。最適な試験系を選択するために、以下の要素を配慮すべきである：

- 試験方法や試験結果の指標が科学的に妥当で頑健であること
- 試験系及び標本が標準化されていること
- 試験結果に再現性があること
- 試験系の指標／パラメータが、ヒトにおけるリスク評価のために適切であること

3.1.1 陽性対照物質及び比較対照化合物の使用

イオンチャネル及び活動電位持続時間測定試験用の *in vitro* 標本の感度を立証するため、最大に近い作用を示す濃度で陽性対照物質を使用すべきであり、試験毎に含めるべきである。*In vivo* 試験の場合、試験系の感度を実証し明確化するために陽性対照物質を使用すべきであるが、試験毎に含める必要はない。

ヒトにおける QT 間隔延長に関連する化学的／薬理学的分類に属する被験物質については、類薬に対する被験物質の効力比較の手助けのために、比較対照化合物（同じクラスに属するもの）を *in vitro* 及び *in vivo* 試験において同時に使用することを考慮すべきである。

3.1.2 *In vitro* 電気生理学的試験

In vitro 電気生理学的試験から、被験物質の活動電位持続時間や心臓のイオン電流への影響に関し有用な情報が得られる。この試験は、QT 間隔延長の可能性を評価し再分極に影響を与える細胞レベルでの機序を明らかにする上で、重要な役割を有する。*In vitro* 電気生理学的試験には、単一細胞（例：異種発現系、単離心筋細胞）を用いるものと多細胞標本を用いるもの（例：プルキンエ線維、乳頭筋、心筋片、灌流心筋、まるごとの心臓）がある。異種発現系は、ヒトのイオンチャネルタンパク質を非心臓由来の株化細胞で発現させたもので、被験物質が特定のイオンチャネルに及ぼす影響を評価するために用いられる。単離心筋細胞は、異種発現系に比べて技術的に困難を伴うが、活動電位持続時間とイオン電流の双方への影響を評価するのに適している点で優れている。単一細胞の標本は比較的脆弱ではあるものの、薬物の作用点への拡散の障壁を最小限にすることができる。多細胞標本を用いる方法は、活動電位持続時間を測定する安定した試験系である。活動電位の各相におけるパラメータすなわち第 0 相 (I_{Na}) における V_{max} 、第 2 相 (I_{Ca}) における APD_{30} 又は APD_{40} 、第 3 相 (I_K) における三角形化 (triangulation) などを解析することは、これらの相に相当する主要なイオンチャネルが受ける影響を測定するのに有用である。それに加え

て、ランゲンドルフ心臓標本から得られるいくつかのパラメータが催不整脈リスクに関する情報をもたらすことが報告されている。

In vitro 試験に用いられる組織及び細胞標本は、ウサギ、フェレット、モルモット、イヌ及びブタなどの試験動物や、場合によってはヒトから入手される。成熟したラット及びマウスでの再分極過程におけるイオン機序はヒトを含む大型の動物種と異なる（成熟したラット及びマウスでは、再分極をコントロールする主たるイオン電流は I_{to} である）。そのため、これらの種から採取した組織を使用することは適当とは考えられない。試験系を選択する際には、どのイオンチャネルが心筋再分極及び活動電位の持続時間に関与しているかという点について種差を考慮すべきである。本来の特性を有する（*native*）心筋の組織や細胞を使用する際には、部位や細胞の種類によって各種イオンチャネルの分布が異なることから、標本の特徴や採取部位を考慮すべきである。

In vitro 試験における被験物質の処置濃度は、予想される最大治療血漿中濃度を含み、かつそれを超過するような広い範囲に渉り設定すべきである。試験は濃度-反応曲線の特徴が明らかになるまで、あるいは物理化学的な理由で濃度が限界に達するまで、漸増的に濃度を上昇させて行うべきである。処置時間は、細胞や組織の活動性に影響の出ない限り、電気生理学的影響が定常状態になるまで十分にとるのが理想的である。処置時間は示さなくてはならない。その *in vitro* 試験系の感度を確認するため、適切な陽性対照物質を使用すべきである。

In vitro 電気生理学的試験の解釈を混乱あるいは制限しうる要因として以下のものが含まれる：

- 生理的塩類溶液中への溶解性が不十分なため、高濃度の被験物質の試験ができないことがあり得る。
- ガラス製やプラスチック製器材への吸着又は試験器材への非特異的結合により、被験物質の濃度がインキュベーション又は灌流液中で低下することがあり得る。
- 細胞毒性又は物理化学的特性により細胞膜の統合性を崩壊させる被験物質では、適用濃度に限界が生じることがあるため電気生理学的な評価ができなくなる場合がある。
- 心臓の細胞及び組織は薬物代謝能力が限られているため、被験物質を用いる *in vitro* 試験ではその代謝物の作用に関する情報は得られない。被験物質を用いた *in vitro* 試験で得られたデータと一致しない QT 間隔延長が、*in vivo* 非臨床試験又は臨床試験において観察された場合、*in vitro* 試験系において代謝物についての試験を実施することを検討すべきである。

