

Fig.2 フローチャート暫定案

Fig. 2 は、EFPIA から示された暫定案です。最初に phototoxic potential の評価を行います。Molar extinction coefficient (MEC), chemical photoreactivity, distribution in light-exposed tissues の三つの概念について評価を行い、いずれかが陰性であれば、他のテストを行う必要も、毒性学的な懸念も、protective measures も、ラベルも必要ないと考えます。

Phototoxicity の実験的な評価については、*in vitro* 光毒性試験、*in vivo* 光毒性試験、臨床評価のいずれかが陰性であれば同様に他のテストを行う必要がなく、毒性学的な懸念も、protective measures も、ラベルも必要ないと考えます。

ただし、いくつかの付随事例があり、最終的には、なんらかの防御手段を取らなければなりません。EWG の議論では、まだ tiered approach 的な要素が残っているとの意見もあります。現在もまだ議論が続いていますので、最終的なものでないことをご理解ください。

7.4 ROS アッセイのバリデーション

日本が最も問題にしているのは、ROS アッセイのバリデーションです。EWG は、ICH ブリュッセル会議において、JPMA から、JaCVAM による ROS アッセイの国際

バリデーション試験及び第三者評価に関する進捗状況の報告を受けました。

この第三者評価パネルは、偽陽性が多いことと、難溶性物質が溶けにくいことため評価できないことの対策として、従来の基準(クライテリア)の変更を推奨しました。従来のクライテリアは 20 あるいは 200 μM で評価し、200 μM では陽性結果と陰性結果の両方を、20 μM の場合は陽性結果のみを採用するものでしたが、新たな基準として、両方の用量でいずれも陰性結果と陽性結果の双方を採用する基準に変更することを推奨しました。実際にその新しい基準で既に存在しているバリデーション試験データを再評価したところ、偽陰性が発生しなかったとブリュッセルで報告を受けました。

それに対し、EWG 内では、様々な意見が出され、再評価において、200 μM 陽性物質の 20 μM でのデータがないことが指摘されました。その理由は既に 200 μM で陽性なので、20 μM で試験をしなかったためでしたが、データがないことが問題でした。そこで、S10 ガイドラインにある ROS アッセイ搭載の有無とその内容を決定するために、20 μM の予測性に関する追加データが必要と判断しました。また、バリデーション試験の最終評価に対しては、当該データを取得した上で反映させるべきと提案されまし

た。

7.5 ROS アッセイのバリデーションに関するフォローアップ

その後、JPMA から ICH ブリュッセル会議で指摘された追加データを取得し、そのデータを反映させても偽陰性は生じないことが分かりましたが、予測性の低下が懸念されると考えました。その結果、20 μM が陰性である場合は ROS アッセイが陰性であると判断しながらも、「何らかの追加の光安全性評価が必要」といった probably negative という新たなカテゴリーを設定することを提案しました。

この提案の後、FDA から、それは困るとの意見がありました。その理由として、probably negative は良いけれども、追加試験が必要とすると、混乱を招いてしまうとの意見がありました。それに対し、JPMA としては、完全に最終的な見解ではありませんが、20 μM だけが陰性の場合を陰性としなさいといった、元に戻すような提案を考えていると聞いています。したがって、これに関しては、最終的な結論に至っていません。

なお、ROS アッセイバリデーションに関しては、EWG での議論の結果を反映させ、2013年8月21日から22日に再度第三者評価会議が開催され、9月に試験報告書及び第三者評価会議の報告書が公開される予定です。

もし ICH S10 ガイドラインが ROS アッセイを実際に搭載することとなったら、これらの報告書を引用します。この引用文献がはっきりしないことも EWG の中で問題になっていたことですが、報告書は JaCVAM 等のホームページに載りますので、もし搭載する場合はそれを引用することとなります。

7.6 眼局所投与医薬品

眼の局所投与医薬品は、前述したように、適切な試験法がありませんので、特定のガイダンスを行わないこととしましたが、光安全性評価の一般的原則を適用することで合意しました。

8. 特記事項

8.1 新規添加物

新規の添加物については、パブリックコメントがそれほどありませんでしたが、全身及び局所適用医薬品（皮膚パッチ剤を含む）及び光線力学療法に用いられる医薬品の新規医薬品有用成分（API）及び新規添加物についてガイドラインが適用されます。

スコープの文章が変更され、新規添加物の定義をしました。すなわち、「市販薬剤で過去に使用実績のない添加物あるいは投与経路変更や投与量の増加により、光安全性リスクの増加が懸念されるもの」と定義しました。

したがって、海外で使用実績がある場合やリスクの増加が懸念される場合は、この定義に抵触しませんので、光安全性評価が不要となります。

8.2 光吸収と光毒性評価の対象 (Fig. 3)

光安全性評価の対象となる化合物は、MECが $1000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を超えるものです。一方で、皮膚への影響は 290~700 nm の吸収があるものについて問題としますが、網膜への影響を評価しなければなりません。特に、400 nm を超えるところに吸収がある over 400 nm の全身適用薬では、網膜の安全性の評価が必要です。

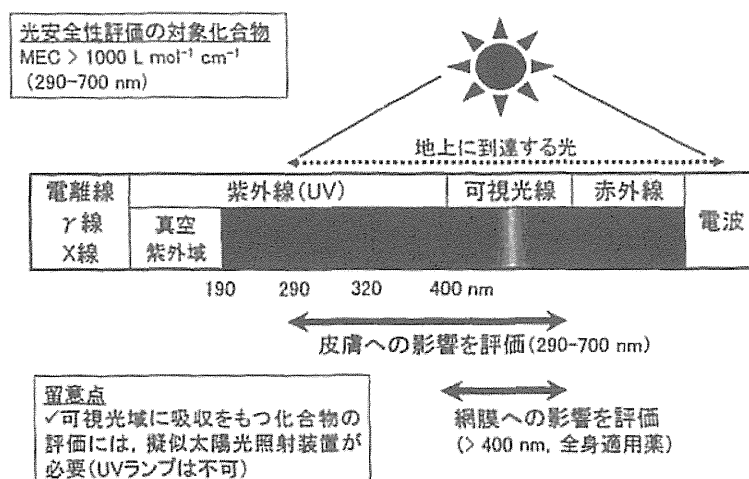


Fig. 3 光吸収と光毒性評価の対象

8.3 紫外線と皮膚 (Fig. 4)

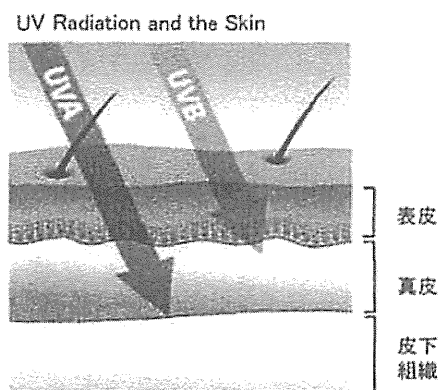
全身適用薬に関してはUVBによる光毒性の影響が臨床問題ではありませんが、経皮適用薬の場合はUVBの影響が問題になることがあります。

UVBのみを吸収する化合物の場合、光毒性試験代替法(3T3 NRU-PT)では検出が困難との問題があり、照射条件の変更を考慮したり、あるいは代替的にUVB耐性のヒト3D皮膚モデルも利用可能とする方向に考えています。

8.4 全身適用薬の光眼毒性 (Fig. 5)

全身適用薬の光眼毒性について、UVBは、角膜で大部分が吸収されますが、波長が長くなるに従って角膜・水晶体を通過する可能性があります。

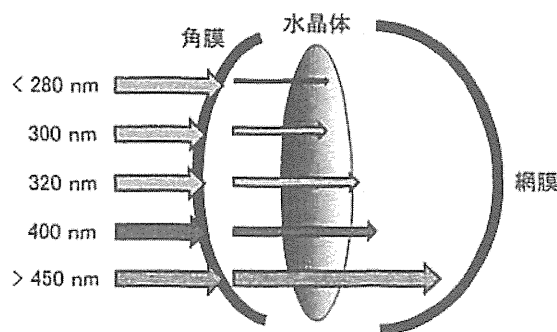
したがって、全身適用薬の場合、先ほど述べたように、400 nmを超える吸収を持つ化合物については、網膜に関する評価も必要になることも現在議論中です。



<http://www.skincancer.org/prevention/uva-and-uvb/understanding-uva-and-uvb>

ヒト皮膚におけるUVBの透過は表皮のみに限定されるが、UVAは毛細血管中の血液にまで到達する。

Fig. 4 紫外線と皮膚



UVBは、角膜で大部分が吸収されるが、波長が長くなるに従って、角膜・水晶体を通過していく。

> 全身適用薬の場合、吸収波長が400 nmを超える化合物については、網膜に対する評価も重要である。

Fig. 5 全身適用薬の光眼毒性

8.5 その他

その他には、組織分布、光増感剤、更にヒト光毒性評価の妥当性についても現在議論が進んでいます。

9. 今後の展望

今後の展望として、現在は、先に述べたいくつかの問題点について、電子メールベースで議論を行っているところです。ROSアッセイについては、先ほど述べたJPMAからの提示があり、それについてコメントされた段階で、他のことに関しても、ほとんどFDA主導で様々な問題提起が行われています。

筆者の立場としては、早くまとめたいということもあり、2013年7月以降に電話会議を行う予定でしたが、いくつかの事情、例えば8月の問題や、EUに1人しかメンバーがいなかったといった問題があり、日程調整がなかなか難しく、結果的に9月以降、9月と10月に複数回、予定として4～5回の電話会議を予定しています。それまでに電子メールベースでできるだけ議論をした上で、電話会議でステップ2文書を修正し、ステップ4の文書案を作成する予定です。

