

I 群…低体重出生児を分娩した症例

II 群…早産となった症例

III 群…低体重出生児かつ早産となった症例

図 3 抗菌薬を使用した症例のうち、低体重出生児または早産となった症例の内訳

薬効分類	医薬品数	薬効分類	医薬品数
主としてグラム陽性・陰性菌に作用するもの	16	血管拡張剤	2
鎮痛、鎮痒、収斂、消炎剤	14	鎮咳去たん剤	2
血液代用剤	9	その他の呼吸器用薬	2
漢方製剤	9	生殖器官用剤	2
下剤、浣腸剤	8	子宮収縮剤	2
消化性潰瘍用剤	7	その他の泌尿生殖器官及び肛門用薬	2
精神神経用剤	6	化膿性疾患用剤	2
寄生性皮膚疾患用剤	6	ビタミンC剤	2
無機質製剤	6	肝臓疾患用剤	2
解熱鎮痛消炎剤	5	抗ヒスタミン剤	2
鎮けい剤	4	抗ウイルス剤	2
血圧降下剤	4	血液製剤類	2
気管支拡張剤	4	総合感冒剤	1
その他のホルモン剤	4	利尿剤	1
血液凝固阻止剤	4	去たん剤	1
その他のアレルギー用薬	4	含嗽剤	1
主としてグラム陽性菌、マイコプラズマに作用するもの	4	健胃消化剤	1
催眠鎮静剤、抗不安剤	3	その他の消化器用薬	1
眼科用剤	3	脳下垂体ホルモン剤	1
鎮咳剤	3	甲状腺、副甲状腺ホルモン剤	1
止しゃ剤、整腸剤	3	副腎ホルモン剤	1
制酸剤	3	皮膚軟化剤	1
卵胞ホルモン及び黄体ホルモン剤	3	その他の歯科口腔用剤	1
痔疾用剤	3	ビタミンB剤	1
混合ビタミン剤	3	糖類剤	1
止血剤	3	タンパクアミノ酸製剤	1
酵素製剤	3	その他の血液・体液用薬	1
他に分類されない代謝性医薬品	3	解毒剤	1
抗パーキンソン剤	2	糖尿病用剤	1
自立神経剤	2	合成抗菌剤	1
耳鼻科用剤	2		

表1 日本標準商品分類番号の薬効分類別の医薬品数

医薬品名	成分名	系等
ピクシリン [®]	アンピシリンナトリウム	ペニシリン系抗生物質製剤
セファメジン α [®]	セファゾリンナトリウム水和物	
パセトクール [®]	セフォチアム塩酸塩	
パンスポリンT [®]	セフォチアムヘキセチル塩酸塩	
パンスポリン [®]	セフォチアム塩酸塩	
フロモックス [®]	セフカペンピボキシル塩酸塩水和物	セフェム系抗生物質製剤
メイアクト [®] ; メイアクトMS [®]	セフジトレンピボキシル	
セフゾン [®]	セフジニル	
バナン [®]	セフポドキシムプロキセチル	
スペルゾン [®]	スルバクタムナトリウム・	β -ラクタマーゼ阻害剤配合
スルペラゾン [®]	セフォペラゾンナトリウム	セフェム系抗生物質製剤
ユナシン-S [®]	スルバクタムナトリウム・	β -ラクタマーゼ阻害剤配合
	アンピシリンナトリウム	ペニシリン系抗生物質製剤
チエナム [®]	イミペネム・シラスタチンナトリウム	カルバペネム系抗生物質製剤
フルマリン [®]	フロモキセフナトリウム	オキサセフェム系抗生物質製剤
ホスミシンS [®]	ホスホマイシンナトリウム	ホスホマイシン系抗生物質製剤
エリスロシン [®]	エリスロマイシンエチル コハク酸エステル	
ジスロマック [®]	アジスロマイシン水和物	マクロライド系抗生物質製剤
クラリシッド [®]	クラリスロマイシン	
クラリス [®]		
クラビット [®]	レボフロキサシン	ニューキノロン系

表2 使用抗菌薬

成分名	添付文書	FDA	ADEC
セフジニル	妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。	B	
ルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム	[妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。]	B*	
クラリスロマイシン	妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。 [動物実験で、母動物に毒性があらわれる高用量において、胎児毒性（心血管系の異常、口蓋裂、発育遅延等）が報告されている。]	C	B3

*スルバクタムナトリウム単剤に対する評価

表3 ①：妊娠16～20週に使用されていた抗菌薬の日・米・豪各国の妊婦への使用に関する分類

成分名	添付文書	FDA	ADEC
セファゾリンナトリウム水和物 セフォチアム塩酸塩		B	B1
セフォチアムヘキサチル塩酸塩 セフカペンピボキシル 塩酸塩水和物			
セフジトレンピボキシル		B	
スルバクタムナトリウム・ セフォペラゾンナトリウム イミペネム・	[妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。]	B*	
シラスタチンナトリウム フロモキシセフナトリウム エリスロマイシン	妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。	C	B3
エチルコハク酸エステル アジスロマイシン水和物		B	A
ホスホマイシンナトリウム アンピシリンナトリウム		B	B1
スルバクタムナトリウム・ アンピシリンナトリウム	[アンピシリンの大量(3,000mg/kg/日)投与でラットに催奇形性が報告されている。]	B	A
クラリスロマイシン	[動物実験で、母動物に毒性があらわれる高用量において、胎児毒性(心血管系の異常、口蓋裂、発育遅延等)が報告されている。]	B	B
		C	B3

