

医薬品規制調和国際会議

ICH ドラフトガイドライン

医薬品の生殖発生毒性試験
S5(R3)

現行のステップ 2 版
2017 年 7 月 5 日付け

目次

1	ガイドラインの適用範囲	5
2	緒言及び一般原則	5
3	生殖毒性評価戦略	6
3.1	考慮事項／原則	6
3.1.1	対象患者集団／適応症に関する考慮事項.....	7
3.1.2	薬理学的考慮事項.....	7
3.1.3	毒性に関する考慮事項.....	8
3.1.4	実施時期に関する考慮事項.....	8
3.1.5	生殖発生毒性試験に関するその他の考慮事項.....	8
3.2	受胎能および初期胚発生に関する戦略	9
3.3	胚・胎児発生（EFD）に関する戦略	10
3.3.1	EFD リスクに対処するための通常のアプローチ	10
3.3.2	EFD リスクに対処するための選択的アプローチ	12
3.3.2.1	代替試験法の利用.....	12
3.3.2.2	<i>In vitro</i> 及び非哺乳類の曝露情報	13
3.3.3	総合的試験戦略の一環として <i>in vivo</i> 試験を延期するアプローチ	14
3.4	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能（PPND）に関する戦略 ..	14
3.5	トキシコキネティクス（TK）	15
4	試験系の選択	15
4.1	通常の試験動物種	15
4.1.1	生殖毒性試験で第一の動物種として用いられるラット.....	16
4.1.2	EFD 試験で第二の動物種として用いられるウサギ	16
4.1.3	予防用及び治療用ワクチンのための動物種選択.....	16
4.2	特別な試験動物種	17
4.3	その他の試験系	17
4.3.1	病態モデル動物の使用.....	17
4.3.2	遺伝子改変動物及びサロゲート分子の使用.....	18
5	用量設定、投与経路及び投与スケジュール	19
5.1	バイオテクノロジー応用医薬品を含む全ての医薬品に共通する用量設定	19
5.1.1	毒性に基づくエンドポイント.....	20
5.1.2	ADME に基づく全身曝露の飽和に関するエンドポイント	20
5.1.3	曝露量に基づくエンドポイント.....	20
5.1.3.1	曝露量（結合型と非結合型を合わせた曝露量 vs.非結合型の曝露量）に関する留意事項.....	21

5.1.3.2	特異性の高い標的治療における曝露量に基づくアプローチ	22
5.1.4	投与可能な最大用量（MFD）に基づくエンドポイント	22
5.1.5	限界量に基づくエンドポイント	22
5.1.6	高用量以外の用量設定	22
5.2	ワクチンの用量設定及び試験デザイン	23
6	哺乳類を用いた <i>in vivo</i> 試験のデザインと評価	24
6.1	すべての生殖ステージ(A→F)を評価する三試験計画法	24
6.2	単一試験計画法	24
6.3	二試験計画法	24
6.4	反復投与毒性試験と FEED 試験を組み合わせた試験計画法	25
6.5	データの評価	25
6.5.1	<i>In vivo</i> 試験に関するデータの取扱い／データの提示／統計	25
6.5.2	統計	26
7	リスク評価の原則	27
7.1	生殖発生毒性に関するリスク評価	27
7.2	授乳に関するリスク評価	29
8	注釈	29
9	用語	31
10	参考文献	33
11	付属書	34
11.1	動物種ごとの利点と欠点一覧	34
11.2	<i>In vivo</i> 試験デザイン	38
11.2.1	受胎能及び着床までの初期胚発生（FEED）に関する試験	38
11.2.2	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能（PPND）に関する試験	39
11.2.2.1	幼若動物毒性を評価するためのげっ歯類を用いた PPND 試験の改変	41
11.2.2.2	ヒト以外の霊長類（NHP）を用いた単一試験（ePPND）	41
11.2.3	胚・胎児発生（EFD）に関する試験	42
11.2.3.1	用量設定（DRF）試験	42
11.2.3.2	予備的 EFD（pEFD）試験	42
11.2.3.3	EFD 本試験	42
11.2.4	組み合わせ試験	43
11.2.4.1	受胎能及び胚発生（FEFD）に関する試験	43
11.2.4.2	受胎能及び PPND（FPPND）に関する試験	43
11.3	規制当局による受入れのための代替法の適格性確認	44
11.3.1	ICH 対照物質リストの選択要因	44

11.3.2	パフォーマンスファクター.....	45
11.3.3	規制当局に提出すべき代替法の適格性に関する情報.....	46
11.3.4	ICH 対照物質リスト	47
11.3.5	EFD 試験戦略の例	54
11.3.5.1	適切な動物種が 2 種類以上ある場合のシナリオ（参照： 動物種選択）	56
11.3.5.2	薬理学的に適切な動物種がない又は 1 種だけの医薬品に 該当するシナリオ（参照：動物種選択）	60

1 ガイドラインの適用範囲

本ガイドラインは、バイオテクノロジー応用医薬品（以下、バイオ医薬品）、感染症予防ワクチン（及びワクチンに含まれる新規構成成分）を含むすべての医薬品及び添加剤に適用される。細胞加工製品、遺伝子治療用製品には適用されない。本ガイドラインで概説する方法論の原則（試験計画、用量設定、動物種選択など）は、進行がんなどの重篤かつ生命を脅かす疾患の治療のための医薬品（ICH S9 (3)参照）にも適用できる。いつ、どのような生殖発生毒性試験が必要とされるかについては、本ガイドラインと ICH M3(R2) (1)、ICH S6(R1) (2) 及び ICH S9 (3) を併せて読むこと。

2 緒言及び一般原則

本ガイドラインの目的は、医薬品に関して生殖に対するハザードを特定し、リスクを判定するための試験戦略を立てる際に重要な考慮事項を提供することである。このガイダンスでは、既存データの利用に関する情報を提供し、リスクを特定、評価及び伝達する上で、利用可能なデータを補完する試験計画がどのようなものかを明確にする。さらに、臨床開発や製造販売承認申請の裏付けとして試験データを解釈し、生殖リスクを評価する際に検討すべき一般概念や推奨事項が提供される。

医薬品の生殖発生への影響を評価するためには、一般的に成熟動物の曝露及び受精から性成熟までの全発生ステージに対する影響を情報に含めるべきである。起こりうるすべての事例をカバーする十分な情報を提供しうるガイドラインは存在しないため、試験戦略には柔軟性が必要である。モダリティ（用語参照）に関わらず、総合的試験戦略全体を構築する際に考慮すべき重要な点を以下にあげる。

- 対象患者集団において予想される医薬品の用法（特に生殖能力と疾患の重篤度との関連性）
- 医薬品の剤型と臨床適用経路
- 毒性、薬力学、薬物動態、他剤との構造や活性の類似性に関する既存データの利用
- 具体的な試験、試験動物種／試験系及び用量の選択

本ガイドラインでは、これらの概念について詳細に検討され、試験戦略を構築するための示唆に富むアプローチが定義される。また、生殖発生毒性リスクに関する知見が不足している生殖ステージ（以下参照）への影響を評価する上で、必要不可欠な試験のみを実施するために、医薬品や患者集団に関する情報を活用することを推奨する。

必要に応じて、一つの完全なライフサイクル（即ち、ある世代の受精から次世代の受精までの期間）を通じた観察により、曝露による即時的及び遅発的な作用を検出することが可能となる。本ガイダンスにおいて、妊娠 0 日目（GD 0; 用語参

照)とは交尾の証拠が認められた日とする。一般的には以下の生殖ステージの評価が行われる。

- A) 交尾前～受精 (成熟雌雄動物の生殖機能、配偶子の発生及び成熟、交尾行動、受精)
- B) 受精～着床 (成熟雌動物の生殖機能、着床前発生、着床)
- C) 着床～硬口蓋閉鎖 (成熟雌動物の生殖機能、胚発生、主要な器官の形成)
- D) 硬口蓋閉鎖～妊娠終了 (成熟雌動物の生殖機能、胎児の発生と成長、器官の発生と発達)
- E) 出生～離乳 (成熟雌動物の生殖機能、新生児の子宮外生存への適応、離乳前の発生と成長)
- F) 離乳～性成熟 (離乳後の発生と成長、独立生存への適応、完全な性機能の確立)

各試験でカバーする生殖ステージは申請者の判断に委ねられるが、医薬品開発における試験の実施時期については、対象集団や薬剤の開発相に依存する (ICH M3(R2) (1)、ICH S6(R1) (2)および ICH S9 (3)参照)。

また本ガイドラインは、リスク判定の一環として、入手可能なすべての非臨床情報を解釈する上での考慮事項も提供する。

3 生殖毒性評価戦略

3.1 考慮事項／原則

はじめのステップでは、各生殖ステージに対して生殖毒性試験が必要かを検討し、必要な場合には、実施すべき最も適切な試験が何かを判断する。その際の考慮事項としては、a)対象患者集団及び投与期間、b)被験物質に関する既知の薬理作用、c) 被験物質に関する既知の毒性、d)薬効の標的が生殖リスクに及ぼす既知の知見 (ヒトや動物の遺伝学的な情報、クラスエフェクトなど)、そして e)ハザードやリスクを特定する上で信頼できる *in vitro* や非哺乳類の試験法 (代替法、用語参照) からのデータ (3.3.2節参照) があげられる。生殖発生毒性リスクの評価における代替法の適格性確認と利用については後述した (3.3.2 節及び 11.3 節)。一般的に、開発された代替法のほとんどは胚・胎児発生 (Embryo-Fetal Development: EFD) に関連するエンドポイントに対応するものであり、3.3.2 節で述べる。しかしながら、その他の生殖に関するエンドポイントについても、新規試験法が開発され、適切に試験の適格性が確認されるのであれば、同様に活用することができる。

データを得るため試験戦略においては、動物の使用を最低限に抑えるよう考慮すべきである。代替法や、より少数の動物を用いて実施する *in vivo* 試験によって、段階的にハザードを特定することができる。また、EFD 試験の本試験の実施を医

薬品開発の後期に延期することによって、使用動物数を削減することも可能である（下記参照）。代替法を利用することで、本試験を開発後期まで延期できるような状況において、本試験の代わりとすることが可能である（3.3 節参照）。全体の試験戦略を検討する上で、進行中の臨床開発をサポートする追加情報（妊娠可能な女性への投与を裏付けるための発生毒性（用語参照）データなど）が得られる時期は重要な要素である。

生殖発生毒性試験はリスク評価に利用されるため、原則として GLP 下で実施すべきである。しかしながらヒトでの発生あるいは生殖リスクが、適切な非 GLP 試験で明らかになった場合、当該知見を確認するために GLP 試験を繰り返す必要はない。予備的な胚・胎児発生（preliminary EFD: pEFD、用語参照）試験は、科学的に質の高い水準で実施され、かつデータの収集記録を容易に確認できるもの、あるいは GLP 下で実施されるべきである。病態動物やサロゲート分子（用語参照）などを用いた特別な試験系や試験方法を取り入れた試験、又は文献については、必ずしも GLP 下での実施が求められない場合がある。しかし、このような場合でも、科学的に質の高い水準を適用すべきであり、データの収集記録を容易に確認できるようにすべきである。その際には、GLP に準拠しない部分を特定し、当該箇所が安全性評価全体に与える重要性を評価すべきである。

3.1.1 対象患者集団／適応症に関する考慮事項

対象患者集団又は適応症が生殖毒性試験の実施範囲に影響を与えることがある。

例えば、

- 女性患者集団が閉経後の場合、いずれの生殖ステージも評価する意味はない。
- 高齢の男性患者に使用される医薬品については、生殖ステージ E 及び F を評価する試験の実施を必要とされない。
- 対象集団において、医薬品の使用によって生殖発生毒性に対する影響がほとんどないと考えられる疾患の場合、生殖ステージ C 及び D を評価する試験のみが必要とされる。
- 高度に管理された状況下での短期間の治療。

3.1.2 薬理学的考慮事項

試験実施前に、被験物質の薬理作用が、受胎能、正常な胚胎児発生、あるいは検討している試験のエンドポイント（全身麻酔剤と交尾行動の評価など）において不適合がないかを判断すべきである。この評価においては、被験物質の投与により影響を受ける生体内経路に対して同様の薬理作用を持つ他の医薬品のデータ、あるいは関連するヒトの遺伝性疾患に関する知見を根拠とすることができる。これらを考慮することによって、ある特定の生殖エンドポイントに関する試験が必要でない場合もある。一方、意図する薬理作用が生殖発生エンドポイントに対して有害ではない場合でも、オフターゲット作用による影響を評価する試験が必要

とされる場合がある。その例として、意図する薬理作用に似た条件下において患者が正常な生殖能力と健康な児を持つ場合や、薬理作用や影響を受ける生体内経路が類似している他の医薬品において、生殖発生リスクが認められない場合などがあげられる。

3.1.3 毒性に関する考慮事項

性成熟に達した動物を用いた反復投与毒性試験では、生殖器に対する毒性について重要な情報を得ることができる。化合物に関する既存の毒性データを考察する際には、用量段階、トキシコキネティクスプロファイル、投与期間を常に考慮すべきである。例えば、精巣に障害を与える医薬品の受胎能を評価するには、もし適切であるならば、標準的な受胎能試験に改変することが必要となるかもしれない。

動物試験では毒性所見のために、臨床曝露量までの全身曝露が得られない場合には、その旨を説明すべきである。

3.1.4 実施時期に関する考慮事項

臨床試験の実施する上で、A から F の生殖ステージをカバーする生殖発生毒性試験の実施時期に関する一般的なガイダンスは、ICH M3(R2)及び ICH S9 (1, 3)に記載されている。特定の生殖発生毒性を評価する時期については、上記の検討を考慮に入れるべきである。これらの要素に基づき、特定の生殖ステージへの影響を評価する時期を変更することが適切な場合がある。例えば、予備試験での結果が不明確で、同クラスの他の化合物にリスクが認められない場合、本試験を早期に実施することを考慮すべきである。一方、生殖発生毒性試験の実施を延期する場合もある。例えば、他の試験でリスクが明らかになり、臨床試験において適切な予防措置が取られている場合、該当する生殖ステージへの影響を評価のための本試験は ICH M3(R2)で推奨されているよりも開発の後期に延期することができる。ヒト以外の霊長類 (Non-Human Primate: NHP) での単一試験 (enhanced Pre- and Postnatal Development: ePPND) を実施する際の実施時期については ICH S6(R1) (2)を参照のこと。

生殖発生毒性試験の延期を含む追加的オプションについては 3.3.3 節にて検討する。

3.1.5 生殖発生毒性試験に関するその他の考慮事項

一部の動物種や化合物に関しては、単一の試験で複数の生殖ステージを評価するほうが適切な場合がある (NHP を用いたモノクローナル抗体の評価など、ICH S6(R1) (2)参照)。生殖毒性エンドポイントを別種類の試験の一部として評価することも考えられる (反復投与毒性試験の一部としての雄の受胎能を評価するなど、3.2 節参照)。

PPND 試験又は ePPND 試験をデザインする際には、小児に使用された際の安全性を裏付けるために、幼若動物のエンドポイントを含めることも考慮すべきである。（11.2.2.1 節参照）。

代替法については、胚・胎児発生エンドポイントの評価のための総合的試験戦略の一部として説明する（3.3.2 節参照）。

3.2 受胎能および初期胚発生に関する戦略

受胎能試験の目的は、雄や雌の交尾前、交尾から着床までを通した期間の投与による悪影響を検討することである。これは生殖ステージ A 及び B の評価からなる。（6 節及び 11.2 節を参照）。

受胎能試験は、通常げっ歯類やウサギでのみ行われる。交尾能の評価は、イヌや NHP などの非げっ歯類では通常不可能である。例えば、もし NHP が薬理学的に適切な唯一の動物種である場合（多くのモノクローナル抗体の場合など、ICH S6(R1) (2)参照）には、受胎能は反復投与毒性試験（病理組織学的検査など）の結果に基づいて評価可能である。

反復投与毒性試験における生殖器の病理組織学的検査は、動物が性成熟に達していれば、雄と雌の受胎能に対する主な影響を検出する上で感度の高い方法である。

長期反復投与試験で使用するイヌ及びミニブタは、通常、試験終了時までには性成熟に達する動物を使用すべきである。もし受胎能の評価に NHP を使用するのであれば、試験終了時に十分な数の成熟動物が含まれるべきである。

受胎能に対する影響を反復投与毒性試験の中で評価するのであれば、雌雄の生殖器について、広範囲な病理組織学的検査を実施すべきである（注 1）。

被験物資の作用機序や既存の試験データにおいて懸念要因がある場合には、精子の採取や発情又は月経周期のモニタリングなどの追加評価を反復投与毒性試験に含めることができる。生殖器に対する影響の初期評価は、投与期間が 2～4 週間の試験で得られると考えられる。当該情報は、その後実施されるより長期の反復投与毒性試験での同様の評価で補足される。

受胎能に特化した試験には交配が含まれ、生殖器の病理組織学的検査では評価できない影響を検出するために実施される。しかしながら、反復投与毒性試験において雄や雌の生殖器に臨床的に意義のある有害作用が認められる場合には、生殖器に影響を受けた性での通常の受胎能試験については実施意義が限定的であり、必要はない。同様に、生殖年齢の患者に使われない医薬品には、受胎能試験を実施する必要はない。通常、反復投与毒性試験の結果を、受胎能試験のデザインに利用することは可能であり、受胎能試験のための用量設定試験を実施する必要はない。

受胎能に対する有害作用が予想されない場合、雌雄を同一の受胎能試験で評価することは可能である。しかしながら、受胎能に対する影響が認められた場合には、被験物質の投与により、どちらの性に影響がみられたかを明らかにすべきである。

また、病態生理学的評価によって、受胎能に対する影響が回復可能かどうかを見極められない場合には、投与による影響について回復性を評価すべきである。これらの見極めはリスク評価に重要な影響を与える。

3.3 胚・胎児発生（EFD）に関する戦略

EFD 試験の目的は、主要な器官が形成される時期（生殖ステージ C）の雌に被験物質を曝露し、妊娠動物及び胚・胎児の発生への有害作用を検出することである。EFD 試験には、胎児の発生及び生存に関する完全な評価が含まれる。標的特異性が高くない大半の医薬品（低分子など）では、通常 EFD の評価は 2 種の動物種（げっ歯類及び非げっ歯類）を用いて実施されるが、EFD に対する影響を 1 種の動物種で評価することで十分な場合もある。EFD 試験における基本的な戦略を図 3-1 に示す。

3.3.1 EFD リスクに対処するための通常のアプローチ

げっ歯類又はウサギの使用が適切である場合には、試験動物種のうち少なくとも 1 種は意図する薬力学反応を示す動物種を用いるべきである（4 節）。通常用いられるどの試験動物種（11.1 節参照）においても、薬力学的に活性を示さない医薬品の場合には、遺伝子改変動物やサロゲート分子を考慮することができる。特異性の高い標的分子の場合には、以上のデータで十分である。一方、標的特異性が高くない医薬品の場合、通常のげっ歯類又はウサギに被験物質を投与し、オフターゲット効果を評価すること適切である。

しかしながら、本試験を延期（表 3-1）又は代替（11.3.5 節）するために、他のアプローチを利用することも可能な場合もある。あるいは、追加の非臨床試験を実施しなくても、リスクを伝えるのに適切な情報が得られる場合もある。意図する薬理機序が EFD への有害作用（作用機序、遺伝子改変動物の表現型、クラスエフェクトなど）を示唆するエビデンスがあれば、リスクコミュニケーションには十分と考えられる。