それを受けて、延長されたビジネスプランに基づいて、11月のICH大阪会議でステップ4に到達することを極力目指しているところです。

10. 質疑応答

質問1 *In vitro*の光毒性試験の実施に関して、ICHブリュッセル会議で地域間差がほぼ解消されたということですが、これはEUに寄ったのでしょうか。*In vitro*の光毒性試験の先行実施に関しては考慮するということがありますが、お答えできる範囲で結構ですが、EUに申請する場合は*in vitro*の光毒性試験を要求されるということなのですか。

回答 結論から言いますと、現段階でイエス、ノーと言うことは出来ません。実際には、ICHブリュッセル会議での結果を各パーティーで検討している最中です。FDAとEUは、最終的な回答が8月の遅い時期まで無理と言っています。先ほど述べた電話会議が9月以降でないことと実施できない理由の一つはそれです。EU側の実際の対応は現段階でEUの代表も了解していますので、日本と米国と同様となるわけですが、8月末にEUの最終的な態度が変わる可能性はゼロではないので、現段階で結論は言えません。

ただ、一応そういう状況であるということと、最初に述べたように、S10に関する限り、スポンサーとDRAの折衝に基づくということになっているので、この文面が有効

であれば、それを強く主張しても大丈夫と思います。

質問2 UVBのみを吸収する化合物の評価は3T3 NRU-PT試験で困難ということで、照射条件の変更考慮とのことですが、現実的にはUVBをフィルターをかけるなり何なりしてカットしているような状況で3T3試験を実施していて、フィルターを外すと細胞毒性が出てしまい、何を見ているのか分からないということにもなりかねないかなと思います。具体的にどのような変更をするかなどの何かお話がありましたらお聞かせ下さい。

回答 申し訳ないですが、明確にどうするか深い議論はしていません。EFPIAからいくつかの例示はありましたが、実際にどうするというところまでEWGの中で詳細な議論は行っていませんので、お答えできません。

質問3 アプローチが当初から変わったということ、具体的にステップ3のパブコメをしたときに、各評価項目に対して各地域はどう思っているか、ガイドラインをどう理解したらいいかというところですが、結局は地域によって評価系に対するウエイトが違うため、tiered approachが成り立たなくなってintegrated approachになってしまったのと思われまます。そうした場合に、他の団体も含め、地域によって各項目に対する評価の仕方が異なる、例えば最もよい例が、非臨床と臨床の位置づけが国によって全く異なるところがあることと思いますが、そういったところを説明いただくと、最終的にアプローチの違い、それから今度は最終的にフローチャートをどうまとめようか、具体的に、例えば経皮に関してUSAの場合は非臨床で陰性であっても必要といった、基本的考え方が違うので

はないかという印象を持ちます。そういったところの各地域の背景を理解しますと、この違いが分かって、最終的にどのようにまとまったか理解すると思うのですが、いかがでしょうか。

回答 ICHブリュッセル会議でこうなったということですが、たとえば*in vitro*の話は、EUが最終的な結論をまだ出していませんが、少なくともブリュッセル段階で考慮してくればよいというところに落ち着きましたので、先ほどの繰り返しになりますが、この件に関して、このままEUが態度を変えなければ、その方向性になります。

ヨーロッパはご承知のように3Rの問題にかなり敏感です。ヨーロッパに申請された場合、そのまま合意されたとしても、それに関してEU当局のそのときの担当者が文句を言う場合はあり得ると思います。あくまでも一応こういう合意がなされたということで、これがそのまま通れば、これに関してはそれを主張してよいと思います。

現段階では、臨床光安全性評価について例外的なものに関してFDAが求めるといった注釈が付いています。では、具体的にどういう場合にそうなのかと言われると、ガイドラインで明記できませんので、玉虫色にせざるを得なかった部分もあります。この問題に関しては、FDAだけが問題ですので、FDAのガイダンスを受けていただかないと、仕方がないということになります。そのように各問題については、どうしても曖昧にならざるを得ない部分があります。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長、「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、薬食審査発0219第4号、平成22年2月19日。



ORIGINAL ARTICLE

Historical control data on developmental toxicity studies in rodents

Makoto Ema, Katsumi Endoh, Ryou Fukushima, Sakiko Fujii, Hiroaki Hara, Mutsuko Hirata-Koizumi, Akihiko Hirose, Hitoshi Hojo, Masao Horimoto, Nobuhito Hoshino, Yoshinori Hosokawa, Yukari Imai, Hiroshi Inada, Kunifumi Inawaka, Keiichi Itoh, Yoshihiro Katsumata, Hiroyuki Izumi, Hirohito Kato, Maki Maeda, Kiyoshi Matsumoto, Seiki Matsuo, Toshiki Matsuoka, Ikuo Matsuura, Hiroshi Mineshima, Yoji Miwa, Nao Nakano, Masato Naya, Hiroko Noyori, Takafumi Ohta, Harutaka Oku, Atsushi Ono, Tatsuya Shimizu, Kazuhiro Shimomura, Ikuro Takakura, Ryota Tanaka, Taishi Tateishi, Yuko Tominaga, Tohru Uesugi, Chizuru Urakawa, Kaoru Yabe, Akihito Yamashita, Toshiaki Yamauchi, and Ryohei Yokoi

A Study Group for Historical Control Data on Prenatal Developmental Toxicity Studies in Rodents

ABSTRACT Historical control data on rodent developmental toxicity studies, performed between 1994 and 2010, were obtained from 19 laboratories in Japan, including 10 pharmaceutical and chemical companies and nine contract research organizations. Rats, mice, and hamsters were used for developmental toxicity studies. Data included maternal reproductive findings at terminal cesarean sections and fetal findings including the spontaneous incidences of external, visceral, and skeletal anomalies. No noticeable differences were observed in maternal reproductive data between laboratories. Inter-laboratory variations in the incidences of fetuses with anomalies appeared to be due to differences in the selection of observation parameters, observation criteria, classification of the findings, and terminology of fetal alterations. Historical control data are useful for the appropriate interpretation of experimental results and evaluation of the effects of chemical on reproductive and developmental toxicities.

Key Words: developmental toxicity, fetal malformation, historical control data, reproductive toxicity, rodent

INTRODUCTION

The availability of comprehensive historical control data is of importance because a comparison of data from study controls with historical control data may be beneficial to evaluate toxicity. Historical control data on reproductive and developmental toxicity studies may be useful for the adequate interpretation of experimental results and evaluation of reproductive and developmental toxicity. Historical control data may help to distinguish treatment-induced changes from spontaneously occurring background changes specific to the species/strains.

Rodents have been widely used in toxicological studies of pharmaceuticals, crop protection compounds, and industrial chemicals, while rats, mice, and rabbits are the more universally accepted laboratory animal species for standardized developmental toxicity testing (Wilson 1973; Schardein 2000; Barrow 2009). Historical control data on reproductive and developmental toxicity studies in laboratory animals have been previously reported in Japan by

Kameyama et al. (1980), Morita et al. (1987) (Japanese Pharmaceutical Manufacturer's Association [JPMA] survey, data between 1980 and 1985), and Nakatsuka et al. (1997) (JPMA survey, data between 1986 and 1993). Historical control data on reproductive and developmental toxicity studies using rodents have been extensively reported in abstracts; however, detailed information can not be obtained from these abstracts. Reproductive data can be obtained from a website for rats (CLEA Japan, Inc. 2007) and mice (Giknis and Clifford 2007). Detailed information on reproductive and developmental toxicity studies including spontaneous fetal malformations is available from a website for rats (CD[SD]IGS Study Group 1998, 1999, 2000, 2001, 2003) and a chapter of a book for rats and mice (Kimmel and Price 1990; Tyl and Marr 2006). Only a few peer-reviewed studies are available for Wistar Hannover rats (Aoyama et al. 2002; Liberati et al. 2002; Takeuchi et al. 2011). A retrospective analysis of multi-generation studies using rats has also been performed (Marty et al. 2009).

However, no historical control data have been published on reproductive and developmental toxicity studies of rodents, except for Wistar Hannover rats, over the last decade in Japan. Subtle changes may occur with time due to genetic alterations in the strain or stock of the species used and changes in environmental conditions both in the breeding colony of the supplier and in the laboratory (Kimmel and Price 1990). Therefore, examining changes in data over time within historical control data and comparing study control data with recent as well as cumulative historical control data are of importance. We previously reported historical control data between 1994 and 2010 for developmental toxicity studies of rabbits (Ema et al. 2012). Recent historical control data for rodents between 1994 and 2010 were collected and summarized in this paper.

MATERIALS AND METHODS

The participating laboratories in pharmaceutical and chemical companies and contract research organizations are shown in Table 1. Data were obtained from 19 laboratories in Japan, including 10 pharmaceutical and chemical companies and nine contract research organizations. Data regarding terminal cesarean sections, fetal external anomalies, and visceral and skeletal anomalies and variations in rodents were collected from developmental toxicity studies conducted between 1994 and 2010. Data from range-finding studies that utilized a small number of dams per group (less than 16 litters) were not included in this dataset. Data were summarized separately between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010. The animal strain was expressed as a brand name. Data were incorporated from

Correspondence: Makoto Ema, DVM, PhD, Research Institute of Science for Safety and Sustainability, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 16-1 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8569, Japan. Email: ema-makoto@aist.go.jp

Received October 2, 2013; revised and accepted December 25, 2013.

