

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合評価研究事業

国際的動向を踏まえた医薬品の新たな
有効性及び安全性評価等に関する研究

平成18年度総括研究報告書

主任研究者 上 田 慶 二

平成19(2007)年 3 月

本報告書は平成18年度厚生労働科学研究費補助金による医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合評価研究事業「国際的動向を踏まえた医薬品の新たな有効性及び安全性評価等に関する研究」の研究成果を収録したものである。

目 次

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業） 平成18年度総括研究報告書 国際的動向を踏まえた医薬品の新たな有効性及び安全性評価等に関する研究	上田 慶二	p. 1
附1. 平成18年度班会議総会プログラム		p. 6

II. 分担研究報告（非臨床安全性部門）

非臨床安全性毒性問題一般に関する研究	井上 達	p. 9
遺伝子改変マウスを用いた短期発がん性試験についての情報収集	三森 国敏	p. 15
ヒト型 <i>in vitro</i> 遺伝毒性試験系の確立と評価に関する研究	林 真 本間 正充	p. 23
免疫毒性試験法の標準化に関する調査研究	澤田 純一	p. 30
非臨床試験ガイドラインの国際的ハーモナイゼーションに関する研究	大野 泰雄 中澤 憲一	p. 35

III. 分担研究報告（非臨床有効性部門）

非臨床有効性評価一般	豊島 聰	p. 41
「Q8製剤開発に関するガイドライン」補遺の動向について	奥田 晴宏	p. 45
キラルスイッチ医薬品の開発・審査の国際的動向に関する研究	豊島 聰	p. 50

IV. 分担研究報告（臨床有効性部門）

臨床有効性部門	開原 成允	p. 57
心毒性（QT間隔延長）の臨床評価に関する研究	笠貫 宏	p. 62
SCN5A遺伝子変異を有するBrugada症候群におけるナトリウムチャネル遮断薬の影響	大江 透	p. 66
心電図QT間隔の詳細計測に関する研究	加藤 貴雄	p. 69

小児治験ガイドラインについての研究 中村 秀文 p. 71

医薬品情報の標準化－欧米の動向とICH標準に関する考察－ 開原 成允 p. 75
岡田美保子

V. 分担研究報告（臨床安全性部門）

医薬品安全性監視（Pharmacovigilance）の有用性について－経済効果分析－ 谷川原祐介 p. 79

市販後の安全性研究について 長谷川隆一 p. 84

市販後薬剤の安全性と有効性に関する薬剤疫学研究 久保田 潔 p. 95

I. 平成18年度總括研究報告

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
平成18年度総括研究報告書
国際的動向を踏まえた医薬品の新たな有効性及び
安全性評価等に関する研究

主任研究者：上田 慶二（財団法人東京都保健医療公社 多摩北部医療センター 名誉病院長）
分担研究者：井上 達（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長）
三森 国敏（東京農工大学農学部 教授）
林 真（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 変異遺伝部長）
澤田 純一（国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部長）
本間 正充（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 変異遺伝部）
大野 泰雄（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部）
中澤 憲一（国立医薬品食品衛生センター 安全性生物試験研究センター 薬理部室長）
豊島 聡（独立行政法人医薬品医療機器総合機構 理事・審査センター長）
奥田 晴宏（国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部長）
開原 成允（国際医療福祉大学 副学長）
笠貫 宏（東京女子医科大学 循環器内科 主任教授）
大江 透（国立大学法人岡山大学大学院医歯学総合研究科循環器内科 教授）
加藤 貴雄（日本医科大学内科第1 教授）
中村 秀文（国立成育医療センター 治験管理室 室長）
谷川原祐介（慶応義塾大学医学部 教授 薬剤部長）
長谷川隆一（国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部長）
久保田 潔（東京大学大学院 医学系研究科 薬剤疫学 教授）
研究協力者：岡田美保子（川崎医療福祉大学医療技術学部医療情報学科 教授）
大塚 邦明（東京女子医科大学付属第2病院内科 教授）
嶋澤るみ子（同志社女子大学薬学部 専任講師）

研究要旨

現在有効かつ安全な医薬品の迅速な供給が急務と考えられ、医薬品開発についての国際的な協力体制の設立が強く要望されている。かかる世界規模での医薬品開発体制に寄与するため、日、米、EU 3極をメンバーとするICHにおいて、医薬品の同時開発、同時申請・承認などの体制の整備が必須と考えられている。これらの時代の要請に対応するため医薬品の有効性及び安全性評価法について、非臨床的並びに臨床的観点から多岐にわたる課題について総合的な研究を実施した。これらの研究の実施に際して多くの研究者の協力を得て、本年度は下記の研究を実施した。

1. 医薬品の安全性に関する非臨床的研究 (1) 遺伝子改変マウスを用いた短期発癌試験についての情報収集 (2) ICHにおける遺伝毒性ガイドランスの改訂について (3) ヒト型in vitro遺伝毒性試験系の確立と評価に関する研究 (4) ICH免疫毒性ガイドライン

とアルゲン性試験 (5)臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミングに関する研究

2. 医薬品の有効性に関する非臨床的研究 (1)「Q8製剤開発に関するガイドライン」補遺の動向について (2)キラルスイッチ医薬品の開発・審査の国際的動向
3. 医薬品の有効性に関する臨床的研究 (1)ナトリウムチャンネル遺伝子異常におけるナトリウムチャンネル遮断薬の影響 (2)心電図QT間隔詳細解析システムの構築 (3)体位変換に伴うQT/QTc間隔の変化—非薬理学的陽性対照としての有用性 (4)小児治験ガイドラインの研究—治験実施における問題点 (5)医薬品情報の標準化—欧米の動向とICH標準に関する考察
4. 医薬品の安全性に関する臨床的研究 (1)医薬品安全性監視 (Pharmacovigilance) の有用性について (2)市販後薬剤の安全性研究について (3)市販後薬剤の安全性と有効性に関する薬剤疫学研究

キーワード：ICH、国際協調、安全性評価、有効性評価

A. 研究目的

近年新しい優れた医薬品の開発に対する要請の増大に基づき、医薬品開発がグローバルな規模で実施されるようになり、日、米、EUの3極において同時開発、同時申請・承認の傾向が強まる時代の趨勢を踏まえ、医薬品の有効性、安全性評価の国際的協調が求められている。かかる時代の要求に応えるためにはICHを中心とした国際的ハーモナイゼーションを図るため我が国においても産、学、官が協力して研究を行い種々の医薬品の有効性、安全性評価のためのガイドラインを作成するとともにそれらに関する研究を実施した。

