

薬生薬審発 0330 第 1 号
令和 3 年 3 月 30 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長
（公 印 省 略）

「小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン」について

医薬品規制調和国際会議（以下「ICH」という。）が組織され、品質、安全性及び有効性の各分野で、ハーモナイゼーションの促進を図るための活動が行われているところです。

今般、小児用医薬品の開発における非臨床安全性評価のためのアプローチに関し、ICHにおける合意事項として、新たに「小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン」を別添のとおり定めましたので、下記事項を御了知の上、貴管内関係業者等に対し周知方御配慮願います。

なお、この通知の適用に伴い、「「小児用医薬品のための幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドライン」について」（平成 24 年 10 月 2 日付け薬食審査発 1002 第 5 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知）は廃止します。

記

1. 背景

小児用医薬品の開発のために推奨される非臨床安全性評価について現在の推奨事項を明らかにし、各地域間に存在する実質的な評価の相違を減らし、国際的な調和を図ることを目的に、ICHにおける合意に基づき、近年の科学の進歩及び経験を踏まえて、「小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン」（以下「本ガイドライン」という。）が定められた。

2. 本ガイドラインの要点

本ガイドラインは、小児用医薬品の開発のために推奨される非臨床安全性評価について現在の推奨事項を示したものであり、既存の ICH ガイドライン（例えば ICH E11、M3、S5、S9）を補完させつつ発展させたものである。本ガイドラインにおいては、基本的な考え方（一般原則、追加の非臨床試験に関する考慮事項、幼若動物試験のデザイン、小児先行開発・小児のみの開発に関する考慮事項等）をガイドライン本文に、各動物種における齢区分別の器官系の発達の概要等を附属書に掲載した。これには既に成人で使用されている医薬品も、小児において初めてヒトに投与される医薬品も含まれる。

3. 今後の取り扱い

医薬品製造販売承認申請に際し、本ガイドラインに基づいて作成された資料を、この通知の通知日より、申請資料に添付することができるものとする。ただし、この通知の通知日前に開始されている試験の結果については、引き続き、当該試験の結果に関する資料を医薬品の製造販売承認申請に際し添付すべき毒性に関する資料とすることができる。

小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン

目次

1. 緒言.....	4
1.1 ガイドラインの目的.....	4
1.2 背景.....	4
1.3 適用範囲.....	4
1.4 一般原則.....	4
2. 追加の非臨床安全性試験に関する考慮事項.....	6
2.1 臨床的背景.....	6
2.2 ウェイトオブエビデンス (WoE) アプローチ.....	6
2.3 WoE 評価に必要な考慮事項.....	7
2.3.1 臨床情報 (WoE 要素：対象患者集団の最低年齢、既存データの量／種類、臨床投与期間)	7
2.3.2 薬理学的特性 (WoE 要素：発達中の器官系に対する影響、薬理学的標的の器官発達への影響、薬物の選択性や特異性)	8
2.3.3 薬物動態データ (WoE 要素：既存データの量／種類)	9
2.3.4 非臨床安全性データ (WoE 要素：発達中の器官系に対する影響、既存データの量／種類)	9
2.3.5 実施可能性.....	10
2.4 WoE 評価の適用及び結果.....	11
3. 幼若動物試験のデザイン	11
3.1 一般的考慮事項／試験の目的.....	11
3.2 用量設定試験.....	11
3.3 動物種を選択.....	12
3.4 動物の投与開始時期、投与期間、投与計画	13
3.5 休薬期間における評価.....	15
3.6 投与経路.....	16
3.7 投与量の選択.....	16
3.8 エンドポイント.....	16

3.8.1	主要エンドポイント	17
3.8.1.1	生死及び一般状態観察.....	17
3.8.1.2	成長.....	17
3.8.1.3	摂餌量	17
3.8.1.4	性成熟	17
3.8.1.5	臨床病理学的検査.....	17
3.8.1.6	病理学的検査.....	18
3.8.2	特定の懸念に対応するための追加エンドポイント	18
3.8.2.1	成長に関する他のエンドポイント.....	18
3.8.2.2	骨の評価.....	19
3.8.2.3	臨床病理学的検査.....	19
3.8.2.4	病理学的検査.....	19
3.8.2.5	眼科学的検査.....	19
3.8.2.6	中枢神経系（CNS）に関する評価.....	19
3.8.2.7	生殖器系に関する評価.....	21
3.8.2.8	免疫系に関する評価.....	22
3.9	試験群及びエンドポイントのサブセットへの動物の割付け方法	22
3.9.1	離乳前の割付け方法	22
3.9.2	離乳後の割付け方法	23
3.10	動物数と性別	23
4	小児先行開発／小児のみの開発に関する考慮事項.....	24
5	データの解釈.....	25
5.1	エンドポイントの解釈のための考慮事項.....	25
5.2	総合的な解釈.....	26
6	その他の考慮事項.....	26
6.1	添加剤.....	26
6.2	配合剤.....	26
	用語.....	27
	参考文献.....	28
	別紙 A：各動物種における齢区分別の器官系の発達の概要	30
	別紙 B：WoE 評価のケーススタディ	41
	別紙 C：げっ歯類における離乳前の同腹児の割付け方法.....	45

略語一覧

ADME	Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion	吸収、分布、代謝及び排泄等の薬物動態
CNS	Central Nervous System	中枢神経系
CYP	Cytochromes P450	チトクローム P450
DRF	Dose Range-Finding	用量設定
ePPND	Enhanced Pre- and Postnatal Development	ePPND
FIH	First in Human	ヒト初回投与
FOB	Functional Observational Battery	機能観察総合評価法
GABA	Gamma Aminobutyric Acid	γ-アミノ酪酸
GFR	Glomerular Filtration Rate	糸球体濾過量
GI	Gastrointestinal	消化器
HPG	Human Pituitary Gonadotropin	ヒト下垂体性ゴナドトロピン
ICH	International Council on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
JAS	Juvenile Animal Study	幼若動物試験
NHP	Non-Human Primate	ヒト以外の霊長類
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
PND	Postnatal Day	生後日齢
PPND	Pre- and Postnatal Development	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
PD	Pharmacodynamics	薬力学
TDAR	T-Cell-Dependent Antibody Response	T細胞依存性抗体産生
TK	Toxicokinetic	トキシコキネティクス
WoE	Weight of Evidence	ウエイトオブエビデンス

1. 緒言

1.1 ガイドラインの目的

本文書の目的は、小児用医薬品の開発のために推奨される非臨床安全性評価についての国際的な基準を推奨し、そのハーモナイゼーションを促進することである。これによって、現在の推奨事項を明らかにし、各地域間に存在する実質的な相違を減らすことが期待される。また、小児臨床試験の適切なタイミングでの実施を促進するとともに、3R（代替法の利用／使用動物数の削減／苦痛の軽減）の原則に従って動物の使用を抑えることが期待される。

1.2 背景

これまでに各規制当局から発出されたガイドラインにおいては、幼若動物試験（JAS）の有用性、実施時期、試験デザインについて完全には一致していない。

本ガイドラインは既存のICH ガイドライン（例えば、ICHE11、M3、S5、S9）を補完かつ発展させたものであり、規制当局や医薬品業界の調査事例、文献調査に基づき最新の考え方を反映させたものである。

1.3 適用範囲

本ガイドラインは、小児集団を対象とした医薬品開発における非臨床安全性評価のためのアプローチを推奨しているが、これには既に成人で使用されている医薬品も、小児において初めてヒトに投与される医薬品も含まれる（4章参照）。

ICH S9 の適用範囲に含まれる医薬品、すなわち抗悪性腫瘍薬に対する JAS 実施の要否については ICH S9 を参照すべきである。腫瘍を適用症とする場合で JAS を実施する場合を含めた全ての場合の JAS の試験デザインについては、本ガイドラインを参照すべきである。

低分子の医薬品や ICH S6 で規定されるバイオテクノロジー応用医薬品については本ガイドラインが適用される。細胞加工製品、遺伝子治療用製品、ワクチンについては、幼若動物を用いる安全性試験は通常必要とされないことから、本ガイドラインの適用範囲には含まれないが、本ガイドライン中で説明されている、既存情報を用い安全性を評価する考え方は参考になる。

1.4 一般原則

複数の器官系が急激に成長又は発達する期間に医薬品の投与を受ける小児患者は、成

人とは明確に異なる集団と見なされる。器官系が未成熟な時期や成熟の過程に薬物が投与されると、医薬品の薬物動態 (PK)、薬力学 (PD) やオフターゲット作用へ影響を及ぼし、小児の年齢層間 (ICHE11 参照) や小児と成人との比較において、安全性や有効性のプロファイルに差異が生じる可能性がある。

適切かつ効率的な非臨床試験を計画するためには、臨床開発計画全体への理解が必要である。小児集団での臨床試験をサポートする追加の非臨床試験が必要とされるか否かの決定は、ウェイトオブエビデンス (WoE) に基づき検討すべきである (第2章参照)。臨床開発が進んだ場合には、その時点で利用できる全ての情報を踏まえ、WoE による決定を再検討できる。同一の医薬品であっても異なる適応においては、小児の年齢層、適応症、投与期間によって WoE 評価の結果が異なる可能性がある。なお、ICH M3 に記載されているように幼若動物を用いる毒性試験は、一般的に小児集団での短期間の薬物動態試験のためには重要でないと考えられる。

小児用医薬品開発のための非臨床開発については早期に検討することが推奨される。従来の試験デザインや試験実施時期を変更することで、小児患者に対する安全性上の懸念に対応できる可能性がある。例えば、小児患者の発達段階に相当する情報を得るため、反復投与毒性試験において投与をより若齢から開始することが可能である。また、出生児のトキシコキネティクス (TK) 測定や追加のエンドポイントを加え、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する (PPND) 試験を通常の医薬品開発における実施時期より早期に実施することも考えられる (ICH M3、S6 参照)。これらの変更により、JAS の代替とすることや、JAS の試験デザインをより洗練させることが可能となろう。

非臨床及び臨床に関する既存の情報が小児臨床試験をサポートするために不十分と判断された場合にのみ追加の非臨床試験の実施を考慮すべきである。長期間の安全性への影響を含め、他の非臨床試験や小児臨床試験において適切な対応ができない懸念に対応できるよう JAS はデザインされる必要がある。本ガイドラインでは、主要エンドポイントと特定の懸念に対応するための追加エンドポイントを含むようにカスタマイズされた JAS を推奨する。

一部の規制当局は、小児開発計画を明確にするための枠組みを定めている (ICHE11 参照)。小児用医薬品の効率的な開発のために、JAS を開始する前の早期から規制当局と相談することは有用であろう。

2. 追加の非臨床安全性試験に関する考慮事項

2.1 臨床的背景

小児用医薬品の臨床開発計画についてはICH E11 で論じられており、適切な非臨床試験を計画するためには、あらかじめ臨床開発計画を理解しておく必要がある。小児臨床試験計画は、適応症／病態、対象となる小児の年齢層、治療レジメン（特に発達段階における投与期間）を含め考える必要がある。小児用医薬品の臨床開発は成人の臨床試験の後に通常行われるが、成人の臨床試験と同時又は成人の臨床試験を実施せずに行うこともある。追加の非臨床安全性試験が有用であるか、その試験デザイン及び実施時期は、それまでに特定された安全性上の懸念及び小児における臨床使用方法に依存する。

小児集団に対して身体機能を著しく損なう又は生命を脅かす疾患、あるいは強いアンメット・メディカル・ニーズが存在する疾患の場合には、医薬品開発者及び規制当局は、追加の非臨床試験データを取得することの有用性と、追加の非臨床試験実施により医薬品を患者へ提供することが遅れる可能性を考慮すべきである。非臨床試験の実施及びその実施時期については十分なリスク・ベネフィット評価に基づき決定されるべきである。このような疾患においては、新たな情報として安全性上の懸念が見出されたときは、適切な非臨床試験の実施を検討すべきであり、進行中の小児臨床試験と並行して行うことも考えられる。

2.2 ウェイトオブエビデンス (WoE) アプローチ

小児用医薬品の非臨床開発計画は、臨床的背景に加え、薬理、薬物動態、*in vitro* 及び *in vivo* の非臨床安全性データ並びに臨床（成人及び小児）での安全性データを含む総合的な評価、すなわち、WoE アプローチに依存する。WoE アプローチは複数の評価すべき要素を同時に検討する手法であり、単一の要素のみを取り出して検討すべきではない。各要素の重要性は、利用可能な情報から対象小児集団における安全性上の懸念に対して適切に対応できるか、又は、追加の非臨床試験がこれらの懸念に対応できるかについて最終的な結論を出せるように、考慮されるべきである。また、幼若動物試験から得られるデータのヒトへの外挿性や生物学的意義も考慮すべきである。

WoE 評価は小児用医薬品開発の最初の計画段階で行うべきであるが、非臨床試験や臨床試験において新たな安全性上の事象が認められた場合や、年齢層、投与経路、投与期間、製剤処方又は適応に変更がある場合には再度評価を行うべきである。WoE 評価の結果は、対象小児集団や対象疾患により各臨床試験で異なる可能性がある。

WoE 評価の一部として考慮すべき重要な要素を図 1 に示す。なお、個々の要素は図 1 の左に示す。最も重要な要素、すなわち、最も重く重み付けされる要素は、対象患者集団の最低年齢及び発達中の器官系において有害事象が生じる疑いがあるか否かである。なお、その他の要素は図 1 では重要度順に示されていない。追加で考慮すべき要素（例えば、リスクの低減化）もあり得るように、下記の図に示す要素は全ての場合にあてはまる包括的なものではない。WoE の要素については以下の章でさらに述べる。