Table 1 Participating laboratories and researchers

Laboratory	Researcher
Astellas Pharma Inc., Drug Safety Research Laboratories	Seiki Matsuo Hiroko Noyori
Public Interest Incorporated Foundation Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides (BSRC)	Keiichi Itoh Ryota Tanaka
Bozo Research Center Inc.	Yoshihiro Katsumata
Chiba Institute of Science, Faculty of Risk and Crisis Management	Masao Horimoto
Daiichi Sankyo Co., Ltd., Medicinal Safety Research Laboratories	Toshiki Matsuoka Kazuhiro Shimomura
Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd., Preclinical Research Laboratories	Akihito Yamashita Hiroshi Inada
Eisai Co., Ltd., Tsukuba Drug Safety/Sunplanet Co., Ltd., Preclinical Safety Research Laboratories	Maki Maeda Hiroshi Mineshima
Ina Research Inc.	Hiroaki Hara Tatsuya Shimizu
Institute of Environmental Toxicology, Toxicology Division	Hitoshi Hojo Chizuru Urakawa
Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	Ikuro Takakura Ryohei Yokoi
Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Kashima Laboratory	Ikuro Matsuura
Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Kumamoto Laboratory	Nobuhito Hoshino Hiroyuki Izumi
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Research Institute of Science for Safety and Sustainability	Takafumi Ohta Makoto Ema
National Institute of Health Sciences, Division of Risk Assessment	Masato Naya Akihiko Hirose Mutsuko Hirata-Koizumi
Nihon Bioresearch Inc.	Atsushi Ono Katsumi Endoh Yoji Miwa
Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Safety Research Laboratories, Department of Biology & Pharmacology	Yukari Imai Harutaka Oku
Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokushima Research Institute	Yuko Tominaga Tohru Uesugi
Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd.	Sakiko Fujii Kaoru Yabe
Shin Nippon Biomedical Laboratories (SNBL), Ltd., Drug Safety Research Laboratories	Hirohito Kato Taishi Tateishi
Shionogi & Co., Ltd., Drug Developmental Research Laboratories	Nao Nakano Ryou Fukushima
Sumitomo Chemical Co., Ltd., Environmental Health Science Laboratory	Yoshinori Hosokawa Kunifumi Inawaka
Takeda Pharmaceutical Co. Ltd., Drug Safety Research Laboratories	Kiyoshi Matsumoto Toshiaki Yamauchi

a laboratory if the information was based on four studies or more for CrIj:CD(SD) (former name: Crj:CD[SD]) rats, and three studies or more for CrI:CD(SD) (former name: Crj:CD[SD]IGS) rats between 1994 and 2000, and 10 studies or more for CrI:CD(SD) rats between

2001 and 2010. Data were incorporated if there was one study or more for SD rats from other breeders, other strains of rats, mice, and hamsters between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010; however, these data were not sufficient for a definitive analysis.

The day of detection of copulation was designated as gestational day (GD) 0. The category of fetal mortality included early resorptions and late fetal deaths. Incidence data for fetal alterations were based on the number of alterations observed in each category as a percentage of the total number of live fetuses examined. If more than one alteration was observed in a fetus, each was reported individually. The incidence of fetuses with malformations or variations was expressed as a proportion of the total number of fetuses with malformations or variations to the total number of fetuses examined. The terminology used for fetal external, visceral, and skeletal alterations was principally based on Horimoto et al. (1998) and Makris et al. (2009).

RESULTS AND DISCUSSION

Mating and cesarean section data

All pregnant dams were prepared by natural mating in rats, mice, and hamsters. Cesarean sections were performed on GD 20 or GD 21 in rat dams, on GD 17 or GD 18 in mouse dams, or on GD 14 in hamster dams.

Mating and cesarean section data from Crlj:CD(SD) rats between 1994 and 2000 and from Crl:CD(SD) rats between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are shown in Tables 2, 3 and 4, respectively. The average pregnancy rate, number of corpora lutea, number of implantations, number of live fetuses, and fetal mortality were summarized in Table 5. Whereas the average values of fetal mortality in Crlj:CD(SD) rats and Crl:CD(SD) rats were similar, the average numbers of corpora lutea, implantations, and live fetuses in Crl:CD(SD) rats were slightly smaller than those in Crlj:CD(SD) rats. These phenomena were also observed in some surveys of the CD(SD)IGS Study Group (1998, 2000). The values of reproductive parameters of Crlj:CD(SD) were not clearly different from those of the same rat strain previously surveyed in Japan (Morita et al. 1987; Nakatsuka et al. 1997). No noticeable variation was observed in the reproductive parameters of Crl:CD(SD) rats between the two intervals evaluated (1994–2000 and 2001–2010).

The data from Jcl:SD, Slc:SD, and Wistar rats between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are presented in Tables 6 and 7, respectively. The data from mice and hamsters between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are shown in Table 8. Although the pregnancy rates of SD rats from other breeders (Jcl:SD and Slc:SD), other strains of rats (Wistar rats), and mice were similar to those of Crlj:SD(CD) and Crl:CD(SD) rats in most laboratories, a relatively low pregnancy rate was noted in Wistar Hannover rats, mice, and hamsters in remaining laboratories. The average numbers of corpora lutea, implantations, and live fetuses of SD rats from other breeders and Wistar rats (Crlj:WI and Jcl:Wistar) were similar to those in Crlj:CD(SD) and/or Crl:CD(SD) rats. The value of fetal mortality in SD rats from other breeders and Wistar rats, including Wistar Hannover rats, was similar to that in Crlj:CD(SD) and/or Crl:CD(SD) rats. The numbers of corpora lutea, implantations, and live fetuses in Hannover Wistar rats were slightly smaller than those in Crlj:SD(CD) and Crl:CD(SD) rats. These findings were consistent with previous surveys, in which reproductive parameters, such as the numbers of corpora lutea, implantations, and live fetuses, were similar among three stocks of Wistar Hannover rats (Takeuchi et al. 2011) and were smaller than those in SD rats (Aoyama et al. 2002; Liberati et al. 2002). More data are required for a definitive analysis of historical control data in these animals.

One laboratory determined fetal body weight with males and females combined, and the remaining laboratories evaluated fetal body weight for each sex separately. Male and female fetal weights

should be determined separately because males are heavier than females. The fetal weight varied with each laboratory and in general, roughly related the time and GD of cesarean sections of the dams. The rearing environment may have also had an impact on fetal weight.

External anomalies

Table S1 shows data on external anomalies in Crlj:CD(SD) rats between 1994 and 2000. The incidence of fetuses with external malformations ranged from 0.04 to 0.53% between 1994 and 2000, which was comparable to that of Crlj:CD(SD) rats in previous surveys (0–1.33% in Morita et al. 1987; 0–0.51% in Nakatsuka et al. 1997). In the previous survey (Nakatsuka et al. 1997), a few cases of conjoined twins, but not conjoined triplets, were reported in this rat strain. In the present survey, one case of conjoined triplets was observed in one laboratory. However, no noticeable difference was observed in the types of external anomalies reported between the previous (Morita et al. 1987; Nakatsuka et al. 1997) and present surveys.

Data for Crl:CD(SD) rats between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are presented in Tables S2 and S4, respectively. The incidence of fetuses with external malformations ranged from 0 to 0.36% between 1994 and 2000 and 0.05 to 0.18% between 2001 and 2010, which was comparable to that of Crl:CD(SD) rats in previous surveys (0–0.34%) (CD(SD)IGS Study Group 1998, 1999, 2000, 2001, 2003). The incidence of fetuses with external malformations in Crl:CD(SD) rats was slightly lower than that in Crlj:CD(SD) rats. No noticeable variability was observed in the types of external anomalies between Crl:CD(SD) and Crlj:CD(SD) rats or in the incidence of fetuses with external malformations in Crl:CD(SD) rats between the two intervals evaluated (1994–2000 and 2001–2010).

Visceral anomalies

Data on visceral anomalies in Crlj:CD(SD) rats between 1994 and 2000 are presented in Table S7. The incidence of fetuses with visceral malformations ranged from 0.45 to 16.57% between 1994 and 2000. This incidence was within the range of previous surveys of this rat strain (0–17.59% in Morita et al. 1987; 0.24–34.83% in Nakatsuka et al. 1997). No noticeable difference was found in types of anomalies between the previous (Morita et al. 1987; Nakatsuka et al. 1997) and present surveys.

Data for Crl:CD(SD) rats between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are presented in Tables S8 and S10, respectively. The incidence of fetuses with visceral malformations ranged from 0 to 11.09% between 1994 and 2000 and 0.32 to 8.27% between 2001 and 2010. These incidences were within the ranges of those in the previous surveys on this rat strain (0–26.3%) (CD(SD)IGS Study Group 1998, 1999, 2000, 2001, 2003). No clear difference was noted in the types of anomalies between the previous and present surveys. No noticeable difference was found in the types of visceral anomalies between the two intervals evaluated (1994–2000 and 2001–2010).

Large variations were noted in the incidences of visceral malformations among laboratories between the previous (Morita et al. 1987; Nakatsuka et al. 1997; CD(SD)IGS Study Group 1998, 1999, 2000, 2001, 2003) and present surveys. This phenomenon appeared to be due to differences in the classification of visceral anomalies among laboratories. Visceral anomalies such as thymic cord and some anomalies of the vessels were classified as malformations by some laboratories, but as variations by other laboratories.