生殖発生毒性リスクを評価するための情報が試験を実施することで得られると科学的に判断できる場合、低分子やバイオ医薬品においては、NHP の代わりに通常とは異なる動物モデルやサロゲート分子を検討することができる（4.3 節）。

ある特定の条件下では、1 種の動物種を用いた胚・胎児発生毒性試験で許容されることもある。その一例として、標的特異性が高い医薬品（バイオ医薬品に関しては ICH S6(R1) (2)参照）の生殖発生毒性試験において、使用可能でかつ適切な動物種が 1 種しかない場合があげられる。別の例としては、標的特異性が高くない医薬品の生殖毒性試験において、選択した動物種が、毒性に加えて、薬力学、薬物動態、代謝物プロファイル等のデータに基づいて、ヒトのモデルとして適切であることが示される場合である。適切な曝露の結果、明らかに陽性結果（催奇形性や胚・胎児致死性（Teratogenic and/or embryofetal lethal: TEFL; 用語参照））が認められた場合には、第二の動物種を用いた試験は必要とされない。

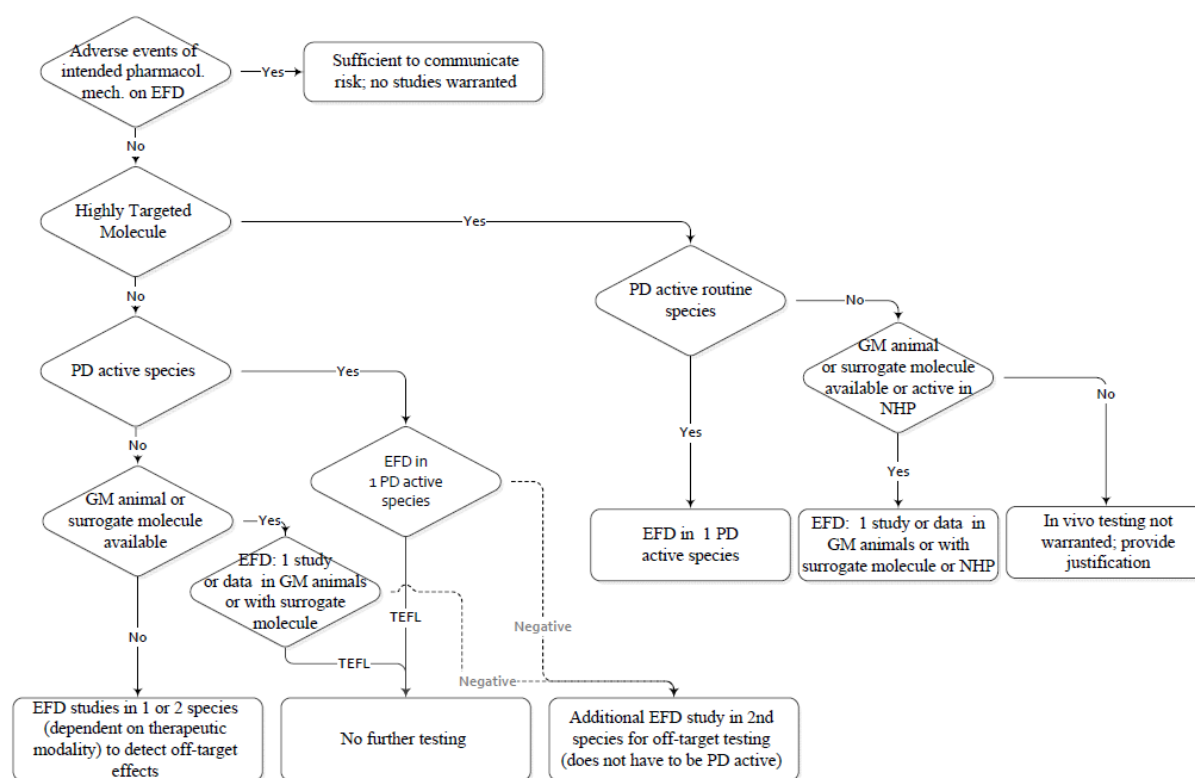
薬理学的に適切な動物種がない場合（薬理学的標的がヒトにしか存在しないなど）には、モダリティや適応症に応じて、適宜、オフターゲット作用や副次的薬理作用を検出するため、2種の動物種を用いた EFD 試験が必要となる。

バイオ医薬品に関しては、生殖発生毒性試験に用いられるいずれの適切な動物種において、相同な配列を有する標的分子（オーソログ）にもバイオ医薬品が相互作用せず、適切な動物種が特定できない場合には、ICH S6(R1) (2)に記載のとおり、サロゲート分子や遺伝子改変動物の使用を検討することが可能である。適切な動物種、遺伝子改変動物又はサロゲート分子が利用できない場合、*in vivo* 生殖発生毒性試験の実施意義はない。しかしながら、この場合には当該結論に至ったアプローチについて根拠を示すべきである。

生殖発生毒性試験で用いられる動物種でオーソログに作用せず、一方でオフターゲット効果が予想されるようなモダリティの場合、サロゲート分子あるいは遺伝子改変動物の使用を検討することができる。

総合的試験戦略に関して有用なシナリオを付属書 11.3.5 節に示す。

図 3-1 EFD に関する一般的な戦略



Adverse events of intended pharmacol. mech. on EFD	目的とする薬理機序の EFD に対する有害事象
Highly Targeted Molecule	特異性の高い標的分子
PD active species	薬力学的活性を示す動物種がある
GM animal or surrogate molecule available	遺伝子改変動物又はサロゲート分子が利用可能

EFD studies in 1 or 2 species (dependent on therapeutic modality) to detect off-target effects	オフターゲット作用を検出するため 1種又は2種（モダリティによる） の動物種を用いた EFD 試験
Sufficient to communicate risk; no studies warranted	リスクを伝えるのに十分で、試験は 必要とされない
PD active routine species	薬力学的活性を示す通常の動物種
GM animal or surrogate molecule available or active in NHP	遺伝子改変動物又はサロゲートが利 用可能、あるいは NHP で薬力学的 活性が認められる場合
EFD: 1 study or data in GM animals or with surrogate molecule or NHP	EFD: 1 試験、遺伝子改変動物、サロ ゲート又は NHP を用いたデータ
In vivo testing not warranted; provide justification	In vivo 試験は必要とされないが、そ の根拠を示す
EFD in 1 PD active species	薬力学的活性を示す 1 種の動物種を 用いた EFD 試験
EFD: 1 study or data in GM animals or with surrogate molecule	EFD: 1 試験、あるいは遺伝子改変動 物やサロゲートを用いたデータ
No further testing	追加試験は必要なし
Additional EFD study in 2 nd species for off-target testing (does not have to be PD active)	オフターゲット作用を評価するため の第二の動物種を用いた追加の EFD 試験（薬力学的に活性を示す必要は ない）
Negative	陰性

3.3.2 EFD リスクに対処するための選択的アプローチ

3.3.2.1 代替試験法の利用

In vitro、*ex vivo* や非哺乳類 *in vivo* などの代替試験法（以下、代替法）を用いることにより、適切な生殖発生毒性リスクの検出能力を維持しながら、動物の使用を削減することができる。適格であることを確認（以下、適格性確認）（注 2）した代替法は、上記に記載した通常の *in vivo* 生殖発生試験の代替として適切なアプローチとなる。適格性確認をした代替法は、*in vivo* 生殖発生毒性試験と組み合わせで評価される場合において、生殖発生毒性リスク評価に適切である。当該代替法により、すべての *in vivo* 生殖発生毒性試験を代替することはできないが、*in vivo* での哺乳類動物を用いた試験数や使用動物数を削減することは可能である（3.3.2.1 節）。総合的試験戦略で使用する場合のシナリオをいくつか付属書 11.3.5 節に示した。さらに、通常のアプローチでは、第二の動物種を用いた試験が実施されることがあるが、投与経路、曝露、作用機序などを考慮に入れた場合、状況によっては代替法により多くの情報が得られることもある。

EFD リスクを評価するための総合的試験戦略において、代替法を組み込むことが許容されるかどうかは、疾患の重篤性、患者集団の特性、特定の治療対象に対する従来の試験系の限界などの様々な要因によって決定される。発生毒性に対する薬理学的あるいは生物学的妥当性が重要な考慮事項となる。

本ガイドラインは特定の試験法を推奨するのではなく、規制当局への申請に用いられる際の、試験法の適格性確認に関する基本原則を示す（11.3.2 節）。

代替法の適切な使用には、当該代替法の信頼性及び *in vivo* 生殖発生毒性試験の結果に対する予測性を把握することが重要である。胚・胎児の発生／死亡（注 3）を代替法で評価する際において、利用可能な様々な参照化合物に関する情報を付属書に示す。一連の試験法／評価により予測性が向上する可能性もある。

場合によっては、哺乳類を用いた 1 つ以上の EFD 試験と適格性確認をした代替法を組み合わせ、そのデータを試験戦略に利用することも可能である。試験戦略に組み入れる代替法はすべて、意図する使用できると判断した背景・根拠（以下、使用の背景）に関する適格性を確認すべきである（9.5 節）。リスク評価を目的として代替法を実施する際（特に何のハザードも認められない場合）には、原則として GLP 下で実施すべきである。使用の背景（用語参照）としては以下のケースが考えられるが、これらに限定されるものではない：

- a. 11.3.5 節のシナリオにあるように、胚・胎児発生を評価する上での総合的試験戦略の一部に利用される場合
- b. 3.3.3 節で述べられているように、本試験を延期する場合
- c. 1 種の動物種を用いた拡充型（enhanced）pEFD 試験との組み合わせにおいて、1 種の動物種を代替する場合
- d. EFD に対する有害作用を示唆する、あるいは動物試験において不確かな結果が得られた場合に科学的な重要度を裏付けるエビデンス（発生生物学における基本的な生体内経路に影響する作用機序、遺伝子改変動物からの表現型、クラスエフェクトなど）が得られた場合
- e. 通常に用いられる試験動物種において、毒性（オンターゲットやオフターゲット毒性）のために、動物での全身曝露量はヒトでの曝露量に達しないが、代替法ではより高い曝露下で評価できる場合
- f. 眼内投与後のようにヒトでの全身曝露が低い（胚・胎児曝露がない）場合

また、適格性を確認した代替法から得られる情報は、全ての *in vivo* 非臨床試験及び臨床試験成績とともに、総合的リスク評価アプローチの一部として用いられるべきである（7 節、リスク評価の原則参照）。

3.3.2.2 *In vitro* 及び非哺乳類の曝露情報

本ガイドラインの 7 節でリスク評価の目的について示すように、生殖毒性試験成績を解釈する際には曝露量を考慮することが重要である。これは *in vitro* あるいは非哺乳類を用いた試験系にも適用される。リスク評価に用いられる薬物動態パラメータは、EFD 評価が実施された *in vivo* での曝露濃度との関連で、試験法の適格性がどのように確認されたかによって決まり、標準化のために何らかの因子が使用されていればそれを考慮する。例えば、*in vitro* 試験で毒性が認められなかった際の最高濃度を、試験法の適格性確認における標準化の因子に適用し、ヒトの C_{max} と比較することで、ヒトでの潜在的リスクを評価することができる。

3.3.3 総合的試験戦略の一環として *in vivo* 試験を延期するアプローチ

表 3-1 は、EFD 本試験の実施を延期する際に、妊娠可能な女性（Woman of Child-Bearing Potential: WOCBP）を臨床試験に組みこむためのアプローチを説明したものである。このアプローチは 2 種の EFD 本試験が必要とされる医薬品の開発に適用される。

アプローチの 1 つは、2 種の動物種のうち 1 種を用いて拡充型 pEFD 試験を実施することである。この場合、pEFD 試験（ICH M3(R2)）は GLP 下で実施すべきであり、妊娠動物数は一群あたり 6 匹から 8 匹以上に増やし、胎児骨格検査を含めるべきである。

表 3-1 2 つの動物種での EFD 本試験を延期するためのアプローチ

アプローチ	開発ステージ			
	限定的な WOCBP の組み込み a	第Ⅲ相試験開始前まで WOCBP 組み込みは無制限 (第Ⅱ相 a/b 試験の裏付け)b	製造販売承認前まで WOCBP 組み込みは無制限 (第Ⅲ相試験の裏付け)	製造販売承認申請時 c
A	第一の動物種での EFD (拡充型 pEFD 又は本試験) + 適格性確認した代替法		第二の動物種での EFD 本試験	未実施の場合、第一の動物種での EFD 本試験
B	第一の動物種での pEFD + 第二の動物種での EFD (拡充型 pEFD あるいは EFD 本試験		第一の動物種での EFD 本試験	未実施の場合、第二の動物種での EFD 本試験
C ^d	2 種の動物種での pEFD	2 種の動物種での EFD 本試験		

^a 比較的短期（最長 3 ヶ月）の治験治療を受ける WOCBP 最大 150 名

^b 全てのアプローチに「妊娠を回避する予防措置が取られる場合（上記参照）」が含まれる

^c モノクローナル抗体については、通常 ePPND は製造販売承認前までに実施される（ICH S6(R1)参照）

^d 地域間の違いについては ICH M3(R2)を参照

3.4 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能（PPND）に関する戦略

PPND 試験の目的は、着床から離乳まで母体に曝露し、妊娠中あるいは授乳中の雌および児の発生に対する有害作用を検出することである。この期間における有害作用は遅発性である場合があることから、児の発育は性成熟完了まで評価する（生殖ステージ C から F）。PPND に通常用いられる動物種はラットであるが、評価するエンドポイントを変更すれば、他の動物種も利用可能である。

多くの場合、それまでに実施した他の試験結果から、本試験をデザインするために必要な情報が入手できることから、予備的 PPND 試験は必須ではない。しかしながら、出生児を離乳前あるいは離乳時に安楽死させる予備的 PPND 試験によって、用量設定、試験デザインのための情報、あるいは出生児の曝露データが得られることもある。

NHP のみで評価可能な医薬品に関しては、ePPND 試験により限定的な出生後評価が可能であるが、出生児を成熟までの期間を通して評価することは現実的ではない。ePPND の実施時期は ICH S6(R1) (2)を参照のこと。

3.5 トキシコキネティクス (TK)

通常トキシコキネティクス (TK) データの取得は必要であり、データの利用について本文書の至る所で示されている。TK データの収集に関する一般的な考え方は ICH S3A に示されている。

発生に対するハザードに関する矛盾点や不確かなエビデンスを解釈する上では、胎児の薬物濃度を測定することが重要な場合がある。しかしながら、ヒト胎児曝露への外挿性は限定的であることから、胎盤移行の測定は通常必要とされない。

多くの医薬品は乳汁中に分泌されるが、動物の乳汁中分泌データがヒトでのリスク評価において、どの程度の価値をもつか不明確である。このため動物の乳汁中薬物濃度の測定は通常必要とされない。しかしながら出生児の薬物濃度は、離乳期前に観察される所見を解釈する上で裏付けとなる。

4 試験系の選択

4.1 通常の試験動物種

試験実施が必要な場合には、哺乳類を使用しなければならない。通常、第一の動物種としては、薬物動態や代謝の特徴づけ、及び用量設定のための追加試験を避けるために、他の毒性試験に用いた動物種・系統を使用することが望ましい。使用する動物種は健康状態、受胎能、生殖能、形態異常及び胚・胎児死亡に関する自然発生率に関して十分に明確にするべきである。一般的には、同一試験内及び試験相互間において、試験開始時の齢、体重、出産歴がほぼ同一である動物を用いるべきである。そのため、投与開始時点において若齢かつ性成熟した動物を用い、雌については未交配の動物を用いることが望ましい。ただし、NHPを用いた ePPND 試験は例外であり、経産動物が有用な場合がある。

試験に用いる動物種は、利点と欠点を考慮して、適切なものを選択すべきである (11.1 節、表 9-1 参照)。選択した動物種が、以下の考慮事項においてヒトと大きく異なる場合には、生殖発生毒性のデータを解釈する際に、その影響を考慮すべきである (7 節、リスク評価の原則参照)。しかしながら、評価に必要なすべての生殖に関するエンドポイントやパラメータを、必ずしも 1 種の動物種を用いてすべて評価可能というわけではない。

医薬品と動物種の相互作用に関連して、動物種を選択する際に追加の考慮事項としては、次のようなものがある。

- a. 薬物動態及び代謝物プロファイル (ヒトでの主要な代謝物についての十分な曝露を含む。ICH M3(R2) (1)参照)

- b. 薬理学的標的を動物種が発現しているかどうか（内因性あるいは外因性の標的分子であるなど）や選択した動物種で医薬品が当該標的分子に対して十分な親和性を持つかどうか。
- c. 医薬品の機能的な薬理活性が試験動物種で認められるかどうか。

特異性が高い標的分子の場合、ICH S6(R1) (2)で詳細に説明されているように、薬理学的に適切な動物種の選択が特に重要となる。

4.1.1 生殖毒性試験で第一の動物種として用いられるラット

ラットは、実用的かつ薬理学的によく知られ、医薬品の開発中に得られる非臨床所見を解釈する上で広範な毒性データが利用可能であること、さらに背景データが多く存在することなどの理由により、一般的に最もよく使用される動物種である。このため、一般毒性試験における動物種選択の方法を踏まえると、多くの場合、ラットは生殖毒性試験に適切な動物種である。

4.1.2 EFD 試験で第二の動物種として用いられるウサギ

EFD試験に限っては、例外はあるものの（ワクチンや治療用抗体など、4.1.3節および 4.2 節参照）、第二の動物種として、非げっ歯類がしばしば必要とされる。ウサギは、げっ歯類では検出できなかったヒト催奇形性物質の特定に役立つことが明らかになっており、広範な背景データ、動物の入手しやすさ及び実用性を踏まえて、非げっ歯類として通常 EFD 試験に用いられる。

4.1.3 予防用及び治療用ワクチンのための動物種選択

アジュバントの有無によらず、ワクチンの非臨床試験に用いられる動物種は、ワクチンに対して免疫反応を示さなければならず、通常、ウサギ、ラット及びマウスが使用される。免疫反応には、質的及び量的な種差（液性及び細胞性免疫など）が存在する可能性があるが、NHPの使用については他に適切な動物種が選択できない場合に限るべきである。ワクチンについては、通常 1 種の動物種を用いて生殖発生毒性試験を実施すれば十分である。

ワクチンの生殖発生毒性試験に最も利用される動物種はウサギであるが、他の動物種も利用可能である。ヒトと同様に、霊長類では母親由来抗体の胎盤を介した胎児への移行は限られているが、通常は妊娠の進行に伴って増加する。一般的に生殖発生毒性試験に用いられる他の動物種では、胎盤を介した胎児への移行に関する経時的変化は異なる。実施する生殖発生毒性試験の種類及び動物種の選択については、観察する免疫反応と適切な用量の投与可否に基づいて適切性を示すべきである。

NHPを含めても適切な動物モデルがない場合でも、ウサギ、ラット又はマウスを用いた生殖発生毒性試験を実施することで、ワクチン構成成分／製剤における潜在的な胚・胎児毒性作用や妊娠中の安全性に関する重要な情報が得られる。

4.2 特別な試験動物種

上記に示した通常の試験動物種を用いる戦略ではなく、他の手法を用いることが適切な場合もある。しばしば遭遇する例としては、ウサギが EFD 試験に適切でない場合があげられる。このような状況では、リスク評価可能な他の動物種あるいはアプローチを考慮してよい。

様々な生殖ステージに対する医薬品の影響を評価する上で、通常の用いられない多くの動物種が用いられてきた。代替動物種の適切性は、評価すべき生殖エンドポイントに依存する（11.1 節の表 9-1 参照）。