B. 研究方法

部会	区分	研究者名	分担研究課題	所属
総括	班長 (主任研究者)	上田慶二	研究総括	多摩北部医療センター
	幹事 (分担研究者)	井上 達	総括 (非臨床安全性)	国立医薬品食品衛生研究所
非臨床安全性部会	分担研究者	三森国敏	がん原性試験	東京農工大教授
	同上	林 真	遺伝性ガイドダンス	国立医薬品食品衛生研究所
	同上	本間正充	in vitro 遺伝毒性	同上
	同上	澤田純一	免疫毒性ガイドダンス	同上
	同上	中澤憲一	非臨床試験タイミング	同上

非臨床安全性部会	分担研究者	大野泰雄	非臨床試験タイミング	国立医薬品食品衛生研究所
	幹事 (分担研究者)	豊島 聡	非臨床有効性評価一般	医薬品医療機器総合機構
	分担研究者	奥田晴宏	キラルスイッチ医薬品の開発	国立医薬品食品衛生研究所
	研究協力者	嶋澤るみ子	キラルスイッチ医薬品の開発	同志社女子大学薬学部
臨床有効性部会	幹事 (分担研究者)	開原成允	総括 (臨床有効性)	国際医療福祉大学
	研究協力者	岡田美保子	電子申請	川崎医療福祉大学
	分担研究者	笠貫 宏	心毒性	東京女子医科大学
	研究協力者	大塚邦明	心電情報	東京女子医科大学付属第2病院
	分担研究者	大江 透	QT間隔延長症候群	岡山大学大学院
	同上	加藤貴雄	QT延長高分解能心電図	日本医科大学
臨床安全性部会	同上	中村秀文	小児治験ガイドライン	国立成育医療センター
	幹事 (分担研究者)	谷川原祐介	総括 (臨床安全性)	慶應義塾大学
	同上	長谷川隆一	市販後の安全性研究	国立医薬品食品衛生研究所
	同上	久保田 潔	市販後薬剤の安全性	東京大学薬剤疫学

本研究班においては上表に示す研究組織を構築した。分担研究者は各部会に所属して、それぞれの研究課題を分担し、各部会幹事の指導監督の下にて自主的に研

究を展開した。その際本表記載以外の多くの研究者の協力を得た。

研究は分担研究者ごとに国内研究を実施するとともに、国際研究としてICH運営会議と専門家会議を平成18年5月にブラッセル、10月にシカゴにおいて開催して研究成果の国際的交流を図った。また平成19年1月31日に東京にて研究班総会を開催して、研究成果の発表と討議を行った。

C. 研究結果

本年度は下記の研究を実施した。

1) 医薬品の安全性に関する非臨床的研究

①遺伝子改変マウスを用いた短期発癌試験についての情報収集

医薬品のがん原性評価に用いられる遺伝子導入トランスジェニックマウスモデルについての情報収集を行った。rasH2マウスについては、発癌感受性の検討がなされており、有用性が確認されたが、今後さらにデータの蓄積と検討が必要と考えられる。P53^{+/+}マウスについては遺伝毒性がない場合にも発がん性が認められることより、陽性結果の解釈には注意が必要であると考えられる。Tg.ACマウスについては、皮膚創傷モデル及び皮膚二段階発がんモデルにおける網羅的遺伝子発現解析により、幾つかの遺伝子が発がん過程に関与することが示された。XPAマウスについても高発がん感受性に関連した研究がみられていることが判明した。

②ICHにおける遺伝毒性ガイダンスの改訂について

ICH S2ガイドライン（英文）の翻訳とパブリックコメントへの回答を作成した。また皮膚感作試験及び皮膚光感作試験に関する内外の情報を収集した。

③ヒト型in vitro遺伝毒性試験系の確率と評価に関する研究

Weight of Evidence (WOE) に基づく新たな遺伝毒性試験系の確立を目的として研究を実施した。非S9系での結果はこれまでの遺伝毒性試験の結果を反映するものであり、遺伝毒性試験系としての有用性が確認された。染色体の数的異常を引き起こす化学物質は小核試験で効率的に検出された。In vitroコメントの結果はエームス試験とよく一致した。S9存在系によりラット特異的、もしくはヒト特異的な遺伝毒性発現が明らかに

なった。ヒト代謝系の導入により、人に対する遺伝毒性の評価が可能となるかもしれないと考えられた。

④ICH免疫毒性ガイドラインとアルゲン性試験

即時型アレルギー予測のための抗原性試験の有用性の検討を実施した。製薬協参加企業による調査を実施したが、ヒトとモルモットの結果が一致せず、予測性が低いことが判明した。また皮膚感受性試験としてLLNA (Local Lymph Node Assay) の追加が必要であることが示唆され、改訂の予定である。

⑤臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミングに関する研究

M3ガイドラインを見直す問題について検討し、以下の結果を得た。単回投与毒性試験はヒトにおける過量投与時の情報を集めるためPhase IIIまで実施する。遺伝毒性試験はPhase II までに実施する。生殖発生毒性試験はPhase IIIまで実施することなどである。マイクロドーズ試験についても検討し、医薬品開発の効率化を図るため我が国においても早期に実施することを検討することが必要であると結論された。

2) 医薬品の有効性に関する非臨床的研究

①「Q8製剤開発に関するガイドライン」補遺の動向について

ガイドライン補遺の作成方針として、当面は経口固形製剤に焦点を絞ることとし、終了後他の剤型へ移ることとした。想定する製剤を定めて製剤開発と製品ライフサイクルの管理に対する組織的な取り組みと製剤開発の一般原則を検討し、ガイドラインのdraft5を作成した。

②キラルスイッチ医薬品の開発、審査の国際的動向

キラルスイッチ医薬品の現状について、国際的規制状況、米国の承認状況と日本における承認状況を比較、検討した。その結果日・米ではキラルスイッチ医薬品の開発状況が異なることが判明した。キラルスイッチ医薬品の開発する場合、臨床試験に関しては新規物質としての検討が必要であり、その効能・効果、用法、用量は臨床試験結果に基づき設定される。日本においては、ラセミ体にキラリティーに関する規格が設定されていないことがあり、キラルスイッチ医薬品が開発された場合、ラセミ体の規格を満たしてしまう可能性