Table 2 Mating and cesarean section data from Crlj:CD(SD) [former Crj:CD(SD)] rats between 1994 and 2000

Year	1994–2000	1994–2000	1994–2000	1995–2000	1995–2000	1994–1996	1994–2000	1994–2000
Treatment†	V	V	V	V	V	V	V	V
Feed	NMF	CRF-1	CRF-1	NMF	NMF	MF	CRF-1	CRF-1
No. dams	721	302	201	264	180	120	78	73
No. experiments	35	14	11	12	8	5	4	4
No. dams/experiment	16–24	19–25	17–20	20–24	21–25	24	19–20	17–19
Pregnancy rate (%)	96.2 (80.0–100)	98.0 (95.0–100)	92.2 (81.8–100)	98.5 (90.9–100)	98.3 (95.5–100)	95.8 (91.7–100)	97.5 (95–100)	91.3 (85.0–95.0)
Gestation day (hour) of the cesarean section	20 (13:30–16:00)	20 (9:00–11:00)	20 (10:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–12:00)
No. corpora lutea	17.0 (15.7–18.7)	16.4 (14.4–17.6)	17.0 (15.2–19.4)	18.7 (17.7–19.6)	18.0 (16.6–19.9)	17.0 (16.4–17.2)	17.4 (16.7–17.9)	17.4 (16.7–18.1)
No. implantations	15.9 (13.2–18.1)	15.5 (13.1–16.8)	14.7 (12.9–16.8)	16.8 (15.7–17.7)	15.5 (15.0–16.5)	15.8 (14.8–16.8)	16.5 (15.6–17.3)	15.4 (14.9–15.7)
No. live fetuses	15.0 (12.4–17.2)	14.6 (12.6–13.8)	13.9 (11.8–15.8)	15.8 (14.9–16.6)	14.6 (14.2–15.4)	14.4 (13.7–15.0)	15.8 (15.2–16.4)	14.7 (14.3–15.2)
Fetal mortality (%)‡	6.0 (2.5–12.0)	6.1 (2.2–13.8)	5.5 (3.1–9.1)	6.5 (4.4–8.5)	6.0 (3.3–8.9)	8.1 (5.9–9.9)	4.3 (2.7–5.3)	4.3 (2.6–7.0)
Body weight (g)								
All fetuses						3.44 (3.23–3.58)	3.46 (3.45–3.48)	3.44 (3.36–3.48)
Male	3.73 (3.41–4.04)	3.63 (3.48–3.87)	3.35 (3.14–3.78)	3.76 (3.59–3.88)	3.40 (3.35–3.48)	3.53 (3.42–3.58)	3.54 (3.51–3.57)	3.52 (3.45–3.55)
Female	3.55 (3.32–3.83)	3.45 (3.31–3.70)	3.19 (2.97–3.58)	3.56 (3.44–3.66)	3.23 (3.17–3.31)	3.34 (3.23–3.42)	3.38 (3.35–3.42)	3.38 (3.29–3.45)

†V, Vehicle-treated.

‡(Number of early resorptions and late fetal deaths/number of implantations) × 100.

Minimum and maximum values from independent experiments are given in parentheses.

Table 3 Mating and cesarean section data from CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] rats between 1994 and 2000

Year	1994–2000	1996–2000	1997–2000	1999–2000	1997–2000	1998–2000	1996–2000	1999–2000	2000	1994–2000	1997	1994–2000
Treatment†	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	N/V	V
Feed	CR-LPF	CRF-I/CR-LPF	CRF-I	NMF	CRF-I	CRF-I	NMF	NMF	CRF-LPF	CRF-I	CRF-I	CRF-I
No. dams	393	217	147	125	113	94	99	90	80	77	60	58
No. experiments	20	11	7	6	6	5	4	4	4	4	3	3
No. dams/experiment	19–20	19–22	19–24	20–22	16–20	18–20	19–36	21–25	18–20	18–20	20	18–21
Pregnancy rate (%)	98.3	97.3 (95.0–100)	97.5 (95.0–100)	99.2 (95.5–100)	97.1 (94.2–100)	93.0 (90.0–100)	98.8 (95.0–100)	98.9 (95.5–100)	93.8 (90.6–98.4)	96.3 (90.0–100)	100	93.5 (90.0–95.5)
Gestation day (hour) of the cesarean section	20 (9:00–12:00)	20 (8:00–11:00)	20 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (13:30–16:00)	20 (9:00–12:00)	21 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–11:00)	20 (9:00–12:00)
No. corpora lutea	15.7 (14.9–16.4)	16.1 (15.1–17.3)	16.0 (15.5–16.9)	17.4 (16.6–18.0)	16.2 (15.6–16.5)	15.3 (14.9–15.7)	16.1 (15.7–16.3)	16.5 (15.6–17.9)	14.6 (13.7–15.7)	15.9 (15.6–16.1)	15.5 (15.1–15.9)	15.9 (15.7–16.2)
No. implantations	14.8 (13.3–15.8)	14.8 (13.7–16.0)	14.6 (13.7–15.1)	15.6 (14.7–16.2)	15.5 (15.1–16.2)	13.7 (11.8–14.6)	15.5 (14.9–15.9)	14.9 (14.5–15.3)	13.8 (12.8–14.8)	15.1 (14.3–15.5)	15.0 (14.5–15.4)	14.2 (14.0–14.3)
No. live fetuses	14.1 (12.9–15.0)	14.2 (13.3–15.3)	14.0 (13.5–14.6)	14.9 (14.1–15.6)	14.8 (14.3–15.5)	12.9 (11.6–13.5)	14.7 (14.3–15.2)	13.9 (13.6–14.2)	13.3 (12.4–14.1)	14.2 (12.7–15.0)	14.2 (13.8–14.6)	13.4 (13.2–13.7)
Fetal mortality (%)‡	4.8 (1.9–10.8)	4.2 (2.2–7.3)	3.8 (0.4–5.7)	4.8 (3.6–6.3)	4.7 (3.4–5.8)	5.2 (2.8–7.6)	4.9 (4.0–6.8)	6.4 (5.6–7.1)	4.9 (2.1–7.5)	7.2 (3.1–15.4)	5.6 (4.7–6.8)	5.0 (3.7–6.0)
Body weight (g)												
All fetuses						3.97 (3.84–4.10)				3.85 (3.75–3.98)		3.66 (3.64–3.70)
Male	3.47 (3.34–3.61)	3.88 (3.60–4.01)	3.52 (3.33–3.63)	4.20 (4.07–4.31)	3.62 (3.55–3.70)	4.07 (3.93–4.18)	4.11 (4.00–4.19)	3.62 (3.45–3.77)	5.39 (5.29–5.49)	3.96 (3.83–4.09)	3.81 (3.80–3.83)	3.76 (3.72–3.81)
Female	3.30 (3.13–3.42)	3.67 (3.46–3.77)	3.34 (3.19–3.43)	3.98 (3.89–4.07)	3.44 (3.37–3.50)	3.83 (3.73–3.97)	3.89 (3.82–3.96)	3.43 (3.31–3.58)	5.11 (5.03–5.25)	3.75 (3.67–3.86)	3.62 (3.60–3.65)	3.56 (3.54–3.61)

†V, Vehicle-treated; N, Non-treated.

‡(Number of early resorptions and late fetal deaths/number of implantations) × 100.

Minimum and maximum values from independent experiments are given in parentheses.

Table 4 Mating and cesarean section data from CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] rats between 2001 and 2010

Year	2001–2010	2001–2010	2001–2010	2001–2010	2001–2010	2001–2010	2001–2009	2001–2010	2001–2010	2001–2010	2004–2010
Treatment†	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	N/V
Feed	CE-2/CRF-1	NMF	NMF	CRF-1	CRF-1	CRF-1	CRF-1	CRF-1	CR-LPF	CRF-1	CRF-1
No. dams	1064	934	717	565	567	479	346	332	290	279	192
No. experiments	55	47	36	29	28	25	17	16	15	12	10
No. dams/ experiment	17–24	17–22	19–24	18–20	19–24	16–20	19–22	18–22	17–20	20–25	17–20
Pregnancy rate (%)	96.0 (85.0–100)	98.1 (85.0–100)	98.5 (95.0–100)	97.4 (90.0–100)	99.2 (95.0–100)	95.8 (80.0–100)	98.8 (95.0–100)	97.9 (90.0–100)	96.7	100	96.0 (85.0–100)
Gestation day (hour) of the cesarean section	20 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (13:30–16:00)	20 (8:00–11:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–16:00)	20 (9:00–11:00)
No. corpora lutea	15.7 (13.8–17.6)	16.6 (14.6–18.4)	15.6 (14.1–16.3)	15.1 (13.9–16.2)	15.3 (14.4–16.5)	15.3 (14.3–16.1)	15.9 (15.0–16.8)	15.8 (15.1–17.1)	14.9 (14.4–15.9)	15.4 (14.7–16.3)	15.4 (14.9–16.2)
No. implantations	14.8 (13.1–16.4)	14.9 (13.0–16.2)	14.7 (13.1–15.5)	14.2 (12.5–15.2)	14.6 (13.3–14.8)	14.2 (13.3–15.5)	15.0 (13.5–16.2)	14.8 (14.1–15.4)	14.1 (13.5–14.8)	14.8 (13.8–15.8)	14.5 (13.9–15.1)
No. live fetuses	14.1 (12.4–15.4)	14.2 (12.5–15.3)	13.2 (12.3–15.1)	13.5 (11.8–14.6)	13.8 (12.5–14.8)	13.4 (12.4–14.8)	14.2 (12.8–15.5)	14.3 (13.6–15.0)	13.4 (12.9–14.0)	14.0 (13.0–14.9)	13.6 (12.7–14.3)
Fetal mortality (%)‡	4.8 (2.0–9.3)	4.8 (0.8–8.6)	5.1 (2.6–9.0)	4.5 (2.0–8.0)	5.5 (2.3–10.2)	5.5 (2.5–9.1)	6.2 (3.1–9.9)	3.6 (2.1–6.4)	5.3 (1.8–8.0)	5.9 (3.5–8.0)	6.0 (3.3–9.4)
Body weight (g)											
All fetuses						4.07 (3.93–4.20)					
Male	3.81 (3.58–4.01)	4.18 (3.99–4.36)	4.11 (3.95–4.25)	3.94 (3.85–4.09)	3.71 (3.52–3.91)	4.06 (3.85–4.29)	3.53 (3.29–3.86)	4.06 (3.96–4.21)	3.63 (3.51–3.82)	3.73 (3.64–3.81)	3.77 (3.60–4.03)
Female	3.62 (3.38–3.81)	3.96 (3.76–4.16)	3.90 (3.72–4.05)	3.72 (3.63–3.85)	3.52 (3.33–3.64)	3.84 (3.62–4.11)	3.33 (3.13–3.60)	3.85 (3.76–3.97)	3.44 (3.33–3.58)	3.54 (3.42–3.65)	3.56 (3.40–3.81)

†V, Vehicle-treated; N, Non-treated.