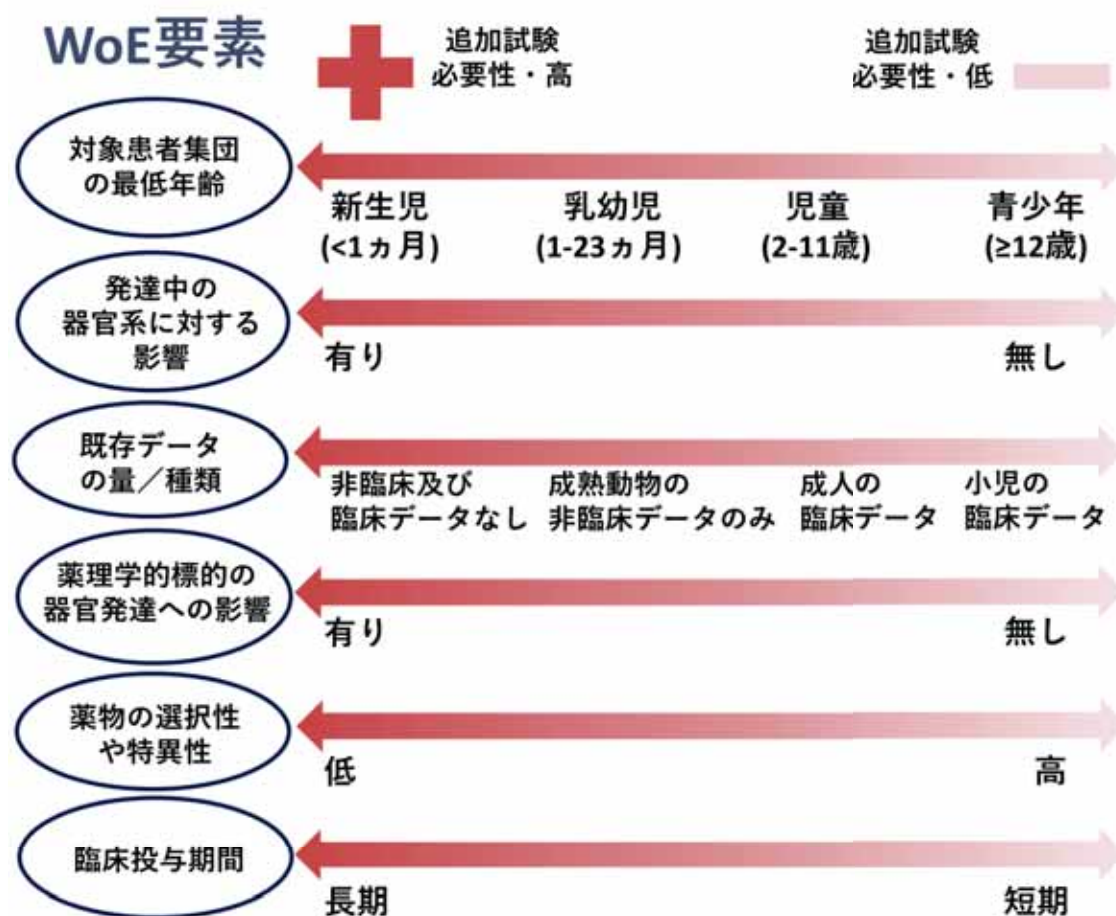


図 1：追加の非臨床試験の要否を決定するための WoE 評価の主な要素。重く重み付けされるべき最も重要な要素（リスト 1 行目及び 2 行目）は、対象患者集団の最低年齢及び発達中の器官系において有害事象が生じる疑いがあるか否かであり、その他の要素については重要度順に示していない。

2.3 WoE 評価に必要な考慮事項

2.3.1 臨床情報 (WoE 要素：対象患者集団の最低年齢、既存データの量/種類、臨床投与期間)

対象患者集団の最低年齢は考慮すべき最も重要な要素の一つである。ICH E11 に述べ

られているように小児集団を年齢層に区分することはある程度恣意的ではあるが、図 1 に示すような年齢層に区分することは、区分毎の患者の安全性をサポートするための非臨床試験について考える上での基礎となる。どのように年齢を層別するかについては発生生物学的な観点に基づき決定されるべきである。対象年齢層が低くなるほど追加の非臨床試験がより必要となる可能性がある。

対象小児患者に関連する既存の臨床データは、その医薬品に曝露された他の小児集団（利用できる場合）や成人からのデータである。したがって、臨床で確立された安全性プロファイルは、通常、追加の非臨床試験が必要か否か決定する際に最初に考慮すべきポイントの一つとなる。

臨床試験の投与期間も追加の非臨床試験が必要とされるかどうかの決定に関わる要素である。小児被験者への投与期間が長ければ長いほど（例えば、3 ヶ月、6 ヶ月、慢性間歇投与）発達上の感受期で曝露される可能性が高まり、短期投与と比べ追加の非臨床試験がより必要となる可能性がある。医薬品の短期間の使用が発達及び成長に影響する可能性は低いと考えられるが、短期間の曝露であっても、それが器官系の発達に対する感受期にあたる場合には悪影響を引き起こす可能性がある。

既存の臨床での安全性データ及びリスク低減化策が小児での使用を十分にサポートしていると考えられる場合には、追加の非臨床試験は必要とされない。また、毒性に対する感受性が成人と小児で異なると想定されない標的器官では、その毒性を確認するために JAS の実施は必要とされない。標的組織やオフターゲット組織の発達の相違は、考慮すべき懸念である。

成人のデータが利用でき、器官系発達に対する感受期に曝露されない場合には、JAS は小児患者において短期間の薬物動態試験を開始するために重要でないと考えられる（ICH M3 参照）。

2.3.2 薬理学的特性 (WoE 要素：発達中の器官系に対する影響、薬理学的標的の器官発達への影響、薬物の選択性や特異性)

医薬品の主又は副次的な薬理作用が望ましくない副作用の原因となることがある。発達中の器官（系）で作用が現れる場合、又は、発達中の器官が成熟した器官と異なる感受性をもつ場合には、その医薬品を小児に用いることに懸念が生じる場合がある。医薬品の標的（例えば、受容体、酵素、イオンチャネル、タンパク質）の発達過程での発現、個体発生や発達期間中の役割について文献調査が推奨される。遺伝子改変動物（例えば、受容体のノックアウト動物）における既存データからも小児集団に関連

しうる発達期への影響を特定できることがあり、WoE 評価に用いて検討できる可能性がある。

既知の薬理作用が、対象小児集団の発達に影響を及ぼす可能性がある場合、あるいは、薬理作用の発達における影響が解明されていないか予測困難である場合には、追加の非臨床試験の実施を検討すべきである。標的に対して高い選択性及び特異性のある医薬品（例えば、モノクローナル抗体や二重特異的抗体）における有害な影響は、過剰な薬理作用の発現に関連する可能性が高く、標的に対して選択性及び特異性の低い医薬品に比べ影響の予測は比較的容易である。標的に対して選択性及び特異性の低い医薬品は副次的な薬力学的作用を有することがあるため、追加の非臨床試験が必要となる可能性が高い。幼若動物や小児の組織や生体試料（例えば、血清、尿）を用いた *in vitro* 又は *ex vivo* 試験は年齢に関連した感受性の差異を検討する上で有用となる場合がある。

薬理作用から特定の有害性が既に明らかにされており、成熟動物と幼若動物での用量反応性や感受性の差異について詳細に理解する必要がない場合には、追加の非臨床試験を実施する意義は低いであろう。

2.3.3 薬物動態データ (WoE 要素 : 既存データの量/種類)

ヒト及び動物において、薬物動態 (ADME) にとって重要な消化器、肝臓、腎臓等の器官系の発達により、急激に全身曝露が変わることで、年齢により有効性又は毒性に差異が生じる可能性がある。ヒトでは、通常、新生児及び乳幼児において、このような差異が最も顕著に現れる。

臨床薬理学、モデリング及びシミュレーションは、小児における薬物動態 (PK)、薬力学、有効性及び安全性に関する情報提供のために有用と考えられる (ICH E11 参照)。通常、JAS はヒトの薬物動態における年齢差の予測や再検証において有用ではない。

2.3.4 非臨床安全性データ (WoE 要素 : 発達中の器官系に対する影響、既存データの量/種類)

既存の非臨床試験データは、小児において発達中の器官に対する潜在的な影響を予測するために用いられるべきである。小児被験者において到達しうる曝露量と同等の曝露で、動物に所見が認められる場合（それが対象小児年齢で顕著な生後発達時期の器官/組織では特に）、懸念は高まる (別紙 A 参照)。また、2 種以上の成熟動物において安全性に対する影響を示唆する徴候が認められる場合に懸念は高まる。成熟動物でみられた毒性が成人に外挿性がないと解釈されていても、その標的器官 (系) が対象小

児で発達中である場合には、対象小児に影響が生じる可能性を評価することは適切であろう。動物の投与開始年齢及び設定されたエンドポイントによっては、すでに実施済みの毒性試験において、これらの懸念について対応されている場合もある。

遺伝毒性試験及び安全性薬理試験は、成人の臨床試験をサポートするために通常実施されており、小児臨床試験の開始前に利用すべきである。対象の小児患者集団において構造的・機能的に発達中又は成熟中にある器官系に対する作用が安全性薬理試験において示されている場合には、その作用が影響を及ぼす可能性について考慮すべきである。小児への適応をサポートするために幼若動物を用いる遺伝毒性及び安全性薬理評価を追加することは通常適切ではない。

生殖発生毒性試験のデータも利用でき、役に立つ場合がある。既存の PPND/ePPND 試験が実施されており、出生児で臨床的に意義のある全身曝露が示されている場合には、これらのデータを WoE 評価に用いることができる (1.4 章参照)。ヒト以外の霊長類 (NHP) を用い実施された ePPND 試験の出生児において適切な曝露又は薬力学的効果が確認できる場合には、出生児のデータを用いて出生後早期の発達期における毒性の特徴づけを行うことができる。

追加の非臨床試験実施に意義があるかどうかを評価する際には、PPND/ePPND 試験のデータを利用できる場合には一般毒性試験のデータと合わせ検討すべきである。出生児の所見の解釈に影響することから、薬物の母動物及び胎児における忍容性を考慮すべきである。出生児に有害な影響が認められていること自体は JAS が推奨されることを意味するものではないが、PPND/ePPND 試験において安全性上の懸念が特定されている場合には、WoE 評価に基づき検討すべきである。げっ歯類において、これらのデータは、曝露が示されている場合には、主に早産児又は正規産新生児に関連する情報となる。ただし、ヒトへの外挿性を考える上で、種特異的な器官系の発達を考慮する必要がある。

実施済みの JAS のデータを利用できる場合は、WoE 評価において考慮すべきである。

2.3.5 実施可能性

追加の動物試験の実施を決定する際には、試験デザイン及びエンドポイントについて、技術的及び実用的な観点での実施の可能性も考慮すべきである。動物種によっては実用的ではないエンドポイントもある (3 章参照)。

また、幼若動物を用いた用量設定 (DRF) 試験において、JAS 本試験で小児患者で想

定される範囲の適切な全身曝露が得られない、又は、小児患者に相当する年齢層の動物を用いて実施できないことが示されている場合には、有用な情報が得られる可能性は低く、試験実施の必要性は低いであろう（3.2 章、3.6 章参照）。

2.4 WoE 評価の適用及び結果

WoE アプローチは、臨床でのリスク評価の情報を提供する上で非常に重要と考えられる要素を重視し、追加の非臨床試験が必要とされるか否かを決定するために用いられる。試験が必要と思われる場合、特定された安全性上の懸念の特徴に応じて、非臨床試験、すなわち、JAS 又は他の試験（例えば、*in vitro* 又は *ex vivo* 試験）の目的を決定すべきである。JAS において試験目的は WoE の結果と対象小児での使用に沿ったものとすべきであり、投与期間や含めるべきエンドポイントについて試験デザインを適切に設定又は変更するために重要である。

WoE アプローチの適用例を別紙 B に示す。

3. 幼若動物試験のデザイン

3.1 一般的考慮事項／試験の目的

本章では、試験デザイン、主要エンドポイント、特定の懸念事項に対応するために含めることができる追加エンドポイントについての推奨を示す。追加エンドポイント全てを含む JAS は、各エンドポイントについて根拠が示されない限り推奨されない。JAS は GLP に従い実施されるべきである。

ヒトでも動物でも器官系の成熟段階は毒性の感受性に影響を及ぼす。発達期において、成熟段階や機能について種間の相対関係を理解することは、JAS を適切に計画する上でも、認められた毒性所見をヒトの年齢区分に外挿する上でも必要である。種間の発達の比較は困難な場合があり、種々の器官系の間でも異なっている。例えば、出生時の成熟度、出生後の成熟速度、発達のための調節機構はヒトと動物間でかなり異なっている。全てを包括するものではないが、動物種毎に器官系の比較発達の概要を別紙 A の図 A1～A5 に示す。

3.2 用量設定試験

幼若動物を用いた小規模な DRF 試験を実施し、曝露や齢に関連する忍容性を評価することが推奨される。離乳前から投与を始める場合、適切ではない曝露のためにおこる

予期しない死亡や過剰な毒性発現を回避するため、JAS 本試験を計画する際に DRF 試験は特に有用である。忍容性又は曝露量の変化が生じる最も鋭敏な時期を評価するため、投与においては JAS 本試験で計画されている最も早期の投与開始時期を含めるべきである。DRF 試験は、通常、投与期間は短く、エンドポイントは限定的であり、全ての主要エンドポイント（例えば、病理組織学的検査）を含める必要はない。DRF 試験で特殊なエンドポイントを検討し、JAS 本試験の試験デザインに反映させることも可能であろう。DRF 試験は必ずしも GLP に従い実施する必要はない。

DRF 試験により小児開発のための重要な情報を入手できることがある。DRF 試験で年齢間の曝露の差異を明らかにできるが、この場合、JAS 本試験の投与計画に調整が必要となる可能性がある（3.4 章、3.7 章参照）。

DRF 試験において、小児で想定される臨床曝露量で忍容性がない場合には、それに対応する臨床での年齢層に対し重大な懸念を示している可能性がある（すなわち、幼若動物が未成熟なことに関連して、予期しない高い感受性を示した場合には、小児にも関連する可能性がある）。幼若動物と成熟動物において感受性や毒性に明確な差異が生じており、その理由が明らかではない場合には、これらの差異の解釈のために、得られている ADME、安全性、発達生物学の情報のレビューに基づき検討された追加の試験が有用であろう。この場合には、毒性の感受期や発現機序を解明するために最適化した探索的な JAS が必要となる可能性がある。特定の年齢の小児の安全性に関連し、臨床で年齢層を変更する可能性がある結果が得られた場合には、再度 WoE 評価を行うべきである（2.2 章参照）。

3.3 動物種を選択

JAS が必要とされる場合、多くの場合、1 種の動物を用いることで十分と考えられる。原則として、成熟動物を用いた反復投与毒性試験で使用されている動物種と同じ動物種を初めに考慮すべきであり、げっ歯類が望ましい。いずれの場合でも動物種を選択の根拠を示すべきであり、薬理学的に適切でない動物種を用いた非臨床試験は誤った評価を導くことがあり推奨されない。

適切な動物種を選択の際には次の事項を考慮すべきである。

- 対象小児集団と比較し、動物における薬理学的又は毒性学的標的（例えば、受容体）の発生に関する理解
- 幼若動物と成熟動物との毒性及び全身曝露に関するプロファイルの比較に不可欠な成熟動物を用いた反復投与毒性試験データを利用できる動物種及び系統の選択

- 毒性標的器官
 - 幼若動物における器官（系）の発達段階についての対象小児集団との比較（3.4章も参照）
 - 懸念となる毒性学的エンドポイントの動物モデルにおける検出能力
- ヒトと動物との ADME の類似性
- 選択した動物種での技術的／実地的な観点からの実施可能性