ICH S6(R1) (2)に示されているように、特にバイオ医薬品において NHP についても生殖発生毒性評価に用いることは可能である。NHP の使用については、医薬品の薬理作用が正常な発生や妊娠維持に悪影響を及ぼすか否かが不明で、かつ薬理学的に NHP のみが適切な動物種である場合に使用を検討すべきである。生殖発生毒性リスク評価における NHP の利用を制限する要素は他にもある（付属書 11.1 節および ICH S6(R1)参照）。低分子又はバイオ医薬品の評価において、動物で適切な薬理活性を惹起するサロゲート分子を使用する場合や、遺伝子改変動物からデータ得られる場合には、NHP の代わりに他の動物種を用いて検討することは可能であり、当該試験結果から生殖リスクを評価するための情報を得ることができる（4.3 節および 7 節参照）。

バイオ医薬品に関しては、生殖発生毒性試験を実施する上で、いずれの動物種でもオーソログに作用しない場合、ICH S6(R1) (2) および 4.3.2 節に記載されているように、サロゲートや遺伝子改変動物の使用が考慮される（4.3.2 節参照）。生殖発生毒性試験に有用な動物種においてオーソログが発現せず、オフターゲット作用を持つことも予想されるモダリティについては、これら双方に対処しなくてはならない場合がある。

生殖発生毒性評価のために使用される哺乳類を用いた *in vivo* 試験の代替、あるいは追加する位置づけとして、薬理的あるいは機序に関する情報、非哺乳類を用いた *in vivo* 試験又は生殖発生毒性を予測する *in vitro* 試験などの代替アプローチも考えられる（7 節のリスク評価の原則参照）。

4.3 その他の試験系

4.3.1 病態モデル動物の使用

通常、病態モデル動物は生殖発生毒性試験には利用されないが、それらが有益な場合もある。病態モデル動物を用いた試験は、正常動物から得られたデータでは誤解を生じる場合、あるいは病態モデル動物以外では臨床での病態生理に適用できない場合に役立つ。病態モデル動物を用いた生殖発生毒性試験がリスク評価の例としては、補充療法に用いる医薬品を開発する場合、標的分子が病態下でのみ発現する場合、被験物質の薬理活性のために正常動物では誤った結果を生じる可能性がある場合（低血糖や低血圧など）などがあげられる。

ヒトでの疾患を完全に再現する動物モデルは存在しないことを認識した上で、病態モデル動物を用いた生殖発生毒性試験を選択する際に考慮すべき要素はいくつかある。まず、当該モデルは、評価しようとする生殖発生エンドポイントに対して薬理学的に適切なものであるべきである。また、そのモデルにおける病態生理の経時的変化を明らかにすべきである。ヒトでの病態生理との差異が認められる場合でも、データの解釈に混乱をきたす懸念が高くなければ、その使用を除外するものではない。動物間のばらつきを明確にした上で、試験の背景を踏まえて、当該データを適切に取り扱うべきである。試験の評価に関しては、データの解釈を裏付けるために、参考資料を引用するか、試験期間中に情報を取得するべきである。

病態モデル動物を生殖発生毒性試験の本試験で用いることは可能だが、正常動物での生殖発生に対する有害作用を理解するための補完的なアプローチとして用いることが多い。病態モデル動物の使用とその生殖発生毒性試験のデザインについては適切性を示すべきである。

4.3.2 遺伝子改変動物及びサロゲート分子の使用

遺伝子改変動物及びサロゲート分子のいずれを用いても、生殖発生に対する薬理作用の影響を検討することは可能であり、それによりリスク評価のための情報が得られる。例えば、薬理作用が生殖発生に対する有害作用と密接にかかわっているのであれば、医薬品が投与された妊婦に対して有害作用を引き起す懸念があることを合理的に結論付けることができる。しかしながら、有害作用の懸念がある実際のヒトでの割合（発生率）は、薬理学的に適切な動物種が使われていたとしても動物試験からは見極められない。

遺伝子改変動物は、病態モデル動物の作製や医薬品の生殖発生毒性パラメータに対するオンターゲット及びオフターゲット作用を明らかにする上で利用可能である。当該モデルを用いれば、薬理作用が生殖発生に対する有害作用と密接に関わっているか否かについての情報を得ることができる。当該モデルを使用し、モダリティに基づいてオフターゲット作用が予想される場合には、臨床使用が予定されている候補医薬品（以下、臨床候補品）を当該モデルで評価し、オンターゲットとオフターゲット作用の双方を評価すべきである。

通常用いられる試験動物種において、臨床候補品がターゲット受容体に対する十分な活性を示さない場合には、生殖発生毒性への潜在的な有害作用を評価するために、モダリティによらずサロゲート分子を用いることが可能である。サロゲート分子の利用は、同様の薬理作用を持ち、構造的に多様な分子からクラスエフェクトを特定することに似ている。全体的なアプローチは、NHPでのみ薬理学的に活性のあるヒト化抗体を使うのではなく、使用する動物種で薬理学的活性のあるサロゲート抗体を用いることに相当する。

薬理学的標的に関連する生殖発生への有害作用がない場合にも、臨床候補品を用いて生殖発生に関するオフターゲット作用を評価することが必要である。

5 用量設定、投与経路及び投与スケジュール

用量設定において、生殖発生毒性試験での投与経路及び投与スケジュールは重要な要素となる。用量設定は、実際に可能な範囲で、臨床での投与経路、投与計画、及び薬物動態プロファイルを考慮し、ヒトとの相対的な曝露を踏まえて最適化すべきである。

生殖発生毒性試験での用量設定、投与スケジュール及び投与経路は、入手可能なあらゆる情報（薬理作用、反復投与毒性、薬物動態／TK、用量設定試験など）に基づいて選択し、その根拠を提示すべきである。用量選択の原則に関するガイダンスは、ICH M3(R2) Q&A (1)及びICH S6(R1) (2)に示されており、全ての入手可能なデータを活用すべきである。用量段階は、試験の主要エンドポイントに関する用量反応関係が明らかになるように選択すべきである。同様の投与期間で実施した反復投与毒性試験と類似した用量を用いれば、全身毒性に関する生殖発生のエンドポイントへの潜在的影響を解釈することが可能となり、データの統合もできる。試験系における忍容性や薬物動態／TK に関する十分な情報が入手できない場合には、適切にデザインされた探索的試験を実施することが望ましい。

毒性試験における投与スケジュールは、リスク評価に重要な曝露プロファイルに影響を与える。通常はヒトでの投与計画と同様にすれば十分であるが、必ずしもそうでない場合もある。臨床での曝露量に対してより適切な曝露量が得られるのであれば、より高い頻度（1日2回など）、あるいはより低い頻度での投与スケジュールが適切な場合もある。より高い頻度の投与スケジュールが予想される場合、実際的な要素（試験のロジスティクス、動物へのストレスなど）を考慮すべきである。

ヒトの生殖発生毒性リスクを適切に評価する上で、生殖発生毒性試験での投与経路は、通常ヒトでの予定適用経路と同様にすべきである。生殖発生毒性試験において全身曝露が得られない場合、あるいは母動物に対する毒性により、臨床曝露量に対して数倍程度の全身曝露しか得られない場合には、別の投与経路を検討すべきである。臨床適用経路と異なる経路を選択する場合には、一般毒性評価において、その適切性を示すべきである。ヒトで複数の投与経路が評価される場合には、臨床適用経路での全身曝露に比較して十分な全身曝露が得られるのであれば、当該動物種に関しては単一の投与経路で十分である。

生殖発生毒性試験で妊娠動物の評価する場合であっても、必ずしも用量設定において妊娠動物を使用する必要はない。しかしながら、曝露量に基づくエンドポイントを用量設定の根拠とする場合には（5.1.3 節）、妊娠動物の TK が重要であり、用量設定の際に、TK を非妊娠動物から得ている場合には、最終的に妊娠動物で TK を確認しなければならない。

5.1 バイオテクノロジー応用医薬品を含む全ての医薬品に共通する用量設定

生殖発生毒性試験に利用可能な用量設定のエンドポイントは数多くある。本節で検討するすべてのエンドポイントは、試験デザインの観点からはいずれも適切と考えられる。本試験での高用量は、5.1.1 節から 5.1.6 節に記載するように、エン

ドポイントでの予期される変化が惹起されると想定される用量でなければならない。高用量は、他の試験（反復投与、TK、pEFD など）の高用量で観察された影響など、適切にデザインされた試験で得られた観察に基づいて設定されるべきである。

以下に述べるエンドポイントを用いない場合でも、高用量選択の適切性はケースバイケースで示すことが可能である。

5.1.1 毒性に基づくエンドポイント

毒性に基づくエンドポイントでは、高用量群の親動物におけるごく軽度の毒性を予測することで決定される。最小限の毒性とは、親動物に有害作用があるものの、予期される生殖発生への直接的な影響がないものとして定義される。先行して実施された試験から決定される高用量の規定要因としては以下があげられる。

- 体重の変化（体重増加量あるいは体重の増加・減少）。わずかな一過性の体重増加量又は体重の変化は高用量の規定要因とは考えない。体重変化の影響を評価する際には、試験での投与期間全体を考慮すべきであり、測定されるパラメータ、動物種、系統、評価する発達段階によって適切な体重変化は異なる。
- 特定の標的器官毒性（卵巣や子宮など）や、生殖発生毒性試験の評価に影響するような臨床病理学的な変動（血糖値の変化）
- 過度な薬理作用（過度な鎮静や低血糖など）
- 毒性学的な反応（けいれん、TEFLの増加など）

5.1.2 ADME に基づく全身曝露の飽和に関するエンドポイント

全身アベイラビリティの測定し、全身曝露の飽和によって高用量の適切性を示すことは可能である（ICH M3(R2) (1)参照）。血漿中濃度が上昇しない場合には、用量を増加させる意味はほとんどない。本ガイドラインでは、曝露の飽和とは用量を十分に引き上げても、トータルの曝露量がほとんど増加しないことと定義する（用量を倍増しても、曝露量の増加が約 20%に留まるなど）。

5.1.3 曝露量に基づくエンドポイント

ヒトでの最大推奨用量（Maximum Recommended Human Dose; MRHD）における曝露量に対する曝露マージンを示すことにより、高用量の適切性を示すことは可能である。試験動物種で副次的薬理作用（又はオフターゲット作用）を持つ医薬品の場合（低分子など）、ヒトでの AUC 又は C_{max} を十分に上回る全身曝露が得られるのであれば、高用量設定において曝露量を適切なエンドポイントとすることは可能である。この用量設定のアプローチは、ヒトと試験動物での代謝物ファイルが質的に類似している時に利用可能である。用いた測定基準については根拠を示すべきである。ヒトでの MRHD における全身曝露量の 25 倍を超える曝露が予想される用量であれば、概して生殖発生毒性試験における最大用量として適切

である（注 4）。薬理活性を持つ薬剤の場合には、通常、未変化体に基づいて計算する。一方、プロドラッグ、活性代謝物など場合、申請者は曝露マージンの算出において考慮した点があれば、その適切性を示すべきである。

曝露に基づくエンドポイントを用いて、ヒトの内因性の標的分子に対する医薬品を評価する場合、薬物力学的活性を示す動物種を少なくとも 1 種を選択することを推奨する。サロゲートを用いる試験に関しては、当該動物種において適切な薬力学的活性を示す用量を投与すべきである。サロゲート分子を用いた試験に加えて、臨床候補医薬品が副次的薬理作用又はオフターゲット作用を有すると予想される場合には、通常の試験動物種において、ヒトで MRHD を投与した時の 25 倍を超える曝露が期待される用量を設定し、臨床候補医薬品を用いて試験を実施すべきである。

一方、サロゲート分子を用いるのではなく、25 倍を超える曝露でのみ試験動物種において薬力学的活性がみられる臨床候補医薬品を用いる場合には、薬力学的活性が得られる用量下で試験を実施することができるが、不適切なオフターゲット作用が発現しやすいことに留意すべきである。

通常の試験動物種では薬力学的作用が認められず、薬剤のターゲットが内因性分子でかつ臨床候補医薬品がオフターゲット作用を持つと懸念される場合、高用量選択の際には、曝露に基づくエンドポイントを利用するのではなく、他のエンドポイント（限界量、投与可能な最大用量、毒性に基づくエンドポイントなど）を検討すべきである。

ヒトで内因性ターゲットがない場合（ウイルスを標的とする場合など）、高用量の設定は、MRHD の 25 倍を超える曝露が期待される用量を設定することが適切である。

5.1.3.1 曝露量（結合型と非結合型を合わせた曝露量 vs. 非結合型の曝露量）に関する留意事項

医薬品の曝露量について、結合型と非結合型を合わせた曝露量と非結合型の曝露量のいずれを選択するかについて、その適切性を示すべきである。通常は結合型と非結合型を合わせた曝露量を用いて曝露量評価に利用することができるが、非結合型の曝露量での曝露マージンが結合型と非結合型を合わせた曝露量に比べて低い結果となる場合には、低い方の曝露マージンを用いて、動物とヒトでの曝露を比較すべきである。しかしながら、以下に該当する場合には、非結合型の曝露量での曝露マージンが結合型と非結合型を合わせた曝露量に比べて高いか低いかに関わらず、非結合型の曝露量を評価に用いることが可能である。

- 非結合型の曝露量が結合型と非結合型を合わせた曝露量から正確に算出され、ヒトでの有効濃度及び動物での毒性学的変化がみられた濃度において再現性があり、非結合型の曝露量が統計的に有意に異なる。

計算方法が曝露比に影響を与える 2 つの事例をあげる。

- 25倍の曝露量に満たない場合：結合型と非結合型を合わせた曝露量が動物で 25 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ 、ヒトで 1 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ であり、タンパク非結合率が動物で 1%、ヒトで 5%の場合、曝露マージンは 5 となろう。
- 25倍の曝露量を超える場合：結合型と非結合型を合わせた曝露量が動物で 10 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ 、ヒトで 5 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ であり、タンパク非結合率が動物で 20%、ヒトで 1%の場合、結合型と非結合型を合わせた曝露量での比率は 2 であるが、非結合型の曝露量では 40 となろう。

5.1.3.2 特異性の高い標的治療における曝露量に基づくアプローチ

特異性の高い標的薬剤（モノクローナル抗体、治療用タンパク質など）はオフターゲット作用がない、あるいは極めて少ない。試験動物種において薬力学的作用を示す当該薬剤に関しては、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、あるいは臨床での最大曝露量の 10 倍程度の曝露が得られる用量のいずれか高い方を明らかにすることにより、高用量を設定することができる（ICH S6(R1) (2)）。用量設定の際には、非臨床試験に用いる動物種とヒトのとの間における標的結合親和性及び *in vitro* における薬理活性の種差を踏まえて、用量の補正を検討する必要がある。例えば、毒性や投与可能量による制限がなければ、薬力学的効果を十分に発揮するためには、より高用量を用いるべきである。通常の試験動物種が薬理活性を示さず、サロゲート分子を用いる場合には、試験動物種で意図する薬理活性を発揮する量の 10 倍の用量をサロゲート分子における高用量として設定することが適切であろう。

5.1.4 投与可能な最大用量（MFD）に基づくエンドポイント

MFD を用いて高用量を設定する際には、投与量を最大にするよりも、試験動物種での曝露が最大となるよう設定するべきである（ICH M3(R2) (1)も参照）。

投与経路／投与頻度、及び試験動物種の解剖学的／生理学的特性に関連した被験物質（製剤）の物理化学的特性によって、投与可能な被験物質の用量が制限される場合には、MFD を高用量の設定に用いることが可能である。

5.1.5 限界量に基づくエンドポイント

1 g/kg/日未満の用量段階で、高用量設定のための要素が満たされない場合、限界量として 1 g/kg/日を適用することができる（その他の考慮事項については ICH M3(R2) (1)参照）。

5.1.6 高用量以外の用量設定

一般的に、生殖発生毒性に関しては「無毒性量」を確定することが望ましい。高用量を選択した上で、曝露量、薬理作用及び毒性所見を考慮して、予想される結果が群ごとに明確となるように、高用量以下の用量を設定する。治療域よりも低い曝露の用量は、親動物において毒性を引き起こすことなく高用量が設定できる場合を除き、通常のリスク評価においては得るところはない。生殖発生毒性試験での変動については、背景的なものか、投与に起因するものを鑑別することが困難

な場合があり、用量相関性の有無が参考になることがある。低用量はヒトでのMRHDの曝露の数倍（1～5倍など）となる用量とするべきである。中用量での曝露量は、低用量と高用量の中間とするべきである。しかしながら、通常、曝露量の増加が3倍未満となる用量間隔は推奨されない。

5.2 ワクチンの用量設定及び試験デザイン

本ガイドラインは、感染症に対する予防又は治療に用いられるワクチン（アジュバントあり・なし）にも適用される。また、本ガイドラインの原則は、その他の適応症（がんなど）に対するワクチンにおける非臨床試験にも適用可能である。生殖発生毒性試験の種類はワクチンの対象集団及び関連する生殖リスクによって決まる。一般的に、新生児、思春期前の小児又は高齢者のために開発されているワクチンについては、生殖発生毒性試験は必要とされない。

ワクチンの生殖発生毒性試験に関しては、通常は動物で免疫反応を示すことのできる単一用量で評価すれば十分である（4.1.3節）。この用量は、体重補正をしないヒトでの最大用量（すなわち、ヒトでの一回投与量＝動物での一回投与量）とするべきである。投与できる容量の限界又は用量制限毒性（局所及び全身）により、動物にヒトの最大用量を投与することができない場合、体重換算（mg/kg）を用いて、ヒトの体重換算用量を上回る用量を選択することが可能である。ヒトより低い用量を用いる場合には、ヒトと同じ用量を動物で投与できない根拠を示すべきである。

ワクチンの投与計画は、母体での抗体価や胚・胎児及び出生後早期にわたる免疫反応を最大化するものとすべきである。ワクチンごとの免疫反応発現までの時間又は継続時間により、投与のタイミングや投与回数が決まる。妊娠中に投与するワクチンを開発する場合には、申請者は目的とする用途（妊婦や出生後早期の出生児の予防など）に基づいて具体的な試験デザインの適切性を示すべきである。

連日投与は、ワクチンの構成成分に関する過剰な曝露につながる場合がある。妊娠動物に対しては、連日投与よりも間歇投与が推奨される。また、間歇投与のほうが、感染症を適応とする多くの予防および治療用ワクチンに関して、予定している臨床での免疫スケジュールに近いものとなる。通常の試験動物種における妊娠期間が短いことを考慮し、妊娠中の胎児に影響を及ぼしやすい時期（すなわち器官形成期）に十分な免疫反応が得られているよう、交配前の数日あるいは数週間前に動物に初回免疫投与を実施することが通常推奨される。投与計画はヒトで予定される接種スケジュールに従って変更できる。

器官形成期の初期に少なくとも1回は投与を実施すべきである。これはワクチン製剤の構成成分による直接的な胚毒性への影響を評価するとともに、残りの妊娠期間を通じて高い抗体価を維持するためである。もしEFD毒性が認められれば、所定の複数時点で投与を実施する動物のサブグループを用いて、さらに評価してもよい。

ワクチンに新規活性構成成分（新規アジュバントなど）が含まれる場合、非ワクチン製品での試験と同様な追加の評価方法を検討することが適切であろう。

投与経路は臨床適用経路と同様にすることが推奨される。

6 哺乳類を用いた *in vivo* 試験のデザインと評価

医薬品の生殖発生毒性に対する潜在的リスクを評価するための試験戦略として、1 種以上の動物種を用いた *in vivo* 試験を含めることは有用である。ほとんどの医薬品開発では、三試験計画法が用いられてきたが、使用動物数を削減するために、これらの試験デザインを様々な組み合わせることも可能である。医薬品に関して入手し得るすべての薬理学的、キネティクス、毒性学的データを考慮して、どの試験デザインを選択すべきか判断しなければならない。FEED 試験、EFD 試験及び PPND 試験あるいはそれらの組み合わせによる試験の詳細は付属書 11.2.節を参照のこと。以下に種々のアプローチを示す。