*セフォペラゾンナトリウム単剤に対する評価

表 4 ②：妊娠 28 週～分娩に使用されていた抗菌薬の日・米・豪各国の妊婦への使用に関する分類

成分名	添付文書	FDA	ADEC
セフポドキシムプロキセチル	妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること。[妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。] 禁忌 [妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。]	B	B1
レボフロキサシン		C	

表5 ③：①②以外の時期に使用されていた抗菌薬の日・米・豪各国の妊婦への使用に関する分類

成分名	使用症例数		
	I群	II群	III群
セフォチアムヘキセチル塩酸塩	1		1
セフカペンピボキシル塩酸塩水和物	1		2
セフジトレンピボキシル	1		
セフジニル	1	2	1
スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム		1	
フロモキシセフナトリウム	1	2	3
クラリスロマイシン	2		

表6 低体重出生児または早産となった症例で使用された抗菌薬

成分名	使用症例数	成分名	使用症例数
セフジニル	10	セフカペンピボキシル	2
フロモキシセフナトリウム	10	セファゾリンナトリウム水和物	1
クラリスロマイシン	5	セフジトレンピボキシル	1
セフォチアム塩酸塩	5	セフポドキシムプロキセチル	1
セフォチアムヘキセチル塩酸塩	4	アジスロマイシン水和物	1
アンピシリンナトリウム	4	ホスホマイシンナトリウム	1
スルバクタムナトリウム・アンピシリンナトリウム	3	セフジトレンピボキシル	1
エリスロマイシンエチルコハク酸エステル	2	イミペネム・シラスタチンナトリウム	1
スルバクタムナトリウム・セフォペラゾンナトリウム	2	レボフロキサシン	1

表7 低出生体重児または早産ではない症例で使用された抗菌薬

<p>SEA 分類 (S)</p> <p>ヒトにおける研究 (Study)</p> <p>S_{0a}: ヒトにおける比較対照研究において、催奇形性および胎児毒性・生殖毒性が否定されている</p> <p>S_{0b}: ヒトにおける研究において、催奇形性および胎児毒性・生殖毒性との関連は否定的</p> <p>S₁: ヒトにおける研究において、催奇形性もしくは胎児毒性・生殖毒性が否定できない</p> <p>S₂: ヒトにおける研究において、明らかな催奇形性もしくは胎児毒性・生殖毒性が認められている、もしくはそれらが強く疑われる</p> <p>S_x: ヒトにおける適切な比較対照試験、コホート研究、観察研究がない</p>
<p>SEA 分類 (E)</p> <p>ヒトにおける過去の臨床経験 (Experience)</p> <p>E₀: ヒトにおける臨床経験が 20 年以上あり、妊娠可能な年齢の女性に多数使用されてきたが、催奇形性および胎児毒性が認められていない</p> <p>E₁: ヒトにおける臨床経験が 20 年以上あるが、催奇形性もしくは胎児毒性が疑わせる情報がある</p> <p>E₂: ヒトにおける臨床経験において、明らかな催奇形性もしくは胎児毒性が認められている、もしくはそれらが強く疑われる</p> <p>E_x: ヒトにおける臨床経験が 20 年未満、もしくは著しく少ない</p> <p>※ただし、ここでの「臨床経験」には、複数の症例報告、症例シリーズ研究、200 例未満の観察研究を含む</p>
<p>SEA 分類 (A)</p> <p>動物実験データ (Animal experience)</p> <p>A₀: 動物実験において、明らかな催奇形性、胎仔致死作用、その他の有害作用が認められない</p> <p>A₁: 動物実験において、明らかな催奇形性もしくは胎仔致死作用は認められないものの、その他の有害作用が認められる</p> <p>A₂: 動物実験において、明らかな催奇形性もしくは胎仔致死作用が認められている</p> <p>A_x: 適切な動物実験データがない</p> <p>※A₀、A₁、A₂ に対して、それぞれ a (母動物無毒性量以上、人常用量 100 倍以上)、b (母動物無毒性量未満、人常用量 100 倍未満) を定義する</p>

表 8 SEA 分類 WG 試案

成分名	SEA 分類	成分名	SEA 分類
アンピシリンナトリウム	S ₁ E ₀ A _X	スルバクタムナトリウム・ アンピシリンナトリウム	S _X E ₀ A _{0b} ・ S ₁ E ₀ A _X
セファゾリンナトリウム水和物	S _X E ₀ A _{0b}	イミペネム・ シラスタチンナトリウム	S _X E ₀ A _{1b} ・ S _{0b} E ₀ A _{1b}
セフォチアム塩酸塩	S _X E ₀ A _{1b}	フロモキシセフナトリウム	S _X E ₀ A _{1b}
セフォチアムヘキシセチル塩酸塩	S _X E ₀ A _{1b}	ホスホマイシンナトリウム	S _X E ₀ A _{1b}
セフカペンピボキシル 塩酸塩水和物	S _X E ₀ A _{1a}	エリスロマイシン エチルコハク酸エステル	S ₁ E ₀ A _X
セフジトレンピボキシル	S _X E _X A _{1b}	アジスロマイシン水和物	S _X E _X A _{0a}
セフジニル	S _X E _X A _{1b}	クラリスロマイシン	S _{0b} E _X A _{2b}
セフポドキシムプロキシセチル	S _X E _X A _{0b}	レボフロキサシン	S ₁ E _X A _{1b}
スルバクタムナトリウム・	S _X E ₀ A _{0b} ・		
セフォペラゾンナトリウム	S _{0b} E ₀ A _{0b}		