‡(Number of early resorptions and late fetal deaths/number of implantations) × 100.

Minimum and maximum values from independent experiments are given in parentheses.

Table 5 Summary of historical control data on developmental toxicity studies in rodents

Animals	Crj:CD(SD) rats	CrI:CD(SD) rats		Jcl:SD rats		Slc:SD rats	Crj:WI rats		Jcl:Wistar rats	Wistar Hannover rats	Crj:CD1(ICR) mice	Slc:Syrian hamsters
Year	1994–2000	1994–2000	2001–2010	1994–2000	2001–2005	1995–1997	1997–1999	2002–2009	2001	2001–2010	2000–2009	1999
Pregnancy rate (%)	91.3–98.5	93.0–100	95.8–100	90.6–100	95.8–97.5	95.0	95.0–95.5	95.0–98.3	91.7	87.2–100	72.7–100	88.9
No. corpora lutea	16.4–18.7	14.6–17.4	14.9–16.6	16.7–18.4	17.1–19.9	15.7	16.4–17.9	17.3–17.6	15.9	11.5–14.1	13.1–15.6	15.6
No. implantations	14.7–16.8	13.7–15.6	14.1–15.0	16.1–16.8	16.2–17.0	14.7	15.7–16.4	16.1–16.4	14.9	9.6–12.7	11.6–14.6	14.7
No. live fetuses	13.9–15.8	12.9–14.9	13.2–14.3	14.9–15.6	15.3–15.7	13.3	15.2–15.5	15.2–15.3	13.5	9.0–12.2	11.2–14.1	12.1
Fetal mortality (%)	4.3–8.1	3.8–7.2	3.6–6.2	4.9–7.7	5.8–7.1	5.6	3.5–5.4	5.7–7.2	9.4	4.2–7.9	3.2–9.3	17.6
Incidence of fetuses with external malformations (%)†	0.04–0.53	0–0.36	0.05–0.18	0–0.27	0–0.16	0.13	0–0.34	0–0.11	0	0–0.59	0–0.36	1.44
Incidence of fetuses with visceral malformations (%)†	0.45–16.57	0–11.09	0.32–8.27	0–11.93	0.58–5.05	20.16	1.45–15.09	0.71–8.88	0	0–19.28	0–15.17	2.27
Incidence of fetuses with skeletal malformations (%)†	0–3.97	0–8.02	0.10–0.56	0–1.07	0–1.12	0.49	0–4.00	0	1.29	0–24.49	0–2.02	4.79
Incidence of fetuses with skeletal variations ('%')†	3.60–8.36	6.98–22.98	9.42–17.63	30.60–62.37	38.55–43.45	6.85	18.00–43.11	13.91–36.99	11.61	31.56–67.35	33.16–64.71	78.77

Data are expressed as minimum and maximum values.

†The incidence of fetuses with malformations is expressed as a proportion of the total number of fetuses with malformations to the total number of fetuses examined.

Table 6 Mating and cesarean section data from Jcl:SD, Slc:SD, and Crlj:WI rats between 1994 and 2000

Strain	Jcl:SD	Jcl:SD	Jcl:SD	Jcl:SD	Jcl:SD	Slc:SD	Crlj:WI	Crlj:WI
Year	1994–2000	1994–1997	1997–2000	1994	1998	1995–1997	1999	1998
Treatment†	V	V	V	V	V	V	V	V
Feed	CA-1	CE-2	MF	NMF	CRF-1	NMF	NMF	CRF-1
No. dams	216	76	48	24	19	57	21	19
No. experiments	11	4	2	1	1	3	1	1
No. dams/experiment	18–23	16–21	24	24	19	19–19	21	19
Pregnancy rate (%)	96.8 (90.0–100)	90.6 (80.0–100)	100	100	95.0	95.0	95.5	95.0
Gestation day (hour) of the cesarean section	21 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (13:30–16:00)	21 (8:00–11:00)	20 (13:30:16:00)	20 (13:00–16:00)	20 (8:00–11:00)
No. corpora lutea	18.4 (17.2–19.5)	17.9 (16.5–18.8)	16.7 (16.6–16.8)	17.3	18.3	15.7 (15.1–16.7)	17.9	16.4
No. implantations	16.8 (15.8–17.9)	16.5 (15.3–17.5)	16.2 (15.9–16.4)	16.8	16.1	14.7 (14.6–14.9)	16.4	15.7
No. live fetuses	15.5 (14.4–16.4)	15.3 (14.4–16.0)	14.9 (14.5–15.3)	15.6	15.2	13.3 (13.3–14.5)	15.5	15.2
Fetal mortality (%)‡	7.7 (4.0–11.0)	7.0 (5.3–8.5)	7.6 (6.7–8.5)	6.7	4.9	5.6 (2.9–8.9)	5.4	3.5
Body weight (g)								
All fetuses	5.17 (5.06–5.33)	4.11 (4.04–4.19)	3.94 (3.79–4.07)					
Male	5.30 (5.17–5.51)	4.20 (4.13–4.24)	4.07 (4.07–4.07)	4.13	5.77	3.98 (3.92–4.03)	4.20	3.95
Female	5.03 (4.90–5.16)	4.00 (3.93–4.08)	3.80 (3.79–3.81)	3.91	5.40	3.79 (3.73–3.85)	4.00	3.77

†V, Vehicle-treated.

‡(Number of early resorptions and late fetal deaths/number of implantations) × 100.

Minimum and maximum values from independent experiments are given in parentheses.

Table 7 Mating and cesarean section data from Jcl:SD, Crlj:WI, Jcl:Wistar, and Wistar Hannover rats between 2001 and 2010

Strain	Jcl:SD		Crlj:WI		Jcl:Wistar	BrHan: WIST@Jcl (GALAS)	BrHan: Wist@Jcl (GALAS)	BrHan: WIST@Jcl (GALAS)	BrHan: WIST@Jcl (GALAS)	Crl:WI(Han)	Crl:WI(Han)	RccHan: WIST
	Year	Treatment†	Feed	No. dams	No. experiments	No. dams/experiment	Pregnancy rate (%)	Gestation day (hour) of the cesarean section	No. corpora lutea	No. implantations	No. live fetuses	Fetal mortality (%)‡
Year	2001–2003	2005	2002–2009	2007	2001	2002–2010	2001–2010	2004	2009	2010	2001	2010
Treatment†	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	N
Feed	NMF	MF	NMF	CE-2	MF	MF	CRF-1	CE-2	CE-2	CRF-1	CE-2	NMF
No. dams	39	24	59	19	24	191	134	20	19	41	19	79
No. experiments	2	1	3	1	1	8	6	1	1	1	1	1
No. dams/experiment	19–20	24	19–20	19	24	23–24	21–23	20	19	41	19	79
Pregnancy rate (%)	97.5 (95.0–100)	95.8	98.3 (95.0–100)	95.0	91.7	97.4 (95.8–100)	95.8 (91.7–100)	100	95.0	87.2	95.0	98.8
Gestation day (hour) of the cesarean section	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–16:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–12:00)	20 (9:00–11:30)	20 (9:00–12:00)	20 (13:00–16:00)
No. corpora lutea	19.9 (18.9–20.8)	17.1	17.3 (16.4–18.1)	17.6	15.9	13.8 (13.3–14.4)	13.2 (12.6–14.1)	13.6	14.1	11.5	13.4	13.8
No. implantations	17.0 (16.4–17.5)	16.2	16.1 (15.9–16.5)	16.4	14.9	12.7 (12.0–13.3)	12.3 (11.7–13.0)	12.2	12.7	9.6	12.2	12.1
No. live fetuses	15.7 (15.0–16.4)	15.3	15.2 (14.9–15.4)	15.3	13.5	11.9 (11.4–12.2)	11.3 (10.9–12.1)	11.7	12.2	9.0	11.7	11.3
Fetal mortality (%)‡	7.1 (6.0–8.2)	5.8	5.7 (4.6–6.3)	7.2	9.4	5.8 (3.7–8.9)	7.9 (4.9–14.0)	4.5	4.7	6.3	4.2	6.3
Body weight (g)												
All fetuses		3.99			3.15	3.48 (3.35–3.62)		3.37		3.51		
Male	4.43 (4.40–4.45)	4.06	4.29 (4.21–4.35)	3.83	3.25	3.57 (3.52–3.62)	3.40 (3.31–3.52)	3.45	3.49		3.79	3.89
Female	4.15 (4.07–4.23)	3.91	4.02 (3.91–4.09)	3.59	3.05	3.39 (3.35–3.47)	3.22 (3.12–3.35)	3.23	3.34		3.61	3.71

†V, Vehicle-treated; N, Non-treated.

‡(Number of early resorptions and late fetal deaths/number of implantations) × 100.

Minimum and maximum values from independent experiments are given in parentheses.