6.1 すべての生殖ステージ(A→F)を評価する三試験計画法

- 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（FEED 試験）
作用機序や反復投与毒性試験の結果から受胎能への影響が疑われる場合、雌雄別に試験の実施あるいは試験群を設置し、無処置の異性動物と交配させることが有用である。
- 胚・胎児発生に関する試験（EFD 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（PPND 試験）

6.2 単一試験計画法

受胎能、妊娠及び出生後発生の組み合わせ（生殖ステージ A→F）

生殖発生毒性が予想されない場合、げっ歯類を用いた単一試験計画法が適切かもしれない。この試験において、適切に選択された用量で明らかな陰性結果が得られた場合には、げっ歯類を用いた生殖発生毒性試験の追加は必要ない。この試験では、死産児及び間引き児を含めたすべての出生児について、形態学的異常を観察すべきであろう。また、生殖発生毒性が認められた場合、当該リスクについて詳細に評価すべきである。

6.3 二試験計画法

- FEED 試験と EFD 試験の組み合わせ（生殖ステージ A→D） + PPND 試験（生殖ステージ C→F）

FEED 試験と EFD 試験を組み合わせた試験と PPND 試験を実施することで、三試験計画法（FEED 試験、EFD 試験及び PPND 試験の個別実施）で得られる全ての情報が得られ、使用動物数を削減することが可能である。

- EFD 試験（生殖ステージ C→D） + FEED 試験と PPND 試験の組み合わせ（生殖ステージ A→C+D→F）

この組み合わせによる試験計画法では、外表、内臓、骨格の形態学的評価は含まれない。被験物質投与に関連した TEFL が EFD 試験で認められなかった

場合には、最も有用な手法である。FEED 試験と PPND 試験を組み合わせた試験を EFD 試験とともに実施することで、生殖発生全過程において求められる情報が得られ、三試験計画法よりも使用動物数を削減することが可能である。

6.4 反復投与毒性試験と FEED 試験を組み合わせた試験計画法

雌雄の受胎能への影響が懸念されない場合、あるいは長期の反復投与毒性試験において生殖器に毒性が確認され、投与期間を延長することが適切と考えられる場合には、反復投与毒性試験に受胎能評価を組み込んだ試験計画を考慮してもよい。また、作用機序や反復投与毒性試験の結果から受胎能への影響が疑われる場合、投与した雌雄の動物と無処置の異性動物を交配する試験を別途で実施することも有用である。

長期の反復投与毒性試験で規定された投与期間（13 又は 26 週反復投与試験など）を満了した後、その試験に供した雄を別試験群の性成熟に達した雌（性成熟に達した無処置の雌又は交配前に 2 週間以上投与された雌）と同居させることも可能である。この組み合わせによる試験では使用動物数を削減できるが、反復投与毒性試験における雄は各群約 16 匹と設定すべきであり、雌とその胎児については FEED 試験の手順に従って、各エンドポイントを検査すべきである（付属書 11.2.1 節）。

同居前の雄への投与期間は、3.2 節及び 11.2.1 節に記載した FEED 試験計画における基本原則に基づいて決定すべきである。受胎能評価に用いる雄は、いずれの反復投与試験（4、13、26 週反復投与試験など）から利用してもよいが、投与期間が十分であること、雄が性成熟に達していること、交配に用いられる雄の匹数が雄の受胎能及び着床胚の生存率を評価するために十分であることを満たさなければならない。また、雄の受胎能を評価するために設定する各群の匹数は、動物種／系統の特性を踏まえて、適切性を示さなければならない。この組み合わせ試験によって投与される雄の動物数を削減することが可能であり、特に技術的に困難な投与経路を用いる場合は有用である。また雄性生殖能に対する長期的な影響を評価する場合にも極めて有用である。

反復投与毒性試験の雄と、別試験群で 2 週間以上投与された性成熟に達した雌と同居させることにより、雌雄双方の受胎能評価を同時に行うことが可能である。雌と胚・胎児については FEED 試験（11.2.1 節）で評価されるが、性周期に対する被験物質の影響を検出するために、各群の動物数は少なくとも 16 匹と設定すべきである。これよりも各群の匹数を少なくする場合には、その適切性を説明すべきである。

6.5 データの評価

6.5.1 *In vivo* 試験に関するデータの取扱い／データの提示／統計

優れた報告とするためには、試験に用いたすべての動物の成績を説明できるように明確かつ簡潔に個々の値を表示することが大切である。生殖発生毒性試験では、

しばしば直接投与していない出生児からのデータを得ることがあるため、試験開始から終了までのすべての動物個体の履歴を追跡できるように明確かつ簡潔な表を提示すべきであり、各個体値がどの群平均値に寄与しているかを判断できるようにする。群平均値は、精度の誤りを回避し、変数の分布を反映した有効数字で表示すべきである。

形態学的変化（胎児の異常など）に関するデータについて、一次作表では異常胎児をもつ母動物と、その同腹児内で異常胎児が識別され、異常胎児で観察されたすべての所見が報告されるべきである。必要に応じて、上記作表に基づいて変化の型別の二次作表を作成する。

複数日にわたって集めたデータの平均値（平均体重など）を示すグラフは、多量のデータを視覚化する上で有用である。付表や体重、摂餌量、同腹児の値などの個体別数値表は簡潔にすべきである。絶対値の表示を基本とすべきであるが、体重増加量や同腹児生存率などの算出値も有用な情報を与える。総括表から不妊動物のデータを除外した場合には、そのことを明確に提示すべきである。

胎児異常の所見の表記は統一して理解しやすい用語を使用すべきである。

試験データの解釈は、はじめに同試験内の対照群と比較をすべきである。より大きな対照集団内、特に従前の試験の対照群内での変動に関する知見によってデータを解釈する場合、背景データは最も有用である。例えば、異常が認められた場合、背景データは稀な事象を解釈するための一助となる。背景データは、可能であれば他施設のものより、各施設で蓄積した最新のものを使用することが望ましい。理想的には、遺伝的浮動が問題となりうるため、背景データは直近の試験結果（可能であれば試験実施直前あるいは直後のものを含め数年分）を反映しているべきである。

試験データと背景データの平均、標準偏差又は範囲との比較はしばしば実施され、その事象の発生頻度を考慮に入れることは重要である。その場合、発生頻度が分かるように提示すべきである。

6.5.2 統計

生殖発生毒性試験では、データの分布は通常正規分布に従わず、連続型から分散型分布まで多様であり、データの分布を明らかにすることによって用いる統計手法が決定される。推測統計（統計学的に有意差を決定する方法）を用いる場合、比較の基本単位を用いるべきである。実験の単位概念はしばしば誤った解釈がなされるが、無作為化され、投与されたものを単位とすべきである。このため帝王切開及び胎児データは同腹児を測定単位として計算し、試験結果の解釈は胎児ではなくその母動物で行う。これは各用量群に割り付けられているのが胎児や新生児ではなく妊娠動物であるためで、同腹児内のそれぞれの児の発生は独立しているわけではないためである。同腹児内の各児の反応は、別の腹の児よりも類似していることが予想される。同様に、FEED 試験においては交配対を比較の基本単位として用いるべきである。

多くの場合、推測統計（有意差検定）は、変化と被験物質投与との関連を評価することになる。このため統計モデルからの主要なアウトプットは、被験物質投与の影響を評価するための p 値と信頼区間であり、通常対照群との対比較や全群にわたっての傾向検定ということになる。このような有意差検定の解析結果は試験結果の解釈の補助的手段として用いられるべきであり、解釈それ自体は生物学的妥当性に基づくべきである。統計学的有意差があるからといって必ずしも生物学的に意義があるわけでもないし、統計学的有意差がなかったからといって必ずしも影響がなかったともいえない。この点においては、背景データ、生物学的妥当性及び再現性を考慮するべきである。各群の設定動物数が少ない試験（NHP など）の場合、推測統計の有意差だけを使用することには注意が必要である。

7 リスク評価の原則

リスク評価には、その医薬品および関連化合物（サロゲート分子、クラス警告など）に関して入手可能なすべてのデータ、ヒトの遺伝性疾患、遺伝子改変動物及び標的分子の生殖における役割などに関する情報を考慮すべきである。入手可能な情報量は医薬品の開発段階、特性、および使用目的などによって異なる。（予定）臨床曝露量、動物種間での動態の比較、生殖発生毒性に関する推定機序などがあればそれらも考慮すべきである。

ヒトへのリスクに対する適切なレベルは、治療上の有用性次第で変動しうる。例えば、既存の治療法がいずれも生殖機能に対する有害作用を有するような、生命を脅かす疾患の治療を目的とした医薬品の場合、生活改善薬より高いリスクでも適切とされる場合がある。ヒトのデータ（ヒトの遺伝子変異に関する既知情報、治験での経験など）が、ヒトの生殖発生毒性リスクの総合評価に大きな影響を与えることがある。確実なヒトのデータは、非臨床データよりも優先される。

非臨床生殖発生毒性データパッケージ内の制限事項（試験系の適切性、最大曝露量など）、不確実性、データの相違点については、いずれも対応し、その影響を評価すべきである。

リスク評価は、リスクコミュニケーションや予定患者集団の管理に関連して結論付けるべきである。

7.1 生殖発生毒性に関するリスク評価

医薬品の開発においては、医薬品のヒトへの生殖に対する潜在的リスクを明らかにするため、評価を実施すべきである。

正当な理由がない限り、2 節に記載した生殖発生全ステージへの潜在的影響を反映するすべてのエンドポイントに対応すべきである。

非臨床試験から得られた全ての所見が有害と考えられるわけではない。医薬品で認められた影響が、生殖機能や発生に影響を与えない適応性変化（酵素誘導など）である場合には、有害でないとすることもできる。

医薬品の予定される使用条件下において、ヒトでの生殖発生毒性リスクが増加する可能性を予測するために、非臨床試験における有害な作用を評価すべきである。懸念を増加あるいは減少させる様々な要素を考慮して、分析を行うことが推奨される。そのような要素とは、動物 - ヒト間での曝露量比、母体毒性の程度、用量相関性、認められた影響の種類、動物種差、薬理作用と毒性発現機序の類似性などが含まれる。例えば、ある所見が次のような条件で観察された場合には、生殖発生リスクの懸念は増加する。すなわち、動物での相対曝露量が低い、種差がない、母体毒性がない、薬理作用と生殖発生毒性の発現機序が類似するような条件下を指す。逆に、動物での相対曝露量が高い、種差がある、過度の母体毒性がある、あるいは機序が種特異的ななどの条件下では、当該懸念は減少する。

母体毒性を生じる用量で胎児毒性が認められる場合、胚・胎児発生に対する影響の評価は特に困難になる。発生毒性が母体毒性による二次的な影響であると判断するには、それらの関連性を新たにあるいは既存の報告から実証する必要がある。関連性を実証する方法の 1 つは、それぞれの母体に認められる毒性とその児への影響での重篤度の一致の程度を評価することである。

また、試験間での結果の一貫性も、その医薬品の有害作用に関するさらなるエビデンスとなる（げっ歯類を用いた EFD 試験で認められた胎児致死の増加が、PPND 試験における生存児数の減少と一致するなど）。複数の試験や動物種にわたって特異的な影響が認められた場合、その曝露量について考慮することが重要である。動物試験で特定された生殖発生への影響の機序に関する知見は、動物種間の反応の違いを説明するのに役立ち、その影響のヒトでの関連性についての情報となる（胎児の心血管発生に対するプロスタグランジン合成酵素阻害物質の影響がげっ歯類特異的であることなど）。

一般的に、出生前の発生毒性の評価において、TEFL は非常に重要なエンドポイントと考えられる。それに対して、回復性がある、あるいは軽微な発生毒性所見（胎児体重の変動、骨格変異など）は、単独ではリスク評価の観点からの懸念はほとんどない。しかしながら、変異所見の発生率の増加は、関連する形態異常所見の不確かな増加に対する解釈に影響を与えうる。懸念の程度は他の要素（所見が認められた用量における曝露量比、動物種差など）による影響を受ける。

発生毒性と同様、回復性がある、あるいは軽微な生殖毒性所見（一過性の精子形成阻害など）は、単独ではリスク評価の観点からの懸念はほとんどない。

試験動物種の無毒性量（NOAEL）における薬物曝露量とヒトの MRHD における薬物曝露量の比較は重要である。この比較は最も適切な指標（AUC、C_{max}、C_{min}、体表面積換算した用量など）に基づいて行うべきである。一般的に、適切な動物種で影響がみられ、NOAEL での曝露量がヒトの MRHD での曝露量の 10 倍未満である場合、ヒトでの生殖発生毒性に関する懸念が増加する。NOAEL での曝露量がヒトの MRHD での曝露量の 10 倍超である場合には懸念は減少する。動物の NOAEL での曝露量がヒトの MRHD での曝露量の 25 倍を超える場合には、その医薬品の臨床使用における懸念はほとんどない（注 4）。複数の試験動物種で曝露に大きな差が認められる場合には、動物種間の曝露の比較に用いられている指

標（AUC、 C_{max} など）の適切性を再評価すべきである。他の指標を用いても動物種間の差を減らせない場合、リスク評価は最も感受性の高い動物種に基づいて行うべきである。該当する場合には、曝露比率は未変化体とその代謝物の双方を考慮すべきである。

一般的に、MRHDでの曝露量と比較して十分な曝露量下で実施された *in vivo* 本試験の結果は、代替法や予備試験から得られる結果よりも重視される。また、*in vivo* 試験から得られた曝露データは、代替法で認められた陽性反応が医薬品の臨床での MRHD におけるリスクを示すか否かを判断するのに用いることができる。

7.2 授乳に関するリスク評価

一般的に、動物試験での授乳に対する医薬品の影響や、乳汁中の薬物の有無の評価は、ヒトのリスク評価にはほとんど関係がない。医薬品は授乳婦の乳汁分泌に影響を及ぼすことがある。PPND（あるいは ePPND）試験の結果から、リスク評価のための情報や乳児に対する全身曝露の情報が得られるが、げっ歯類とヒトとでは乳汁の構成成分が大幅に異なることを考えると、乳汁中薬物量や乳汁産生に関してはヒトでの経験が最も優れた情報源である。医薬品の乳児への直接的な有害作用によるリスクは、薬物あるいは代謝物の乳汁中濃度、吸収量、及び乳幼児の年齢によって異なる。未熟児や新生児は、成長の進んだ乳幼児とは医薬品の吸収、代謝、排泄能が異なる。

8 注釈

注 1：特に精巣と精巣上体は、組織構造を維持できる方法を用いて採取並びに処理し、精子形成周期を観察できるようにすべきである。精子形成周期を意識しながら詳細で定性的な病理組織学的検査を実施すれば、精子形成に対する影響を検出するには十分である。精子形成ステージの定量的な解析（ステージ解析）は一般的には推奨されないが、認められた影響の特性をより明らかにするには有用であろう。雌では、卵巣（卵胞、黄体、線維性間質細胞、間質腺細胞及び血管系を含む）、子宮、および膈（げっ歯類）の詳細で定性的な病理組織学的検査を、原始卵胞と一次卵胞の定性的な評価に特に注意をはらって実施すべきである。

注 2：本ガイドラインにおける適格性を確認済の代替法とは、ある特定の状況下に限って適用されるものであり、正式な検証試験（以下、バリデート）は必要とされない。EU は、バリデートされ、当局による承認が得られた動物を用いないアプローチがあるのであれば、ただちにその使用を求めている（指令 2010/63/EU、法制化と関連ガイダンスの部）。しかしながらこの EU での指令は、本ガイドラインに準拠して適格性確認を行った代替法には適用されない。

注 3：付属書 11.3.4 節の ICH 対照物質リストは完成していない。そのため、リストに含める可能性のある追加の対照物質（陽性及び陰性）について、以下に記されているような関連情報を含むデータが求められている。これらの化合物は医薬品でも非医薬品でも可能であるが、市販されている必要がある。提出されるデータは以下を含むものとすべきである：

- 化合物の名称、構造、推奨する化合物カテゴリー、CAS 番号（あれば）
- 非臨床試験の動物種で観察された具体的な TEFL
- 最小毒性量（LOAEL）（該当する場合）および NOAEL での曝露量（C_{max} と AUC）
- 提出されるデータに関する参考文献又は出典（まだ公表されていない場合は公表される予定のもの）

必要なデータの種類に関しては付属書 11.3.4 節の表 9-7 の例を参照すること。4 種類の陽性化合物（カルバマゼピン、フルコナゾール、5-フルオロウラシル、およびトピラマート）と 1 種類の陰性化合物（サキサグリプチン）の例が示されている。データはこれらの例と同様のフォーマットを用いてまとめる必要がある。

これは付属書 11.3.4 節の表 9-6 にあげた化合物に関するデータや使用可能な試験法の例を求めているのでもない。

注 4： ヒトに対する既知の催奇形性物質 20 種類を解析したところ、形態異常が認められたケースでは、少なくとも 1 種の動物種において、LOAEL での曝露量が MRHD での曝露量の 25 倍未満であった。このことは、生殖発生毒性試験の高用量選択の際に、25 倍を超える曝露量比を用いればこれらすべての医薬品に対する催奇形性ハザードを十分検出できることを示している。本解析では、動物で TEFL が検出されたヒト催奇形性物質すべてに関して、少なくとも 1 種の動物種における NOAEL での曝露量が MRHD での曝露量の 10 倍未満であったことも示された。

さらに IQ DruSafe リーダーシップグループにより EFD 試験に関する調査が行われた。この調査から、例えば、用量を制限するような母体毒性がない条件下において、未変化体の曝露量比がヒト（想定される治療用量での曝露量）に対して動物で 15 倍以上を達成していた EFD 本試験がラットで 163 件、ウサギで 152 件あったことが明らかとなった。解析により以下のことが示された。

- ラットを用いた試験 163 件のうち、51 件（31%）はヒト曝露量の 25 倍以上の曝露量を達成し、そのうち 6 件（全例の 3.7%）のみで TEFL を認めた。この 6 件に関しては、いずれも LOAEL はヒトでの曝露量の 50 倍以上、そのうち 1 件は作用機序に基づき陽性が予想されていた。
- ウサギを用いた試験 152 件のうち、35 件（23%）はヒト曝露量の 25 倍以上の曝露量を達成し、そのうち 2 件（前例の 1.3%）のみで TEFL を認めた。この 2 件に関しては、いずれも LOAEL はヒトでの曝露量の 50 倍以上であった。

これらのデータによると、母体毒性がない場合（あれば高用量投与は制限される）、ヒト曝露量の 25 倍以上の曝露量を達成するよう動物へ投与しても、TEFL は稀にしか認められない。これらすべての場合に、TEFL は 50 倍を超える曝露量まで認められず、このような高曝露量での所見がヒトでのリスク評価に適してい

るとは考えられない。そのため、用量を制限するような母体毒性がない場合、EFD および PPND 試験の高用量として、推定最大臨床用量での総未変化体濃度におけるヒト血漿中曝露量に対する曝露量比が 25 倍を超える用量とすることは理にかなっており、ヒトのリスク評価に適した結果を検出するのに十分である。

9 用語

代替法：発生に関するエンドポイント（催奇形性あるいは胚・胎児致死性：TEFL）を評価することを目的とした *in vitro*, *ex vivo* 又は非哺乳類 *in vivo* 試験法。