表 9 対象 21 抗菌薬の SEA 分類結果

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
分担研究報告書

妊娠と薬情報センターから見たリスク分類

分担研究者 村島 温子 国立成育医療センター母性内科・医長

研究要旨

妊娠と薬情報センターが開設され2年が過ぎ、情報提供の方法論は確立されつつあり、相談事例の追跡調査も順調に行われてきており、今後はそれらを用いた疫学研究の方法の整備が必要となってきた。その方法を探索することを目的に相談事例の分析を行った。相談薬剤の分析では薬剤の種類として感冒用薬剤、精神神経薬剤が圧倒的に多く、これらについては近い将来に疫学研究結果を出すことは可能と考えられた。精神神経薬剤以外の慢性疾患用薬剤の相談数は元々少ない上に、妊娠前の相談が多く、受身のデータベース構築では疫学研究結果を出すまでには相当な時間がかかることが予想される。そこで、慢性疾患に使用する薬剤で、安全性について明らかになっていないものを対象に能動的なデータベースを構築する必要がある。今年度はメチマゾールを対象薬剤とした能動的データベース構築（レジストリ）研究を立ち上げた。

A. 研究目的

妊娠中の薬剤使用に関する情報を適切に提供するとともに、その妊娠結果を集積して本邦独自の症例データベースを構築し、疫学解析を経てエビデンスを作成していくことを目的に妊娠と薬情報センターが開設され、2年が経過した。本研究では、1、妊産婦・授乳婦に対する医薬品のリスク分類のためのデータベース作成（パイロット研究とエビデンスの確立）2、相談者が情報提供を求めるまでのプロセスの研究 3、妊婦の追跡調査方法の確立 4、医薬品情報の収集および整理の仕方の検討 5、妊婦に対して適応外に使用される医薬品の実態調査とした。

B. 研究方法

1、妊産婦・授乳婦に対する医薬品のリスク分類のためのデータベース作成（パイロット研究とエビデンスの確立）

POEM スタディの研究概要：妊娠初期

に抗甲状腺薬を内服した妊婦を、全国甲状腺専門施設より妊娠と薬情報センターの登録システムを用いて登録し、妊娠の結果および児の奇形に関する情報を妊娠と薬情報センターにより収集し、抗甲状腺薬の妊婦に使用する際の安全性に関する情報を提供する。

進捗状況：2007年11月に本センター倫理委員会審査で承認を受け、2008年1月より全国7施設からの登録が開始となった。

2、相談者が情報提供を求めるまでのプロセスの研究

1) 対象と方法

2005年10月1日から2007年12月31日までに相談のあった例すべてを対象とした。相談時の問診表の項目にある「妊娠と薬情報センターをどこで知ったか」という質問について分析した。

2) 結果（図1）

この期間に相談例は971例であった。そ

のうちの 67%が医師から勧められた、22%がインターネットで知った、5%が新聞で知った、その他 6%であった。

3、妊婦の追跡調査方法の確立

1) 対象と方法

2005年10月1日から2007年12月31日までに妊娠結果調査ハガキを1回以上送付した360例を対象とし、ハガキの返送率をみた。

2) 結果 (表1)

1回の発送で返答があったものは251例であった。75例に2回の発送を行いそのうちの36例から返送があった。同意撤回が6例、その他の方法で返答があったもの7例であり、返答率は82%であった。

4、医薬品情報の収集および整理の仕方の検討

妊娠と薬情報センターの事業を遂行する中で検討が行われた。

5、妊婦に対して適応外に使用される医薬品の実態調査

1) 対象と方法

2005年10月1日から2007年8月31日までに妊娠と薬情報センターに申し込みのあった738例を対象とし、3例以上の症例で相談があった薬剤の中で妊婦に禁忌となっている薬剤を抽出した(図2)それらが禁忌となっている理由、疫学研究的の有無、FDA分類、分担研究者の意見を表にまとめた。

2) 結果 (表2)

該当した薬剤14種類のうち、禁忌と考えるものはNSAIDs(末期)、ARB(中期以降)、風疹ワクチンであった。不要と考えるものはエストロゲン・プロゲステロン合剤、スタチン系薬剤、クロミフェンであった。他の8種類の薬剤は疫学研究があってもリスクが否定的なもの、経験からいってリスクはなさそうなもので、禁忌となる根拠に乏しかった。

(倫理面の配慮)

以下、1-5の研究は国立成育医療センター倫理委員会の承認を受け、同意を得て行っている。

D. 考察

1、妊産婦・授乳婦に対する医薬品のリスク分類のためのデータベース作成 (パイロット研究とエビデンスの確立)

妊娠と薬情報センターのレジストリーシステムを用いた多施設前向きコホート研究としてPOEMスタディ (Pregnancy Outcome of Exposure to Methimazole)の研究計画の作成、倫理委員会の承認を得てレジストリが始まったところである。慢性疾患使用する薬剤については受身のデータベース構築では疫学研究に耐える例数が集まらない可能性が高いので、今後はメチマゾール以外の薬剤についてもレジストリシステムを利用した疫学研究が行えるように環境整備を行っている。

2、相談者が情報提供を求めるまでのプロセスの研究

医師から勧められた例が半数以上を占めていたが、これはオープン以来専門雑誌、医師会、産婦人科医師の学術団体を中心に広報活動を行ってきた効果と考える。次に多かったのは22%のインターネットからであったが、これもホームページの充実に努力してきた結果と考える。日常でインターネットを使用しない女性が当センターを知る手段は今までほとんどなかったが、2008年度からの母子手帳に掲載されることになったのでアクセスの可能性が高まることが期待できる。