Table 8 Mating and cesarean section data from mice and hamsters

Species	Mice	Mice	Mice	Mice	Mice	Hamsters
Strain	Crj:CD1(ICR)	Crj:CD1(ICR)	Crj:CD1(ICR)	Crj:CD1(ICR)	Crj:CD1(ICR)	Slc:Syrian
Year	2000	2001–2009	2002–2009	2004	2002	1999
Treatment†	V	V	V	V	V	V
Feed	CE-2	CRF-1	CE-2	NMF	CRF-1	CRF-1
No. dams	16	254	98	21	20	23
No. experiments	1	13	5	1	1	1
No. dams/experiment	16	16–23	16–23	21	20	23
Pregnancy rate (%)	72.7	82.7 (72.0–92.0)	78.9 (68.0–92.0)	95.5	100	88.9
Gestation day (hour) of the cesarean section	18 (9:00–12:00)	18 (7:00–10:00)	18 (9:00–12:00)	17 (13:00–16:00)	17 (9:00–12:00)	14 (9:00–11:00)
No. corpora lutea	13.1	14.0 (11.7–16.2)	14.0 (13.3–14.8)	15.6	14.7	15.6
No. implantations	11.6	12.4 (9.9–14.3)	12.6 (12.1–13.5)	14.4	14.6	14.7
No. live fetuses	11.2	11.5 (9.0–13.1)	11.7 (11.3–12.3)	13.4	14.1	12.1
Fetal mortality (%)‡	3.2	7.7 (4.6–9.4)	9.3 (6.2–14.0)	7.7	3.0	17.6
Body weight (g)						
All fetuses					1.02	
Male	1.51	1.45 (1.39–1.50)	1.45 (1.39–1.51)	1.19	1.05	1.60
Female	1.44	1.39 (1.35–1.43)	1.39 (1.32–1.41)	1.13	0.99	1.50

†V, Vehicle-treated.

‡(Number of early resorptions and late fetal deaths/number of implantations) × 100.

Minimum and maximum values from independent experiments are given in parentheses.

Skeletal anomalies

Table S13 shows data on skeletal anomalies in Crlj:CD(SD) rats between 1994 and 2000. The incidence of fetuses with skeletal malformations ranged from 0 to 3.97% and was slightly over the range reported previously in this rat strain (0–0.85% in Morita et al. 1987; 0–2.74% in Nakatsuka et al. 1997). This appears to be due to the higher incidence of cleft sternebrae detected in one laboratory. This anomaly was also observed in a previous survey (Nakatsuka et al. 1997).

Data for Crl:CD(SD) rats between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are presented in Tables S14 and S16, respectively. The incidence of fetuses with skeletal malformations ranged from 0 to 8.02% between 1994 and 2000 and 0.10 to 0.56% between 2001 and 2010. Although this incidence between 2001 and 2010 was within the ranges of that previously reported in this rat strain (0–5.2%) (CD(SD)IGS Study Group 1998, 1999, 2000, 2001, 2003), the incidence between 1994 and 2000 was slightly over the ranges previously reported. This appears to be due to the higher incidence of split costal cartilage and cleft sternebrae (5.28%) found in one laboratory. These anomalies were also observed in previous surveys (Morita et al. 1987; Nakatsuka et al. 1997). No clear difference was observed in the types of anomalies between the previous and present surveys.

Skeletal variations

Data on skeletal variations in Crlj:CD(SD) rats between 1994 and 2000 are presented in Table S19. The incidence of fetuses with skeletal variations ranged from 3.60 to 8.36%. This incidence was within the range of a previous survey of this rat strain (1.82–28.13%) (Nakatsuka et al. 1997). No noticeable difference was found in the types of anomalies between the previous (Morita et al. 1987; Nakatsuka et al. 1997) and present surveys.

Data for Crl:CD(SD) rats between 1994 and 2000 and between 2001 and 2010 are presented in Tables S20 and S22, respectively. The incidence of fetuses with skeletal variations ranged from 6.98 to 22.98% between 1994 and 2000 and 9.42 to 17.63% between 2001 and 2010. These incidences were within the ranges of those in previous surveys of this rat strain (6.8–35.7%) (CD(SD)IGS Study Group 1998, 1999, 2000, 2001, 2003). No clear difference was observed in the types of variations between the previous and present surveys. No noticeable difference was found in the types of skeletal variations between the two intervals evaluated (1994–2000 and 2001–2010).

CONCLUSION

Historical control data on rodent developmental toxicity studies, which were performed between 1994 and 2010, were obtained from 19 laboratories in Japan. Summary of historical control data on developmental toxicity studies in rodents was shown in Table 5. Inter-laboratory variations in the incidences of fetuses with alterations appear to be due to differences in the selection of observation parameters, observation criteria, classification, and terminology of fetal alterations. This survey provides information on historical control data of Crlj:CD(SD), which was completely withdrawn from the Japanese market in 2007, and Crl:CD(SD) rats, which have been developed and completely replaced Crlj:CD(SD) in 2007. Initial information on Wistar Hannover rats, which have been recently introduced into Japan, mice, and hamsters has also been provided in this survey. These historical control data may be helpful in interpreting the effect of chemicals in reproductive and developmental toxicity studies. However, the continuous accumulation of

historical control data is needed for an adequate evaluation of reproductive and developmental toxicity data. To further interpret this data and its assessment for human health, it is necessary to harmonize the classification and terminology of fetal alterations.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by Health and Labour Sciences Research Grants (Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices) and by the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

REFERENCES

- Aoyama H, Kikuta M, Shirasaka N et al. 2002. Historical control data on reproductive abnormalities and incidences of spontaneous fetal malformations in Wistar Hannover GALAS rats. *Congenit Anom* 42:194–201.
- Barrow PC. 2009. Reproductive toxicity testing for pharmaceuticals under ICH. *Reprod Toxicol* 28:172–179.
- CD(SD)IGS Study Group. 1998. Maeda Y and Shibuya K, eds. Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-1998. [https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD\(SD\)IGS+Rats-1998](https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD(SD)IGS+Rats-1998), accessed January 24, 2014.
- CD(SD)IGS Study Group. 1999. Maeda Y and Shibuya K, eds. Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-1999. [https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD\(SD\)IGS+Rats-1998](https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD(SD)IGS+Rats-1998), accessed January 24, 2014.
- CD(SD)IGS Study Group. 2000. Matsuzawa T and Inoue H, eds. Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-2000. [https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD\(SD\)IGS+Rats-2000](https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD(SD)IGS+Rats-2000), accessed January 24, 2014.
- CD(SD)IGS Study Group. 2001. Maeda Y and Inoue H, eds. Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-2002/2003. [https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD\(SD\)IGS+Rats-2001](https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD(SD)IGS+Rats-2001), accessed January 24, 2014.
- CD(SD)IGS Study Group. 2003. Maeda Y and Shibuya K, eds. Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-2002/2003. [https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD\(SD\)IGS+Rats-2002%2F2003](https://www.google.co.jp/#q=Biological+Reference+Data+on+CD(SD)IGS+Rats-2002%2F2003), accessed January 24, 2014.
- CLEA Japan, Inc. 2007. Global alliance for laboratory animal standardization (GALAS) –Wistar Hannover GALAS rats. <http://www.clea-japan.com/REPORT/pdf/galas.pdf>, accessed January 24, 2014.
- Ema M, Aoyama H, Arima A et al. 2012. Historical control data on prenatal developmental toxicity studies in rabbits. *Congenit Anom* 52:155–161.
- Giknis MLA, Clifford CB. 2007. Reproductive and behavioral evaluations in Crl:CD-1@ (ICR) mice. http://www.google.co.jp/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&ved=0CCwQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.crj.co.jp%2Fcms%2Fpdf%2Finfo_common%2F49%2F1496903%2Frm_rm_r_reproductive_behavioral_evaluations_CD1_mice.pdf&ei=1PzhUpuRAoOk1QXQ8oDICA&usq=AFQjCNFKFWanP9FKm2fSR1LONmxtI-l29w&sig2=cJ4jTcvyc0DSrghQkhuT9g, accessed January 24, 2014.
- Horimoto M, Ariyuki F, Daidohji S et al. 1998. Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals. *Congenit Anom* 38:153–237.
- Kameyama Y, Tanimura T, Yasuda M. 1980. Spontaneous malformations in laboratory animals – photographic atlas and reference data. *Congenit Anom* 20:25–106.
- Kimmel CA, Price CJ. 1990. Developmental toxicity studies. In: Arnold DL, Grice HC, Krewski DR, editors. *Handbook of in vivo toxicity testing*. San Diego: Academic Press. p 271–301.
- Liberati TA, Roe BJ, Feuston MH. 2002. An oral (gavage) control embryo-fetal development study in the Wistar Hannover rats. *Drug Chem Toxicol* 25:109–130.
- Makris S, Solomon HM, Clark R et al. 2009. Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (version 2). *Congenit Anom* 49:123–246.

- Marty MS, Allen B, Chapin RE et al. 2009. Inter-laboratory control data for reproductive endpoints required in the OPPTS 870.3800/OECD 416 reproduction and fertility test. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 86:470–489.
- Morita H, Ariyuki F, Inomata N et al. 1987. Spontaneous malformations in laboratory animals: frequency of external, internal and skeletal malformations in rats, rabbits and mice. *Congenit Anom* 27:147–206.
- Nakatsuka T, Hoimoto M, Ito M, Matsubara Y, Akaike M, Ariyuki F. 1997. Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA) survey on background control data of developmental and reproductive toxicity studies in rats, rabbits and mice. *Congenit Anom* 37:47–138.
- Schardein JL. 2000. *Chemically induced birth defects*. New York: Marcel Dekker.
- Takeuchi T, Okuda H, Kasahara Y, Ushigome S, Aihara I, Fukushima S. 2011. Differences in spontaneous abnormalities among three outbred stocks of Wistar Hannover rats in Japan. *Congenit Anom* 51:149–152.
- Tyl RW, Marr MC. 2006. Developmental toxicity testing – methodology. In: Hood RD, editor. *Developmental and reproductive toxicology – a practical approach*, 2nd edn. Boca Raton: Taylor & Francis. p 201–261.
- Wilson JG. 1973. *Environment and Birth Defects*. New York: Academic Press.