があることが判明した。日本においてもキラリテイーに関する規格を設定する必要があると考えられる。

3) 医薬品の有効性に関する臨床的研究

①ナトリウムチャンネル遺伝子異常におけるナトリウムチャンネル遮断薬の影響

Brugada症候群においては、SCN5Aの異常が20%程度認められるが、これらのSCN5A異常を有する症例に対してナトリウムチャンネル遮断薬であるPilsicanideを投与してその影響を観察した。

その結果としてPQ間隔、QRS幅、QT間隔の延長が認められた。以上の成績よりBrugada症候群、ことにSCN5Aの異常例においては、Pilsicanideの投与に際して慎重な配慮が必要であると結論された。

②心電図QT間隔詳細解析システムの構築

心電図におけるQT間隔の測定法の精度を検討した。今回の研究では、心電図の記録法として50mm/secの記録法を用い、T波の終点の決定法として接線法を採用し、QT間隔の測定法としては半自動法を採用して、3名の専門家により測定しその精度を検討した。その結果半自動計測法の精度は良好であり、2回の計測の差は、 0.2 ± 1.4 秒であり、十分な精度が保たれることが証明された。

またウェブレット変換法を用いて時間と周波数を同時に解析し、T波の終点を明確にすることが出来ることを示した。

③体位変換に伴う心電図QT/QTc間隔の変化—非薬理的陽性対照としての有用性

健康男子98例を対象として臥位から坐位への体位変換に際するQT間隔の変動を計測し、本法がICH E14ガイドラインにおいてthorough QT/QTc studyにおいて必要と記載されているpositive controlとしての薬剤の代替法となり得るか、否かを検討した。その成績において、Friderecia、Framingham補正式によるQTcは体位変換により平均6—10ms短縮し、非薬理的陽性対照として用いることが可能であることが示された。

④小児治験ガイドラインの研究—治験実施における問題点

小児への治験の説明内容の妥当性について検討・調査を行った。ことに言葉遣い、無作為化二重盲検比較

試験の説明法や予期される不利益で説明すべき内容などの検討を実施した。また他施設のCRCとの連携・意見交換の方法などを検討した。

さらに小児臨床研究の実施・支援・審査体制の整備などについても討議した。

(5) 医薬品情報の標準化—欧米の動向とICH 標準に関する考察

ICH M2 EWG の活動を中心に研究を実施した。SDO (Standard Development Organization) の導入に関する検討を中心として研究を実施した。ことにSDOの導入について、クリティカル コンディションの作成、SDOのプロセス案の作成、SDOのプロセス案評価のためのパイロット研究などを実施した。

4) 医薬品の安全性に関する臨床的研究

①医薬品安全性監視 (Pharmacovigilance) の有用性について

医薬品審査のBridging法により承認されたロスバスタチンを対象として市販後の医薬品安全監視 (Pharmacovigilance) の検討を実施した。従来の方式で各相の臨床試験を実施した場合のコストを仮定し、simulationによりコスト削減効果と期間短縮効果を合わせて検討したが、Bridging法により期間を短縮した場合の方が事業価値を高める効果が大きいことが判明した。

②市販後薬剤の安全性研究について

2006年度における新有効成分医薬品の承認状況を比較検討した。日本における市販後調査の対象は20製剤、米国では23製剤、EUでは25製剤であった。日本においては、エタネルセプトとロスバスタチンカルシウムが市販後調査の対象であった。また重篤な皮膚有害事象の診断・治療と遺伝子マーカーに関する研究を実施した。

③市販後薬剤の安全性と有効性に関する薬剤疫学研究

平成17年度研究に基づいた方法でモデル疫学的研究を実施するための体制作りを行った。日本薬剤疫学会ならびに日本病院薬剤師会に協力を依頼した。研究方法としてコンピュータ上の処方記録を利用して、スタチン投与後のコレステロール値の変化と筋・肝・腎に関する有害事象の発生を複数のスタチン間で比較する

ことを目的とした。本研究を実施する前に3-5施設の参加を得てパイロット研究を実施することとした。

D. 考 察

日、米、EUの3極をメンバーとするICHの体制のもと医薬品開発の国際的協調が重視され、新規医薬品の同時開発、同時申請・承認のための協力体制が必要とされている。本研究班はかかる目的に沿った研究を実施し、それぞれ優れた研究成果を示すことが出来、将来の医薬品開発に大きく寄与するが期待される。

E. 結 論

本研究班においては、非臨床安全部門、非臨床有効性部門、臨床有効性部門、臨床安全性部門において合計15件の各個研究を実施し、それぞれにおいて有意義な研究成果を上げると共にICHにおいて国際的ガイドラインの作成、改訂に際して有益な貢献をすることが

出来た。

F. 研究危険情報

該当する事項は認められなかった。

G. 研究発表

各研究者の報告書を参照のこと

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考資料

付1 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「国際的動向を踏まえた医薬品の新たな有効性及び安全性評価等に関する研究」平成18年度研究総会プログラム

附 1. 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業「国際的動向を踏
まえた医薬品の新たな有効性及び安全性評価等に関する研究」

平成18年度班会議総会プログラム

開会挨拶及び班長報告 (10:00～)	班長・主任研究者 東京都多摩北部医療センター 名誉病院長 医薬品医療機器総合機構 顧問	上田 慶二
挨拶	厚生労働省医薬食品局 審査管理課長	中垣 俊郎
ICHの最新動向	厚生労働省医薬食品局 審査管理課国際化専門官	下荒磯 誠
I. 非臨床安全性部会報告 (10:20～11:45)	座長 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター	井上 達
1. 遺伝子改変マウスを用いた短期発癌性試験について の情報収集 (15分)	東京農工大学大学院 共生科学技術研究院 三菱ウェルファーマ 創薬研究本部安全性研究所	三森 国敏 ○務台 衛
2. ICHにおける遺伝毒性ガイドランスの改訂について (15分)	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部	林 真
3. ヒト型 <i>in vitro</i> 遺伝毒性試験系の確立と評価に関する 研究 (15分)	国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部	本間 正充
4. ICH免疫毒性ガイドラインとアルゲン性試験 (15 分)	国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部	澤田 純一
5. 臨床試験との関係における非臨床試験実施タイミ ングに関する研究 (15分)	国立医薬品食品衛生研究所 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部	○大野 泰雄 中澤 憲一
総括・総合討論 (10分)		井上 達
II. 非臨床有効性部会報告 (11:45～12:25)	座長 医薬品医療機器総合機構	豊島 聰
1. 「Q8製剤開発に関するガイドライン」補遺の動向 について (15分)	医薬品医療機器総合機構 国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部	豊島 聰 ○奥田 晴宏
2. キラルスイッチ医薬品の開発、審査の国際的動向	国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部 同志社女子大薬学部	奥田 晴宏 ○嶋沢るみ子
総括・総合討論 (10分)		豊島 聰
事務連絡		
休憩 (12:25～13:30)		