妊婦の追跡調査方法の確立については当センター発足当時から十分な検討がなされてきたためか大きなトラブルもなく、追跡率82%と予想以上の良好な結果である。しかし、白紙ハガキ返却による同意撤回も6例あり、その中に異常児が埋没している可能性も否定できない。倫理面と公益性の狭間で悩むところではある。

妊婦に対して適応外に使用される医薬品の実態調査については、今回はパイロット的に相談の多い薬剤で禁忌になっている薬剤を対象としてその根拠の調査、それをもとにした解釈を行った。禁忌となっている根拠が開発時の動物実験によるもので、使用経験からみてリスクが低いと考えられる薬剤、疫学研究でリスク

は否定的であるにもかかわらず禁忌になっている薬剤もあり、現在の添付文書の問題点が改めて明らかになった。

E. 結論

妊娠と薬情報センターにおける薬剤データベース、症例データベースの構築は順調に進んでいる。一方、慢性疾患に使用する薬剤を中心に能動的な症例データベース構築が必要であるが、そのためのレジストリシステムを利用したパイロットスタディを開始することができた。

妊娠と薬情報センターの相談例の解析から薬剤のリスク評価には経験というものさしが有効であると考えられた。本研究班で取り組んでいるSEA分類の妥当性を支持する結果であった。

F. 健康危害情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hisano M, Murashima A, et al. : Bacteria-associated haemophagocytic syndrome and septic pulmonary embolism caused by Burkholderia cepacia complex in a woman with chronic granulomatous disease. J Med Microbiol. 56: 702-705. 2007.
2. 村島温子 : 妊娠と薬情報 妊娠と薬情報センター 医薬ジャーナル 43(12):85-88 2007.12月.
3. 荒田尚子、村島温子、他 : メトホルミン内服妊婦の妊娠経過および児の合併症についての検討 糖尿病と妊娠 7(1): 135-140. 2007.
4. 村島温子 : 妊婦が外来に来たら 胎児に安全な薬物療法と放射線の安全性 JIM 18(3):204-208. 2008.
5. 村島温子 : TNF α 阻害薬と妊娠 リウマチ科 科学評論社 39:61-66. 2008.
6. 横山玲子、村島温子 : 妊娠・授乳期の

薬物療法 臨床医が知っておきたい女性の診かたのエッセンス 荒木葉子編集 医学書院 291-296. 2007. 8月.

2. 学会発表

1. 村島温子 : 「母体と(胎)児にとって適切な薬物療法」の情報提供 第110回日本小児科学会学術集会 2007年4月20日. 京都.
2. 荒田尚子、村島温子、吉川裕之、他 : 妊娠初期に投与された抗甲状腺薬の妊娠結果に与える影響に関する前向き研究 (Pregnancy Outcome of Exposure to Methimazole Study) 計画 日本内分泌学会雑誌 83(2): 350. 2007.
3. 入江聖子、村島温子、他 : 妊娠中のメトホルミン内服による耐糖能障害発現抑制効果は明らかではない 糖尿病と妊娠 7(2):S-60. 2007.
4. 村島温子 : リウマチ患者の妊娠と薬物治療 第6回日本リウマチ実地医学会 2007年9月23日 京都.
5. 村島温子 : 拳児希望リウマチ患者への薬物療法 Japan Biological Summit 2007年10月27日. 東京.
6. 村島温子 : 妊娠と薬情報センターの展望 平成19年度厚生労働省医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究推進事業 妊娠とくすり-リスク分類の現状と新たな展開- 2008年2月10日. 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1、相談者が情報提供を求めらるまでの のプロセス

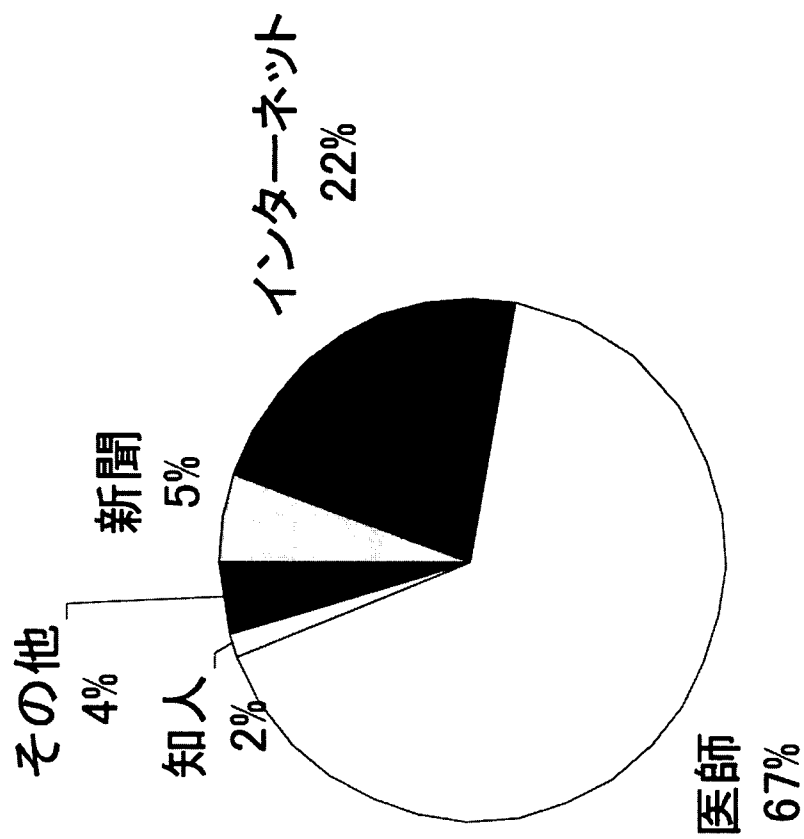


表1、転帰調査結果
2005年10月～2007年12月

	1回発送 (n=277)	2回発送 (n=75)	その他 (n=8)	合計 (n=360)
返信あり	251	36	7	294 (82%)
返信なし	21	38	1	60 (17%)
同意撤回	5	1	0	6 (2%)