適用領域：物性から見た物質の種類、あるいはその試験法が適切である物質の特徴の説明。ある試験法で意味を持って試験されうる化学物質の種類、適用可能なケミカルスペースに該当する。適用可能な例としては、溶解性、揮発性、その分子の試験法との干渉など、その医薬品の物理化学的特性が含まれる。また、適用領域は、試験法で情報が得られる、あるいは有益な結果が得られない理由や条件も指す。新たな化合物に関する予測をするために適用できるモデルのトレーニングセットを含むこともある。

代替法の適格性確認（製造販売承認申請のため）：本ガイドラインで概説する、定義された生殖発生有害事象（TEFL）を特定する上での代替法の予測性の確認。

構成成分：あるワクチンの中で賦形剤、希釈剤、又はアジュバントとして使用されている化学物質又は生物学的物質。製品を投与しやすくするために別に供給される希釈剤を含む。

使用の背景：本ガイドラインでは規制上の条件に該当し、その条件下で行われた試験法の結果は信頼されうる。例えば、特定の条件下で *in vivo* 試験を代替する単独試験法、*in vivo* 試験の代替となる一連の試験法／評価系への組み入れ、又は臨床開発の後期への EFD 本試験の延期などがある。

発生毒性：成人期に達する前に誘発される有害作用。受精から出生後までに誘発される、あるいは現れる影響を含む。

GD：妊娠日齢。

GD 0：妊娠 0 日。交尾成立が確認（げっ歯類では膣スメアによる精子確認／膣栓、ウサギでは交尾確認など）された日。

特異性の高い又は選択性の高い医薬品／治療薬：標的分子との結合能のために、オフターゲット作用を全くあるいはほとんど示さない治療薬（モノクローナル抗体や治療用タンパク質）。

ICH 対照物質リストの目的とする作用機序に基づくカテゴリー：

- ・ チャンネル調節因子：細胞チャンネルやトランスポーターを標的とした作用を主な作用機序とする化合物
- ・ DNA 修飾因子：DNA 挿入や DNA 修飾（直接 [アルキル化、メチル化など] 又は間接 [酵素修飾に基づくなど] ）を主な作用機序とする化合物
- ・ 酵素調節因子：阻害因子、活性化因子、他のカテゴリー（キナーゼ調節因子など）に入らない酵素誘導因子
- ・ ホルモン／ステロイド：傍分泌、内分泌、あるいは外分泌機能を模倣、調節、あるいは拮抗することを主な作用機序とする化合物
- ・ キナーゼ調節因子：特にキナーゼに影響を与える特定のサブセットの酵素調節因子
- ・ ヌクレオシド調節因子／栄養阻害剤／代謝拮抗剤：ヌクレオシド代謝物、栄養物、又は代謝経路中間体に対する拮抗物質
- ・ オリゴヌクレオチドに基づいた調節因子：転写や翻訳に影響を与える DNA や RNA に基づいたオリゴヌクレオチド
- ・ 受容体調節因子：核内受容体や膜受容体（キナーゼ受容体調節因子ではないもの）に結合して反応を引き起こす化合物
- ・ セカンドメッセンジャー調節因子：細胞内と細胞外の間の細胞伝達を直接変化させる標的に結合
- ・ その他：上記のいずれのカテゴリーにも含まれない化合物や生物学的活性のない化合物（工業化学物質など）

形態異常：一般的に正常な出生後発生や生存に適合しないあるいは極めて有害な永続的な構造の逸脱。

モダリティ：低分子、モノクローナル抗体、オリゴヌクレオチド、ナノボディ、ペプチド、タンパク、ワクチンなど医薬品の種類。

標準化因子：本ガイドラインでは、代替法の結果や *in vivo* での観察を、それが起きた曝露量と関連付ける際に用いる数学的アルゴリズム。

オフターゲット又は副次的薬理作用：ある医薬品の、目的とする治療効果には無関係な作用や効果。

薬理活性あるいは主な薬理活性：直接標的に影響を与える（阻害、活性化、発現増加、発現減少など）あるいは目的とする生理学的結果（血圧低下など）をもたらすなどにより目的とする効果を発揮すること。

PND：生後日齢。

PND 0：生後 0 日。同腹児のうち最後の児の出産が確認された日。

予備的 EFD (pEFD) 試験：器官形成期に曝露を行い、適切な用量段階を設定し、各群 6 匹以上の妊娠動物を用いて、胎児生存、胎児体重、外表・内臓の変化を評価する生殖発生毒性試験（ICH M3(R2) (1) 参照）。

拡充型 pEFD 試験：妊娠動物数が各群 8 匹以上の、胎児の骨格検査を含む GLP 下で実施される pEFD 試験。

サロゲート分子：医薬品がヒトにおいて示す薬理活性に類似した薬理活性を試験動物種において示す分子。バイオ医薬品の場合、相同タンパクということもできる。

TEFL：催奇形性や胚・胎児致死性。

催奇形性物質：本ガイドラインでは、形態異常を惹起する医薬品。

トレーニングセット：潜在的な予測関係性を明らかにするために用いられるデータ群。

テストセット：予測関係性の強度と有用性を評価するために用いられるデータ群。

ワクチン：本ガイドラインでは、感染性疾患の予防と治療のためのワクチンを意図する。ワクチン（ワクチン製品という用語も含む）は完全な製剤として定義され、抗原（あるいは免疫原）及びアジュバント、賦形剤、保存剤などの添加剤が含まれる。ワクチンは免疫系を刺激しワクチン抗原に対する免疫反応を獲得することを目的としている。ワクチンの主な薬理作用は、感染あるいは感染性疾患の予防や治療である。

変異：生存性、発生、あるいは機能に影響を与えない構造変化（骨化遅延など）。回復性があり、正常集団で認められることがある。

10 参考文献

1. 「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）及び「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）

2. 「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）
3. 抗悪性腫瘍薬の非臨床評価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審査管理課長通知）

11 付属書

11.1 動物種ごとの利点と欠点一覧

表 9-1 生殖発生毒性試験のための動物種

動物種	利点	欠点
通常用いられる動物種		
ラット	○ 生物学的によく理解されている ○ 薬力学及び創薬に広く用いられている ○ 妊娠期間が短く、生殖能が高い ○ 一群あたりの動物数を多く設定できる、同腹児の数が多い ○ 生殖発生毒性試験の全ての生殖ステージに適切である ○ 実施経験のある施設が幅広くあり、多数の受け入れが可能 ○ 広範な背景データがある	○ 胎盤形成が異なる（時期、反転卵黄囊など） ○ 妊娠の成立と初期の妊娠維持のための主要ホルモンとしてプロラクチンに依存するため、それらに影響する一部の医薬品（ドーパミンアゴニストなど）に対しては不適切である ○ 出産の障害となる医薬品（妊娠後期における非ステロイド性抗炎症薬など）に感受性が高い ○ ヒトと比較して、受胎能に対する悪影響を受けにくい ○ ヒト化モノクローナル抗体に関しては用途が限られる ○ 薬理活性が限定的あるいはない ○ 結合が限定的あるいはない ○ 抗体に対して顕著な免疫反応を示す

動物種	利点	欠点
ウサギ	○ ラットと同様の利点に加えて ○ 非げっ歯類のモデルである ○ 精子採取が容易 ○ げっ歯類よりも抗体の胎盤移行が霊長類に近い	○ 生物製剤に対してはラット同様の制限がある ○ 受胎能及び出生前後の試験に関する背景データが限定的である ○ 消化管障害に対する感受性が高い（ある種の抗生物質など） ○ 自然流産しやすい ○ 臨床症状の解釈が容易ではない ○ ワクチンを除く一般毒性試験では通常使用されず、動態や毒性データが不足している ○ 薬力学での利用は限定的である
マウス	○ ラットと同様の利点がある ○ 遺伝子改変動物を利用可能あるいは容易に作製可能 ○ サロゲートアプローチが取りやすい ○ 使用する被験物質の量が少ない	○ ラット同様の制限がある ○ 胎児の大きさや組織体積が小さい ○ ストレスに対する感受性が高い ○ 形態異常が群発しやすい ○ 一部の系統では背景データが少ない ○ 胎盤形成が異なる（時期、反転卵黄嚢など） ○ ヒトと比較して、受胎能に対する悪影響を受けにくい
通常用いられない動物種		

動物種	利点	欠点
NHP (詳細はカニクイザルに関して記載)	○ 系統発生的及び生理学的にヒトとの類似性が高い ○ げっ歯類よりもヒトタンパクに対する組織反応性や薬理作用を示しやすい ○ 胎盤形成がヒトと類似している ○ 身体と組織が大きい ○ 反復投与毒性試験で用いられている ○ モノクローナル抗体の胎盤移行性がヒトと類似している	○ 繁殖力が低い ○ 背景的に妊娠損失が高い ○ 単胎 ○ 月経周期 (30 日) と妊娠期間 (165 日) が長い ○ 受胎能 (交配) 試験には実用的でない ○ 性成熟に達するのは 3 から 6 歳頃である ○ 分娩後の母児の絆が形成される期間に母動物と新生児を引き離すことは新生児に有害である ○ F1 の生殖機能の評価が困難である ○ 一群の数が少ない (倫理的な配慮) ため、統計的検出力が低い ○ 動物福祉に関する考慮事項 ○ 他の動物種と同程度にヒトと動態が異なる ○ 背景データが限定的であり、実施経験のある施設が少ない ○ 繁殖動物の入手が困難である ○ 試験開始時の年齢、体重、出産歴にバラつきが大きい ○ 多量の被験物質を使用する
ミニブタ	○ 一般毒性及び生殖発生毒性試験に使用できる代替非げっ歯類である ○ 一部のヒト催奇形性物質に感受性がある ○ 器官形成期が短い (妊娠 11～35 日) ○ 遺伝的背景が明確で SPF 動物 である ○ 用量設定試験が短期間で可能 (中期間) である ○ 近交系であり、施設の飼育条件に順応しやすい ○ 性成熟に達するのは 3～5 ヶ月である ○ NHP よりも同腹児数が多い ○ 連続精子採取および交配試験に適している ○ 超音波検査による妊娠のモニターが可能である ○ 生殖エンドポイントに関する十分な背景データがある	○ 実施経験がある施設が少ない ○ 妊娠期間が長い ○ 多量の被験物質を使用する ○ 大型の飼育設備が必要である ○ 出生前の抗体移行がほとんどない

限定的に用いられている動物種 (主に研究目的での使用)

動物種	利点	欠点
モルモット	- 有効性及び交差反応を示しうる代替げっ歯類モデルである - 妊娠後期の抗体の胎盤移行がヒトと同程度である	- 背景データ、実施経験のある施設がほとんどない - 消化管障害に対する感受性が高い。一部の抗生物質に感受性がある。 - 出生後の行動及び機能検査の適切性確認が限定的 - 胎児期が長い - 動態や毒性データが不足している - 採血が比較的困難である
ハムスター	有効性及び交差反応を示しうる代替げっ歯類モデルである	- 食殺による出生後損失が多い - 背景データ、実施経験がある施設が少ない - 出生後の行動及び機能検査の適切性確認が限定的である - 静脈内投与が困難である。経口投与分を頬袋に隠すことがある - 攻撃的である - 消化管障害に対する感受性が高い - 多くの化学物質において非常に高い催奇形性に対する感受性を示す - 動態や毒性データが不足している - 採血が比較的困難である
イヌ	- 通常、反復投与毒性試験データがある - 組織体積が大きい - 精子採取が容易	- 排卵が1年に2回あり、妊娠期間が長い（63日） - 背景データ、実施経験のある施設が少ない - 出生後の行動及び機能試験の適切性確認が限定的である - 多量の被験物質を使用する - 免疫原性／アナフィラキシー反応が懸念される
フェレット	有効性及び交差反応を示しうる代替モデルである	- 特別な管理システムを用いない限りは季節繁殖動物（うまくいくかどうかは動物に対するヒトの接し方による） - 背景データ、実施経験のある施設がほとんどない

11.2 In vivo 試験デザイン

各試験における各群の動物数は、これらの試験デザインに関する長年の経験からの科学的判断と、動物の適切な使用に関する倫理的配慮とのバランスに基づき決定されている。化合物の薬理作用あるいは既存の報告から設定された用量が、高頻度で影響を引き起こすと予測され、その影響を確認するために必要な動物数はもっと少なくてもよいという十分なエビデンスがある場合には、各群の動物数を調節することが可能である。考慮している変数（エンドポイント）、対照群における発現率（稀なあるいはカテゴリカルな事象）あるいは中央周辺に分散する傾向（計量値的変数あるいは半計量値的変数）に応じて動物数は変更してもよい。

非常に稀な事象（形態異常、流産、同腹児全死亡など）を除き、げっ歯類やウサギの場合、16～20匹の母動物数で評価すれば、ある程度試験間での整合性が得られる傾向がある。母動物数が16匹を下回ると試験間の結果に一貫性がなくなり、20～24匹を超えても整合性と精度はそれほど向上しない。これらの数は評価可能な母動物数に関係する。異なる評価のためにさらに群を分割する場合、試験開始時の動物数は適宜調節すべきである。同様に、二世代を用いての試験では、F1世代の最終評価に16～20匹の母動物数を利用できるようにすべきである。自然減を考慮し、F0世代の試験開始時における一群あたりの動物数は20匹以上とすることが推奨される。

以下に示すのは利用可能な代表的試験デザインである。しかしながら、パラメータ、時期、評価は容易に改変可能であり、改変したとしても試験の目的を達成することは可能である。各施設や試験の目的に合わせて、これらの枠組みとなるデザインを改変する場合には、専門家の判断を受けるべきである。

11.2.1 受胎能及び着床までの初期胚発生（FEED）に関する試験

受胎能の評価においては、一般的にげっ歯類を使用することが推奨される（3.2節及び4.1節参照）。FEED試験の目的は、交配前（雄雌）から交尾、着床に至るまでの期間における、投与に起因する毒性の影響又は障害を評価することである。FEED試験は、生殖ステージAとBの評価となる（2節参照）。雌では、性周期、卵管内輸送、着床、着床前段階の胚発生に及ぼす影響を検出する。雄では、雄の生殖器の病理組織学的検査では検出されない機能的な影響（精巣上体内の精子成熟など）を検出する。FEED試験は配偶子の成熟、交尾行動、受胎能、胚の着床前段階、着床を評価できるようデザインされる。

FEED試験では、一般的に雌雄のどちらにも投与される（表9-2参照）。しかし、適切な数の無処置の雄又は雌を使用して、分離した試験として、雄だけあるいは雌だけのオプションも可能ではあるが、ケースバイケースで検討すべきである。

表 9-2 FEED 試験のデザイン; 雌雄のラットに投与する試験

パラメータ	雄および雌
典型的な一群あたりの動物数	雄 20 匹 + 雌 20 匹
群数	4

投与期間 ^a	M: 少なくとも交配開始の 2 週間以上前から交尾確認まで F: 交配開始の 2 週間以上前から着床 (GD6) まで
交配比率	雄: 雌=1:1
交配期間 ^b	2 週間以上
性周期の評価	交配開始の 2 週間前から交尾確認まで毎日
一般状態/生死	1 日 1 回以上
体重	週 2 回以上
摂餌量	週 1 回以上 (交配期間を除く)
雄の安楽死 ^c	剖検 (肉眼的観察) を行う。精巣及び精巣上体は病理組織学的検査の可能性を考慮し、保存する。
精子検査 ^d	必要に応じて実施
交尾した雌の安楽死 ^e	剖検 (肉眼的観察) と帝王切開を行う。卵巣及び子宮は病理組織学的検査の可能性を考慮し、保存する。
帝王切開: 子宮内着床データ	黄体数、着床数、生存胚数、死亡胚数

- a: 他の毒性試験から入手可能なデータ (病理組織学的所見、生殖器官重量、場合によってはホルモン測定データ、及び遺伝毒性データ) を、特に精子形成に対する影響を検出するための、投与期間の根拠として用いるべきである。少なくとも 2 週間の反復投与毒性試験で影響が認められていない場合には、雌で 2 週間、雄で 2 週間の交配前投与期間を設定することができる。雄への投与は交配期間を通して継続すべきであるが、雌の受胎確認後に終了とすることも有用な場合がある。雌への投与は少なくとも着床まで継続すべきである。これにより、反復投与毒性試験における病理組織学的検査では検出できなかった受胎能に対する機能的影響及び交尾行動に対する影響を評価することができる。他の試験データから雌雄の生殖器官重量あるいは病理組織学的所見に影響が認められる場合には、より広範囲にわたる試験を検討すべきである。
- b: 多くのラットは同居開始後 5 日以内 (すなわち、同居後最初の発情期) に交尾するが、雌が偽妊娠となる場合がある。3 週間まで雌を雄と同居しておくことで、これらの雌は性周期が再開し妊娠が可能となる。
- c: 交尾結果がわかるまで雄の安楽死を延期することは有用である。受胎能に対する影響が認められた場合、その影響を雄に起因する可能性を確認するために、雄を無処置の雌と交尾させてもよい。その雄は、交尾後も投与が継続して実施され安楽死を延期する場合には、雄生殖系に対する毒性評価のために用いることもできる (病理組織学的検査所見、精子検査 (脚注 d 参照))。
- d: 精子検査 (精子数、運動性、形態) を、他の方法によって得られた知見により確認し、さらにその影響を確認するための方法として実施してもよい。
- e: 雌の剖検は一般的に妊娠 13~15 日に行うのが受胎能や生殖機能への影響を評価する上では適切である (着床部位と胚吸収部位を見分けるためなど)。

11.2.2 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能 (PPND) に関する試験

げっ歯類を用いた PPND 試験は一般的に必要な (3.4 節および 4.1 節)。PPND 試験の目的は、着床から離乳までの期間、雌に被験物質を曝露し、妊娠/授乳期の雌、受胎産物および出生児の発生に対する有害作用を検出することである。この時期に誘発された影響は遅れて発現することがあるため、観察は出生児が性成熟に達するまで (生殖ステージ C から F、2 節参照) 継続すべきである。PPND 試験は、非妊娠雌動物と比較した毒性の増強、出生前および出生後の出生児の死亡、成長及び発達の変化、並びに出生児の成熟 (性成熟)、成熟時の生殖機能、感覚機能、運動機能、学習、記憶などの機能に対する影響を評価するようデザインされる。

雌は分娩させ、離乳まで出生児を哺育させる。離乳時に 1 腹につき少なくとも雌雄各 1 匹の出生児を選択し、性成熟に達するまで飼育し、生殖機能を評価するために交配する (表 9-3 参照)。

表 9-3 PPND 試験の試験デザイン: ラット

パラメータ

典型的な一群あたりの動物数 ^a	雌約 20 匹
群数	4
投与期間	着床 (GD 6/7) から離乳 (PND20/21) まで

F0 雌

一般状態／生死	1 日 1 回以上
体重	週に 2 回以上
摂餌量	分娩まで少なくとも週に 1 回以上
分娩観察	GD 21、完了まで
剖検	PND 21 剖検時に、病理組織学的検査を行う可能性を考慮し、肉眼的所見の認められた組織に加え、対照群の同じ組織も保存する

F1 離乳前

一般状態／生死	PND 0 から毎日
同腹児数、生存数、死亡数	PND 0 から毎日
体重と性別	PND 1, 4, 7, 14, 及び 21
同腹児数の調整 (任意)	PND 4 以降、雌雄各 4 又は 5 匹
身体的発達と反射 ^b	指標による