げっ歯類（ラット、マウス）又は非げっ歯類（ウサギ、イヌ、ミニブタ、NHP）を使用する場合の利点又は欠点を別紙 A の表 A6 に示す。

バイオテクノロジー応用医薬品においては多くの場合 NHP が薬理的に適切な動物種であるが、離乳前の NHP を用いる JAS の実施は科学的かつ実地的な理由から困難が伴う（例えば、飼育・輸送及び母子動物の管理）。離乳後の NHP を用いた JAS を実施することの意義は限定的である。離乳後の NHP の器官系の発達は、通常多くの小児年齢層を既に超えている（別紙 A 参照）。離乳前の NHP を用いた JAS の実施が適切である場合は限られている（例えば、対象が新生児であり、ePPND 試験において適切な曝露が得られていない場合）。したがって、別のアプローチが推奨される（4章参照）。

ICH S6 に示されているように、相同タンパク質を用いた評価は、げっ歯類、非げっ歯類の幼若動物いずれの場合でもハザードを特定するために考慮できる。

2種の動物種を用いる JAS は、小児先行開発の場合や（4章参照）、出生後の発達に関して複数の特定の懸念があり、1種の動物種だけではそれらの懸念に対応できない場合に必要とされる。バイオテクノロジー応用医薬品においては、ICH S6 に示されているように、薬理的に適切な動物種のみで評価すべきである。1種目の動物種で認められた所見を確認するための2種目の動物種を用いた JAS の実施は通常必要とされない。

小児の疾患動物モデル（例えば、酵素補充療法）が存在し、医薬品開発に利用されている場合には、安全性評価に関する適切なエンドポイント（例えば、病理組織学的検査、臨床病理学的検査）を試験に組み込むことが可能である。得られた情報は、JAS 本試験を実施せずとも十分な情報となる可能性があり、WoE 評価に利用できる。

3.4 動物の投与開始時期、投与期間、投与計画

動物への投与開始時期は、毒性学的に懸念のある器官系のヒト動物間の発達過程の比較を踏まえ、発達的に対象小児集団の最も低い年齢に相当する時期とすべきである。

種間の発達段階の対応関係は器官毎に異なるため、対象小児集団において懸念のある器官（系）、又は特に脆弱な発達中の器官系について優先して考慮し、投与開始時期を設定すべきである。動物における投与開始時期については対応に関する情報（別紙 A 参照）に基づきその適切性を示すべきである。

成人のための非臨床試験（ICHM3 参照）と異なり、JAS において推奨される投与期間は小児集団での臨床投与期間と直接には必ずしも関連しない。JAS における投与期間を決定する際には、対象小児集団の年齢層、ヒトに比べて動物での発達期間が短いこと、対象小児集団における安全性上の懸念、及び懸念のある器官の発達に対応する期間を考慮することが重要である。通常、懸念のある器官系の成長、発達において重要かつ活発な時期（別紙 A の表参照）に JAS における投与が実施されるべきである。

例えば、器官の中で腎臓のみに懸念がある医薬品の場合、臨床投与期間に関わらず、腎臓の発達に対応する期間に重点をおいた限られた投与期間のラットを用いる JAS によってサポートすることが考えられる。一方、懸念のある器官が様々な時期や長期間にわたって発達する場合には、臨床投与期間が短期間であっても、動物ではより長期間投与することが適切であろう。例えば、中枢神経系に懸念がある医薬品で、2 歳以上の患者を対象として 10 日間投与する医薬品の場合、離乳後から成熟するまで投与するラットを用いる JAS によってサポートすることが考えられる（別紙 A 参照）。

臨床投与対象が青少年期を含む場合には、通常、げっ歯類において成熟するまで投与される。NHP では出生から成熟するまでに数年を要し、成熟するまで投与することは実際的でない。また、NHP では性成熟の開始や成熟時の年齢の個体差が大きい。一方、他の一般的な非げっ歯類においては、2、3 ヶ月から数ヶ月で成熟し比較的個体差が小さいことから、成熟するまで投与することは可能である（例えば、ミニブタ、別紙 A 参照）。

投与計画は懸念のある器官の発達期に適切な曝露に到達し維持できるよう計画すべきであり、臨床投与レジメンと同一である必要はない。例えば、臨床投与レジメンが週 1 回であっても、幼若動物においては、より頻回の投与が適切な場合もある。幼若動物で蓄積性が懸念される場合には、成熟動物を用いた毒性試験より低い頻度での投与計画とすることもできる（例えば、成熟動物では 1 日 1 回投与に対し、JAS では隔日投与）。

齢の異なる動物で薬物への忍容性や曝露が異なることがデータで示されている場合には、適切な発達段階において臨床的に意義のある曝露の情報が得られるように、経時

的に投与量を調整することを考慮できる。

JAS において投与期間中に忍容性がないと予期される場合には、投与期間を複数のサブグループに分割することで（例えば、6 週間の投与期間が必要な場合、投与開始時期が異なる 2 つの 3 週間投与のサブグループへ分割する）、臨床的に意義のある曝露量に到達できる可能性がある。投与期間の異なるサブグループを設定する場合、遅発性の影響を検出するため、成熟するまで観察が必要となるかもしれない。この方法については、前述の利点と、必要な動物数が多くなること、及び異なる投与開始時期から得られたデータの解釈に困難さが伴う等の不利な点とを考慮すべきである。

3.5 休薬期間における評価

JAS において投与終了後における評価期間の設定は、1) 投与期間中に認められた所見が可逆的、持続的又は進行性かどうか、2) 発達期における曝露の結果、発達後に生じる影響（すなわち、遅発性に発現）があるかどうかを説明するために通常推奨される。

休薬期間の設定が有用であるかどうかは WoE 評価の結果及び試験で評価すべきエンドポイントに依存する。ICH M3 に示された回復性評価の原則が適用できる。休薬期間は、影響の回復を評価する上で十分な期間とすべきであり、また、薬物の消失についても考慮すべきである。しかし、完全な回復を示すことは必須ではなく、回復傾向（例えば、発現頻度や重篤度の低下）が示され、完全に回復するであろうという科学的評価で十分であろう。特定の影響について不可逆性が成熟動物で十分特徴づけられていれば、通常、JAS において回復性を確認する必要はない。JAS のエンドポイントの中には、性成熟の開始時期の評価のように通常のリcovery性評価のアプローチが適用できないものもある。また、休薬期間のタイミングは、動物の発達段階を踏まえ考慮すべきである。成熟する前に休薬期間が開始される場合、回復能は、持続的な成長、発達中の器官系の影響を受けることがあり結果の解釈に注意を要する。

ある種の変化は、適当な休薬期間においてのみ、器官系の成熟及び異常の発現に伴い特定できる場合がある。したがって、ある種の評価（例えば、学習及び記憶、免疫機能）は器官系が一定の段階まで成熟した後に行う場合にのみ意義がある。このような評価は、臨床使用時の発達に対応した全ての発達期間に曝露を行い、その後の休薬期間で実施できる。これは、JAS の投与期間を未成熟な段階で終了し、休薬期間中にこれらの評価が適切に実施可能となるまで動物が成熟する場合に、特にあてはまる。特に JAS において投与を未成熟な齢で終了する場合、休薬期間に評価を行うことで、早期の曝露により生じた遅発性の変化に対応できる。

非げっ歯類において、動物種にもよるが、発達期間が長く個体差が大きいこと、発達の遅延や変化を検出できる評価方法（例えば、学習及び記憶）が十分に確立されていないことから、通常、JAS において休薬群を設定する有用性は低い。

3.6 投与経路

臨床適用経路を実施可能であれば選択すべきであるが、適切な全身曝露が得られることが優先される（3.7 章参照）。

実際的に困難な場合には代替投与経路を考慮すべきである（例えば、経皮製剤について離乳前のラットへの経口投与）。試験期間中に投与経路を変更することも考慮できる（例えば、静脈内投与が可能になるまで皮下投与）。代替投与経路を用いる場合にはその妥当性を示すべきである（例えば、一部の幼若動物の曝露データによる裏づけ）。

臨床試験において 2 つ以上の投与経路での使用が予定される場合、1 つの投与経路を用い JAS を実施すれば十分であるが、全ての投与経路に対する適切な全身曝露が示されるべきである。

3.7 投与量の選択

幼若動物において有害作用の用量反応関係を確立し、無毒性量（NOAEL）を決定することが望ましい。成熟動物の曝露範囲を含み、幼若動物と成熟動物に対する影響を比較できる投与量を選択すべきである。ただし、高用量群は、成長及び発達に関するエンドポイントにおいて評価を複雑にするほどの顕著な毒性作用が現れない用量とすべきである。急速な発達期における体重減少又は体重増加抑制は結果の解釈を複雑にさせる可能性があり、JAS においては望ましくない。忍容可能ならば、少なくとも 1 用量は、臨床試験の対象集団と同程度の曝露が得られるように設定することが望ましい。低分子化合物においては、ICH M3 に従った高投与量の選択が適用され、バイオテクノロジー応用医薬品については ICH S6 に示されている投与量選択の原則が適用される。

JAS の試験期間中の投与量の調整（増量又は減量）は、ADME に関連する器官系の成熟に伴い全身曝露が大きく変化する場合に考慮すべきである。投与量の調整は、概ね一定かつ臨床的に意義のある曝露量を維持するためにある。1 回を超える投与量の調整は通常必要ない。

3.8 エンドポイント

JAS において、通常、以下の 3.8.1 章に示す主要エンドポイントを含めるべきである。特定の安全性上の懸念に対応するために追加エンドポイント（3.8.2 章参照）を考慮し、

その適切性を示すべきである。探索的なフォローアップ JAS のように、適切性が示されれば、主要エンドポイントを全て含む必要がない場合もあろう。

エンドポイントの適切性を検討する際、侵襲的な手技や時間のかかる手技は生存に影響するため、離乳前及び離乳時点においては、可能な限り制限することを考慮すべきである。

3.8.1 主要エンドポイント

3.8.1.1 生死及び一般状態観察

生死については試験期間を通して評価すべきである。一般状態観察においては、詳細観察を含め、投与期間中及び休薬期間中を通し、明らかな行動への影響が観察できるよう実施すべきである。

離乳前に幼若動物へ投与を開始する場合、母動物の一般状態観察には哺育行動の観察を含めるべきである。一般状態観察においては、離乳前の動物と成熟動物で所見が異なり、動物の健康状態に対する解釈が異なることがある（例えば、脱水状態は児における栄養状態を反映している）。したがって、児の一般状態観察においては、離乳前の動物に特異的な所見も記録すべきである。離乳後の一般状態観察は成熟動物の場合と同様に記録すべきである。

3.8.1.2 成長

成長については、体重と長骨の長さを基に評価すべきである。体重は出生後早期に急激に増加するため、投与量の計算のためにも各個体の体重は適切な間隔で測定されるべきである。長骨の長さについては、通常、剖検時に1つの長骨（例えば、大腿骨）の長さを測定することでよい（5章参照）。

3.8.1.3 摂餌量

離乳後の摂餌量は、使用動物種と飼育条件に応じて適切に評価すべきである。

3.8.1.4 性成熟

性成熟開始の身体的指標（例えば、げっ歯類では雌の膈開口、雄の亀頭包皮分離）の観察については、試験デザインにこれら指標の発達開始及び完了時期が含まれる場合に推奨される。

3.8.1.5 臨床病理学的検査

標準的な臨床病理学的検査（血液生化学的検査、血液学的検査）は、検査時の齢での

測定値の範囲が把握されており、病理組織学的所見の解釈に役立つのであれば、剖検時のエンドポイントとして評価すべきである。

3.8.1.6 病理学的検査

投与終了後又は休薬期間終了後に、肉眼的検査、器官重量、器官・組織の包括的な収集及び保存を行うべきである。病理組織学的検査は主要な器官（例えば、骨／骨髄、脳、消化管、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、精巣 [成熟雄動物での精子形成の定性的評価を含む]）、肉眼的に変化が認められた器官、及び以前に特定された標的器官について実施すべきである。

JAS が小児先行の臨床試験をサポートする場合には（4章参照）、成熟動物の毒性試験の標準的な組織・器官について病理組織学的検査を実施することが推奨される。

3.8.1.7 トキシコキネティクス

JAS のトキシコキネティクス（TK）を計画する際、マイクロサンプリング又はスパスサンプリングの利用が強く推奨される（ICH S3A 参照）。

TK のための試料採取は投与期間の開始及び終了時付近に行い、離乳前に投与を開始する場合には、中間時点での TK 評価を考慮すべきである。用量を試験中に調節する場合、TK のために追加の試料採取が推奨される。TK 評価を伴う幼若動物を用いた DRF 試験（3.2章参照）は試料採取の時期及び測定時点の決定に有用であろう。TK 評価では、医薬品の有効成分とヒト主要代謝物のいずれも考慮すべきである。

バイオテクノロジー応用医薬品については、必要に応じて抗薬物抗体を測定するための試料を採取し評価すべきである（ICH S6 参照）。

3.8.2 特定の懸念に対応するための追加エンドポイント

追加エンドポイントを含めるかどうかは、WoE 評価で特定された懸念の種類や程度に基づき決定すべきである。

3.8.2.1 成長に関する他のエンドポイント

使用する動物種において適切であれば、頭殿長、体長（例えば、鼻－尾間）あるいは体高を成長の指標として用いることができる。剖検時に長骨の長さを直接測定することに加え、非げっ歯類では、適切なイメージング手法（例えば、X線）を用いた非侵襲的かつ経時的な測定は有用となりうる。

3.8.2.2 骨の評価

骨の代謝や構造について特定の懸念がある場合には、追加検査を考慮すべきである。骨密度測定法を用いた骨量や骨形態の評価、骨形成や骨吸収に関連する血清中又は尿中バイオマーカー測定並びに骨の組織形態計測が例として挙げられる。

3.8.2.3 臨床病理学的検査

標的組織・器官に対する特定された懸念のさらなる特徴づけのために、血液学的検査、血液生化学的検査又はバイオマーカーによる追加の検査を考慮できる。必要かつ実施可能であれば、尿検査、血液凝固系検査等の他の検査項目を追加可能であろう。

幼若動物（特にげっ歯類）から得られる試料の量は限られているため、試料を得るために動物を追加することは、懸念に対応するために必要な場合にのみ推奨される。試料の量に制約がある場合には、測定すべき検査項目は、特定の懸念の優先順位に基づき選択すべきである。

3.8.2.4 病理学的検査

特定の懸念に対応するために、追加した組織・器官で評価できることがある。必要に応じて、組織切片を用いた免疫組織化学的手法や他の特殊染色による手法、電子顕微鏡検査、組織形態計測や、その他のイメージング手法が、さらなる特徴づけのために使用可能であろう。