表2、妊婦禁忌とされている薬剤の、その根拠と実際

薬剤	根拠	実際	私見	FDA
ニューキノロン系	動物	小疫学○	有益性	C
ドンペリドン	動物	経験	有益性	—
NSAIDs(ジクロ、インド)	症例	症(後:毒)	末期禁忌	C→D
EP合剤	性質	疫学○	不要	x
ブチロフェノン系	症例	疫学○	有益性	C
タクロリムス・シクロスポリン	動物	小疫学○	有益性	C
Ca拮抗剤	動物	小疫学○	有益性	C
炭酸リチウム錠	症例	Ebstein	有益性	D
ARB	動物	症(毒性)	中期以降禁忌	C→D
風しんワクチン	性質	疫学○	禁忌	x
プロポフォール注射液	移行	小疫学○	有益性	B
スタチン系	性質	1症例報告	不要	x
クエン酸クロミフェン錠	性質	小疫学○	不要	x
ベクロニウム静注用	性質	小疫学○	有益性	C

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍：

なし

雑誌：

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ema M, et al.	Comments from the Developmental Neurotoxicology Committee of the Japanese Teratology Society on the OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study,	Congenit Anom (Kyoto)	47	74-76	2007
Ema M, et al.	Screening study for repeated dose and reproductive/developmental toxicity of rubber accelerator, N, N-dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide, in rats.	Drug Chem Toxicol	30	167-180	2007
Ema M, et al.	Evaluation of reproductive and developmental toxicity of the rubber accelerator N, N-dicyclohexyl-2-benzothiazole sulfenamide in rats.	Congenit Anom (Kyoto)	49	149-155	2007
Matsumoto M, Ema M et al.	Combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test of the nitrophenolic herbicide dinoseb, 2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol, in rats.	Environ Toxicol,			in press.
Ema M, et al.	Two-generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats.	Reprod Toxicol	25 (3)		in press
Ema M, et al.	Repeated dose and reproductive toxicity of the ultraviolet absorber 2-(3',5'-di-tert-butyl-2'-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole in rats.	Drug Chem Toxicol			in press.
林 昌洋	母乳と薬, 胎児と薬	小児科臨床	60(12)	2253-2267	2007
林 昌洋	妊娠と薬の歴史的背景	医薬ジャーナル	43(12)	43(12)	2007
村島温子	TNF α 阻害薬と妊娠	リウマチ科	39	61-66	2008
村島温子	妊娠と薬情報 妊娠と薬情報センター	医薬ジャーナル	7(1)	135-140	2007
村島温子	妊婦が外来に来たら 胎児に安全な薬物療法と放射線の安全性	JIM	18(3)	204-208	2008

COMMENTARY

Comments from the Developmental Neurotoxicology Committee of the Japanese Teratology Society on the OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study, Draft Document (October 2006 version), and on the Draft Document of the Retrospective Performance Assessment of the Draft Test Guideline 426 on Developmental Neurotoxicity

Makoto Ema¹, Yoshihiro Fukui², Hiroaki Aoyama³, Michio Fujiwara⁴, Junichiro Fuji⁵, Minoru Inouye⁶, Takayuki Iwase⁷, Takahide Kihara⁸, Akihito Oi⁹, Hiroki Otani¹⁰, Mitsuhiro Shinomiya¹¹, Koza Sugioka¹², Tsunekazu Yamano¹³, Keisuke H. Yamashita¹⁴, and Takashi Tanimura¹⁵

¹Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, ²Department of Anatomy and Developmental Neurobiology, University of Tokushima Graduate School, Institute of Health Biosciences, Tokushima, ³Laboratory of Reproductive Toxicology, Institute of Environmental Toxicology, Joso, ⁴Drug Safety Research Laboratory, Astellas Pharma Inc., Osaka, ⁵Development Research Center, Pharmaceutical Research Division, Takeda Pharmaceutical Company Limited, Osaka, ⁶Department of Nutrition, Shokei University, Kumamoto, ⁷Glaxo SmithKline K.K., Tokyo, ⁸Department of Anatomy, Kinki University School of Medicine, Osakasayama, ⁹Tokushima Research Institute, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd, Tokushima, ¹⁰Department of Developmental Biology, Shimane University School of Medicine, Izumo, ¹¹Safety Research Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd, Tokushima, ¹²Division of Anatomy and Developmental Neurobiology, Department of Neuroscience, Kobe University Graduate School of Medicine, Kobe, ¹³Department of Pediatrics, Osaka City University School of Medicine, Osaka, ¹⁴Department of Anatomy and Developmental Biology, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Hiroshima, and ¹⁵Kinki University, Sakai, Japan

ABSTRACT In October 2006, a new revision of the draft guideline (OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study) and Draft Document of the Retrospective Performance Assessment (RPA) of the Draft Test Guideline 426 on Developmental Neurotoxicity were distributed following incorporation of the results of the Expert Consultation Meeting in Tokyo on May 24–26, 2005. The draft guideline consists of 50 paragraphs and an appendix with 102 references; and the draft RPA consists of 37 paragraphs with 109 references. National coordinators were requested to arrange for national expert reviews of these draft documents in their member countries. Members of the Developmental Neurotoxicology (DNT) Committee of the Japanese Teratology Society (JTS) reviewed, discussed, and commented on the draft Test Guideline Proposal. The DNT Committee of the JTS also commented on the draft document of the RPA. These comments were sent to the OECD Secretariat. The DNT Committee of the JTS expects the comments to be useful for the finalization of these draft documents.