カリウムチャネル評価系のための新技術が開発されつつある。イオンチャネル活性を評価する新しい評価系は、被験物質予備スクリーニングとして、リード候補化合物を決定す

るために有用な場合がある。規制当局への申請を目的として新技術を使用する前には、従来の方法と新技術が同等のものであることを示すことが重要である。

hERG 発現細胞株において、放射性同位体で標識された hERG チャネル遮断剤を置換する作用が被験物質にあるかどうかを検討する競合的結合試験が用いられる。しかしながら、放射性リガンド結合部位への競合試験では、被験物質が I_{Kr} に及ぼす作動的もしくは拮抗的作用に関する情報は得られない。さらにこの評価系では、放射性リガンド結合部位と異なる部位で hERG に結合する被験物質を同定することができない。これらの潜在的な限界を考慮すれば、この評価系が電気生理学的測定（ボルテージクランプ法）に代替するものとは考えられない。

3.1.3 *In vivo* 電気生理学的試験

生体位動物をそのまま用いた場合、心室再分極あるいはそれに関連する不整脈について、全てのイオンチャネル及び細胞タイプが受ける統合的な影響を検討することができる。また、生体位動物では、薬剤の薬力学的作用に対する神経及びホルモンの潜在的な影響も存在する。

心電図の QT 間隔は、心室再分極に対する被験物質の影響を測定する上で最も一般的な評価項目となる。特殊な電気生理学的試験では、心室再分極に関する情報（例：単相性活動電位持続時間及び有効不応期）も *in vivo* モデルより得られる。これに加えて、血圧、心拍数、PR 間隔、QRS 時間、不整脈のような重要な安全性パラメータも同時に評価できる。

QT 間隔と心拍数は逆向きの非線形関係にあり、この関係は動物種間及び同じ動物種でも個体間で様々である。したがって、心拍数の変化は QT 間隔に影響を及ぼし、心室再分極及び QT 間隔に対する被験物質の作用の評価を困難にする。動物間で心拍数が変動する重要な状況としては 2 通りある。1 つは自律神経緊張度の相違による変動であり、他方は被験物質の心拍数に対する作用による変動である。よって、*in vivo* 評価系のデータの解釈では、同時に起きている心拍数の変化の影響を考慮すべきである。理想的には、被験物質投与後に得られた QT 間隔のデータを、同じような心拍数において得られた対照投与時並びに被験物質投与前のデータと比較すべきである。心拍数の変動が被験物質によるものでない場合、馴化あるいは麻酔動物の使用により変動を減少させることができる。被験物質により心拍数が増加する場合、最も一般的な対処方法は Bazett あるいは Fridericia などの補正式を用いて心拍数に対して QT 間隔を補正することである (QTc)。心拍数の補正式の選択の妥当性は、試験系のデータを基に説明されるべきである。投与群と対照群との心拍数の差が大きい場合、これらの補正法は QT 間隔延長のリスクを評価するのに有効でない場合がある。別の手段として、心臓ペーシングを用いて心拍数を一定に維持する方法がある。動物個体別に補正式を用いて QT 間隔を補正することも含めた QT/RR 関係の解析がより適切であろう。

In vivo 電気生理学的試験に使用される試験動物には、イヌ、サル、ブタ、ウサギ、フェレット及びモルモットなどがある。成熟したラット及びマウスでの再分極過程におけるイオン機序はヒトを含む大型の動物種と異なる（成熟したラット及びマウスでは、再分極をコントロールする主なイオン電流は I_{to} である）。そのため、これらの種を用いることは適切ではない。最も適切な *in vivo* 試験系及び動物種を選択し、その選択の正当性を示すべきである。

用量範囲は ICH S7A に論じられているものと一致させるべきであり、可能な限りヒトでの推定曝露量を含み、さらにそれを超えるように設定されるべきである。用量範囲は例えば嘔吐、振戦、あるいは活動性亢進のような被験物質に対する動物の不耐容性により限定される。被験物質及びその代謝物の濃度と心室再分極の遅延度との関係を検討するよう計画された試験では、一定速度での点滴静注により制御された曝露法を用いることができる。被験物質及びその代謝物への曝露をモニターすることにより（ICH S3A 参照）、用量反応及び濃度反応データを解釈し、しかるべき場合にはフォローアップ試験を計画することができる。

試験の実施及び試験成績の解釈において考慮すべき事項には以下のものが含まれる：

- データの採取及び解析方法
- 試験系の感度及び再現性
- 投与期間及び測定時期
- QT 間隔データの解釈を困難にする心拍数及び他の影響
- 動物種差及び性差（例：心臓の電気生理、血行動態又は薬物代謝）
- 複数種のイオンチャンネルに影響を及ぼす薬剤は解釈の困難な複雑な用量反応関係を示すことがある。

3.1.4 病態モデルと不整脈

被験物質による心室再分極の遅延と催不整脈のリスクとの正確な関係は不明である。（不整脈モデルを用いて）QT 間隔を延長する医薬品の催不整脈のリスクを直接的に評価しようとすることは、当然の試みであろう。催不整脈作用を表す指標（例：電氣的不安定性、不応期の時間的／空間的ばらつき、逆頻度依存性、活動電位波形の変化）及び動物モデルは、催不整脈性を評価するのに有用かもしれない。これらのモデルを開発し、ヒトでのリスク予測における有用性を検証することを強く勧める。