Ⅲ. 臨床有効性部会報告 (13:30~14:55)	座長 国際医療福祉大学大学院	開原 成允
1. ナトリウムチャンネル遺伝子異常におけるナトリウムチャンネル遮断薬の影響 (15分)	岡山大学大学院 歯学総合研究科 循環器内科	大江 透
2. 心電図QT間隔詳細解析システムの構築 (15分)	日本医科大学内科学	加藤 貴雄 ○淀川 顕司
3. 小児治験ガイドラインの研究—治験実施における問題点— (15分)	国立成育医療センター	中村 秀文
4. 体位変換に伴う心電図QT/QTc間隔の変化—非薬理的陽性対照としての有用性— (15分)	東京女子医科大学 循環器内科	笠貫 宏
5. 医薬品情報の標準化—欧米の動向とICH標準に関する考察 (15分)	国際医療福祉大学大学院 川崎医療福祉大学 医療技術学部医療情報学科	開原 成允 ○岡田美保子
総括・総合討論 (10分)		開原 成允
Ⅳ. 臨床安全性部会報告 (14:55~15:50)	座長 慶応義塾大学病院 薬剤部	谷川原祐介
1. 医薬品安全性監視 (Pharmacovigilance) の有用性について (15分)	慶応義塾大学病院 薬剤部	谷川原祐介
2. 市販後医薬品の安全性研究について (15分)	国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部	長谷川隆一
3. 市販後薬剤の安全性と有効性に関する薬剤疫学研究 (15分)	東京大学大学院医学系研究科 薬剤疫学講座	久保田 潔
総括・総合討論 (10分)		谷川原祐介
総括・閉会挨拶 (15:50~16:00)	班長・主任研究者	上田 慶二

II. 分担研究報告 (非臨床安全性部門)

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
平成18年度総括分担研究報告書

一非臨床安全性毒性問題一般に関する研究一

分担研究者：井上 達（国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長）
三森 国敏（東京農工大学 農学部 教授）
林 真（国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 部長）
本間 正充（国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部 室長）
澤田 純一（国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部 部長）
大野 泰雄（国立医薬品食品衛生研究所 副所長）
中澤 憲一（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 部長）

研究要旨

共同研究により主として動物及び細胞を用いる試験研究およびそれらに関する調査を行い、前臨床毒性試験、安全性薬理試験に係る各方法論の国際的な確立並びにハーモナイゼーションを図ることを目的とする。本年度は3年計画の最終年度にあたる。本年度は下記の課題の研究を遂行するため、共同研究を行うと共に、国内において班会議を開催し、かつ海外における専門家会議等に参加した。

- ・ 遺伝子改変マウスを用いた短期がん原性試験についての情報収集
- ・ ヒト型in vitro遺伝毒性試験系の確立と評価に関する研究
- ・ ICH免疫毒性ガイドラインとアレルギー性試験に関する研究
- ・ 臨床試験との関係における非臨床実施タイミングに関する研究

キーワード：国際動向、有効性評価、安全性評価、ハーモナイゼーション、ICH

A. 研究目的

新医薬品承認審査資料の国際的ハーモナイゼーションならびにガイダンス等のメンテナンス推進のための検討が進められてきている。日・米・欧三極間の医薬品規制にかかる障壁を科学的な裏付けのもとに取り除くために、国内外の共同研究を実施するとともに、新医薬品の研究開発の促進と優れた新医薬品の患者への迅速な提供を図る。また、毒性発現のメカニズムの解明と解釈の統一を図ると共に、それらの成果を行政に反映させるため、基準値やガイドラインの設定を目指す。

(1) 医薬品のがん原性評価には、遺伝子改変動物の使用が認められており、ヒト型c-Ha-ras遺伝子導入ト

ランスジェニックマウス (rasH2マウス) モデル、がん抑制遺伝子p53の片側アレル (exon5) を欠損させたC57BLp53ノックアウトマウス (p53^{-/-}マウス) モデル、活性型v-Ha-ras遺伝子を胎児型 ζ -globinプロモーターとSV40と共に導入したTg.ACトランスジェニックマウス (Tg.ACマウス) モデル及び色素性乾皮症修復遺伝子を欠損させたXpaノックアウトマウス (XPA^{-/-}マウス、以下Xpaマウス) モデルが推奨されている。これらの遺伝子改変マウスにおける発がん感受性や発がんメカニズムに関する文献を収集し、その有用性や問題点について考察した。

(2) Weight of Evidence (WOE) に基づき、発がん性化学物質を適切に検出しうる系の構築を目指し、ヒト

型in vitro試験系の開発と、その評価に関する研究を行った。ここで言うヒト型試験系とは、1) ヒト細胞、ヒト代謝系を基礎として(生物学的妥当性)、2) 妥当な遺伝毒性検出エンドポイントからなる(遺伝毒性物質の広域スクリーニング)、3) 同一条件下での試験(試験結果の比較によるメカニズムの解析)をコンセプトとする新しいin vitro遺伝毒性試験系である。本年度は、遺伝毒性検出エンドポイントのうち、特にDNA損傷試験であるコメット試験に注目し、その検出能力を既存の遺伝毒性試験と比較した。

- (3) 免疫毒性試験法に関する文献調査及び国内外の動向調査等を行い、ICHにおける調和ガイドラインの作成を目的とした免疫毒性試験データの収集及び解析を行う。得られた情報を基に、医薬品等に関する免疫毒性に関連する試験ガイドラインを作成した。
- (4) 非臨床試験に関する国際的にハーモナイズしたガイドラインの作成を行っている。心臓の致死的不整脈であるTorsade de Pointes (TdP) 誘発を予測的に評価するための非臨床試験法のガイドライン (S7B) については、臨床部門であるE14に整合した形で昨年度最終案 (Step 4) 合意に達した。本年度は実施のためのワーキンググループ (IWG) を新たに作り、このガイドライン実施における問題点に対応することを目的とした。また、非臨床試験のタイミングについてのガイドライン (M3) に現状にそぐわない点が見いだされたため、これを新たな議題として取り上げるための専門ワーキンググループ (EWG) をスタートさせ、修正案を作成することを目的とした。