Key Words: behavior, developmental neurotoxicity, OECD, test guideline

BACKGROUND

In June 1995, the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) Working Group on Reproduction and Developmental Toxicity at Copenhagen recommended that a guideline for developmental neurotoxicity (DNT) should be written (Organisation for Economic Co-Operation and Development 1995). In June 1996, an OECD Consultation Meeting on DNT was held in Copenhagen to provide the Secretariat with a draft report on the outline of a new guideline (Organisation for Economic Co-Operation and Development 1996). Comments on this draft report were provided from the Behavioral Teratology (BT) Committee of the Japanese Teratology Society (JTS), in association with the Meeting of Neurobehavioral Toxicology of the Japanese Society of Toxicology. After this meeting, a draft proposal for Test Guideline 426 on DNT Study was developed, and it was submitted to the Secretariat in February 1998. The draft guideline reflecting these comments was distributed in December 1998. The BT Committee of the JTS commented again on this draft guideline. The draft guideline proposal was extensively revised and distributed in October 1999. In October 2000, an OECD Expert Consultation Meeting and International Life Sciences Institute (ILSI) Risk Science Institute Workshop discussed general issues regarding the design of DNT studies in Washington, D.C. (Organisation for Economic Co-Operation and Development 2003).

Correspondence: Makoto Ema, DVM, PhD, Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan. Email: ema@nih.go.jp

Received January 25, 2007; revised and accepted February 13, 2007.

© 2007 The Authors

Journal compilation © 2007 Japanese Teratology Society

A new revision of the guideline was distributed in September 2003. The draft guideline consists of 51 paragraphs and an appendix. The BT Committee of the JTS commented on the draft Test Guideline Proposal (Fukui *et al.* 2004). The BT Committee of the JTS also commented that an International Collaborative Study to validate this protocol should definitely be performed, as indicated in OECD ENV/EHS/HK/mc/2003.49. These comments were sent to the OECD Secretariat through the Japanese national coordinator in January, 2004.

In response to the comments, the Expert Consultation Meeting was held to make the final revisions to the draft Test Guideline 426 on DNT in Tokyo on May 24–26, 2005 (Organisation for Economic Co-Operation and Development 2005). Thirteen Japanese, including five persons from the government and eight from the Business and Industry Advisory Committee (BIAC) attended this meeting among the total of 27 participants from the OECD member countries. Participants included the members of the BT Committee of the JTS, Drs Hiroaki Aoyama, Makoto Ema, and Takashi Tanimura. In this Tokyo Meeting, the number of animals used, issues on dose limits and maternal toxicity, the direct dosing of pups, physical development, neuropathological examination, interpretation of results, Table 3, references, and issues on Test Method Performance (motor activity, sensory function, and memory test) were generally discussed (Organisation for Economic Co-Operation and Development 2005). Japan drafted a new Figure 1 (originally prepared by Dr Tanimura) and presented this figure to the meeting for consideration. After the meeting, Japan edited the references in paragraph 35 and recommended to remove some references because they did not correctly refer to the text.

In October 2006, a new revision of the draft guideline (OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, DNT Study) and Draft Document of the Retrospective Performance Assessment (RPA) of the Draft Test Guideline 426 on DNT were distributed following the incorporation of the results of the Tokyo Meeting in 2005. These draft documents are posted on the OECD public web site of the Test guidelines programme at: http://www.oecd.org/document/55/0,2340,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1,00.html. The draft guideline consists of 50 paragraphs, one figure, one table, and one appendix with 102 references, and the draft RPA consists of 37 paragraphs and four tables with 109 references. National coordinators were requested to arrange for national expert reviews of these draft documents in their member countries. The deadline for the expert responses to these draft documents was December 15, 2006.

National experts asked the members of the DNT committee (former BT committee) of the JTS and Japanese participants in the Tokyo Meeting to comment on these documents, a new revision of the draft guideline (OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, DNT Study), and the Draft Document of the RPA of the Draft Test Guideline 426 on DNT. The members of the DNT Committee (Chairman: Dr Yoshihiro Fukui, Professor, University of Tokushima School of Medicine) of the JTS reviewed and commented on the draft documents. The national experts received the comments to these draft documents only from the DNT Committee of the JTS. These comments were sent to the OECD Secretariat through the Japanese national coordinator (Ms. Yayoi Sasaki, Director of the Office of Chemical Safety, Pharmaceutical and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan) before the deadline.

The DNT Committee of the JTS expects the comments to be useful for the finalization of these draft documents.

The comments from the DNT Committee of the JTS are as follows:

COMMENTS

Comments on OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study (October, 2006)

General comments

The proposed revised draft of Test Guideline 426 is generally acceptable, except for several minor editorial comments and the need for a uniform style of literature.

Specific comments

A. Editorial remarks

- P31 Line 3 Better wording should be used for the sentence: 'If developmental landmarks are ... measurements should be performed.'
- P37 Line 18 No references are given for adult rats.
- P38 Line 4 'brain' should be central nervous system (CNS). Peripheral Nervous System should be peripheral nervous system.
- P40 Line 4 'central (CNS)' should be 'CNS'. See P38 suggestion.
- P43 Line 4 'and' before 'the cerebellum' should be deleted for consistency of the document form.
- P45 Line 3 Subject (evidence) and verb (are) must agree in number.
- P47 Line 7 'be use' is correct? In the third revision (Aug '2005), it was 'be done using'.