3.8.2.5 眼科学的検査

ヒトの眼の構造的発達は出生前にほぼ完了するため、標準的な眼科学的検査（例えば、眼瞼反射、眼底検査）は、通常、JAS において必ず設定すべきエンドポイントではない。ただし、眼に対する毒性の懸念がある場合には、眼科学的なエンドポイントによる評価を考慮すべきである。

3.8.2.6 中枢神経系（CNS）に関する評価

CNS の評価には下記のカテゴリーがある。

- 詳細な一般状態観察
- 行動検査
- 学習及び記憶の検査
- 詳細な神経病理組織学的評価

WoE 評価において特定された懸念に基づき、追加すべき CNS の評価を選択するべき

である。JAS においてこれらの追加の評価を実施するタイミングについては、有害作用が過剰な薬理作用によるのか、発達神経毒性によるのか（すなわち、投与終了後に認められる影響なのか、投与終了後に顕在化する影響なのか）又はその両方によるのか等、結果の利用目的を踏まえ検討すべきである。

CNS に標的を有する化合物の場合、血液脳関門を通過し分布する程度や、脳のどの部位に影響する可能性があるか（例えば、標的の分布や関連する機能的な経路）を考慮すべきであり、これらの情報が得られているならば、追加の CNS に関する評価の選択に役立てることができる（例えば、学習及び記憶の検査か、他のエンドポイントが必要なのかを決定する場合）。

詳細な一般状態観察は、CNS に関する評価の重要な部分であり、必要に応じて投与期間及び休薬期間を通し適切に評価すべきである。臨床症状が曝露と時間的に関連しているかを確かめるため、その重篤度、発現時期、持続期間を記録すべきである。

行動検査には、自発運動、協調運動や反射の評価、聴覚性驚愕反応（例えば、馴化又はプレパルス抑制）等が含まれ、多種多様である。機能観察総合評価法 (FOB) や Irwin 変法は幼若げっ歯類では比較的検出力が低いと考えられており、使用は限られる。使用する動物種に適した検査を実施すべきであり、検査のタイミングについては検査時点における動物の成熟度を考慮すべきである。行動検査を投与期間中に行うかどうか決定する前に、薬理作用（例えば、鎮静、運動協調性の低下）との交絡の可能性を考慮すべきである。

WoE 評価における懸念が学習及び記憶に関して見出された場合、それを評価できる適切な複雑な課題を有する学習検査を選択すべきである。学習及び記憶について持続的又は遅発的な影響を評価するためには、休薬期間に検査を行うべきである。

出生後の CNS の評価は多くの場合、げっ歯類で実施され特徴づけられるが、げっ歯類の使用が適切でない医薬品については、他の動物種（例えば、イヌ、ミニブタ）において利用できるいくつかの行動検査法がある。NHP においては、JAS 又は ePPND 試験における行動観察の結果から CNS へ影響を及ぼす可能性について評価可能であろう。小児患者で行われる検査と同様の学習検査が NHP でも開発されているが、試験方法が複雑であり、個体差が相当大きいことから頻繁には実施されていない。

最後に、WoE 評価において、CNS の領域や構成要素（例えば、海馬、ミエリン）が影響を受ける可能性がある場合、必要に応じて詳細な神経病理組織学的検

査（例えば、観察する切片の追加、免疫組織化学染色、特殊染色）を実施すべきである。これらの検査は、通常、投与終了後や休薬期間終了後の予定された剖検時に行う。イメージング手法が有用となる場合もあろう。

3.8.2.7 生殖器系に関する評価

雌雄生殖器系又はその機能への影響が懸念される場合は、病理組織学的検査や器官重量測定において、性腺に加え生殖器及び内分泌系の組織を加えることが可能であろう。成熟動物において回復性が示されなかった生殖器系への影響についてはJASで確認する意義は乏しい。

げっ歯類において、雌性に関する懸念に対しては生殖器及び内分泌機能の評価のために性周期の評価が推奨される。雄性のげっ歯類に関する懸念について特徴づけをさらに行う意義がある場合には、精子検査（例えば、数、運動性、形態）や精巣の免疫組織化学染色（例えば、アポトーシス）を考慮できよう。

投与及び評価のタイミングと、試験に用いる動物種の性成熟の時期との関係は非常に重要である。試験デザインや生殖器系に関する評価のタイミングを検討する際、卵胞形成及び精子形成の時期を考慮すべきである。生殖器官又はその機能の評価（例えば、性周期、精子数、精子形成について病理組織学的検査での定性的評価）は性成熟した動物のみにおいて可能である。臨床で思春期の年齢層を含む場合には、医薬品が性成熟や成人期における生殖機能に対し、遅発性の影響を及ぼすかどうか懸念される場合がある。もし、臨床で思春期のみ投与する場合は、JASの投与期間は未成熟な期間のみとし、休薬期間中に成熟した後に評価を実施するよう試験をデザインすべきである。

交配による評価は、通常、JASにおいて推奨されない。雄の授胎能に関する生殖器官への影響の多くは、組織学的評価により検出可能である。雌のげっ歯類では、性周期と卵巣の組織学的評価によって生殖発生に対する有害性の多くを特定できるであろう。イヌやNHPでは、発達期間が長く個体差が大きいため、交配による評価は困難である。

ホルモン評価については、特に思春期における濃度はかなり変動しやすいため、通常、JASにおいて推奨されない。したがって、ホルモン評価においては、その適切性を示し、評価するタイミングと目的のホルモンについて、評価時の齢での特性が十分に示されるべきである。

生殖器系の評価に関し、JAS 実施中に成熟に達する場合には非げっ歯類を考慮できるが、実施の容易さから多くの場合げっ歯類を用いて実施される。

3.8.2.8 免疫系に関する評価

薬理的学的分類、動物又はヒトのデータにおいて免疫系の発達に関する懸念がある場合には、ICH S8 に示されている免疫毒性評価を考慮すべきである。発達において重要と考えられる懸念として、特定のリンパ球サブタイプの数又は機能の一過性／持続的／永続的な変化、免疫グロブリンのクラスの持続的増加又は減少等が挙げられる。機能試験は適切な発達段階、例えば、T 細胞依存性抗体産生 (TDAR) においてはラットでは生後 45 日以降に実施すべきである。免疫毒性の特徴が十分明らかにされている場合には、通常、JAS においてその毒性を確認する必要はない。

3.9 試験群及びエンドポイントのサブセットへの動物の割付け方法

3.9.1 離乳前の割付け方法

JAS 本試験は大規模かつ複雑な試験となりうるため、試験計画においては科学的な厳密性と使用動物数とのバランスを考慮することが重要である。実験者は試験を計画する際、予定する全てのエンドポイント（主要及び追加）を把握すべきである。試験計画の効率化は 3R の原則における使用動物数の削減のために重要であり、調整された同腹児の中で使用しない児や特定のエンドポイントに割り付けられない児を含め、試験に使用される母動物（及び同腹児）の総数を前もって考えるべきである。

多産の非げっ歯類において、同腹児の割付け方法は様々なものがある。産児数が 1 匹である動物種や、腹児数が少ない又は変動が大きい動物種（例えば、NHP、イヌ）においては、一般毒性試験で適用されている原則に従った群分け方法を用いることができる。

多くの動物種において、JAS を離乳前に開始する場合、同腹児内の児への投与に関し特有の状況がある。母動物は栄養供給と哺育を担う試験の重要な要素であるが、試験の対象となる試験系は児のみである。考えられる交絡因子を低減化するよう計画されるべきである。哺育や腹児数は通常、遺伝的背景より重要な交絡因子と考えられる。どのように同腹児を投与群に割り付けるかと、どのように個々の児をエンドポイントに割り付けるかを含め、同腹児を構成し調整する方法を検討することで、交絡因子を低減化することができる。

試験において同腹児を構成するとき、良好な哺育を行う母動物及び良好な健康状態にある児を選択すべきである。試験における同腹児は生後同一の齢とし、児数及び性別

(すなわち、ラットでは1腹あたり各性4~5例)が調整されることが望ましい。これは、完全な里子哺育(全ての同腹児を任意に里子哺育する)又は最小限の里子哺育(出生時の同腹児はできるだけ維持し、希望する腹児数や性比を満たすために必要に応じて他の腹から補完)により行うことができよう。実施可能ならば、試験における同腹児は、初回の投与前に新しい同腹児に対し馴化できるような時期に調整を行うべきである。腹児数の変化は児の成長率に影響を与えるため、離乳前においては用量群内及び用量群間で同じ腹児数を維持することが推奨される。

試験動物を用量群に割り付ける際には、投与群及び対照群の児間でのクロスコンタミネーション、吸乳位置や時間の競合を避けるように、調整された同腹児は同じ用量群に割り付けられることが望ましい。

各動物を本試験のエンドポイントに割り付ける際には、哺育による偏りを避けるため、同性の同腹児を同じエンドポイントに供しないことが推奨される(別紙C参照)。

里子哺育の方法、同腹児の調整方法、用量群やエンドポイントへの割付け方法は試験計画書及び試験報告書に明記されるべきである。ラットを用いるJASにおいて、遺伝的背景、哺育、腹児数による交絡因子を最小化する割付け方法の一例を別紙Cに示す。試験の目的やエンドポイントによっては、同腹児を割り付ける他の適当な方法もあるが、他の方法においてもこれらの偏りを考慮し避けるべきである。

3.9.2 離乳後の割付け方法

多産動物においては、可能であれば、交絡因子を考慮し試験を計画することが推奨される。特に、離乳後早期に投与が開始される場合や、限られた数の母動物から児が供されている場合には、離乳前と同様に交絡因子を考慮し試験を計画すべきである。

3.10 動物数と性別

選択したエンドポイントを評価するために、毒性試験の本試験として通常適切と考えられる群内動物数を使用すべきである(例えば、ラットにおける反復投与毒性試験と同様に、投与終了後の剖検時のエンドポイントに各性10例)。使用動物数を減らすため、同じサブセットの動物において複数のエンドポイントを評価することが効率的である(別紙C参照)。性別については、通常、雌雄を用いて実施することが推奨される。

4 小児先行開発／小児のみの開発に関する考慮事項

小児先行開発又は小児のみの開発を行う通常の医薬品の開発においては、健康成人被験者におけるヒト初回投与（FIH）試験が小児臨床試験に先立って実施される。この場合、成人における臨床試験実施前には、ICHM3 に示されるように安全性薬理試験、遺伝毒性試験、げっ歯類及び非げっ歯類を用いる反復投与毒性試験を実施するのが一般的である。また、ICH S6 の原則も適用となる。成人における FIH 試験をサポートするための毒性試験として、2 種の動物を用い標準的な反復投与毒性試験が実施される。別なアプローチとして、1 種又は 2 種の幼若動物を用いて試験を開始し、成熟するまで投与を継続することもできる（3.4 章参照）。幼若動物を用いる試験においては関連する追加エンドポイントを含めるべきである（3.8 章参照）。幼若動物を用いるアプローチは、成人における FIH 試験実施後直ちに小児患者における臨床試験の開始をサポートしうするため、より効率的となる場合がある。

しかしながら、成人患者又は健康成人のデータなしに小児患者へ投与される場合がある（例えば、生命を脅かす又は身体機能を著しく損なう小児特有の疾患、あるいは成人において安全に投与できない場合）。このような場合、FIH 試験は小児患者において実施することになり、その非臨床試験パッケージには、通常、1 種のげっ歯類及び 1 種の非げっ歯類を用いた JAS が含まれる。また、幼若動物を用いて実施する必要はないが、成人への使用と同様に安全性薬理試験及び遺伝毒性試験を適切に実施する必要がある（2.3.4 章参照）。

医薬品が小児の慢性疾患の治療を目的としている場合、1 種のげっ歯類及び 1 種の非げっ歯類による慢性毒性試験を実施すべきである。少なくとも 1 種の試験において、対象小児集団の最低年齢の発達段階に相当する時期から投与を開始すべきである。原則として、小児患者の最低年齢の発達段階に相当する時期から投与を開始する慢性毒性試験は、小児使用における全年齢及び投与期間をカバーするのに十分であろう。これらの試験は、成熟動物を用いる慢性毒性試験及び独立した JAS に置き換えることができる。生殖発生毒性及びがん原性の可能性についての非臨床評価は必要とされる。

バイオテクノロジー応用医薬品において幼若動物を用いる試験が必要な際は、ICH S6 に示されるように、適切な動物種での実施に限るべきである。非侵襲的な安全性薬理に関するエンドポイントを NHP を用いる JAS 又は標準的な反復投与毒性試験に含めることができる。遺伝毒性及びがん原性の可能性については ICH S6 に従って対応すべきである。

離乳後の NHP を用いる JAS は通常 10～12 ヶ月齢から開始されるため、これに対応す

る小児集団の最低年齢は限定される。離乳前の NHP を用いる JAS は、初めてかつ主に新生児において臨床使用される医薬品で、他の非臨床安全性評価の実施が困難な場合にのみ実施されるべきである。離乳前の NHP に直接投与する試験は、比較的小規模な JAS であっても多数の母動物が必要とされる。したがって、試験デザインとエンドポイントについては临床上の懸念に基づき明確に適切性が示されるべきである。また、性比や投薬開始時の体重のばらつきが想定されるため試験計画には柔軟性が必要である。小児の最低年齢に対応する JAS を実施することが困難な場合には、利用可能かつ適切であれば、これに代わるアプローチ（例えば、*in vitro* 試験、遺伝子改変動物、相同分子）を考慮すべきである。

JAS の試験デザインについては 3 章を参照すること。

5 データの解釈

5.1 エンドポイントの解釈のための考慮事項

JAS における観察項目（例えば、体重、臨床病理学的検査）の多くは、齢、性、動物種／系統に依存する。したがって、齢をそろえた対照群のデータが解釈において非常に重要である。利用可能なら適切な背景データや参照情報（例えば、組織のデータベースやアトラス）も、特に低頻度の所見や計画外の早期死亡の場合には（すなわち、対照データに欠けた所が多い又は十分でない場合）、結果を解釈するために有用であろう。

一般状態観察における解釈は幼若動物と成熟動物の間で異なることがあり、離乳前の評価においては母動物の哺育行動や同腹児の全体的な健康状態も考慮すべきである。

成長に関する評価は、通常 JAS 本試験の主要な目的として考慮すべきであり、長骨の長さ、体重及び利用可能なら摂餌量の測定に基づき、なるべくなら剖検時に実施されるべきである。骨発達に対する直接的影響の可能性があるのか、長骨の長さに対する間接的影響（低栄養や体重減少に起因する二次的な毒性）であるのかを区別するため、体重や摂餌量のパラメーターが必要とされる。単なる体重増加抑制は必ずしも成長に対する影響があることを意味しない。一時的な成長への影響を評価するために長骨の長さを頻回に測定を行うことは、発達期においては個体間の成長率の差が大きいことから解釈に困難を伴い意義は限定的である。