B. 研究方法

本年度は、がん原性、遺伝毒性、免疫毒性、安全性薬理試験に関する各々のガイドラインについてさらなる科学的根拠を得るための研究を行った。なお、これらの作業は、これまで通り産官学の研究者の密接なる協力を得て行った。研究成果を厚生労働行政に反映させるため、班員による定期的な会合の他に、海外での会議にも参加し、日米欧の専門家との討議を行った。

各研究課題の具体的研究方法は以下の通りである。

- (1) rasH2マウス、p53^{+/+}マウス、Xpaマウス、Tg.ACマウスマウスに関する文献を調査し、これらトランス

ジェニックマウスの発がん特性に関連した成績をまとめた。また、医薬品のがん原性評価におけるトランスジェニックマウスの有用点や留意点、がん原性評価における本モデル動物の利用可能性に関する成績をまとめた。

- (2) ヒトリンパ芽球由来のTK6細胞を用い、DNA損傷(コメット試験)、染色体異常(小核試験)、遺伝子突然変異(TK遺伝子突然変異試験)からなるマルチエンドポイントのin vitro遺伝毒性試験により遺伝毒性の評価を行った。In vitro遺伝毒性試験で陽性の報告がある18の化学物質を試験し、各試験の結果間、および既存の遺伝毒性試験の結果と比較した。
- (3) 医薬品等の皮膚感作性及び光皮膚感作性試験に関する文献調査及び国内外の動向調査等を行った。また、ICH S8 Expert Working Group (EWG) により作成された英文ICH免疫毒性試験法ガイドラインの邦文化を行った。
- (4) S7Bについては最終案の合意に伴いEWGがなくなり、規模を縮小したIWGにより実施上の問題点に対応した。M3に関しては、この部門を含む安全性のガイドラインのすべての見直しが行われ、6月の横浜会議において修正の必要性について協議が行われた。このガイドライン修正をスムーズに進めるため、研究協力者を含めた班会議を行い意見交換した。

(倫理面への配慮)

本研究班においては培養細胞を用いる試験研究、文献調査等が主として行われ、倫理面で問題となるようなものではない。一部動物を用いた研究がなされたが、それぞれ実験動物倫理規範の精神をくみ取り、十分問題の無いよう慎重に行った。また、本研究班においては「提供されたヒト試料を用いる」および「人を対象とする」研究は行われていないので、ヒトへの倫理面で問題となることはなかった。

C. 研究結果

- (1) rasH2マウス：rasH2マウスの9週間投与試験においてbutylhydroxytoluene (BHT) をプロモーターとして用い、遺伝子障害性肺がん物質の発がん性が短期間に検出し得るか否かを検証した結果、rasH2/BHT

モデルは遺伝毒性肺発がん物質を検索する有力な手段であることが示唆された (Umamuraら)。

p53^{+/-}マウス : がん化学予防物質について、p53^{+/-}マウスを用いたがん原性試験が実施された。大豆イソフラボン混合物、大豆由来のセリンプロテアーゼ阻害物、ポリフェノールであるResveratrol腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。また、ビタミンE暴露によっては発がんの早期化が認められ、生存率が有意に低下した。また文献では、ILSI HESIの国際共同研究の一環として、PPAR α アゴニストであるclofibrateのp53^{+/-}マウスにおけるがん原性試験の結果が報告され、陰性であることが確認された。発がん感受性に関する研究においてはN-bis(2-hydroxypropyl)nitro samineを用いた実験でp53^{+/-}マウスの発がん感受性は、被験物質の発がん標的性よりも本マウスの発がん臓器特異性に依存している可能性が示唆された。肝臓発がんの感受性に関する研究では、p53遺伝子欠損とテロメア遺伝子の機能不全との関連性について検討した。テロメア機能不全のp53^{+/-}マウスにおいても肝臓がん頻度は同程度であったが、テロメア機能不全のp53^{+/-}マウスでは、肝臓がんの頻度は減少した。他に、DNA修復時の非相同末端結合における重要な補因子であるXRCC4遺伝子について、p53^{+/-}マウスにおけるコンディショナルノックアウトでは髄芽腫が高頻度に発生すること観察した。

Tg.ACマウス : 20週齢の雌Tg.ACマウスにおける背部皮膚創傷後の皮膚乳頭腫発生に伴う遺伝子発現を、同様の処置を施した野生型マウス (FVB/N) と比較して経時的に解析した。ケラチン関連タンパク遺伝子は、非腫瘍性の過形成と腫瘍性過形成の鑑別に役立つ可能性が示唆された。TPAとイニシエーターとしてDMBA投与後、皮膚乳頭腫の発生を経時的に解析した。Tg.ACマウスでは乳頭腫の発生が早期に認められ、また発生した乳頭腫の数も多かった。DNAマイクロアレイ解析により、DMBAはInvolucrinやFilaggrin遺伝子発現を低下させることから、角化細胞の分化を減弱させることが示された。

XPAマウス : Xpa及びXpa/p53^{+/-}マウスにヒト腎臓がん物質であるphenacetinを36週間投与しても明ら

かな腫瘍発生はみられないが、腎尿管上皮の核巨大化が多発性に認められた。lacZ遺伝子変異の頻度は両マウスとも腎臓で経時的に増加したが、肝臓及び脾臓ではlacZ遺伝子変異の増加はみられなかったことから、phenacetinはXpaマウス腎臓において弱いmutagenとして作用することが示唆された。

各NER欠損マウスの特徴 : GGR欠損マウスでは、野生型マウスと比較して自然発生腫瘍が増加し、Xpaマウスでは、肝臓腫瘍の増加と共に肝臓及び腎臓におけるlacZレポーター遺伝子変異の増加が認められた。Xpc^{-/-}マウスでは、加齢に伴い肺腫瘍が増加し、脾臓におけるHprt遺伝子変異の増加が認められるが、リンパ腫は増加しなかった。TCR欠損マウスでは、成長抑制、老化促進、短命化等がみられるが自然発生腫瘍は増加しなかった。XPG遺伝子に関しては、欠損部位の大きさによりその影響が異なった。XPDを完全に欠損マウスは、胎児は着床前期に死亡した。ERCC1^{-/-}マウスは、多彩な老化病変 (倍数性肝細胞、運動失調、脊柱後彎、骨減少、体重減少、皮膚萎縮等) を示し、生後4週間以内に死亡するが、ヘテロ接合体 (Ercc1^{-/Δ7}マウス) では寿命が数ヶ月に延長された。