F1 離乳後

離乳後評価のための選択及び一群あたりの動物数 ^c	PND 21、各群雌雄各 20 匹を達成できるのであれば、1 腹あたり雌雄各 1 匹以上
一般状態／生死	毎日
体重	毎週
摂餌量 (任意)	毎週
成熟 (性成熟開始) ^d	雌：膈開口、PND 30 から完了まで 雄：包皮分離、PND 40 から完了まで
その他の機能検査 ^e	標準手順に準ずる
生殖能	10 週齢以上にて同群内 (同腹児を除く) で交配のためのペアリング (雌雄 1 : 1)
雌雄の安楽死	病理組織学的検査を行う可能性を考慮し、肉眼的所見の認められた組織に加え、対照群の同じ組織を比較のため十分数保存する。 帝王切開：子宮内着床データ、黄体数、着床数、生存胚数、死亡胚数

- a: 二世代を用いての試験では、F1 世代の同腹児の最終評価に 16~20 匹の同腹児を利用できるようにすべきである。自然減に対応できるよう、F0 世代の開始時の群あたりの動物数を約 20 匹にすべきである。
- b: 身体発達の最も確かな指標は体重である。眼瞼開裂、耳介展開など離乳前の発達指標は出生児の体重に高い相関性をもつ。面正向反射、聴覚性驚愕反射、空中落下正向反射、対光反射等も身体発達に関連する。このため、体重への影響が認められずにこれらのパラメータに変化が観察された際には注意をはらうべきである。
- c: 行動及びその他の機能検査、並びに生殖機能を評価するために、同腹児あたり雌雄 1 匹ずつを確保する。行動及びその他の機能検査と生殖機能の評価を別々の動物で実施するために、同腹児あたりさらに多くの動物を確保する場合もありうる。
- d: 対照群との差が特定の指標に限られたものなのか、あるいはそれが一般的な成長と関連しているのかを判断するため、性成熟指標達成時の体重を記録すべきである。
- e: 試験実施者は感覚機能、運動機能、学習および記憶を評価する方法を採用することが望ましい。学習と記憶は複雑な学習課題で評価すべきである。自発運動とプレパルス抑制を用いた驚愕反応を実施する場合には、馴化を示す十分な期間にわたって評価すべきである。

11.2.2.1 幼若動物毒性を評価するためのげっ歯類を用いた PPND 試験の改変

幼若動物試験が必要とされる場合には、PPND 試験に幼若毒性エンドポイントを追加し、使用動物数を減らした上で具体的な懸念事項に対処するよう、PPND 試験を改変することができる（ICH M3(R2)参照）。このアプローチを選択する上では、以下のことを考慮すべきである。

- 小児への使用を裏付けるために適切な曝露期間を確保すること。
- 母乳を介した出生児への十分な曝露が示されることや、発生に関して重要な期間に出生児に直接投与することも考慮すること（出生後まもなく間引かれた動物や離乳直前の試験動物を用いた F1 世代の TK サンプルングにより、曝露データが得られ、離乳前の投与を避けることができる）。

この改変された PPND 試験に含めるエンドポイントは、小児での使用を裏付けるための適切な幼若動物試験デザインの原則に基づくべきだが、本ガイダンス（S5）では言及しない。

11.2.2.2 ヒト以外の霊長類（NHP）を用いた単一試験（ePPND）

ePPND 試験（表 9-4）は、EFD 試験と PPND 試験の両方のエンドポイントを組み合わせ、投与を妊娠期間から分娩まで（GD20 から分娩まで）拡大した NHP での試験である。評価時期及び追加的パラメータについては ICH S6(R1)を参照のこと。

表 9-4 ePPND 毒性試験のデザイン: カニクイザル^a

パラメータ

一群あたりの動物数 ^b	一般的に 16 匹以上の妊娠動物
群数	最低 1 処置群と 1 対照群
投与期間	妊娠確認の上で投与を開始（GD 20 頃）し、分娩まで実施する

F0 世代の雌

一般状態／生死	1 日 1 回以上
体重	週に 1 回以上
分娩所見	完了日を記録
超音波評価	妊娠維持の確認のみ
剖検	必要とされる場合に限る

F1 世代離乳前

一般状態／生死	PND 0 から毎日
体重	毎週
形態計測／身体発育	PND 0 より定期的に実施
母子相互作用	出生後早期は授乳確認のため最低限に;それ以降は必要に応じて実施
外表検査	PND 0 から毎日
骨格検査	1 ヶ月目あるいはそれ以降に実施
内臓検査	剖検時
剖検	必要とされる評価により実施時期を決定。 病理組織学的検査の可能性を考慮し、組織を保存する。

a: カニクイザル以外の NHP を用いる際には、試験デザインを適宜改変しその根拠を示すべきである。

b: ePPND 試験における一群あたりの動物数は、出生後の発達の評価と、必要に応じて（免疫系など）専門家による評価が行えるよう、十分な児数（PND 7 に各群 6～8 匹）が得られるようにすべきである。通常、ePPND 試験では妊娠動物を数ヵ月にわたって試験に組み入れる。動物の組み入れについては、ICH S6(R1)を参照のこと。

11.2.3 胚・胎児発生（EFD）に関する試験

EFD 試験の目的は、着床～硬口蓋閉鎖までの期間、雌に被験物質を曝露し、妊娠中の雌及び胚・胎児発生に対する有害作用を検出することである（表 9-5）。EFD 試験は生殖ステージ C から D までを通しての評価となる（2 節参照）。EFD 試験は、非妊娠雌動物と比較した母体毒性の増強、胚・胎児の死亡、成長の変化、形態学的変化を評価するようデザインされる。

11.2.3.1 用量設定（DRF）試験

交尾後の雌における DRF 試験は、EFD 本試験のための適切な用量段階や投与スケジュールを選択するために最もよく利用されるが、この目的のためには既存の反復投与毒性試験における忍容性及び TK データで十分であることもある。

11.2.3.2 予備的 EFD（pEFD）試験

予備的な EFD 試験（pEFD 試験、表 9-5）は EFD 本試験とデザインは同様である。典型的な pEFD 試験のデザインでは、器官形成期に曝露を行い、適切な用量段階を設定し、各群 6 匹以上の妊娠動物を用いて、胎児の生存と体重の評価、外表及び内臓の検査を実施する（ICH M3(R2)参照）。

11.2.3.3 EFD 本試験

分娩予定日近くに雌に帝王切開を行い、胎児の生存と体重の評価、外表、内臓及び骨格検査を実施する（表 9-5）。表 9-5 に示した時期は、ラット及びウサギに関するものである。他の動物種に関しては適切な時期を用いるべきである。

表 9-5 ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験のデザイン

パラメータ	EFD		
	ラット	ウサギ	pEFD ^a
GLP 準拠	該当	該当	非該当
最少母動物数	16	16	6（妊娠動物） ^g
群数	4	4	4
投与期間 ^b	GD6-17	GD7-19	動物種ごとに適切な期間
妊娠期間エンドポイント			
一般状態／生死	1 日 1 回以上	1 日 1 回以上	1 日 1 回以上
体重 ^c	週 2 回以上	週 2 回以上	週 2 回以上
摂餌量	週 1 回以上	週 1 回以上	週 1 回以上
トキシコキネティクス	該当	該当	任意
帝王切開後エンドポイント			
帝王切開 ^d	GD20/21	GD28/29	動物種ごとに適切な期間

剖検	✓	✓	✓
子宮重量	任意	任意	任意
黄体	任意	任意	任意
着床部位	✓	✓	✓
胚・胎児の生死	✓	✓	✓
早期・後期の胚・胎児吸収	✓	✓	✓
胎盤の肉眼的観察	✓	✓	✓
生存胎児体重	✓	✓	✓
生存胎児性別	✓	✓	✓
胎児外表検査 ^{e, f}	該当	該当	該当
胎児内臓検査 ^{e, f}	該当	該当	該当
胎児骨格検査 ^{e, f}	該当	該当	非該当

- a: 拡充型 pEFD 試験では、妊娠動物数は各群 6 匹を 8 匹以上に増やし、胎児骨格検査を含め、GLP 下で実施すべきである。
- b: 着床から硬口蓋閉鎖までの期間、雌に被験物質を投与する（生殖ステージ C、2 節参照）。
- c: 投与期間中は毎日、妊娠した雌の体重を測定することにより有益な情報が得られる。
- d: 帝王切開は分娩予定の約1日前に実施すべきである。病理組織学的検査を実施する可能性を考慮し、肉眼的所見が認められた組織に加え、対照群の同組織を比較のため十分数保存する。
- e: 全ての胚・胎児に対して生死と異常を検査すべきである。様々な所見の関係性を、後日評価できるように、胎児は個体識別すべきである。異常のパターンを検出するため、様々な検査による全ての所見（体重、外表検査、内臓検査や骨格検査など）を一つの標本に関連付けられることが不可欠である。
- f: 利用した方法（新鮮胎児標本の観察や CT、MRI など）次第であるが、可能であれば、全胎児に対して内臓検査と骨格検査のどちらも実施することが望ましい。同一胎児で内臓検査及び骨格検査の両方を評価することができない方法を利用する場合、各同腹児の半数ずつをそれぞれの検査に割り当てるべきである。頭部の内臓検査は半数以上の胎児で実施すべきである。
- g: 最少母動物数は、各群の妊娠動物数による。pEFD 試験における母動物数ではない。

11.2.4 組み合わせ試験

11.2.4.1 受胎能及び胚発生（FEFD）に関する試験

受胎能及び胚発生（Fertility, Early Embryonic and Embryo-Fetal Development: FEFD）試験の目的は、交配前（雌雄）から交尾、着床、器官形成期終了までの期間、被験物質を曝露した結果生じる毒性の影響又は障害を評価することである。これは生殖ステージ A から C の評価となる（2 節参照）。

雌雄を用いた FEFD 試験が一般的に実施されるが、雌だけを評価する試験とすることも可能であり、その際は分離した試験として、適切な期間を設定した反復投与試験などで雄の受胎能を評価する。雌だけを評価する試験の場合、無処置の雄は交配だけに使用することになる。これらの試験デザインと観察項目は、11.2.1 節及び 11.2.3 節を参照すること（FEFD 試験および EFD 試験）。

11.2.4.2 受胎能及び PPND（FPPND）に関する試験

受胎能及び PPND（Fertility and Pre- and Postnatal Development: FPPND）試験の目的は、交配前（雌雄）に被験物質を曝露した結果生じる毒性の影響又は障害を評価すること、及び雌に着床から離乳まで被験物質を曝露した結果生じる妊娠／授乳期の雌、受胎産物および出生児の発生に対する有害影響を検出することである。この時期に誘発された影響は遅れて発現することがあるため、観察は出生児が性成熟するまで継続すべきである。これは生殖ステージ A から F の評価となる（2

節参照)。PPND 試験は、非妊娠動物と比較した毒性の増強、出生前及び出生後の児の死亡、成長および発達の変化、行動、成熟（性成熟）、成熟時の生殖機能などの障害を評価するようデザインされる。

当該試験では、使用動物数や評価パラメータに関して、それぞれの試験の特徴を含むデザインとすべきである。具体的な試験デザインおよび観察パラメータについては 11.2.1 節および 11.2.2 節（それぞれ、FEED および PPND）を参照のこと。

雌雄を用いた FPPND 試験を実施することもできるが、雌だけを評価する試験とすることも可能であり、その際は分離した試験として、適切な期間を設定した反復投与試験などで雄の受胎能を評価する。雌だけを評価する試験の場合、無処置の雄は交配だけに使用することになる。

11.3 規制当局による受入れのための代替法の適格性確認

この節では、試験化合物リスト（ICH 対照物質リスト）を含む、代替法の適格性確認の一助となる枠組みと試験計画について記載する。ICH 対照物質リストは、様々な対照物質の胚・胎児毒性に関する情報を包括的なカテゴリーに整理してまとめたものである。このリストは、特定の代替法の受入れにおいて、使用の背景が情報となりうることを念頭に作成されている。代替法が受入れられるためのパフォーマンスファクターについても概説する。ICH 対照物質リストは定期的に更新される予定である。

適用領域（用語参照）及び目的とする規制上の使用の背景をどう設定するかによって、代替法の適格性確認のための要素や規制当局による受入れの難しさが異なってくる。

11.3.1 ICH 対照物質リストの選択要因

ICH 対照物質リストは、動物又はヒトで TEFL を引き起こすことが知られている対照物質を、その作用機序が明確か否かによらず、網羅することを目的としている。

ラットやウサギで明らかに母体毒性が発現していない状態において、明確な TEFL を示すデータが得られていることが、陽性化合物の選択基準として必要不可欠である。可能であれば、TEFL がみられる用量における動物とヒトとの曝露量比も含める。

試験動物種において薬物動態及び TK のデータがあることは、対照物質の選択基準において重要である。例えば、利用される全ての化合物は、動物種の *in vivo* 試験で予測されている試験結果が陰性あるいは陽性結果のいずれであっても、適切な試験条件下での曝露データ（C_{max} や AUC）があるべきである。選択される化合物としては医薬品が好ましいが、その他の化学物質を考慮してもよい。ICH 対照物質リストには、現在バイオ医薬品は含まれていない。このリストには胎児に直接的に影響する化合物が優先して選択されるが、シトクロム P450 の代謝活性化に依存して TEFL が生じることが知られている化合物もいくつかある。細胞毒

性物質や遺伝毒性物質は、細胞分裂の盛んな細胞を選択的に傷害するという本来の特性により TEFL を引き起こすと考えられるため、限定的に含まれている。

代替法が種特異的な差異を検出する能力は、ある 1 種の動物種でのみ TEFL を起こすことが既知である対照物質を試験することで評価可能であるが、そのような化合物で自由に利用できるものの数は限られている。

TEFL を引き起こさない化合物（陰性化合物）も、代替法の特異度を評価できるよう、ICH 対照物質リストに含まれている。これらの化合物は、実施された *in vivo* 試験のすべての用量で陰性であるが、あるいは、より高い用量／曝露量で陽性（TEFL が認められる）となる場合には、代替法が陰性から陽性への移行を予測できることになる。代替法は *in vivo* 試験で陰性結果（TEFL が認められない）が示される条件の数倍と推定される濃度で陰性結果を予測すべきである。

さらに、代替法が多様な化学構造と作用機序をもつ医薬品を十分にカバーできるよう、ICH 対照物質リストには様々な化学／薬理クラスのそれぞれに陰性及び陽性化合物が含まれている。

代替法の適格性確認のためには、TEFL 陰性あるいは陽性の結果を示す動物での最大曝露量が、ヒトでの曝露量よりも高いことは重要ではない。このことは、試験結果をリスクのヒトに外挿する際に、試験での最高用量／曝露量が MRHD の曝露量と同等以上であることが望ましいこととは異なる。

最後に、リスト作成時には、選択した化合物が適切な品質のものとして市販されているかどうかを考慮した。

11.3.2 パフォーマンスファクター

規制当局への利用にあたって代替法が適切であるためには、ICH 対照物質リストを用いて特徴づけを行うべきである。リストの化合物全てについて網羅的に実施するものではなく、入手可能な情報と実際的な考慮事項に基づいて推奨するものである。少なくとも 45 化合物について試験すべきである。コアではない化合物に関しては他の化合物で代替しても良いが、その際は上記の選択要因に従って適切性を示すべきである。

化合物は広範な生物学および化学的活性をカバーする複数のクラスに分類されている。すべてのクラスに関して試験すべきである（各クラスにつき少なくとも 2, 3 種類の化合物）。陽性化合物を確認することが重要であるため、陽性と陰性化合物を約 2 : 1 の比率で試験すべきだが、この比率を用いることにより、限られた数の利用可能な化合物により選択性を確保することができる。安全性評価及び使用の背景には、偽陰性率が偽陽性率よりも重要である。

陽性を検出するためには、真の選択性（真陽性と真陰性の区別）は少なくとも 80%あるべきである。

評価にあたっては、適用領域と代替法の限界を特定すべきであり、精度と経時的再現性に関する評価を含める。特定の代替法が複数の施設で用いられる場合は、施設間での再現性と技術移転性を確立すべきである。

個々の代替法又は代替法の組み合わせは、TEFL の予測に利用することができる。代替法を組み合わせる場合は、組み合わせた場合の性能だけでなく、各代替法の性能特性を特定すべきである。どの組み合わせが最高の予測性を示すかを判断する際には、様々な統計手法が利用可能である。

11.3.3 規制当局に提出すべき代替法の適格性に関する情報

規制当局への申請を目的としたリスク評価にあたり、代替法を使用するためには、以下の情報を提供すべきである。

予測モデルが何なのか、どの種（すなわち、ラット、ウサギ、あるいはヒトでの結果）を予測しようとしているのか、どのような生殖のエンドポイントの評価するのかについて詳細に説明すべきである。予測モデルは、例えばラットのように、それぞれの動物種を用いて目的のエンドポイント（TEFL など）を予測するために、単一あるいは複数の試験の組み合わせから構成される場合もある。複数の試験の組み合わせを用いる場合には、それぞれの試験について十分な説明が必要である。評価に用いる具体的なエンドポイント（遺伝子の特徴、形態学的変化など）を説明し、どのようにエンドポイントを選択したのか、陽性・陰性判定の具体的な要素など評価の仕方について検討をすべきである。

当該代替法において陽性及び陰性結果を判定するのに用いたアルゴリズムの詳細についても提示すべきである。予測モデルは、代替法で用いた濃度を、予測する動物種での有害作用を生じる *in vivo* 曝露量と関連付けるべきである。例えば、エンドポイントにおける陽性の影響に関連づけられる濃度に関しては、 C_{max} や AUC のような *in vivo* での曝露量を考慮に入れるべきである。これにより予測モデルを用いた曝露量に基づくリスク評価が可能になる。*in vivo* の結果と関連付けるために用いた標準化因子も含め、用いた薬物動態パラメータについて提示すべきである（3.5.3 節）。

代替法の性能に関する適格性確認に用いた対照物質リストを提示すべきである。代替法開発のためのトレーニングセット（用語参照）として用いた化合物リスト、また代替法の性能評価のためのテストセット（用語参照）として用いた化合物リストについて明確に示した文書を作成すること。トレーニングセットには申請者が選択した ICH 対照物質リストにない化合物を含めてもよい。ICH 対照物質リストにない化合物をトレーニングセット又はテストセットに含めてよいが、両方に含めることはできない。トレーニングセットに含めることが可能な ICH 対照物質リストに掲載されている化合物は 15%以下である。これは、適格性確認を目的としたテストセットの一部として、ICH 対照物質リストから十分な数の化合物を使用できるよう残しておくためである。テストセットに ICH 対照物質リストからの 85%以上の化合物を含めることで、代替法の予測度は十分に頑健となる。

トレーニングセット及びテストセットの性能については、個別の評価とこれらを併せた評価を実施すべきであり、それぞれの分析の結果を提示すべきである。性能の概要には、感度、特異度、陽性予測率、陰性予測率を一覧にすべきである。複数の代替法を用いる場合には、予測モデルで用いた総合評価に加え、それぞれの代替法の性能の評価をそれぞれ別個に提示すべきである。モデルの中で複数の代替法を統合する場合、総合予測モデルとする上でそれぞれの代替法をどのように統合するのかの明確な説明も提示すべきである。