Figure 1, 2nd Box, Offspring: Approximately 80/sex/group: Line 4 'bodyweight' should be 'body weight'.

Table 1. Insert a horizontal line between the row m1 + f5 and m2 + f6.

Table 2 and Table 3. Column 1/row 1, 'Pup no.' should be 'Pup no.' Another 13 comments regarding editorial remarks were made.

B. Literature

It is greatly appreciated that many new references have been added. However, their styles are not uniform, especially in the abbreviation of journal titles.

A total of 81 editorial comments were made in LITERATURE.

Comments on the Draft Document of the Retrospective Performance Assessment (RPA) of the Draft Test Guideline 426 on Developmental Neurotoxicity

We feel a strong need to add a description of the collaborative studies of the JTS.

Efforts for a more unified style of literature are requested.

Addition of the collaborative studies of the JTS

a. P10, Table 1

The following one row is to be added between the rows of 1989 and 1995.

Date	Event	Summary	References
1993–1997	Collaborative studies of the Japanese Teratology Society	Three interlaboratory studies using behavioral teratogens to evaluate a core battery of tests	Fukumishi <i>et al.</i> (1998), Tachibana <i>et al.</i> (1998), Nishimura <i>et al.</i> (2001)

b. P19.

The following new paragraph is to be placed as P19 and the current P19 'The International Programme on Chemical Safety (IPCS) Study' is to be numbered as a New P20.

19. Collaborative Studies of the Japanese Teratology Society – The Japanese Teratology Society established the Behavioral Teratology Meeting (BTM) as a satellite meeting in 1982. Following the small-scale collaborative studies with the unified protocol, workshops were held between 1988 and 1990, with three subgroups: reflexes and sensory function, activity and emotionality, and learning (Tanimura 1992). Subsequently, a core battery test draft for behavioral developmental toxicity was proposed and its utility was examined with three positive behavioral teratogens in 1993–1997. They were phenytoin (Fukunishi *et al.* 1998), retinoic acid (Nishimura *et al.* 2001), and nicotine (Tachibana *et al.* 1998). Participating laboratories were 32, 28, and 18, respectively. It was concluded that the proposed core battery of tests are useful as a screening method to detect postnatal developmental disorders, including behavioral dysfunction, in rats. Activities of the BTM of the Japanese Teratology Society had continued to be presented as the Behavioral Teratology Committee (present DNT Committee) until July 2006. For instance, comments on the OECD Test Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study, Draft Document (September, 2003) were published (Fukui *et al.* 2004).

C. References

The following five references for the New P19 are to be added.

- Fukui Y, Ema M, Fujiwara M *et al.* (2004) Comments from the Behavioral Teratology Committee of the Japanese Teratology Society on OECD Guideline for the Testing of Chemicals, proposal for a new guideline 426, developmental neurotoxicity study, draft document (September, 2003). *Congenital Anomalies* 44: 172–177.
- Fukunishi K, Terada Y, Tachibana T, Tanimura T (1998) Collaborative behavioral teratology study of phenytoin: A test battery for neurobehavioral developmental toxicity in rats. *Congenital Anomalies* 38: 117–141.
- Nishimura T, Iwase T, Hashimoto Y, Tanimura T (2001) Evaluation of a core battery of tests for detecting behavioral dysfunction of rat offspring induced by retinoic acid: Collaborative work II of the Japanese Behavioral Teratology Committee. *Congenital Anomalies* 41: 156–168.
- Tachibana T, Narita H, Ogawa T, Tanimura T (1998) Using postnatal age to determine test dates leads to misinterpretations when treatments alter gestation length: Results from a collaborative behavioral teratology study in Japan. *Neurotoxicology and Teratology* 20: 449–457.
- Tanimura T (1992) Update on the activities of the Japanese Behavioral Teratology Meeting. *Congenital Anomalies* 32 (Suppl.): S7–S20.

Note: 'Congenital Anomalies' is the official journal of the Japanese Teratology Society. It has been recently adopted by PubMed and the abbreviated title in PubMed is 'Congenit Anom Kyoto'.

For the Secretariat's convenience, copies of the front page of the five papers are attached.

Uniform style of references

More efforts towards a uniform style of references, especially in the abbreviation of journal titles, are needed. In this document, the majority of journal titles are fully spelled out, while most of the journal titles in Test Guideline 426 are abbreviated. In consideration of the hope that this document may be read not only by academics but also by the public in broader areas, the full spelling of journal titles may have some merits. In any case, the current presentation of references is quite variable, and it is strongly requested that the Secretariat be responsible for the proper amendments.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Ms. Mariko Matsumoto (Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences) for editorial support to prepare the format of comments sent to the OECD and this manuscript.