(2) 18の試験化合物について、TK6細胞を用いて、コメット試験、小核試験、TK突然変異試験を行った。3つのエンドポイントの陽性率を比較すると、小核、TK突然変異、コメットの順であった。しかしながら、これはそれぞれの試験の感度を反映するものではない。試験化合物18種類のうち、代謝拮抗剤、細胞分裂毒が7種類も含まれている。これら化合物は非DNA損傷性に基づく染色体の構造異常や、数異常を引き起こすため小核試験で容易に検出しやすいためと考えられる。DNA損傷性に起因する典型的なmutagenに関しては、理論的にはコメット>小核>TK突然変異の順の感度と予想される。事実、エームス陽性を示すbleomycine、glycidamide、MNNG、4NQO、quercetinはコメット陽性を示す。エームス試験陽性を示す発がん性物質は遺伝毒性発がん物質とされ、DNAに直接作用し発がんを引き起こすと考えられている。DNA損傷試験であるコメット試験とエームス試験の結果の一致率は83%であり、これは染色体

異常試験 (56%)、MLA (47%) よりはるかに高い。従って、コメント試験はエームス試験の代替、またはエームス陽性の場合の確認試験として利用できる可能性が示された。一方、既存の染色体異常試験と小核試験の一致率は78%、MLAと、今回のTK6遺伝子突然変異の一致率は65%に留まった。特に前者では、不一致の化合物の数、及び割合が同程度 (各2化合物) であることから、染色体異常試験と小核試験の検出能力は同程度と評価される。後者に関しては、MLA陽性を示しながらTK突然変異陰性を示したものが6種類もあったにも係わらず、逆にTK突然変異陽性でMLA陰性を示す化合物は1つもなかった。このことは、MLA試験は一般に陽性反応を引き起こしやすいとされているが、その原因は突然変異試験の性質によるものではなく、MLA試験の細胞に起因することを示唆するものである。

(3) ICH免疫毒性試験ガイドライン (英文) ガイドラインを、邦文化する作業を行った。また、Step 2ガイドラインに対するパブリックコメントへの回答を作成した。ICHガイドラインの対象から除外された薬物アレルギー関連の試験法に関しては、即時型アレルギーの誘発能を予測する方法としてモルモットを用いる所謂抗原性試験がかつて提案されたが、本試験法はヒトにおける薬物アレルギーの予測率が極めて低いことが示された。ICHガイドラインの背景の項目に記述されたように、ICH S8 EWGにおける議論においても、そのことは、再確認されている。皮膚感作試験及び皮膚光感作性試験に関する内外の情報を収集・調査し、国際的な整合性のとれたガイドラインの改訂に向けての方策を検討した。その結果、光毒性の枠のなかで将来再検討することが適切であるため、取りあえず、皮膚感作性試験ガイドラインのみを改定すべきとの立場で改訂を検討すべきであるとされた。

(4) S7B部門:臨床のE14部門との整合性が図られた。ガイドラインを実施する上で、問題が生じやすいのはE14であり、S7BのIWGメンバーはE14で生じた問題がS7Bとの整合性に影響する場合に、意見を述べる立場にある。本年度はそのような問題はなく、よって、IWGメンバーとしての活動はなかった。

M3部門: 6月の横浜会議の前に、安全性に関する各ガイドラインの見直しの必要性が各局で検討された。M3について厚生労働省側からは、“(前回の) M3合意後、臨床試験を早めに行うことが肝要であることから、ヨーロッパではマイクロドーズ試験が承認されており、米国ではこれに加えて探索的臨床試験が認められている。一方、日本ではM3ガイドラインに従った非臨床試験が行われているのみであり、地域間の隔たりは大きい。また、単回投与毒性試験をヒトに初めて投与する前に行うことの必要性も論ずる必要がある。さらに、モノクローナル抗体の第I相試験で大きな事故が最近起こった。これらの状況から考えて、M3の再検討は必要であり、また、それは低分子医薬品だけではなく、タンパク質のような大きな分子量を持つ医薬品を含めた形を取るべきであろう。”との提案がなされた。

D. 考 察

(1) rasH2マウスを用いた研究では、本マウスモデルが遺伝毒性肺発がん物質の検索に有用であることが示され、今後、肺以外の臓器を標的とした遺伝毒性発がん物質のスクリーニングにおいても有力な手段と成り得る可能性が示唆された。

p53^{+/+}マウスを用いた短期発がん性試験は、米国においては、医薬品の評価以外の分野への応用が進みつつあることが確認された。今後、省資源タイプの発がん性評価手法として、どのように利用が拡大されるか注目される。

Tg.ACマウスの皮膚創傷モデル及び皮膚二段階発がんモデルでは、DNAマイクロアレイを用いた皮膚発がん過程における遺伝子解析が実施され、皮膚二段階発がんモデルではGsto1、Txn1、Car2遺伝子の発現増強が皮膚の乳頭腫形成に関与していることが示唆された。

Xpaマウス及びXpa/p53^{+/+}マウスでは、phenacetinに対して弱い変異原物質として作用することが示唆された。TCR欠損により老化促進あるいは寿命短縮を示すトランスジェニックマウスでは、寿命の短縮と遺伝子変異の蓄積には明確な関連が認められなかった。またApc^{+/+}/Xpaマウスを用いた研究から、

PhIP-DNA付加体の修復にはNERが関与し、XPA遺伝子はAPC遺伝子と共にPhIPによる小腸腫瘍発生を抑制することが考えられた。NERに関与する種々の遺伝子欠損マウスにおける自然発生腫瘍及び化学発がん感受性並びに突然変異の発生頻度の比較研究からは、GGR遺伝子欠損により自然発生腫瘍や化学発がん感受性が増加することが明らかとなった。NERの共通経路に関わるXpd、Ercc1、XpfあるいはXpg遺伝子が欠損したマウスでは、顕著な短命化や胎児致死、部分的早老症、発がん高感受性の消失が認められた。