器官重量や性成熟の開始の評価は、成長の指標として実施されるべきである。発達中は成長率が異なる器官があるため（すなわち、等成長に対する不等成長）、器官重量の変化は必ずしも体重の変化と比例しない。また、器官毎に成長への影響に対する感受性が異なる（例えば、脳は他の器官より影響を受けにくい）。したがって、絶対器官重量及び相対器官重量の解釈については器官毎の成長への影響に対する感受性を考慮すべきである。

ある一腹の児から得られたデータは、統計解析における独立した変数として扱われるべきではない（ICH S5 参照）。

5.2 総合的な解釈

全ての適切な試験について幼若動物と成熟動物における所見を比較し、臨床での外挿性を検討しながら、総合的に評価すべきである。幼若動物において成熟動物で認められない所見や成熟動物と感受性が異なる所見については、影響の性質・重篤性・回復性（把握されている場合）、動物の齢、所見が認められた曝露量又は投与量を踏まえ、総合的に解釈し、目的とする小児使用との関連性を示すべきである。

6 その他の考慮事項

6.1 添加剤

医薬品の製剤処方において小児集団での使用の経験が限られた添加剤が含まれることがある。小児の製剤処方における添加剤の安全性を評価するため、添加剤について利用可能な情報を用い、WoE アプローチに沿って評価すべきである（2章参照）。対象小児集団に対して使用をサポートする十分な情報がない場合には、例えば、JAS において添加剤のみを評価する追加の群を設定する等、追加の安全性評価が必要とされる。

6.2 配合剤

小児用医薬品の配合剤の開発においては、ICH M3 に示されている配合剤に関する原則と、本ガイドラインに示す WoE 評価の原則に基づき非臨床評価を行うべきである。その結果、小児開発をサポートする十分なヒト又は動物における既存情報がなく、WoE 評価において特定の懸念に対応するため JAS が必要と考えられる場合にのみ、配合剤を用いた JAS が必要とされる。追加の非臨床情報が必要とされる場合、配合による懸念に対応するためにどのようなエンドポイントが適切か試験計画を検討すべきである。JAS が適切であると考えられる場合には、実際に臨床投与される配合剤を用いて評価

すれば通常十分であると考えられ、個別の有効成分を用いた試験は必須ではない。個々の薬物について既に実施が計画されている JAS に配合剤を用いる投与群を追加することも可能であり、これによって配合剤を用いた独立した試験で得られる情報を入手できる。

用語

ウエイトオブエビデンス (WoE) :

小児で使用する医薬品の開発をサポートする十分な根拠があるかどうか、又は、安全性上の懸念に対応するために追加の非臨床試験が必要かどうかを決定するため、複数の情報源より評価する手法

利用できる根拠に対して、データの質、結果の一貫性、影響の性質や重篤性、情報の意義等に基づき重み付けを行う。WoE アプローチは科学的な判断が必要であるため、それぞれの情報源の頑健性や信頼性は考慮されるべきである。

エンドポイントのサブセット :

同一用量群において、同じエンドポイントに割り付けられた個体のサブグループ

里子哺育 :

遺伝的に関係のない出生児（里子）に対し栄養供給や哺育を行うこと。完全な里子哺育（fully fostering）では、意図的に母動物がその遺伝上の児を哺育しないように、同腹児は任意に混ぜ合わされる。最小限の里子哺育（minimally fostering）では、生まれつきの同腹児はできるだけそのままにし、希望する腹児数や性比とするために、必要に応じて里子をあてがう。

小児先行開発 :

成人の適応症に対する開発の前に、小児患者への投与を目的とした開発

小児のみの開発 :

小児に限定した投与を目的とした開発（例えば、新生児呼吸窮迫症候群）

不等成長と等成長 :

等成長は成長中において大きさの変化に比例関係が保たれているときにみられる。不等成長は等成長から外れた場合である。不等成長においては、骨長、器官重量、体表面積のような性質は、体重に対し指数関数的に変化する。

幼若動物：

器官（系）の形態及び機能が未成熟な出生後の動物

幼若動物試験（JAS）：

幼若動物を用い、通常、医薬品の毒性プロファイルについて評価する目的で実施される非臨床安全性試験

ePPND 試験：

ePPND 試験は、NHP でのバイオテクノロジー応用医薬品の経験に基づきデザインされた PPND 試験であり、胎児の代わりに新生児及び乳児で胚・胎児発生試験（EFD 試験）の評価項目を含め、評価を行う試験

参考文献

1. 厚生省医薬安全局審査管理課長通知「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて」（平成 12 年 12 月 15 日、医薬審第 1334 号）及び厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長通知「小児集団における医薬品開発の臨床試験に関するガイダンスの補遺について」（平成 29 年 12 月 27 日、薬生薬審発 1227 第 5 号）
2. 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について」（平成 22 年 2 月 19 日、薬食審査発 0219 第 4 号）
3. 厚生省薬務局審査課長通知「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて」（平成 8 年 7 月 2 日、薬審第 443 号）
4. 厚生省医薬安全局審査管理課長通知「医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改正について」（平成 12 年 12 月 27 日、医薬審第 1834 号）
5. 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について」（平成 24 年 3 月 23 日、薬食審査発 0323 第 1 号）
6. 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「医薬品の免疫毒性試験に関するガイド

ラインについて」(平成18年4月18日、薬食審査発第0418001号)

7. 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」(平成22年6月4日、薬食審査発0604第1号)

別紙 A：各動物種における齡区分別の器官系の発達の概要

以下の表は毒性試験に汎用される動物種における器官系の発達についての概要を示しており、発達の開始時期や期間について、ヒトと各動物種の類似点と相違点を比較できるように図示したものである。

これらの表は、JAS における動物種の選択、投与開始時期、投与期間の設定において、既存の非臨床データの外挿性を評価する際の参考とすることが意図されている。これらは現在の知見のレビューに基づくものではあるが包括的なものではない。種特異性や器官系に関する文献調査により、詳細な追加情報が得られる場合もあるので、特定の状況においてはより詳細に調査すべきである。系統、飼育、動物の供給元等の要素も齢依存的な発達に影響を与えるため、考慮すべきである。

下記の説明文は表 A1-5 及び図 1 に適用される。

	構造的・機能的な成長と発達の主要な時期
	成長や機能的成熟の活発な時期
	緩やかな持続的成長や機能的な改善
	構造的・機能的に完全に成熟

表では、ヒトの年齢層区分は ICH E11 に記載されている区分に沿い、動物の発達に対応するおおよその指標（例えば、出生、固形食の導入、離乳、性成熟、成人）と、これらの指標が生じるおおよその時期が示されている。例えば、複数の器官系の発達において、活発な期間がヒトでは 12 ヶ月から 18 ヶ月の間まで続くが、このことはヒトでは固形食の導入や離乳期が地域間や文化間で多様であることに一致する。

構造的・機能的な成長の主要かつ活発な時期においては特に発達毒性に対する懸念は強く、緩やかな成長や機能の改善する時期において懸念は小さい。免疫系のような器官系において、その組織の大部分は出生時点で機能するが、その後、出生後に環境からの刺激に応じて実質的な機能がより拡張される。同様に、CNS のような器官系は非常に複雑であり、反射、痛覚経路、睡眠パターン、ミエリン形成、協調運動、認知機能を確立するためのタイムラインが異なっている。この複雑性は発達の感受期に影響を及ぼす。そのため、表では一般的な指標を示しているにすぎない。CNS の発達のいくつかの面の機能的な成熟はヒトにおいて成人期におこり、動物の試験系において完全には模倣できない。性成熟は、内分泌が非常に活発になる期間であり、生殖器系の重要な構造的・機能的な成熟を伴い、ヒトでは骨格筋の成長や CNS の発達への影響もある。性成熟の時期は、種によって様々であり（特に霊長類）、その開始時期や進行は通常、ヒトにおけるタナー分類のように、外観的な性的特徴によってモニターされる。雌は通常、種に関わらず雄より早く機能的に性成熟する。最後に、機能的な改善を伴

う緩やかな持続的成長は、表で示しているように、複数の器官系では成人（成熟）期におこる。

表A1：ヒトにおける年齢区別の器官系の発達

出生		固形食の導入		離乳		性成熟	
区分	早産～正期産	新生児 (出生時から27日)	乳幼児 (28日から23ヵ月)	児童 (2歳から11歳)	青少年 (12歳から18歳)	成人 (18歳以上)	
心血管系	新生児における主な生理的変化(肺循環抵抗、血管収縮、胎児シヤントの閉鎖)	新生児(出生時から27日)	イオンチャネル/コンダクタンスの急激な増加	心筋及び血管の適応性変化			
内分泌	胎児のホルモン産生は妊娠中期に始まり、構造的に十分発達している時期	出生時に十分に発達している時期	見童期後期に副腎皮質機能亢進性思春期徴候	思春期の性ホルモンサーージ及び成熟			
眼	酸素濃度依存的な網膜血管新生	出生時に形態的に十分発達	1歳までに網膜(中心窩、水晶体、虹彩色素)の発達完了	1~4歳は視覚野の訓練に重要な時期(焦点を合わせる、追視は1~4ヵ月齢、色覚は3ヵ月齢で発達)	青少年及び成人期に特徴的な水晶体の曇合縁の形成		
消化器	乳児期早期に様々な嘔吐/下痢反射	新生児期に消化器の機能は重要	消化器能力及び吸収能力の増加	食事やその複雑さへの移行に対応するため消化機能が急速に適応			
肝胆管	構造的に十分発達	新生児期は胆汁産生と胆汁排泄において重要な移行期	代謝及び排泄機能の増大	代謝及び排泄機能の特徴的な発達			
免疫	新生児期に一次及び二次免疫組織構築の発達	新生児期における主な免疫組織構築の発達	免疫組織の発達、及び時間や環境に応じた免疫記憶の発達	皮膚の弱酸性化、局所の微生物叢、免疫細胞の発達	思春期に体毛の発生、皮膚分泌		
皮膚	角化及び粘脂	新生児における主な免疫組織構築の発達(風疹、麻疹)	皮膚の弱酸性化、水分調整、体成人と比べ体重に対して高い体表面積割合				
神経	神経細胞サプレッションの確立、興奮性情報伝達、最初の樹形形成	出生時に神経細胞数及び脳重量/体重比は最大	出生時に神経細胞数及び脳重量/体重比は最大	出生時にミエリン及びグリアが存在し、持続的に発達	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化	成人期に中枢神経系発達の持続	
肺	出生時に水で満たされた肺に空気が入り込む	出生時に神経細胞数及び脳重量/体重比は最大	出生時に神経細胞数及び脳重量/体重比は最大	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化		
腎臓	出生時まで腎形成は未完了	出生時に神経細胞数及び脳重量/体重比は最大	出生時に神経細胞数及び脳重量/体重比は最大	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化		
生殖器	卵母細胞の減数分裂、精巣下降	精巣下降完了	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化	出生後に神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈り込み、移動、及び神経回路集積化	セロトリ細胞の増加	
骨格	成長板の発達	出生時に成長板が存在	出生時に成長板が存在	出生時に成長板が存在	出生時に成長板が存在	思春期の成長	成長板の閉鎖

表A2: ラットにおける齡区分別の器官系の発達

系	考慮事項	新生児 (生後約1 ~10日齡)	固形食導入 (生後約15 日齡)	離乳 (生後約 21~25日 齡)	性成熟 (雄/生後約 42日齡、雌/ 生後約35日 齡)	成熟 (生後約70 日齡)
心血管	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な生理的変化 (動及び全身の血管抵抗) 心筋及び血管の適応性変化 生後21日齡までに心筋細胞の増殖及びイオンチャネルの発達 					
内分泌	<ul style="list-style-type: none"> 出生時に大部分の内分泌腺は十分に発達しており、成長に非常に重要 					
眼	<ul style="list-style-type: none"> 生後14日齡まで網膜、水晶体、虹彩、角膜及び付属器が形態学的に発達 生後14日齡で開眼 離乳時に形態学的に十分発達。性成熟期に持続的に成長し視覚機能が発達 					
消化器	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で未発達で、胃酸が欠如しており、生後14日齡まで腸菌の酵素産生は少ない 近位小腸の透過性が高くインタクト (未変化) なタンパク質の吸収が可能 生後3週齡で食物変化に適応 					
肝胆管	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で構造的に未発達 生後4週間で肝細胞索及び肝細胞板が発達し、代謝機能の増加を伴う 					
免疫	<ul style="list-style-type: none"> 二次免疫組織の発達及び時間や環境に応じた免疫記憶の発達 TDARは通常生後45日齡以降に評価される 					
皮膚	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な機能 (バリア機能、水分調整及び体温調節、コンダクタンス、感覚)、生後2週間でより厚い皮膚構造に発達 生後に体毛及び付属器が発達、生後21日齡までに構造的に成熟動物に類似 生後35日~42日齡までに性差 					
神経	<ul style="list-style-type: none"> 生後3週齡で嗅球、小脳、海馬、大脳皮質が構造的に発達 生後7日齡で神経細胞数及び脳重量/体重比は最大であり、神経細胞のアポトーシス、シナプス刈込み、移動を伴う 出生後に頭蓋より尾側部の脊髄の髄鞘化 (反射、運動感覚、学習及び記憶に関わる) 神経伝導、オピオイド受容体/代謝、GABA、セロトニン、ノルアドレナリン経路の発達速度合いは様々 					
肺	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で萎縮 生後2~3週間で肺胞形成 					
胃腸	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で腎形成は不完全 生後3~5週間でGFRの増加及び腎機能の発達 					
生殖器官	<ul style="list-style-type: none"> 生後第3週に、セルトリ細胞や生精細胞の増加のため、ライディッヒ細胞からのアンドロゲン産生が低下 性成熟開始時 (生後5~7週齡) に残りの生殖系の変化及び外観の性差の発現 					
骨格	<ul style="list-style-type: none"> 出生後から成熟に至るまで急速に成長 生後14~21日齡まで長骨の成長極の構造は不明瞭であり、成熟後も開いたまま 					