代替法の適格性確認と予測モデルの使用の一環として、その代替法で予測可能なカテゴリーと予想できないカテゴリー（適用領域に含まれるかどうかなど）を ICH 対照物質リストに含まれる以下のカテゴリーの一覧（チャンネル調節剤、DNA 修飾剤、酵素調節剤、ホルモン／ステロイド、キナーゼ調節剤、ヌクレオシド調節剤／栄養阻害剤／代謝拮抗剤、受容体調節剤、オリゴヌクレオチドをベースとする調節剤、セカンドメッセンジャー調節剤など）の中から明らかにすべきである。さらに、ラットやウサギを用いた *in vivo* 試験で検出されないヒトでの催奇形性物質に関しては、代替法の使用目的がラット又はウサギの結果を予測することであったとしても、その代替法で催奇形性が検出することができるのかどうかを確認するために評価すべきである。これらの結果は個別に提示し、申請者は、これらの結果を予測性評価に含めるかどうか、また含めるのであればどのように含めるのかの妥当性を示すべきである。

試験の再現性について説明すべきである。また、少なくとも 1 つの陽性対照物質と少なくとも 1 つの陰性対照物質の評価は、被験物質の試験と同時あるいはその前後に実施可能である。申請者は、陽性及び陰性対照の組み込みに関する自らのアプローチについて妥当性を示すべきである。代替法の再現性を示すために用いたアプローチについては、提出する情報の中で説明すべきである。さらに、ICH 対照物質リストのいくつかの化合物については定期的に再評価し、医薬品開発のために評価した化合物とともにそれらのデータを提出すべきである。試薬、生物学的材料及び試験に用いた化合物の由来を明らかにすべきである。同様に、適格性確認に用いたデータに ICH 対照物質リストにある化合物以外のものが含まれる場合には、当該の化合物すべての *in vivo* 曝露データに関する出典/参考文献を提示すべきである。ICH 対照物質リストにある化合物については、当該リストが（参照）情報源となるため、その必要はない。規制当局への申請に用いる試験は、原則として GLP 下で実施すべきとされていることに留意して、代替法の開発を行うべきである。

代替法について申請者は、当該試験法の適格性確認が生殖毒性評価の裏付けとしてこれまでに他の規制当局に提出されているかどうか、また提出されているのであればどこに提出したのかを述べるべきである。

11.3.4 ICH 対照物質リスト

ICH 対照物質リスト（表 9-6）は、特定の医薬品の標的分子や構造類似体の化学作用を試験するような個別のアプローチを網羅することを意図していない。特定の医薬品や使用の背景においては、特定の試験法及び評価を使用することの適切

性を示すべきである（申請者が同じクラスの他の医薬品に関する *in vivo* 試験のデータを持っているなど）。表 9-7 に、代替法の適格性確認に用いられる ICH 対照物質リストに含まれる化合物のデータの例を示す。

表 9-6 代替法の適格性確認に用いられる ICH 対照物質

Category	Positive Controls	Negative Controls
Channel Modulator	Sotalol	Hydrochlorothiazide
	Almokalant	Chlorthalidone
	Diltiazem	
	Topiramate	
	Trimethadione	
	Phenytoin (Diphenylhydantoin)	
	Carbamazepine	
DNA Modifiers	Cyclophosphamide	
	Busulfan	
	Cisplatin	
	Thiotepa	
Enzyme Modulator	Aspirin	
	Captopril	Saxagliptin
	Enalapril	Vildagliptin
	Methimazole (Thiamazole)	
Hormone/Steroid	Dexamethasone	Progesterone
	Fluticasone	
Kinase Modulator	Afatinib	
	Ceritinib	
	Dabrafenib	
	Dasatinib	
	Ibrutinib	
	Pazopanib	
	Tacrolimus	
	Imatinib	
Nucleoside Modulator/ Central metabolite inhibitor	Cytarabine	
	5-Fluorouracil	
	Hydroxyurea	
	Methotrexate	
	Ribavirin	
	Teriflunomide	
	Warfarin	
Other	Artesunate / amodiaquine	Amoxicillin
	Clarithromycin	Clindamycin
	Doxycycline	Cyclobenzaprine
	Fluconazole	Erythromycin

Category	Positive Controls	Negative Controls
	Pomalidomide	Sulfasalazine
	Tafamidis	
	Telavancin	
	Thalidomide	
	Valproic acid	
Receptor Modulator		Cetirizine
	Bosentan	Cyproheptadine
	Clobazam	Doxylamine
	Fingolimod	Maraviroc
	Plerixafor	Metoclopramide
	Sumatriptan	Nizatidine
Second Messenger Modulator	Theophylline	
Transcription Modulator	Acitretin	
	Isotretinoin (13- <i>cis</i> -retinoic acid)	
	Vismodegib	

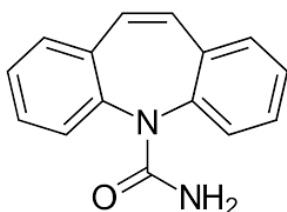
表 9-7 代替法の適格性確認に用いられる ICH 対照物質リストに含まれる化合物のデータの例

Carbamazepine

Proposed Class: Other

CAS No.: 298-46-4

Structure:



Rat NOAEL Dose AUC C _{max}	Rat LOAEL Dose AUC C _{max}	Rat Findings	Rabbit NOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit LOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit Findings	Notes
250 mg/kg/day Fasted 200 mg/kg single PO dose: C _{max} = 32.7 µg/mL [3] (extrapolates to 41 µg/mL at 250 mg/kg)	400 mg/kg Fasted 200 mg/kg single PO dose: C _{max} = 32.7 µg/mL [3] (extrapolates to 65 µg/mL at 400 mg/kg)	<u>650 mg/kg [2]</u> Maternal toxicity increased resorptions, increased skeletal and visceral abnormalities (4/119 offspring showed cleft	NOAEL was not identified	225 mg/kg/day Exposure data available for 80 mg/kg [5]: C _{max} = 10.4 µg/mL (extrapolates to 29 µg/mL at 225 mg/kg)	Dosed 225 – 450 mg/kg [1] No malformations Decreased numbers of fetuses,	Carbamazepine 10,11-epoxide metabolite present

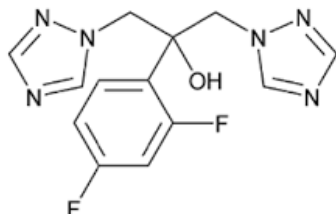
Rat NOAEL Dose AUC C _{max}	Rat LOAEL Dose AUC C _{max}	Rat Findings	Rabbit NOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit LOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit Findings	Notes
AUC _(0-24 h) = 32.8 mg•min/mL = 547 µg•h/mL (extrapolates to 684 µg•h/mL at 250 mg/kg)	AUC _(0-24h) = 32.8 mg•min/mL = 547 µg•h/mL (extrapolates to 1094 µg•h/mL at 400 mg/kg)	palate, talipes, or anophthalmos) <u>600 mg/kg [4]</u> increased resorptions, increased skeletal and visceral abnormalities (edema and kinked tails) <u>400 mg/kg [1, 2, 4]</u> Reduced maternal weight gain; increased visceral abnormalities; abortions <u>250 mg/kg [1, 2]</u> kinked ribs in 2/119 fetuses (not considered a TEFL finding)		AUC _(0-24h) = 94.8 µg•h/mL (extrapolates to 267 µg•h/mL at 225 mg/kg)	increased resorptions in all groups Maternal toxicity at 450 mg/kg	
1. Published Pharm/tox review of NDA 16-608 (December 19, 1967), 16608/S-000 Part 02. 2. Equetro (carbamazepine) extended-release capsules Label, Carbamazepine FDA approval package, Label 021710/S-011, S-012. 3. Shi L, Dang XL, Liu XY, Wei HM, Yang MM, Zhang Y. Effect of <i>Sophora flavescens</i> on the pharmacokinetics of carbamazepine in rats. Arch Pharm Res. 2014;37:1617-23. 4. Vorhees CV, Acuff KD, Weisenburger WP, Minck DR. Teratogenicity of carbamazepine in rats. Teratology. 1990;41:311-17. 5. Koumaravelou K, Adithan C, Shashindran CH, Asad M, Abraham BK. Effect of honey on carbamazepine kinetics in rabbits. Indian J Exp Biol. 2002;40(5):560-3						

FLUCONAZOLE

Proposed Class: Other

CAS No.: 86386-73-4

Structure:



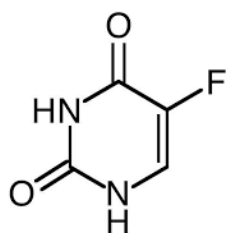
Rat NOAEL Dose AUC C _{max}	Rat LOAEL Dose AUC C _{max}	Rat Findings	Rabbit NOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit LOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit Findings	Notes
50 mg/kg Following 20 mg/kg single oral dose: C _{max} [2] = 13.5 µg/mL (extrapolates to 34 µg/mL at 50 mg/kg) AUC [1] = 152 µg•hr/mL (extrapolates to 380 µg•h/mL at 50 mg/kg)	80 mg/kg 20 mg/kg single oral dose: C _{max} = 13.5 µg/mL [3] (extrapolates to 54 µg/mL at 80 mg/kg) AUC = 152 µg•h/mL [1] (extrapolates to 608 µg•h/mL at 80 mg/kg)	<u>80 –320 mg/kg [2, 3]</u> Increased embryolethality and fetal abnormalities (wavy ribs, cleft palate, and abnormal cranio-facial ossification) <u>≥25 mg/kg</u> Increases in fetal anatomical variants (supernumerary ribs, renal pelvis dilation) and delays in ossification were observed at 25 and 50 mg/kg and higher doses <u><10 mg/kg</u> No fetal effects	≤ 25 mg/kg 10 mg/kg single oral dose: C _{max} = 10.8 µg/mL (extrapolates to 27 µg/mL at 25 mg/kg)	75 mg/kg [2, 3] 10 mg/kg single oral dose: C _{max} = 10.8 µg/mL (extrapolates to 81 µg/mL at 75 mg/kg)	<u>75 mg/kg</u> Abortions	
1. Humphrey MJ, Jevons S, Tarbit MH. Pharmacokinetic evaluation of UK-49,858, a metabolically stable triazole antifungal drug, in animals and humans. Antimicrob Agents Chemother. 1985 Nov;28(5):648-53. 2. Published Pharm/tox review of NDA 20322 (June 30, 1994), Part 01 3. Diflucan (Fluconazole) FDA Prescribing Information						

5-FLUOROURACIL

Proposed Class: Nucleoside modulator

CAS No.: 51-21-8

Structure:



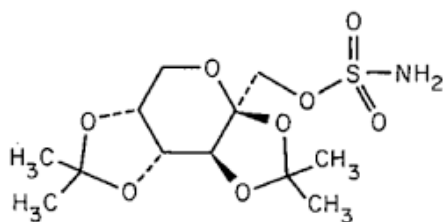
Rat NOAEL Dose AUC C _{max}	Rat LOAEL Dose AUC C _{max}	Rat Findings	Rabbit NOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit LOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit Findings	Notes
15 mg/kg single dose IP (Ku wagata) 30 mg/kg , IP (Zhang) C _{max} = 7.74 µg/mL (extrapolates to 3.87 at 15 mg/kg) AUC = 11.66 µg•h/mL (extrapolates to 5.83 at 15 mg/kg)	12 – 37 mg/kg single IP dose on GD11 or 12 (Chaube) 17 mg/kg single dose IP on GD 9 (Ku wagata) 30 mg/kg , IP (Zhang) C _{max} = 7.74 µg/mL (extrapolates to 4.4 at 17 mg/kg) AUC = 11.66 µg•h/mL (extrapolates to 6.6 at 17 mg/kg)	<u>12 – 37 mg/kg</u> (Chaube) Cleft palate and deformed appendages <u>≥17 mg/kg</u> (Ku wagata) micro- anophthalmos , craniofacial defects, hydrocephaly, brain hernia, edema; embryolethalit y at 30 mg/kg <u>≥15 mg/kg</u> decreased fetal weight	Not determined, <40 mg/kg	40 mg/kg SC GD12 (480 mg/m ²) PK: 20 mg/kg IV (Kar) C _{max} = 427 nmol/mL =55 µg/mL (extrapolates to 110 at 40 mg/kg) AUC = 2535 nmol•min/mL = 5.5 µg•h/mL (extrapolates to 11 at 40 mg/kg)	<u>40 mg/kg</u> (DeSesso) 2/5 females died, with fetuses of surviving females exhibiting anomalies of the limb in 85% of cases	5FU is a pro- drug: thymidylate synthetase inhibitor is 5FdUMP MW = 130.077 g/mol
Chaube S, Murphy ML. The teratogenic effects of the recent drugs active in cancer chemotherapy. In: Advances in Teratology. ed. DHM Woolham. Academic Press, New York. 1968 DeSesso, JM, Scialli AR, Goeringer GC. Teratology. 1995;51:172 (abstract) Kar R, Cohen RA, Terem TM, Nahabedian MY, Wile AG. Pharmacokinetics of 5-fluorouracil in rabbits in experimental regional chemotherapy. Cancer Res. 1986;46(9):4491-5. Ku wagata M, Takashima H, Nagao T. A comparison of the <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> response of rat embryos to 5-fluorouracil. J Vet Med Sci. 1998;60(1):93-9. Zhang C, Li G, Wang Y, Cui F, Zhang J, Huang Q. Preparation and characterization of 5-fluorouracil-loaded PLLA-PEG/PEG nanoparticles by a novel supercritical CO₂ technique. Int J Pharm. 2012;436(1-2):272-81.						

TOPIRAMATE

Proposed Class: Channel Modulator

CAS No.: 97240-79-4

Structure:



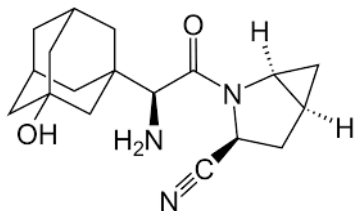
Rat NOAEL Dose AUC C _{max}	Rat LOAEL Dose AUC C _{max}	Rat Findings	Rabbit NOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit LOAEL Dose AUC C _{max}	Rabbit Findings	Notes
100 mg/kg <u>Exposure</u> (FDA pharmtox review) 30 mg/kg, female SD, 8 doses C _{max} = 22.2 µg/mL (extrapolates to 74 at 100 mg/kg) AUC = 268 µg•h/mL (extrapolates to 893 at 100 mg/kg) In pregnant rats dosed w/ 200 mg/kg, at GD12-15, C _{1.5h} = 97 µg/mL (extrapolates to 49 at 100)	400 mg/kg <u>Exposure</u> (FDA pharmtox review) 30 mg/kg, female SD, 8 doses C _{max} = 22.2 µg/mL (extrapolates to 296 µg/mL at 400 mg/kg) AUC = 268 µg•h/mL (extrapolates to 3573 at 400 mg/kg) In pregnant rats dosed w/ 400 mg/kg, at GD12-15, C _{1.5h} = 169 µg/mL	≥400 mg/kg (FDA pharmtox review and/or topamax label) limb defects (ectrodact yly, micromeli a, and amelia) ≥20 mg/kg reduced fetal body weights and increased incidence of structural variations	10 mg/kg <u>Exposure</u> (FDA pharmtox review) 60 mg/kg, females, 14 doses C _{max} = 39 µg/mL (extrapolates to 6.5 at 10 mg/kg) AUC = 201 µg•h/mL (extrapolates to 33.5 at 10 mg/kg)	35 mg/kg <u>Exposure</u> (FDA pharmtox review) 60 mg/kg, females, 14 doses C _{max} = 39 µg/mL (extrapolates to 23 at 35 mg/kg) AUC = 201 µg•h/mL (extrapolates to 117 at 35 mg/kg)	≥35 mg/kg (FDA pharmtox review and/or topamax label) Embryofetal mortality increased at ≥35 mg/kg; Teratogenic effects (primarily rib/vertebral malformations) were observed at 120 mg/kg	In rats: maternal toxicity were seen at ≥400 mg/kg and maternal body weight gain was reduced at ≥100 mg/kg In rabbits: maternal toxicity (decreased body weight gain, clinical signs, and/or mortality) was seen at ≥35 mg/kg Rabbit LOAEL margins all <10
Topamax label (US): rat: oral doses of 20, 100, and 500 mg/kg or 0.2, 2.5, 30, and 400 mg/kg; rabbit: oral doses of 20, 60, and 180 mg/kg or 10, 35, and 120 mg/kg Published Pharm/tox review of NDA 20505/S000 (August 1, 1995)						

SAXAGLIPTIN

Proposed Class: Enzyme modulator

CAS No.: 361442-04-8

Structure:



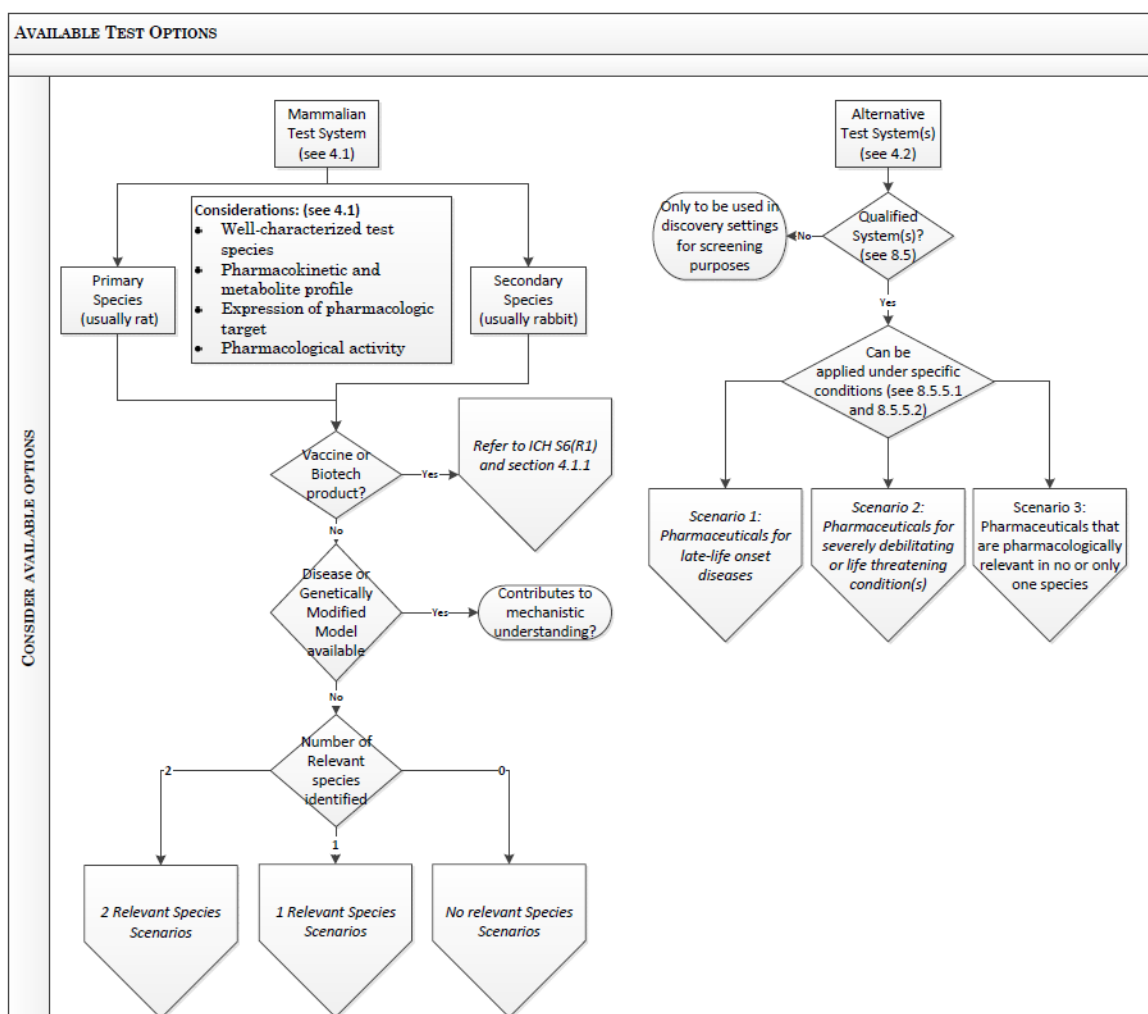
Rat NOAEL (Highest Dose Tested) Dose, AUC, C _{max}	Rat LOAEL	Rat Findings	Rabbit NOAEL (Highest Dose Tested) Dose, AUC, C _{max}	Rabbit LOAEL	Rabbit Findings	Notes
900 mg/kg C _{max} = 62 µg/mL AUC = 647 µg·h/mL	Not relevant	No malformations or embryofetal lethality noted. <u>>240 mg/kg</u> delayed ossification	200 mg/kg C _{max} = 34 µg/mL AUC = 111 µg·h/mL	Not relevant	No malformations or embryofetal lethality <u>200 mg/kg</u> increased ossification	
Published FDA Pharm/tox review of NDA 022350/S000, Parts 2, 3, and 5 (March 3, 2009). Rat: oral dosages of 64, 240 and 900 mg/kg; rabbit: oral dosages of 8, 40 and 200 mg/kg						