REFERENCES

- Fukui Y, Ema M, Fujiwara M *et al.* (2004) Comments from the Behavioral Teratology Committee of the Japanese Teratology Society on OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Proposal for a New Guideline 426, Developmental Neurotoxicity Study, Draft Document (September 2003). *Congenit Anom Kyoto* 44: 172–177.
- Fukunishi K, Terada Y, Tachibana T, Tanimura T (1998) Collaborative behavioral teratology study of phenytoin: A test battery for neurobehavioral developmental toxicity in rats. *Congenit Anom Kyoto* 38: 117–141.
- Nishimura T, Iwase T, Hashimoto Y, Tanimura T (2001) Evaluation of a core battery of tests for detecting behavioral dysfunction of rat offspring induced by retinoic acid: Collaborative work II of the Japanese Behavioral Teratology Committee. *Congenit Anom Kyoto* 41: 156–168.
- Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD) (1995) *Draft Report of the OECD Ad Hoc Working Group on Reproduction and Developmental Toxicity*. Copenhagen, Denmark, 13th–14th June 1995.
- Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD) (1996) *Final Report of the Consultation Meeting on Developmental Neurotoxicity*. Copenhagen, Denmark, 17th–18th June 1996.
- Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD) (2003) *Report of the Expert Consultation Meeting in Developmental Neurotoxicity Testing*. Washington, US, 23th–25th October 2000.
- Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD) (2005) *Draft Meeting Report of the Expert Consultation Meeting for the Revision of draft Test guideline 426 on 'Developmental Neurotoxicity Study'*. 24–16 May, 2005, Tokyo, MHLW, Japan.
- Tachibana T, Narita H, Ogawa T, Tanimura T (1998) Using postnatal age to determine test dates leads to misinterpretations when treatments alter gestation length: Results from a collaborative behavioral teratology study in Japan. *Neurotoxicol Teratol* 20: 449–457.
- Tanimura T (1992) Update on the activities of the Japanese Behavioral Teratology Meeting. *Congenit Anom Kyoto* 32 (Suppl.): S7–S20.

Screening Study for Repeated Dose and Reproductive/Developmental Toxicity of Rubber Accelerator, *N,N*-Dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide, in Rats

Makoto Ema,¹ Yoshihiko Ito,² Mariko Matsumoto,¹
Akihiko Hirose,¹ and Eiichi Kamata¹

¹Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

²Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology, Sagamihara, Japan

A screening study for a vulcanization accelerator *N,N*-dicyclohexyl-2-benzothiazole-sulfenamide (DCBS) was performed in rats. Rats were given DCBS by gavage daily at 0, 6, 25, 100, or 400 mg/kg. Males were dosed for a total of 44 days beginning 14 days before mating. Females were dosed for a total of 40–51 days beginning 14 days before mating to day 3 of lactation. Toxicologic changes were significantly noted only at 400 mg/kg. Three females died. An increased incidence of females showing decreased locomotor activity, soil of the lower abdominal fur, and reddish tears was observed. A lowered body weight was found in males and females. Increased urinary ketones and serum inorganic phosphorus and decreased serum glutamate pyruvate transaminase in males were found. Increased absolute and relative weights of the kidneys in males and decreased absolute weight of the thymus in both sexes were noted. Significant fatty degeneration of the renal tubular epithelia, vacuolation of the adrenocortical cells, and atrophy of the spleen were observed in females. Significant decreases in the gestation index, numbers of corpora lutea, implantations, pups born and pups born alive, live birth index, and viability index were detected. It is concluded that the No

Address correspondence to Makoto Ema, Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Fax: +81-3-3707-1408; E-mail: ema@nihs.go.jp

Observed Adverse Effect Levels (NOAELs) for repeat dose and reproductive/developmental toxicity are $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ in this screening study.

Keywords *N,N*-Dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide, Repeated dose toxicity, Reproductive and developmental toxicity, Vulcanization accelerator.

INTRODUCTION

N,N-Dicyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide (CAS no. 4979-32-2; DCBS) is one of the sulfonamide accelerators, and the sulfenamide accelerators have been manufactured in the United States for more than 60 years (EPA, 2001). The sulfenamide accelerator materials are shipped extensively throughout the world from manufacturing plants located in North America, South America, Europe, Asia, and Africa (EPA, 2001). DCBS is produced with an annual production level of about 1000 tons/year in 1990–1993 and 1900 tons in 2000–2003 in Japan, and most of this amount was sold and handled in Japan (OECD, 2006). The main application area of DCBS is in large tires, but it is also employed in conveyor belts, driving belts, shock absorbers, mountings, and other intricately shaped molded goods requiring extremely long flow periods in the molding process (Akrochem, 2006). DCBS is regulated for use in articles in contact with food in Germany, but this compound is not regulated for use in U.S. FDA food contact applications (Flexsys, 2006). Only up to 6% of biodegradation of DCBS was determined in a ready biodegradability test (OECD, 2006). A measured $\log K_{ow}$ value of 4.8 suggests that DCBS is suspected to have a high bioaccumulation potential (OECD, 2006). Exposure of workers handling sulfenamide accelerator materials is likely to be highest in the area of materials packaging. During material packout at the manufacturing site and, to a somewhat lesser degree during weigh-up activities at the consumer site, there is a potential for skin and inhalation exposure. Although consumer exposure is minimal, the most likely route of consumer exposure is skin contact from rubber or latex articles (EPA, 2001).

The possibility of these compounds entering into biological systems has aroused great concern about its toxicologic potential. It is generally assumed that the biological effects produced by chemicals should be studied in laboratory animals to investigate their possible influences on human health, and the results of animal tests of chemical toxicity are relevant to humans (Clayson et al., 1990). However, very little information on the toxicity of this compound has been published. Vorobera (1969) reported that the oral LD_{50} values were 8500 mg/kg in male mice and repeated inhalation exposure of male rats for 15 days, daily, 2 h/day, at 350–400 mg/m^3 caused mucous membrane irritation. The results of toxicity studies on DCBS were briefly summarized by the European Chemical Bureau (2000) and the U.S. EPA (2001), but the descriptions regarding the toxicity of DCBS were insufficient to evaluate the toxic effects of this compound. The EPA (2001) noted that the oral No Observed