表A3: ビーグル犬における齢区分別の器官系の発達

系	考慮事項	新生児 (3週齢未満)	固形食導入 (約3週齢)	離乳 (約8週齢)	性成熟 (雄約5~8ヵ月齢、雌約6~12ヵ月齢)	成熟 (約12ヵ月以上)
心血管	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な生理的変化 (肺及び全身の血管抵抗) 心筋及び血管の適応性変化 1週齢~6ヵ月齢で有意な血圧の上昇及び心拍数の低下 					
内分泌	<ul style="list-style-type: none"> 内分泌組織の発達と最初のホルモン産生は子宮でおこる 内分泌機能は成長・発達、性成熟期の発達において非常に重要 					
眼	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で形態学的にはほぼ発達が完了、10~14日齢で眼瞼が開裂 7週までに網膜が発達、8週までに角膜の透明化及び虹彩での色素沈着が完了 12~14週までに視細胞は完全に発達 					
消化器	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で消化管は十分に形成されている、出生後1~2日以内に吸吮/嚥下反射、哺乳反射は十分機能する 初乳が腸管の発達・成長を促す 主に出生時から離乳までの間に機能的な代謝の発達 					
肝胆管	<ul style="list-style-type: none"> 1週齢までに構造的に発達 胆汁分泌機能は雄やかに発達 (4~6週齢で成熟動物の30~70%) 					
免疫	<ul style="list-style-type: none"> 出生時でガンマグロブリンが血中にならない、出生時12~24時間以内に初乳を介して母動物からIgG移行が必要 免疫組織は出生時又は出生後やかに大部分構造的に発達し、機能する 胸腺は生後急速に成長し、離乳時に最大となり、性成熟時に退縮する 					
皮膚	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な機能 (バリア機能、水分調整及び体温調節、コンダクタンス、感覚) は生後初期 (~2週) に発達 出生時で最初の体毛及び付着器が存在、離乳までに鼻平面及び肉球が厚くなり、皮膚の被毛構造に移行 					
神経	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で脳筋緊張、1週目に伸張反射を示す、生後28日齢で新生児 (原初) 反射が消失 出生後、8週の間運動機能が急速に発達 出生後6週までに骨髄は構造的に成熟するが、神経伝導速度は6~12ヵ月にわたって増加 生後約18~28日齢が学習の重要な発達期であり、認知機能が急速に発達 					
肺	<ul style="list-style-type: none"> 出生後肺の発達が持続する、通常出生後1~2週までのヒトの新生児の時間と比較できる、 8週までに呼吸数は通常の日内リズムとなり、性成熟期を過ぎ成長とともに減少 8週の間持続的に発達し、1歳までに肺動能力が最大となる 					
腎臓	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で構造的、機能的に未発達であり、約2週齢で腎形成を完了 出生後3週間で尿管管と腎小体の発達が継続し、離乳までに発達 出生前に尿濃縮能力が発達し、出生後に酸塩基平衡が発達 					
生殖器官	<ul style="list-style-type: none"> 出生後5~6週齢時に精巣が下降 雄は5~8ヵ月齢、雌は6~12ヵ月齢で性成熟に至る 					
骨格	<ul style="list-style-type: none"> 長骨の骨化中心は1~10週齢の間に出現 2週齢まで四肢で体重を支えることができない 5ヵ月齢までに長骨は急速な成長により大部分完了し、その後18ヵ月齢までに遅やかに成長 					

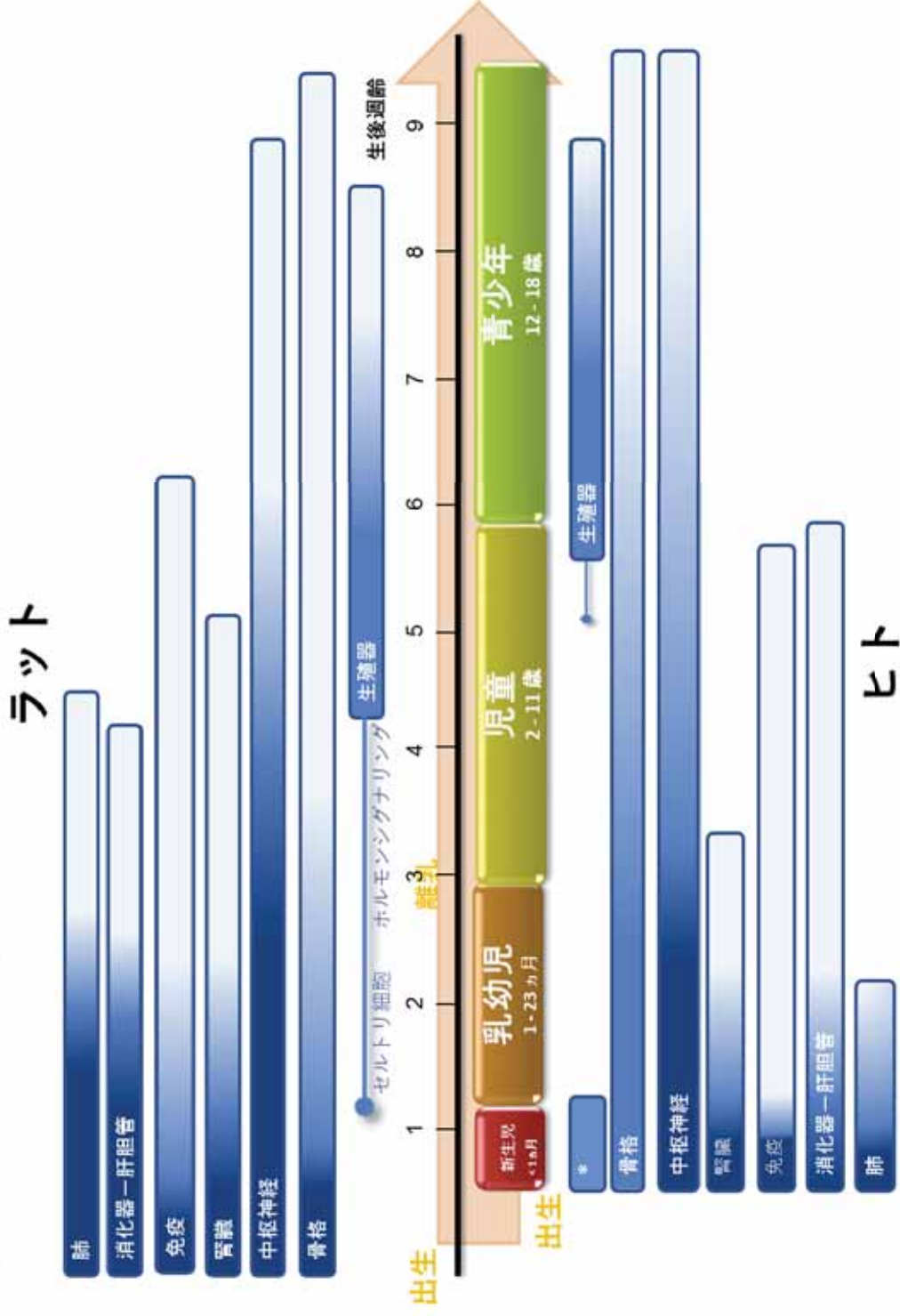
表A4：ゲッチングミニニブタにおける齡区分別の器官系の発達

系	考慮事項	新生児 (2週齢未 満)	固形食導入 (約2～3週 齢)	離乳 (約4～6週 齢)	性成熟 (約4～6ヵ 月齢)	成熟 (約6ヵ月 齢以上)
心血管	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な生理的变化（肺及び全身の血管抵抗） 心筋及び血管の適応性変化と成長 					
内分泌	<ul style="list-style-type: none"> 内分泌組織の発達と最初のホルモン産生は子宮でおこる 内分泌機能は成長・発達、性成熟期の発達において非常に重要 					
眼	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で形態学的に十分発達している。出生後3日以内に眼瞼が開裂 3週までに眼瞼が後退し、眼科学的検査が可能 					
消化器	<ul style="list-style-type: none"> ヒトの出生後の消化管発達（新生児の吸収能力）とよく類似している 出生後に酸性化、微生物叢、自動能等の離乳までに適応的な消化・輸送機能が得られる 					
肝胆管	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で構造的及び機能的に未成熟、4週までに構造的に成熟と同様になる 特に最初の3～4ヵ月にわたっては代謝機能が増大 					
免疫	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で最低限の免疫が存在しないので、仔ブタは受動免疫として出生後2～4時間以内に初乳が必要 4週齢までに解剖学的に十分発達 二次免疫組織の発達及び時間や環境に応じた免疫記憶の発達 					
皮膚	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な機能（バリア機能、コンタクト、感覚） 出生から2～3週を通して体温調節機能は乏しい 					
神経	<ul style="list-style-type: none"> 出生後、性的二形の脳発達に離乳期まで急速におこり、性成熟まで持続 出生時でミエリン、グリア、多くの皮質ニューロンが存在 出生時の神経筋系はヒトと比べ機能的に成熟している 					
肺	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で肺は十分発達、出生後2週までに肺動脈形成が完了 持続的に成長し、性成熟期を過ぎ機能的に発達 					
腎臓	<ul style="list-style-type: none"> 生後3週間までに腎糸球体形成 約3ヵ月齢で機能的に発達 					
生殖器	<ul style="list-style-type: none"> 構造的に十分発達、出生時に精巣下降が完了 性成熟は雄で4～5ヵ月齢、雌で約5～6ヵ月齢 					
骨格	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で起立可能、最初の数日で運動性が増加 出生後から成熟に至るまで急速に成長、18ヵ月齢で骨端の成長板が閉鎖 					

表A5：カニクイザルにおける齡区分別の器官系の発達

系	考慮事項	新生児 (1ヵ月齢 未満)	固形食導入 (約3ヵ月 齢)	離乳 (約6ヵ月 齢)	性成熟 (約3~4歳 齢)	成熟 (約4歳 齢)
心血管	<ul style="list-style-type: none"> 新生児における主な生理的変化(肺及び全身の血管抵抗) 心筋及び血管の適応性変化 3ヵ月齢まで心筋細胞が大きくなり、以後成長 					
内分泌	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で大部分の内分泌腺は十分に発達しており、成長に非常に重要 3~6ヵ月齢で副腎皮質網状帯の発達(副腎皮質機能亢進性思春期徴候) 性成熟期に性腺の内分泌機能が発達 					
眼	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で構造的に十分に発達しており、眼輪が開裂 出生後に網膜中心窩と水晶体が発達 					
消化器	<ul style="list-style-type: none"> 出生時に機能的であり、ヒトの出生後の消化管発達と類似している 出生後に腸管性化、微生物叢、自動能 食事やその複雑さへの移行に対応するため離乳時までに消化・輸送機能が適応し、微生物叢を形成 					
肝胆管	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で構造的に十分に発達 主に生後3~6ヵ月で代謝機能の発達 					
免疫	<ul style="list-style-type: none"> 新生児期に免疫組織の構造的な発達 二次免疫組織の発達及び時間や環境に応じた免疫記憶の発達 					
皮膚	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で被毛及び付属器とともに機能(バリア機能、水分調整及び体温調節、コンタクトタンクス、感覚)が存在 					
神経	<ul style="list-style-type: none"> 成熟期に至るまで構造的に発達 出生後、神経細胞のアポトーシス細胞死、シナプス刈込み、移動が起こり、離乳前に最も顕著となる 出生時でミエリン及びグリアが存在し、出生後さらに増加 神経伝達物質及び神経伝導の発達度合いは種々(すなわち、GABA、セロトニン、ドーパミン、ノルアドレナリンは全て異なる) 					
肺	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で構造的に発達、以後成長 					
腎臓	<ul style="list-style-type: none"> 正期産時で腎形成完了 生後6ヵ月齢までGFRが増加し、腎機能が発達 					
生殖器官	<ul style="list-style-type: none"> 出生時で精巣下嚢が完了、生殖細胞、セトリ細胞、ライディッヒ細胞が存在 3~6ヵ月齢で卵巣発達及び閉経開始 性成熟期の始めに生殖系系の変化(初経、精濁)が起こり、成熟期に至るまで発達が継続 					
骨格	<ul style="list-style-type: none"> 出生時から児は母動物にしかみつくことが可能 出生時で成長板が存在 離乳前に最も急速な成長が生じ、以後成熟期に成長板が閉鎖するまで緩やかに成長 					