11.3.5 EFD 試験戦略の例

この節では EFD に対する有害作用を検出するために利用可能な総合的試験戦略について説明する。特定のシナリオの使用については根拠を示す必要がある。

11.3.5.1 節及び 11.3.5.2 節で述べる以外の状況、ならびに本ガイドライン中で代替法の使用を提唱している以外の状況においても、代替法で陽性の結果が得られた場合には、哺乳類を用いた *in vivo* 試験を削減することは可能である。逆に、上記以外のほとんどの状況下において、代替法で陰性結果が得られた場合には、*in vivo* 試験の削減は想定されない。図 9-1 参照。

図 9-1 利用可能な試験オプションのまとめ



Available Test Options	利用可能な試験選択肢
Mammalian Test System (see 4.1)	哺乳類試験系 (4.1 節参照)
Primary Species (usually rat)	第一の動物種 (通常ラット)
Secondary Species (usually rabbit)	第二の動物種 (通常ウサギ)
Considerations: (see 4.1)	考慮事項 (4.1 節参照)
• Well-characterized test species	十分に特徴づけられている動物種
• Pharmacokinetic and metabolite profile	薬物動態と代謝物プロファイル
• Expression of pharmacologic target	薬理学的標的の発現
• Pharmacological activity	薬理活性
Vaccine or Biotech product?	ワクチンあるいはバイオ医薬品か？
Refer to: ICH S6(R1) or section 4.1.1	ICH S6(R1)又は 4.1.1 節を参照
Disease or Genetically Modified Model available	病態モデル又は遺伝子改変動物が利用可能
Contributes to mechanistic understanding?	機序の理解に役立つか？
Number of Relevant species identified	適切であると特定されている動物種の数
2 Relevant Species Scenarios	適切な動物種が 2 種のシナリオ
1 Relevant Species Scenarios	適切な動物種が 1 種のシナリオ
No Relevant Species Scenarios	適切な動物種がない場合のシナリオ
Alternative Test System (see 4.2)	代替の試験系 (4.2 節参照)

Qualified System(s)? (see 11.3)	試験系の適格性確認はされているか？ (11.3 節参照)
Only to be used in discovery settings for screening purposes	スクリーニングを目的とした試験としてのみ使用可能
Can be applied under specific conditions (see 11.3.5.1 and 11.3.5.2)	特定の状況で利用可能 (11.3.5.1 節及び 11.3.5.2 節参照)
Scenario 1: Pharmaceuticals for late-life onset diseases	シナリオ 1：高齢期発症疾患のための医薬品
Scenario 2: Pharmaceuticals for severely debilitating or life threatening condition(s)	シナリオ 2：身体の機能を著しく損なうあるいは生命を脅かす疾患のための医薬品
Scenario 3: Pharmaceuticals that are pharmacologically relevant in no or only one species	シナリオ 3：薬理学的に適切な動物種がない又は 1 種だけの医薬品

11.3.5.1 適切な動物種が 2 種類以上ある場合のシナリオ (参照：動物種選択)

本節では、胚・胎児発生に対する有害作用を検出するために利用できる総合的試験戦略について概説する。特定の試験戦略の利用については、その根拠を示すべきである。

a) シナリオ 1：高齢期発症疾患のための医薬品 (図 9-2)

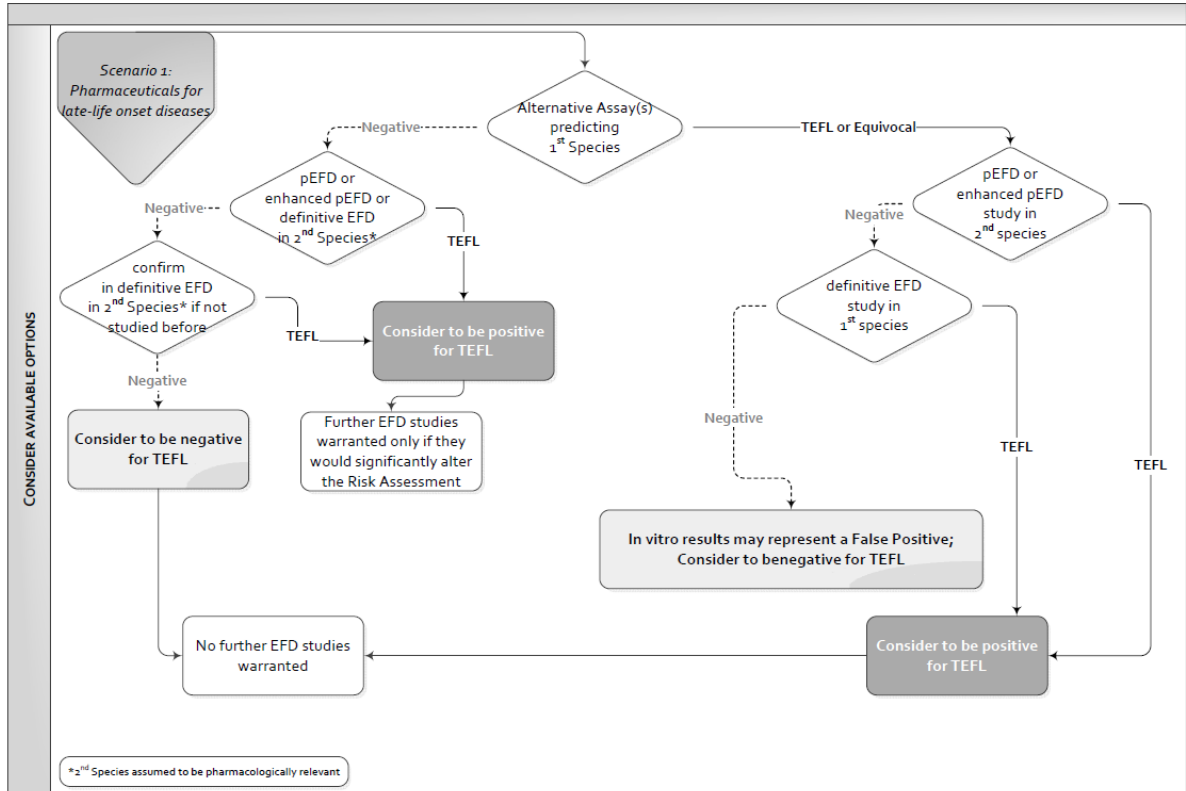
- 適格性確認された代替法によって、1種の動物種（ラットなど）で TEFL が予測される、あるいは不確かな結果が得られた場合には、複数の動物種でのリスク及び *in vivo* での所見を評価するために、別の動物種（ウサギなど）での EFD 評価（pEFD 試験、拡充型 pEFD 試験など）を実施すべきである。
 - in vivo* 試験（ウサギなど）で TEFL が認められる場合には、その医薬品は代替法と *in vivo* 試験の結果に基づき、当該医薬品は複数の動物種において TEFL を引き起こすと考えられる。
 - in vivo* 試験で TEFL が検出されない場合、代替法に相当する動物種で EFD 本試験を実施し、*in vivo* での TEFL の可能性についてさらに評価すべきである。この EFD 本試験で TEFL が認められる場合には、代替法と同じ動物種を用いた *in vivo* 試験での陽性結果に基づいて、当該医薬品は動物試験で陽性と考えられる。ハザードがすでに特定され、総体的な情報に基づいてリスク評価が可能であることから、これ以上の EFD 試験は必要とされない。両方の *in vivo* EFD 試験で TEFL が認められない場合、これらの *in vivo* 試験で十分な曝露量に達していたのであれば（*in vivo* 試験での曝露量がヒトでの曝露量よりも高いなど）、代替法の結果は偽陽性であり、当該医薬品が TEFL を引き起こす可能性は低いと考えられる。
- 代替法により 1種の動物種（ラットなど）で陰性結果（TEFL なし）が予測される場合、この医薬品が *in vivo* で TEFL 陽性であるかどうかを判

断するために、別の動物種（ウサギなど）でのEFD試験を実施すべきである。

- a. 第二の動物種を用いたEFD試験でTEFLが認められる場合には、当該医薬品は試験動物で陽性と考えられる。さらにEFD試験を実施することで、リスク評価に大きな変更が生じる可能性がある場合（臨床曝露量に比べて高い曝露量の場合にのみ陽性であるが、別の動物種では低曝露量下で関連するリスクが発現するかもしれないなど）に限り、さらにEFD試験が必要とされる。
- b. 第二の動物種を用いたEFD本試験でTEFLが検出されない場合、当該医薬品は動物試験（*in vitro*と*in vivo*）でTEFLを引き起こす可能性は低いと考えられ、追加のEFD試験は必要とされない。

ラットを用いたEFD試験が実施されない上記のシナリオについては、ラットを用いた受胎能試験又はPPND試験で、*in vitro*での陽性結果を確認する追加的な機会が生じる。これらの試験では、*in vivo*での曝露により生殖発生リスクに関する追加情報を得ることが可能である。

図 9-2 高齢期発症疾患のための医薬品に関する EFD の総合的試験戦略を示したシナリオ 1



Consider Available Options	利用可能な選択肢を考慮
Scenario 1: Pharmaceuticals for late-life onset diseases	シナリオ 1：高齢期発症疾患のための医薬品
Alternative Assay(s) predicting 1 st Species	第一の動物種を予測する代替法
Negative	陰性

pEFD or enhanced pEFD or definitive EFD in 2 nd Species*	第二の動物種を用いた pEFD 試験、拡充型 pEFD 試験又は EFD 本試験を実施
Negative	陰性
confirm in definitive EFD in 2 nd Species * if not studies before	これまでに実施されていない場合、第二の動物種*を用いて EFD 本試験を実施し確認
Negative	陰性
Consider to be negative for TEFL	TEFL 陰性と考える
No further EFD studies warranted	これ以上の EFD 試験は必要なし
TEFL	TEFL
Consider to be positive for TEFL	TEFL 陽性と考える
Further EFD studies warranted only if they would significantly alter the Risk Assessment	追加の EFD 試験を実施することによって、リスク評価に大きな変更が生じる可能性がある場合に限り、EFD 試験が必要とされる。
TEFL/Equivocal	TEFL／不確かな結果
pEFD or enhanced pEFD study in 2 nd Species	第二の動物種における pEFD 試験あるいは拡充型 pEFD 試験
Negative	陰性
Definitive EFD study in 1 st Species	第一の動物種を用いた EFD 本試験
Negative	陰性
In vitro results may represent a False Positive; Consider to be negative for TEFL	<i>in vitro</i> の結果が偽陽性かもしれない。 TEFL 陰性と考える
Consider to be positive for TEFL	TEFL 陽性と考える
*2 nd Species assumed to be pharmacologically relevant	*薬理学的に適切である第二の動物種

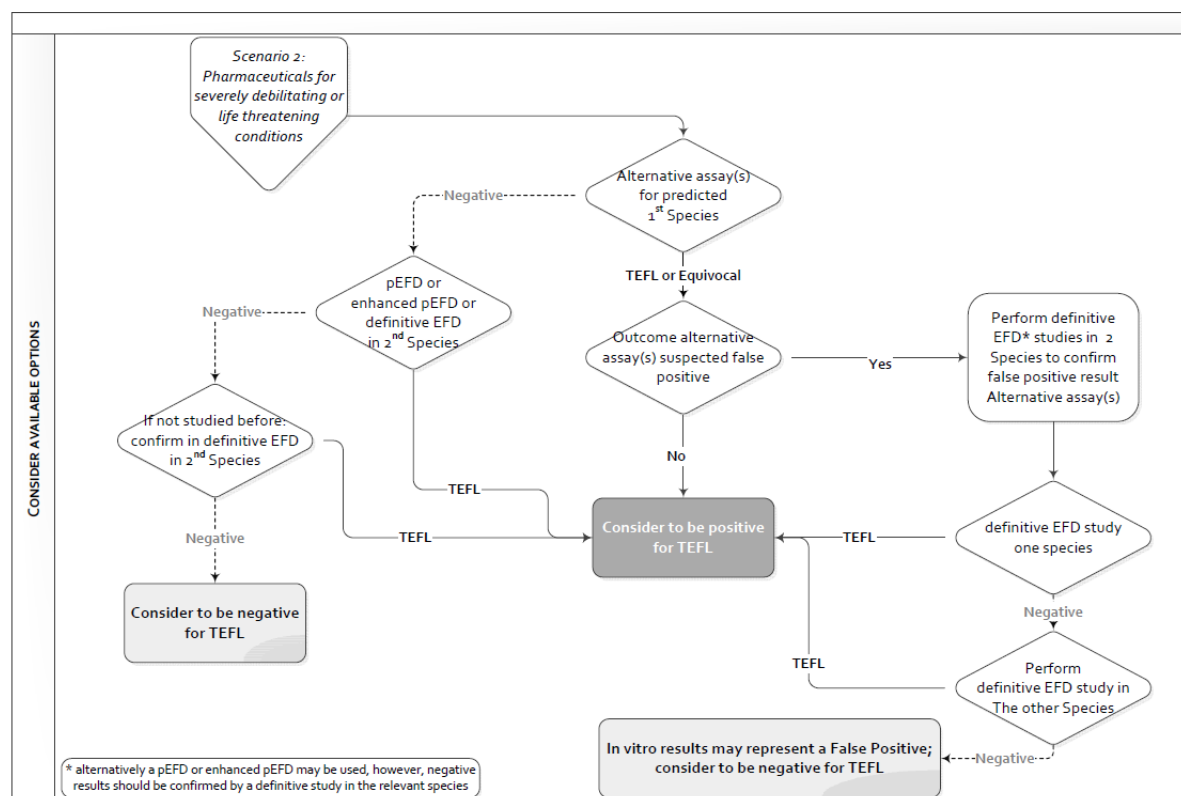
b) シナリオ2：身体機能を著しく損なう又は生命を脅かす疾患のための医薬品 (図9-3)

重篤でない慢性疾患と比較して、身体機能を著しく損なう又は生命を脅かす疾患のための医薬品においては、そのリスク/ベネフィットを考慮すると、適格性が確認された代替法は関連するリスク評価に十分役立つと考えられる。

1. 適格性が確認された代替法によって、1種の動物種（ラットなど）で TEFLが予測される、あるいは不確かな結果が得られる場合（あるいはクラスエフェクトが特定された場合）には、その結果が疑わしく、偽陽性であると考えられない限り、追加の試験は必要とされない（フローチャート2）。
 - a. 申請者が、当該結果は偽陽性であることを示したい場合、*in vivo* でTEFLが認められないことを確認するために、2種類の動物種でEFD本試験を実施すべきである。
 - i. いずれの動物種でも*in vivo*でTEFLが認められない場合、代替法の結果は偽陽性であり、当該医薬品は*in vivo*で陰性と考えられ、この情報をリスク評価に用いることになる。

- ii. これらの*in vivo*試験の1つ以上において、TEFL陽性の結果が得られた場合には、当該医薬品は*in vivo*で陽性と考えられ、この情報がリスク評価に織り込まれる。
2. 代替法で陰性結果が予測される場合（すなわちTEFLが認められない場合）、当該医薬品が*in vivo*で陽性かどうかを判断するため、もう一方の動物種（ウサギなど）を用いたEFD試験を実施すべきである。
- a. 第二の動物種のEFD試験でTEFLの結果が認められる場合、その医薬品は動物で陽性と考えられる。さらにEFD試験を行うことでリスク評価に大きな変化があるかもしれない場合（臨床曝露量に比べて高い曝露量の場合にのみ陽性であるが、別の動物種では低曝露量で関連リスクを示すかもしれないなど）に限り、さらにEFD試験が必要とされる。
- b. 第二の動物種でのEFD本試験でTEFLが認められない場合、その医薬品は動物で陰性であると考えられ、さらにEFD試験は必要とされない。

図9-3 身体機能を著しく損なう又は生命を脅かす疾患のための医薬品に関するEFDの総合的試験戦略を示したシナリオ2



Consider Available Options	利用可能な選択肢を考慮
Scenario 2: Pharmaceuticals for severely debilitating or life threatening condition(s)	シナリオ2：身体機能を著しく損なう又は生命を脅かす疾患のための医薬品
Alternate assay (s) for predicted 1 st Species	第一の動物種を予測する代替法
Negative	陰性

pEFD or enhanced pEFD or definitive EFD in 2 nd Species	第二の動物種を用いた pEFD 試験、拡充型 pEFD 試験又は EFD 本試験を実施
Negative	陰性
If not studies before, confirm in definitive EFD in 2 nd Species	これまでに実施されていない場合、第二の動物種を用いて EFD 本試験を実施し確認
Negative	陰性
Consider to be negative for TEFL	TEFL 陰性と考える
TEFL or Equivocal	TEFL あるいは不確か
Outcome Alternate Assay (s) suspected false positive	代替法の結果が疑わしく、偽陽性と考えられる
Perform definitive EFD* studies in 2 Species to confirm false positive result Alternative assay (s)	代替法の結果が偽陽性であることを確認するために 2 種類の動物種を用いて EFD* 本試験を実施
definitive EFD study in one Species	1 種の動物種を用いた EFD 本試験を実施
Perform definitive EFD study in the other Species	その他の動物種を用いた EFD 本試験を実施
<i>In vitro</i> results may represent a False Positive; consider to be negative for TEFL	<i>in vitro</i> の結果が偽陽性であったかもしれず、TEFL 陰性と考える
*alternatively a pEFD or enhanced pEFD may be used, however, negative results should be confirmed by a definitive study in the relevant species	*あるいは、pEFD 試験又は拡充型 pEFD 試験を利用しても良いが、陰性結果は適切な動物種を用いた本試験で確認すべきである

11.3.5.2 薬理学的に適切な動物種がない又は 1 種だけの医薬品に該当するシナリオ（参照：動物種選択）

a) シナリオ 3：薬理学的活性を示す動物が 1 種又は存在しない医薬品のうち標的特異性が高くない医薬品

妊娠への影響に有害作用があると予測されるエビデンス（作用機序、遺伝子改変動物の表現型、クラスエフェクトなど）がある場合、これらのデータから生殖発生に関するリスクコミュニケーションのための十分な情報が得られたため、非臨床 *in vivo* 試験は必要とされない。同様のアプローチが他のガイドライン（ICH S6(R1) (2)及び ICH S9 (3)）でも検討されている。

これらのエビデンスがない、確定的でない、あるいは TEFL の影響が陰性である場合には、1 種の動物種における EFD 試験を実施すべきである。その試験で TEFL 陽性の場合、当該所見が適切な曝露量比で認められ、母体毒性に影響されないのであれば、第二の動物種における EFD 試験は必要とされない。