SUPPORTING INFORMATION

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

- Table S1.** External anomalies in CrIj:CD(SD) [former Crj:CD(SD)] rats between 1994 and 2000.
- Table S2.** External anomalies in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] between 1994 and 2000.
- Table S3.** External anomalies in Jcl:SD, Slc:SD, and CrIj:WI rats between 1994 and 2000.
- Table S4.** External anomalies in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] rats between 2001 and 2010.
- Table S5.** External anomalies in Jcl:SD, CrIj:WI, Jcl:Wistar, and Wistar Hannover rats between 2001 and 2010.
- Table S6.** External anomalies in mice and hamsters.
- Table S7.** Visceral anomalies in CrIj:CD(SD) [former Crj:CD(SD)] rats between 1994 and 2000.
- Table S8.** Visceral anomalies in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] between 1994 and 2000.
- Table S9.** Visceral anomalies in Jcl:SD, Slc:SD, and CrIj:WI rats between 1994 and 2000.
- Table S10.** Visceral anomalies in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] rats between 2001 and 2010.
- Table S11.** Visceral anomalies in Jcl:SD, CrIj:WI, Jcl:Wistar, and Wistar Hannover rats between 2001 and 2010.
- Table S12.** Visceral anomalies in mice and hamsters.
- Table S13.** Skeletal anomalies in CrIj:CD(SD) [former Crj:CD(SD)] rats between 1994 and 2000.
- Table S14.** Skeletal anomalies in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] between 1994 and 2000.
- Table S15.** Skeletal anomalies in Jcl:SD, Slc:SD, and CrIj:WI rats between 1994 and 2000.
- Table S16.** Skeletal anomalies in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] rats between 2001 and 2010.
- Table S17.** Skeletal anomalies in Jcl:SD, CrIj:WI, Jcl:Wistar, and Wistar Hannover rats between 2001 and 2010.
- Table S18.** Skeletal anomalies in mice and hamsters.
- Table S19.** Skeletal Variations in CrIj:CD(SD) [former Crj:CD(SD)] rats between 1994 and 2000.
- Table S20.** Skeletal variations in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] between 1994 and 2000.
- Table S21.** Skeletal variations in Jcl:SD, Slc:SD, and CrIj:WI rats between 1994 and 2000.
- Table S22.** Skeletal variations in CrI:CD(SD) [former Crj:CD(SD)IGS] rats between 2001 and 2010.
- Table S23.** Skeletal variations in Jcl:SD, CrIj:WI, Jcl:Wistar, and Wistar Hannover rats between 2001 and 2010.
- Table S24.** Skeletal variations in mice and hamsters.

《最近のトピックス》



医薬品開発と適正な情報提供のための 薬物相互作用ガイドライン（最終案）について

前 田 和 哉^a Kazuya Maeda
樋 坂 章 博^b Akihiro Hisaka
斎 藤 嘉 朗^{*,c} Yoshiro Saito
永 井 尚 美^d Naomi Nagai
久 米 俊 行^e Toshiyuki Kume

^a 東京大学大学院薬学系研究科, ^b 千葉大学大学院薬学研究院, ^c 国立医薬品食品衛生研究所,
^d 医薬品医療機器総合機構, ^e 田辺三菱製薬株式会社

1. は じ め に

医薬品が併用された場合、薬物動態学的な相互作用により血中・組織中等の濃度が上昇し副作用発現に至る場合や、逆にその濃度低下により薬効の低下に至る場合がある。このような薬物相互作用に関し、医薬品開発時の検討方針を定めた行政指針が、平成13年6月4日に、厚生労働省医薬局審査管理課長通知「薬物相互作用の検討方法について（医薬審発第813号）」として発出された¹⁾。策定当時としては、最新の知見を取り入れた国際的にも先進的な指針であったが、既に10年以上が経過し、新たな科学的知見が多く蓄積したことにより、効率的な医薬品開発や薬物相互作用を踏まえた適正使用を推進する上で不十分となってきた。一方、米国食品医薬品庁（FDA）では薬物相互作用に関する新しいガイダンス案を平成18年に発表しており、さらにその詳細な改正案を平成24年2月に発表した²⁾。また欧州医薬品庁（EMA）でも平成24年6月に薬物相互作用に関する新ガイドラインを発表し、平成25年1月

から施行された³⁾。これらは、薬物動態を制御するトランスポーターに関する試験、生理学的薬物速度論（physiologically based pharmacokinetic; PBPK）モデル等に基づく薬物動態のシミュレーションによる予測、定量的指標に基づく決定樹による必要な試験内容の判断など、最新の知見を反映した詳しいものとなっている。また、米国の新しいガイダンス案では、シトクロム P450（P450）の阻害薬、誘導薬、及び基質薬について、その相互作用の強度により分類し、注意喚起を強度分類グループ別に記載する方法が取り入れられているが、より安全な薬物治療を患者に提供するために、この方法を発展させられる可能性が考えられた（日本の新ガイドライン案での反映に関しては、5.1項及び6.1項参照）。これらの状況を鑑み、本邦でも早急に新しい指針策定のための検討を行う必要があると考えられた。

そこで、平成24年12月より、厚生労働科学研究費補助金を得て、幹事会及びワーキンググループ（代謝、トランスポーター、モデリングとラベリング）が組織され、改定作業を行い、パブリックコメントを経て、平成26年7月8日に審査管理課より「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（最終案）」が事務連絡として公表された⁴⁾。本稿では、その内容を概説する。

*国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部長、薬物相互作用ガイドライン改定事務局。1989年九州大学大学院薬学研究所科修了、国立医薬品食品衛生研究所研究員、室長等を経て、2010年より現職。2014年より、東北大学大学院薬学研究科医薬品評価学連携講座客員教授併任。連絡先：〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1
E-mail: yoshiro@nihs.go.jp

2. 薬物代謝酵素が関わる薬物相互作用

薬物動態学的相互作用の中では、P450 に代表される薬物代謝酵素が関わる相互作用が広く知られている。特に、トリアゾラムとイトラコナゾールの例のように、単一の P450 分子種（トリアゾラムの場合は CYP3A4）でのみ代謝される薬剤とその分子種に対して強力な阻害作用を有する薬剤との併用は禁忌となる場合がある。一方で、ソリブジン事件におけるジヒドロピリミジン脱水素酵素のように、通常は薬物代謝酵素として分類されない酵素種が阻害されることで重篤な薬物相互作用が生じることも知られている。今回のガイドライン改定においては、最も研究が進んでいる P450 を介した薬物相互作用の事例を検証し、臨床試験の必要性判断にその定量的予測手法を積極的に取り入れている点に大きな特徴がある。また、P450 以外の酵素が被験薬あるいは想定される併用薬の主要な代謝経路である場合にも、当該酵素に対する阻害作用を評価し、P450 の場合に準じて臨床試験の必要性判断を行うことを明記した。

新ガイドライン案では、先行して公布されたガイドライン/ガイダンス案にみられる欧米規制当局間の見解の相違点に対し、日本の立場を明確にして国際的ハーモナイゼーションを促進する狙いから、臨床試験の必要性判断のための基準値（カットオフ値など）を決定樹と共に明示している。以下に、ガイドライン改定の要点と欧米規制当局の指針との相違点について述べる。

2.1 ガイドライン改定の要点

2.1.1 時間依存的阻害

(time-dependent inhibition ; TDI)

アゾール系抗真菌薬を除くほとんどの CYP3A 阻害薬が TDI を有することが示す通り、臨床薬物相互作用における TDI の重要性が明らかとなっている。新ガイドライン案では、その標準的な評価・解析方法を記述して注意喚起し、その予測結果に影響する代謝酵素の分解速度定数 (k_{deg}) の妥当性を感度分析により検証する重要性にも言及した。

2.1.2 酵素誘導の指標 (mRNA の測定)

ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験で酵素活性を指標とした場合、抗 HIV 薬リトナビルや制吐剤アプレピタントのように TDI を有する薬物は誘導能を見落

とす危険性がある。このため、通常は mRNA 発現量を指標とすることを推奨している。しかしながら、被験薬が酵素阻害作用を有していない場合は、酵素活性による評価も許容することとした。

2.1.3 UDP グルクロン酸転移酵素 (UGT) の阻害

医薬品の主な代謝経路として P450 (約 70%) に次ぐ割合を占めるのが、第 II 相酵素の代表格の UGT (約 15%) である。これまでに UGT 阻害に基づく顕著な臨床薬物相互作用の報告は見当たらないものの、抗 HIV 薬アタザナビルにより内因性基質であるビリルビンが上昇する事例が報告されている。したがって、新ガイドライン案では、UGT で代謝される被験薬に対して被相互作用薬（併用薬物により、その体内動態が影響を受ける薬物）としての評価に必要な UGT 分子種の推定に加えて、主要な分子種 (UGT1A1, UGT2B7 など) に対する相互作用薬（併用することにより、他の薬物の体内動態に影響を与える薬物）としての阻害作用の評価を推奨している。

2.1.4 薬物代謝酵素の遺伝子診断の有用性

東アジア人では、CYP2C19*2 及び*3 多型による CYP2C19 の活性欠損者の頻度が高く、CYP2D6 の場合には活性欠損者は少ないが、活性が大きく減じる遺伝子多型である CYP2D6*10 の頻度が高い。このため、遺伝子多型による影響やその民族差を明らかにすることを念頭に、遺伝子型により層別化した臨床薬物相互作用試験が有用な場合があると記載している。また、イリノテカンの副作用発現に密接な関連があり、日本人に多いとされる UGT1A1 の遺伝子多型 (UGT1A1*6 及び*28) についても言及した。