(2) 3つのエンドポイントを既存の遺伝毒性試験と比較すると、小核試験は染色体異常試験、TK遺伝子突然変異試験はMLAに相当する。コメット試験はDNAの初期損傷を検出し、これまでないユニークな試験として注目されている。

3つのエンドポイントの陽性率を比較すると、小核、TK突然変異、コメットの順であった。しかしながら、これはそれぞれの試験の感度を反映するものではない。DNA損傷性に起因する典型的なmutagenに関しては、理論的にはコメット>小核>TK突然変異の順の感度と予想される。コメット試験とエームス試験の結果の一致率は、83%であり、これは染色体異常試験(56%)、MLA(47%)よりはるかに高い。従って、コメット試験はエームス試験の代替、またはエームス陽性の場合の確認試験として利用できる可能性が示された。

Woeに基づく試験系としてはヒト細胞であると同時に、p53正常細胞の利用も重要であることが示唆された。P53正常を用いることにより、突然変異試験の陽性率は下がり、偽陽性の頻度が下がることが明らかとなった。ヒト型試験法は、Woeに基づきヒトに対するリスクを正当に評価する試験系としてだけでなく、従来の遺伝毒性試験、齧歯類発がん性試験と整合性の高い、有用な試験と評価できる。

(3) 現在、欧米においては、Maximization法、Buehler法、Local Lymph Node Assay (LLNA) が共通して受け入れられている方法である。Maximization法は、アジュバントを使用する最も検出感度がよいとされる方法であるが、擬陽性の場合もあるとされる。Buehler法はアジュバントを用いない方法で、実際の

適用条件に最も近い方法とされるが、検出感度は劣るとされる。一方、LLNAは感作能のみを調べる方法であるが、その予測率はmaximization法に劣らないとされ、Maximization法の代替試験法としても認知されるに至っている。そのため、これら3つの試験法を改定案に一般的な試験法としてまず明示した。FDAにおいては、他にモルモットを用いるDraize法やSplit Adjuvant法も受け入れるとされている。現行のガイドラインで試験法が示されているもののうち、Adjuvant and Patch法を除く他の試験法は使用される実績が少ないため、明示例からは削除した。Adjuvant and Patch法は、わが国において、固体の外用剤の試験に使われることがあるため、本研究班の改定案に残すこととした。

(4) M3に関しては、半ば慣例化している毒性試験の内容およびタイミングを考え直すことが問われており、用量、試験期間などの設定の実際的な根拠が会議では求められることになるであろう。また、非臨床のガイドラインでありながら、会議には臨床の専門家のメンバーの出席が求められており、これは、臨床試験で調べることができるもの、あるいは臨床試験を始めるにあたり必要でない非臨床データに関して、厳しい洗い直しが行われ、簡略化を狙っていると推察される。その簡略化が正当と言えるかどうか、あるいは、実際的であるかどうか留意して今後の協議を進めていくことが肝要と思われる。

E. 結論

(1) rasH2マウスについては、プロモーターとしてBHTを使用することにより、特に肺を標的とする遺伝毒性発がん物質を検索する有力な手段となりうることが示唆された。p53^{+/+}マウスモデルに関しては、少なくとも米国においては医薬品以外の領域でも短期発がん性試験に利用されており、米国での今後の動向に注目する必要があると思われる。Tg.ACマウスについては、皮膚創傷モデル及び皮膚二段階発がんモデルを用いたDNAマイクロアレイによる遺伝子発現解析により、幾つかの遺伝子が皮膚発がん過程に関与することが示唆された。Xpaマウスモデルについては、TCR欠損による短命化と遺伝子変異の蓄積

には明確な関連がみられなかった。また、*Apc^{+/+}/Xpa^{+/+}*では、XPA遺伝子がAPC遺伝と共に腫瘍抑制に関与していることが示唆された。また、*Xpa*マウスはTCR欠損を併せ持つために、GGRのみが欠損したマウスと比較して発がん感受性の低下及び老化病変発生の促進等が認められることが再確認された。

- (2) ヒトリンパ芽球細胞株TK6を用いて、コメット試験、小核試験、TK遺伝子突然変異試験からなるヒト型*in vitro*遺伝毒性検出系を構築した。試験化合物として6種類のエームス試験陽性物質を含む18の化学物質について試験した。試験結果から、DNA損傷試験であるコメット試験はエームス試験の代替になりうる可能性があると同時に、エームス試験が陽性であった場合のフォローアップ試験として利用できる可能性が示された。また、このヒト型*in vitro*遺伝毒性検出系は、従来のは乳類細胞遺伝毒性試験に比べ、陽性率が低く、エームス試験、齧歯類発がん性試験との相関性も高かった。今後、この試験系をガイドラインに取り入れることにより、WOEに基づきヒト

に対する遺伝毒性リスクを正當に評価し、医薬品開発を促進しうる試験系なるものと期待できる。

- (3) ICHの免疫毒性試験ガイドラインの邦文化をおこなった。また、パブリックコメントへの回答を作成した。
- (4) S7Bとしての活動は本年度は特になく、新しく発足したM3改正の活動を中心に行った。改正の採否の判断の段階から専門メンバーとしてブレンストーミングに参加し、その後、M3のEWGのメンバーとして活動した。第1回目の会議となったシカゴ会議でガイドラインの改正に着手し、今後、5月のブリュッセル会議において、修正案第1稿の完成を目指す。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表

各分担研究者の報告書を参照。

国際的動向を踏まえた医薬品の新たな有効性及び 安全性評価等に対する研究 — 遺伝子改変マウスを用いた短期発がん性試験についての情報収集 —

研究協力者：三森 国敏（東京農工大学農学部教授）

協力研究者：玉置 憲一（（財）実験動物中央研究所副所長）
白居 敏仁（（財）実験動物中央研究所主席研究員）
広瀬 雅雄（国立医薬品食品衛生研究所病理部部长）
西川 秋佳（国立医薬品食品衛生研究所病理部室長）
梅村 隆志（国立医薬品食品衛生研究所病理部主任研究官）
菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所毒性部部长）
林 真（国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部部长）
務台 衛（三菱ウエルファーマ（株）創薬研究本部安全性研究所所長）
久田 茂（あすか製薬（株）開発研究センター安全性研究部部长）
青木 豊彦（エーザイ（株）安全性研究所所長）