図A1：ラットとヒトの器官発達の比較



• ヒト新生児の「小思春期」（表A1参照）。生殖器のボックスの先頭の点及びび線は思春期早期のホルモンシグナリングの時期にあたる。

表 A6：幼若動物試験に使用される哺乳動物の利点及び欠点

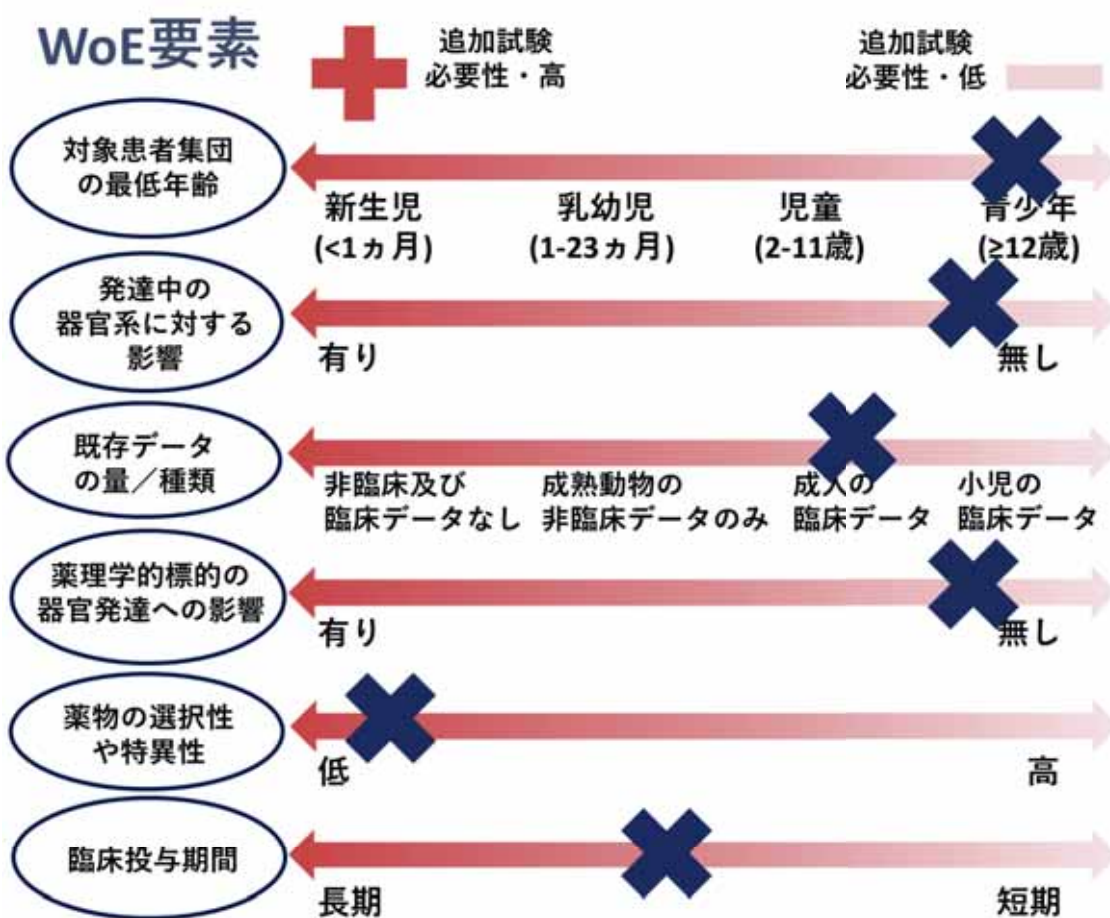
動物種	利点	欠点
ラット	<ul style="list-style-type: none"> • 背景データが豊富で JAS でよく用いられている動物種である • 一貫性のある発達指標がある (成長、亀頭包皮分離/臍開口、性成熟) • 一般毒性試験 (成熟動物) 及び生殖発生毒性試験によく使用されている • 離乳前の早期から種々の処置、投与が可能な身体の大きさである • 出生児を、性比を均等に種々のエンドポイント及び専用のコホートに割り付けることが可能な腹児数である • 発達期間が短く (約 10 週)、広範なエンドポイントを含めることが可能である • 発達期間が短いことにより、大動物では実施困難な追加エンドポイント (発達神経毒性、免疫毒性、受胎能) を評価可能である • 体重が低く被験物質の使用量が少量で済む • 輸送、飼育、管理が比較的容易である • 里子哺育が可能である • 多くの同じ段階の出生児を入手できる • 出生時に受動免疫がある 	<ul style="list-style-type: none"> • 小さい身体、高い代謝率及び速い成長により、一般状態の急激な悪化や死亡が生じやすい • 出生時に、ヒトに比べて未成熟な器官系がある (特に CNS、肺、腎臓、消化管、免疫系、生後 12~14 日齢まで眼瞼は閉鎖) • 離乳前は消化管が未成熟のため、経口投与時の薬物動態がヒトに外挿できないことがある • 発達期間が短いため、明確な感受期を特定しにくい • 特に離乳前は、従来の採血法では血液採取は剖検時の 1 回となる • 多くのエンドポイントや試料採取のために専用の出生児のコホートが必要となるため、試験が大規模になりやすい • ヒトと比べて受胎能のかく乱に対する感受性が低い • 異種たん白質に対し使用が制限される場合がある <ul style="list-style-type: none"> - 標的特異性の高い治療薬に対しては薬理学的に適切ではないことがある - 免疫原性の影響が生じる可能性がある
マウス	<ul style="list-style-type: none"> • 利点はラットと同様である。ただし、出生後の発達がラットに比べて少し速い • CYP 酵素が広範である。化合物によっては、代謝がラットより適切な場合がある • ラットと異なりマウスは胆嚢を有する • 特に CNS 及び免疫系の発達や特徴について詳細な文献が利用できる • 標的特異性の高い治療薬に対して薬理的な適切性を高めたモデルを含め、多くの遺伝子改変モデルが利用できる 	<p>ラットと同様であるが、さらに：</p> <ul style="list-style-type: none"> • 出生児が小さいため、ラットに比べて早期の処置や投与が限定される • エンドポイント又は試料採取のため専用の出生児のコホートが必要となり、試料のプールが必要となる場合がある • JAS としての背景データはラットより乏しい
イヌ	<ul style="list-style-type: none"> • 一般毒性試験 (成熟動物) によく使用されている • 出生時の身体が比較的大きい • 取扱いが比較的容易である • 各種エンドポイントへの出生児の割付けが可能な腹児数である • 児動物を母動物から数時間離すことができる • 繁殖を事前に計画できる • いくつかの器官系 (心血管系、肺、免疫系) の生後発達がヒトの乳幼児に類似する • 学習・認知機能の発達における感受期など、CNS の成熟の特徴が比較的良好に明らかにされている 	<ul style="list-style-type: none"> • 発達期間が長く (性成熟までに約 5~12 ヶ月、骨格の成熟までに約 12~18 ヶ月)、成長及び発達指標での個体差が大きい • 出生時には親動物によるケアが必要である (生後約 2 週まで、開眼せず体重を支えることができない) • 出生直後に母体からの免疫グロブリン (Ig) を受け取るための初乳の摂取が必要である • 腹児数及び性比が一定ではなく群間の偏り (遺伝/同腹児、性比) を小さくすることが難しい • 背景データが少ない。標準的ではないエンドポイントについては特に少ない

動物種	利点	欠点
		<ul style="list-style-type: none"> • 季節繁殖性である（動物の入手、試験開始に数週間ないし数ヵ月を要する） • 里子哺育ができない • 身体が大きいため、げっ歯類に比べて多量の被験物質が必要である
ミニブタ／ブタ	<ul style="list-style-type: none"> • 多くの発達指標がヒトに類似している • 出生時の身体が比較的大きい • 取扱いが比較的容易である • 繁殖を事前に計画できる • 各種エンドポイントへの児動物の割り付けが可能な腹児数である • 里子哺育が可能である • 腹児数が比較的多く均等な性比での割り付けが可能である • 新生児の消化管はヒトと類似しており経口薬に有用である • 吸入曝露を除く全ての投与経路を選択可能であり、経皮投与試験には最も適したモデルである（付属器や毛包が低密度であり、表皮の厚さがヒトと類似している） • 発達期間が短く（約6～9ヵ月）、他の大型の非げっ歯類に比べ、輸送と飼育が比較的容易である 	<ul style="list-style-type: none"> • イヌやNHPに比べて、背景データが少ない • 出生直後に母体からの免疫グロブリン（Ig）を受け取るための初乳の摂取が必要である • ヒトの乳幼児と比べ、複数の器官系は出生時に比較的発達している（例えば、肺、筋骨格系） • 身体が大きいため、げっ歯類に比べて多量の被験物質が必要である • 早期の若齢動物では、静脈内投与や強制経口投与が困難である
NHP	<ul style="list-style-type: none"> • 通常、カニクイザルが使用されるが、アカゲザル、マーモセットも使用可能である • 多くの発達指標がヒトと類似している • 新生児／乳幼児の消化管、免疫系、心血管系、腎臓、感覚器（眼、耳）の発達がヒトと類似している • マカク属の乳幼児は出生時の身体が比較的大きい • 生後の時点から広範な参照データや背景データが利用できる • 特にバイオテクノロジー応用医薬品において、一般毒性試験（成熟動物）及び生殖発生毒性試験（例えば、ePPND）によく使用されている • 免疫グロブリンの母動物からの移行はヒトと同様であり、乳幼児は生まれつき受動免疫（血清IgG）が認められる • 標的の特異性の高い治療薬に対して、薬理学的に最も適切な動物モデルである 	<ul style="list-style-type: none"> • 発達期間が長く（マカク属では性成熟までに約3～6年、骨格系の成熟までに約5～8年）、全ての発達段階を含む幼若動物試験の実施は現実的ではない • マカク属は単胎動物であり、成長、発達の個体差が大きい • マーモセットは通常双胎であり、離乳前は両親動物による哺育を要する。児動物は比較的小さい • 動物は、出生後1ヵ月間は母動物の哺育に大きく依存し（離乳前の処置及び投薬は母動物による哺育拒否のリスクがあるため、介入は最小限とすることを推奨）、最初の3～6ヵ月まで母動物との同居が必要である • 輸送や検疫期間も必要であることから、9ヵ月齢未満の幼若サルを用いる試験の開始は難しい • NHPの新生児の筋骨格系、CNS、内分泌系、呼吸器系の発達はヒトの新生児と比べ早熟である • 繁殖を同期させることが困難である（アカゲザルのような季節繁殖動物では供給及び試験開始に数週間～数ヵ月を要する） • 倫理的制約がある（幼若NHPを毒性試験に使用する強い合理性が必要である）

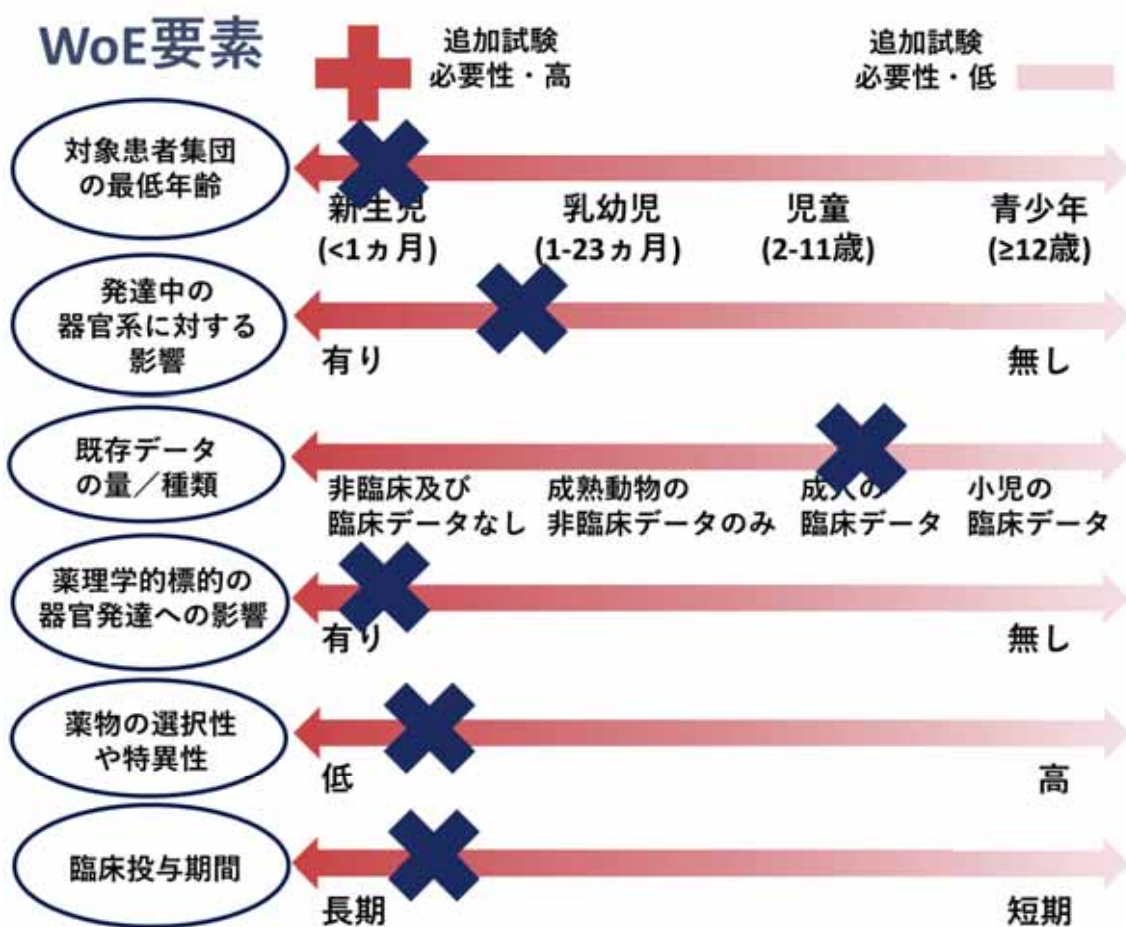
動物種	利点	欠点
ウサギ	<ul style="list-style-type: none"> • 発達期間が短く(約5~6ヵ月)、身体が小さいため、被験物質の使用量が比較的少量で済む • 取扱いが比較的容易である • 生殖発生毒性試験によく使用され、点眼投与、骨成長の評価にも使用可能である • 出生児を、性比を均等に各種エンドポイントへ割り付けることが可能な腹児数である • 輸送、飼育が比較的容易である • 出生時に受動免疫がある 	<ul style="list-style-type: none"> • 他の非げっ歯類に比べて発達指標が十分確立されていない • 通常、一般毒性試験(成熟動物)に使用されていない、あるいは受け入れられていない • イヌやNHPに比べて背景データが少ない • 若齢の児動物のハンドリング後、母動物による食殺又は哺育拒否が誘発されることがある • ラットと同様に異種たん白質に対し制限があり、免疫原性により急性の過敏症反応が起きる場合がある • 胃腸管の障害に対する感受性が高い • 一般状態観察により健康状態をモニターすることが難しい
その他の種	<ul style="list-style-type: none"> • 薬理学的及び毒性学的に妥当性があれば他の動物種も考慮できる。代替の哺乳類の例としてハムスター、モルモット、ツバイ、フェレット、ネコ、ヒツジ、ヤギがある。 • 利点は動物種や試験目的により様々であるが、遺伝的モデル又は疾患モデルであるか、若しくは特定のエンドポイントの解釈や外挿性を支持するデータが存在する場合に他の動物種の利用が考えられる。 <p>欠点としては：</p> <ul style="list-style-type: none"> • ラット、マウス、イヌ、ミニブタ/ブタ、NHPに比べて発達指標が確立されていない • 一般毒性試験(成熟動物)で通常利用されていない、あるいは受け入れられていない • 毒性学的な背景データが少ない • 使用用途が限られる(心不全のような特定の適応症に対するモデル) • 多くの種で周産期に母動物からの免疫グロブリン(Ig)を受け取るための初乳の摂取が必要である • 実験動物としての利用が制限され、またその動物の特別な飼育環境が必要である 	