2.1.5 臨床薬物相互作用試験の必要性判断のための定量的基準

被相互作用薬の AUC 上昇率の簡易予測式 ($R = 1 + [I]/K_i$, $[I]$ と K_i は各々阻害薬濃度と阻害定数) を用いた R 値 (カットオフ基準) が 1.1 以下の場合には、臨床薬物相互作用試験を不要としている。また、カットオフ基準を超えた場合には、静的薬物速度論 (mechanistic static PK ; MSPK) あるいは PBPK モデルに基づく AUC 比 >1.25 (誘導の場合 : AUC 比 <0.8) が判断基準となっている。

2.1.6 生物薬品との相互作用

一般に、生物薬品と併用薬との薬物動態学的な相互作用の可能性は限定的である。しかし、サイトカ

インによる P450 酵素の発現低下及びその修飾など、被験薬がサイトカインやその修飾因子である場合は、生物薬品と化学薬品の間でも薬物相互作用が近年報告されている。加えて、同種同効薬で薬物相互作用が報告されている場合、また併用療法として規定されている場合では、必要に応じて、臨床薬物相互作用試験の実施、又は実施を検討すべきとした。

2.2 欧米規制当局の指針との相違点ならびに今後の課題

臨床薬物相互作用試験の必要性判断のための定量的基準のうち、R 値の算出に用いる最大血漿中阻害薬濃度には FDA 案と同じ総濃度基準（結合形 + 非結合形、 $R > 1.1$ ）を採用し、非結合形阻害薬濃度を用いる EMA の基準（ $R > 1.02$ ）とは異なっている。これは血漿蛋白結合率が高い化合物ほど保守的な基準と言え、偽陰性を避ける狙いがある。一方、FDA 案では、被験薬が UGT 基質であった場合についても決定樹を設け、必要に応じて、UGT1A1 阻害作用を有するアタザナビルなどとの臨床薬物相互作用試験の実施を推奨している。しかしながら、アタザナビルは CYP3A に対する強力な TDI 作用があり、OATP1B1 阻害作用を有することも知られているため、UGT 阻害薬としての活用は限定される。このため、本邦案においては EMA と同様に *in vitro* での相互作用試験の記載までに留めている。

日米欧の 3 極共に、小腸における CYP3A 阻害のクライテリアは極めて保守的に設定されており、消化管におけるトランスポーター阻害による影響を指標とした設定値を流用している。しかしながら、代替 R 値（ $R = 1 + [I]_g / K_i$ 、 $[I]_g$: 投与量/250 mL）あるいは MSPK モデルを用いた場合、CYP3A 基質の多くに相互作用薬としての臨床試験が要求される可能性が高い。このため、消化管における薬物動態と生理学的パラメータを組み入れた PBPK モデルの活用が有用と思われる。また、ヒト肝細胞を用いた酵素誘導試験において、EMA では消化管での酵素誘導も想定した $0.1 \times \text{dose}/250 \text{ mL}$ の評価濃度を推奨しているが、被験薬の溶解性や細胞毒性により検討困難な場合が多い。一方、FDA 案では評価すべき薬物濃度の設定に関する具体的な記載は見当たらない。本邦案においては、CYP3A 誘導薬を用いた検証結果を参考に、偽陰性の判定を避ける評価濃度として血漿中総薬物濃度の 10 倍を含む濃度を推奨し

ており、試験実施者にとって分かりやすい記載を心掛けた。

3. モデリングとシミュレーション

新ガイドライン案の大きな特徴の 1 つに、モデリングとシミュレーションの重要性を記載したことがある。本項では、その意義や留意点を述べる。

3.1 モデリングとシミュレーションの適用

薬物相互作用、中でも P450 を介する薬物相互作用は、関与する可能性のある薬剤の数が多いために、モデリングとシミュレーションを活用することで適切に予測することの臨床的意義は大きい。予測には大きく分類して 2 種類の使われ方がある。第 1 には *in vitro* の実験結果から適切な臨床薬物相互作用試験を選択するための予測であり、第 2 は適切な指標薬を用いた臨床薬物相互作用試験等の結果から、薬物治療の現場で多くの薬との相互作用に対処する場合である。第 1 の場合には関連した情報は限られていることが多く、そのような状況であっても相互作用を見逃さないために、その可能性を厳しめに判断する必要がある。一方で、第 2 の場合には、比較的豊富で質の高い *in vivo* の情報に基づいた上で、相互作用の臨床的重要性の判断を支援する分かりやすい表現が要求される。また、ここでは用いたモデルが適切であるかをより厳しく評価する必要がある。新ガイドライン案では後述されるように、健全な科学的根拠に基づくシミュレーションによる予測は、添付文書の注意喚起の根拠になりうることが明示されていることに注意されたい。新ガイドライン案には、複数の予測の方法論に加えて、用いるパラメータの確かさ、感度分析の必要性、さらには解析の再現性を担保するためのモデルの明示など、関連する多くの記載があり、開発のステップを考慮した上で段階的に使い分けることが大変重要である。

現在のところ、モデリングとシミュレーションを用いた予測は、代謝酵素、特に P450 を介した相互作用への適用が多数を占めていることから、新ガイドライン案もほぼこれに沿った記載としている。今後、エビデンスが集積されるとこの状況は変化する可能性があるが、現状は、P450 を介した相互作用はシミュレーションを適用した系統的な対処が推奨されるのに対し、トランスポーター及び抱合酵素などを介した相互作用については、シミュレーション

を用いず、典型基質薬などによる個別の情報を列挙して示す内容となっている。

3.2 薬物相互作用を予測するモデル

薬物相互作用の予測の方法として、新ガイドライン案ではカットオフ基準、MSPKモデル、及びPBPKモデルの3種が述べられている。現在、研究論文等で目にする方法は、いずれもこれらの3種にほぼ分類が可能である。また、これらは米国FDAがガイダンス案³⁾中で述べている、basic model, mechanistic static model、及びPBPK modelにそれぞれ対応している。

カットオフ基準は、新薬候補品を選別するための閾値であり、経験値から帰納法的に求められたものである。基準は一定で分かりやすく、臨床試験が開始される前の初期の検討に適している。一方で、その基準は概略的なものであり、各臓器機能などの要因を考慮したものではない。予測の精度が高くない可能性があり、偽陰性 (*in vitro* から相互作用がないと予測したが、実際に *in vivo* ではある) のケースを避けるために、基準は厳しめとなっている。

これに対し、MSPKモデルでは小腸、肝臓、及び腎臓の機能を考慮するなどの薬物動態学的工夫がなされている。MSPKモデルは、時間による薬物濃度変化を考慮しない点に特徴があり、PBPKモデルに比べて数学的取扱いが単純である。FDAのガイダンス案中では、MSPKモデルは *in vitro* の成績から臨床薬物相互作用試験の必要性を判断する文脈で述べられており、この場合にはカットオフ基準と同様に厳しい条件値を用いることとしている。なお、大野らが提案しているCR-IR (Contribution ratio-inhibition ratio) 法⁵⁾については、*in vivo* 実験から得られたパラメータによるMSPKモデルと解釈することも可能であり、この場合は上述のように相互作用を過大に見積もる傾向はない。CR-IR法との名称は新ガイドライン案中にはないが、後述される分類による相互作用の強度に基づく注意喚起の科学的根拠の1つとして、この考え方が含まれている。

PBPKモデルはFDAのガイダンス案で強調されており、また商用ソフトウェアの発達が貢献し、最近、注目を集めている。MSPKモデルとの違いは、薬物濃度推移の時間変化を考慮しているところであり、その差は解析技術としてはかなり大きい。PBPKモデルの設定に必要な情報が収集され、適切な解析

が実施された場合、トランスポーターの関与する相互作用を含めて、大変有意義な情報が得られる可能性がある。しかし同時に、解析に用いる薬物濃度推移の時間変化の情報が正確である必要があり、また濃度の時間変化が薬物相互作用の程度に大きく影響している場合でないと、MSPKモデルに対してメリットが生じないことにも注意が必要である。

4. トランスポーターが関わる薬物相互作用

トランスポーターが関わる薬物相互作用については、代謝酵素と比べて研究の歴史が浅いこともあり、臨床事例の集積が日々進みつつあるのが現状である。一般的に、これまで臨床でとらえられた相互作用によるAUC上昇の程度は、代謝酵素を介する相互作用ほど大きくない場合が多いものの、例えば、シクロスポリンAやリファンピシンによる肝取り込みトランスポーター organic anion transporting polypeptide (OATP) 類の阻害を介したスタチン類の血中AUC上昇は、時に10倍以上に及ぶこともあり、看過できないケースも出てきている。この状況を受け、新ガイドライン案では、トランスポーターを介した相互作用について詳細な記載を行った。

4.1 評価の対象となるトランスポーター群

日本の新ガイドライン案では、基本的には、FDAのガイダンス案とEMAのガイドラインと調和を図る点から、新規化合物が基質・阻害薬になる可能性について検討すべきトランスポーターを設定した。共通のトランスポーターとして、主に小腸や腎臓・血液脳関門等広範に発現する排出トランスポーターであるP-glycoprotein (P-gp) や breast cancer resistance protein (BCRP)、肝取り込みトランスポーターのOATP1B1, 1B3、腎取り込みトランスポーターの organic cation transporter 2 (OCT2) や organic anion transporter (OAT) 1, 3が挙げられる。さらに、近年の研究成果より、腎臓におけるシメチジンの薬物相互作用は、ヒト臨床血中薬物濃度と阻害定数を考慮すると、OCT2ではなく multidrug and toxin extrusion (MATE) 類を介した相互作用と考える方が妥当であるとする報告が複数あることから、MATE類も検討すべきトランスポーターに追加した。最近 International Transporter Consortium より発出された総説で、MATEsの基質・阻害薬の判定に関する決定樹の試案が出ていることから、