研究要旨

rasH2、p53^{+/-}、Tg.AC及びXpaマウスの発がん性に関する文献調査を実施した。rasH2マウスは、肺を標的とする遺伝毒性発がん物質を検索する有力な手段となることが示された。p53^{+/-}マウスに関しては、米国においては医薬品以外の領域でも短期発がん性試験に利用されていることが示され、米国での今後の動向に注目する必要があると思われた。Tg.ACマウスでは、皮膚創傷モデル及び皮膚二段階発がんモデルにおける網羅的遺伝子発現解析により、幾つかの遺伝子が皮膚発がん過程に関与することが示された。Xpaマウスでは、NERに関与する種々の遺伝子欠損マウスの発がん感受性の比較等から、自然発生腫瘍及び化学発がん感受性におけるXPA関連遺伝子の役割が示された。

キーワード：rasH2マウス、p53^{+/-}マウス、Tg.ACマウス、Xpaマウス

A. 研究目的

医薬品のがん原性評価には、遺伝子改変動物の使用が認められており、ヒト型c-Ha-ras遺伝子導入トランスジェニックマウス（rasH2マウス）モデル、がん抑制遺伝子p53の片側アレル（exon5）を欠損させたC57BLp53ノックアウトマウス（p53^{+/-}マウス）モデル、

活性型v-Ha-ras遺伝子を胎児型 ζ -globinプロモーターとSV40と共に導入したTg.ACトランスジェニックマウス（Tg.ACマウス）モデル及び色素性乾皮症修復遺伝子を欠損させたXpaノックアウトマウス（XPA^{-/-}マウス、以下Xpaマウス）モデルが推奨されている。しかし、これらの遺伝子改変マウスの発がん機序について

は不明な点も多く残されている。本研究班では、今年度もこれらの遺伝子改変マウスにおける発がん感受性や発がんメカニズムに関する文献を収集し、その有用性や問題点について考察した。

B. 研究方法

rasH2マウス：昨年度に引き続き、rasH2マウスに関する文献を調査し、本マウスの発がん特性に関連した成績をまとめた。

p53^{+/-}マウス：p53^{+/-}マウスの発がん感受性に関するメカニズム研究の文献報告を調査し、医薬品のがん原性評価におけるp53^{+/-}マウスの有用点や留意点についてまとめた。

Tg.ACマウス：昨年度に引き続き、Tg.ACマウスに関する研究状況を調査し、医薬品のがん原性評価における本モデル動物の利用可能性に関する成績をまとめた。

Xpaマウス：昨年度に引き続き、Xpaマウス及びXPA^{+/-}/p53^{+/-}マウス（以下XPA/p53^{+/-}マウス）に関する研究状況を文献により調査し、これらのマウスモデルの発がん物質に対する高感受性に関する文献調査を実施した。

C. 研究結果

(1) rasH2マウス

Umemuraらは、rasH2マウスの9週間投与試験においてbutylhydroxytoluene (BHT) をプロモーターとして用い、遺伝子障害性肺がん物質の発がん性が短期間に検出し得るか否かを検証した。6種類の強力な肺がん物質：dimethylnitrosamine (DMN; 15mg/kg, i.p.)、diethylnitrosamine (DEN; 100mg/kg, i.p.)、ethylnitrosourea (ENU; 120mg/kg, i.p.)、3-methylcholanthrene (MC; 100mg/kg, i.p.)、7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA; 5mg/kg, i.g.)、benzo[a]pyrene (B[a]P; 80mg/kg, i.p.) をそれぞれ20匹の雌雄rasH2マウスに単回投与（イニシエーション処理）し、各投与群の半数には、プロモーターとしてBHT (400mg/kg, i.g.) を上記発がん性物質投与後1週目から週1回ずつ、計5週間投与する試験を実施した結果、BHT処理したrasH2マウスでは、雌雄共に対照群と比較して腫瘍発生頻度及び発生腫瘍数の有意な増加が認められた。以上の結果より、

rasH2/BHTモデルは遺伝毒性肺発がん物質を検索する有力な手段であることが示唆された[1]。

(2) p53^{+/-}マウス

化学物質等の発がん性試験：がん化学予防物質について、p53^{+/-}マウスを用いたがん原性試験が実施された。大豆イソフラボン混合物であるPTI G-2535 (45% genistein, 23% daidzein, 4% glycitein含有)、大豆由来のセリンプロテアーゼ阻害物であるBBIC (Bowman-Birk Inhibitor complex) 及びブドウやピーナツ等に含まれるポリフェノールであるResveratrol (3, 5, 4'-trihydroxy-trans-stilbene) のそれぞれについて、がん予防効果の大規模臨床試験に先立ち、米国規制当局の要求に従い実施された。その結果、いずれの化合物についても腫瘍発生頻度の増加は認められなかった[2, 3]。

また、ビタミンEの子宮内暴露がp53^{+/-}マウス及びp53^{+/-}マウスの自然発がん頻度を高めるという報告があった。p53^{+/-}雌マウスの交配前及び妊娠期間にビタミンEを10%添加した餌（子宮内暴露濃度換算では、通常ヒトにおいて達成される子宮内暴露最高濃度の100倍）を与えた結果、p53^{+/-}及びp53^{+/-}マウスではビタミンE暴露により発がんの早期化が認められ、生存率が有意に低下した。両マウス共に、ビタミンE暴露の有無に関わらず腫瘍発生臓器は同様であった。また、発がんの早期化と組織中のビタミンE濃度やDNA酸化の程度との相関は不明確であったが、これらの成績から腫瘍によっては胎児期に起始することや胎児期に暴露した高濃度のビタミンEが将来の発がんリスクに影響を与える可能性が示唆された[4]。なお、今回報告された1/1000濃度の0.1%ビタミンEをp53^{+/-}マウスの母動物へ暴露すると、次世代の自然発生腫瘍の発生が抑制されることを同著者らは報告している[5]。

その他、Koehlらは、p53ノックアウトマウスを用いた免疫抑制剤の発がん性研究において、cyclosporinの腫瘍発生は対照群と同様であること、mycophenolate mofetilの腫瘍発生はわずかに抑制される傾向が認められたのに対して、rapamycinでは腫瘍発生が有意に抑制されることを示した[6]。また文献[7, 8]では、ILSI HESIの国際共同研究の一環として、PPAR α アゴニストであ