別紙B：WoE 評価のケーススタディ

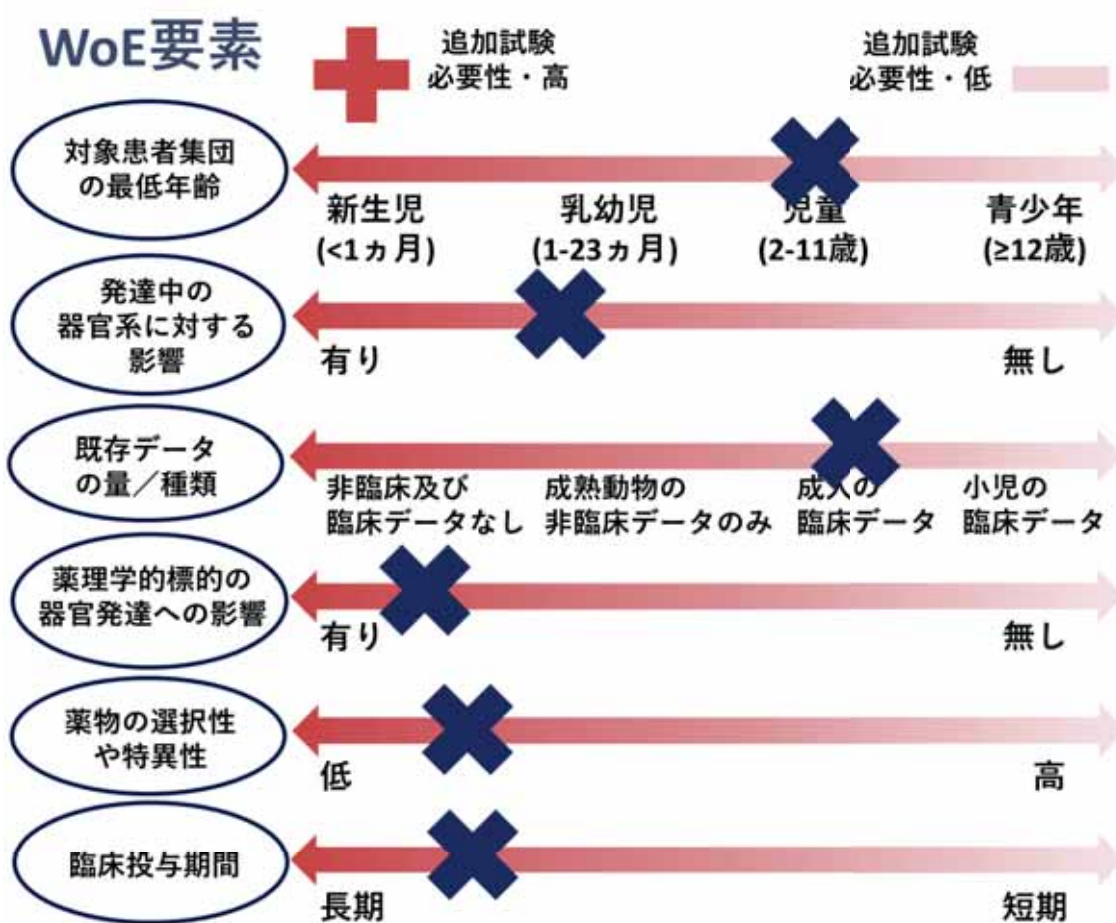
A. 薬理作用が既知の低分子化合物について、成人における臨床試験成績、及び、反復投与毒性試験を含む非臨床データが存在する。これらの情報において、対象小児集団（12歳以上）、臨床投与期間1ヵ月における発達中の器官に安全性上の懸念を示す情報は認められていない。WoE 評価を踏まえ、追加の非臨床試験を実施したとしても有用な情報は得られないと考えられる。



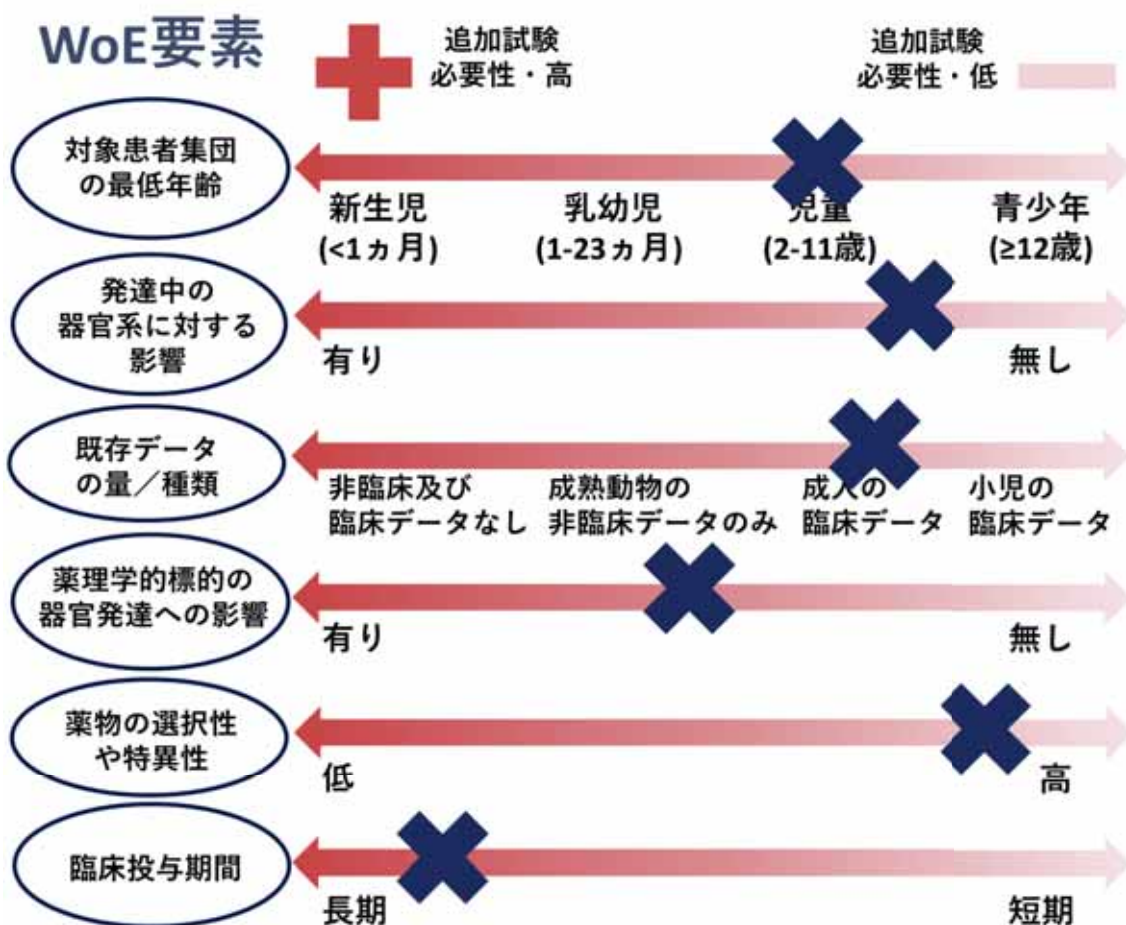
B. 新規作用機序を持つ低分子化合物について、新生児又は乳幼児への慢性使用を想定している。第 I 相臨床試験及び非臨床安全性データが存在し、これらのデータにおいて顕著な安全上の懸念は見出されていないが、発達中の器官系に対し薬理的に影響を及ぼす可能性がある。WoE 評価を踏まえ、標的となる発達中の器官系についてのエンドポイントを加えた JAS など、追加の非臨床試験が有用と考えられる。



C. CNS の発達に重要な薬理的標的を持つ低分子化合物について、小児（6 歳以上）への慢性使用を想定している。非臨床試験及び成人における臨床試験成績が存在する。発達中の CNS への影響について、臨床的なモニタリング及びリスク管理では対応できない懸念がある。その他の発達中の系に対しては適切な既存データがある。WoE 評価を踏まえ、離乳後の幼若動物を用い、その懸念に対応するために主要エンドポイントと追加の CNS へのエンドポイントを含む JAS が必要と考えられる。



D. 可溶性サイトカインを標的とするモノクローナル抗体について、小児（2歳以上）のリウマチ性及びアレルギー性疾患に対する慢性使用を想定している。動物及び成人において、可逆性の血清Igの減少及び注射部位反応のみが認められている。サルePPND試験で生後28日齢までの出生児の曝露は母動物と同程度であり、その後減少した。TDARの結果は対照群（出生後3～6ヵ月）と同様であった。WoE評価を踏まえ、追加のJASは必要ないと考えられる。



別紙 C：げっ歯類における離乳前の同腹児の割付け方法

JAS において離乳前のラットの児に投与を開始する場合には、母動物の哺育、腹児数や、その他遺伝的背景等の交絡因子を低減するよう試験を計画すべきである。これは、試験の同腹児をどのように構成し調整するかと、同腹児の投与群への割り付けや各児のエンドポイントのサブセットへの割り付けをどのように行うかによって対応される。3.9.1 章を参照されたい。

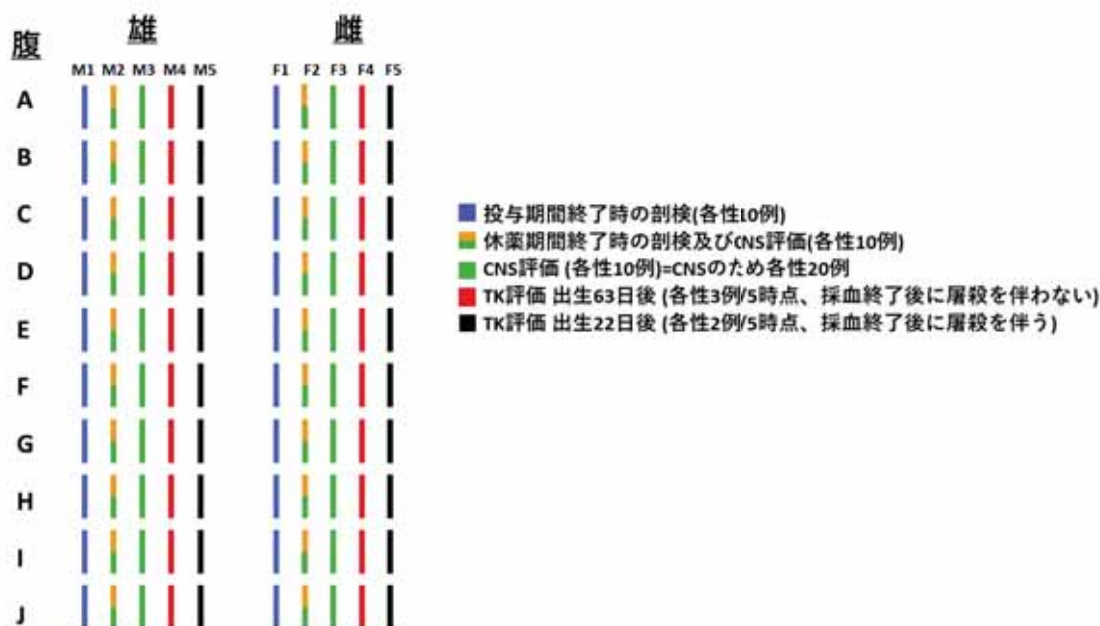
交絡因子を均等に分散する目的に対応する方法の一つとして、以下が挙げられる。

- 最低限の里子哺育の手法により同腹児を調整する（児の大部分、すなわち、健康状態のよい児はその本来の母動物のままとし、必要に応じ、調整したい腹児数や性比となるよう少数の児を同腹児として里子哺育する）
- 調整した同腹児の一腹全体を 1 つの用量群へ割り付ける
- その同腹児の個々の児をエンドポイントのサブセットに割り付ける

以下に、ラットを用いる JAS 本試験の事例として、出生 14 日後から 63 日後まで投与し、主要エンドポイント（出生 14、22、63 日後における TK 評価を含む）と特定の追加エンドポイント（休薬期間後の剖検及び CNS 評価）による評価を含む事例を示す。各用量群に最低限の里子哺育の手法が用いられた 10 腹（一腹の各母動物は A、B、C 等と示す）が割り当てられる。一腹あたり 10 例の児（可能な限り雄 5 例及び雌 5 例）となるよう調整されている。個体識別において、遺伝的に等しい児は任意に割り付け（1 例目の雌は F1、2 例目の雌は F2 等）、里子哺育された児は一番後ろの位置に割り付けられる（例えば、5 例目の雌として F5）。遺伝的な母動物（利用される場合）か里子哺育の母動物かの識別は試験データとして記録される。一腹の 10 例全てに同一用量が投与されるように、同腹児の一腹全体は同一の用量群へ割り付けられる。腹数は通常、選択したエンドポイントに必要な児の総数による。マイクロサンプリングは TK 評価のための動物数を最小化できることから、常に推奨される。

この事例においては、主要エンドポイントと特定の追加エンドポイントのそれぞれに、10 腹の各腹より児が割り付けられている（すなわち、各腹から 1~2 例の雄や雌を特定のエンドポイントのサブセットへ割り付ける）。里子哺育された児が交絡因子の影響を受けにくいエンドポイントへ割り付けられるよう、投与期間終了時の剖検や他の重要なエンドポイントには小さい識別番号を持つ児（すなわち、M1 又は M2）が割り付けられる。特定のエンドポイントによっては、同様の目的でサブセットへ割り付ける様々な方法がある。

図は一用量群（10腹：一腹あたり雌雄各5例）を示す



この事例では、一腹あたり各性 1 例の児（M1/F1 の青線、一用量群あたりの総数は雌雄各 10 例）が投与期間終了時の剖検に割り付けられている。第 2 のセットとして一腹あたり各性 10 例の児（M2/F2 の黄と緑の合線）が CNS 評価と休薬期間終了時の剖検に割り付けられている。これに第 3 のセットの各性 10 例（M3/F3 の緑線）をあわせ、一用量群あたり計 20 例/性が CNS 評価に割り付けられている。この CNS に関する評価には、投与期間中に実施される一般状態観察に加え、休薬期間中に実施される詳細な一般状態観察、行動検査、学習及び記憶の検査を含む。剖検時のサブセット（投与期間終了時及び休薬期間終了時）は詳細な神経病理組織学的評価を含む。第 4 のサブセット（M4/F4 の赤線）は出生 63 日後の TK 評価（連続サンプリング）に割り付けられる。採血終了後に安楽殺を伴わない連続サンプリングはこの齢の離乳後のラットにおいて可能であり、TK 評価にはこのサブセットの一部のみが必要であり、他の評価に使用することができる。母動物や腹による交絡因子は単回投与の TK 評価に重要ではないため、初回投与後に行われる出生 14 日後の TK サンプリングは、血液採取後に試験が継続されない予備の腹の児（非表示、各用量各時点あたり約 3~4 例）から行われる。最後に一腹あたり各性 1 例の児（M5/F5 の黒線）は出生後 22 日の TK 評価（マイクロサンプリングを用いない場合、通常、採血終了後に安楽殺を伴う血液採取を必要とする齢）に割り付けられる。

投与期間終了時の剖検（M1/F1）と休薬期間終了時の剖検（M2/F2）に使用する児において、離乳後の摂餌量測定、性成熟、臨床病理学的検査、長骨長の測定に関する主要な評価が行われる。生死、一般状態観察、体重測定に関する主要エンドポイントは全

ての児において評価される。

上記以外に試験に割り付ける児の数を減らすことが可能な他のオプションがある。例えば、一用量群あたり各性 10 例を連続サンプリングによる TK（一用量群あたり各性 4 例）と休薬期間終了時の剖検（一用量群あたり各性 6 例）に分割する。別な方法として、図示した事例において、第 4 のセットの一用量群あたり各性 10 例（M4/F4）を出生 63 日後の TK 評価のため一用量群あたり各性 4 例（採血終了後に安楽殺を伴わない連続サンプリングが通常実施可能な齢）と、CNS 評価のため一用量群あたり各性 6 例に分割する。第 3 のセットの一用量群あたり各性 10 例（M3/F3）もまた CNS のサブセットに割り付け、一用量群あたり計 16 例/性とする。これらのオプションはいずれも CNS 評価のために動物を追加する必要性を減らす。適切なエンドポイントと割り付けを含め試験計画についてよく考慮することにより、必要な腹数や動物の総数を最小化できる。