OECD/OCDE

2008/10/03

試験ガイドライン No.407

癌原性試験

ご利用に関する注意事項

本文書および本文書に掲載している翻訳は OECD による公式文書**ではありません。**本文書における翻訳と原文の間に用語ないし表現等の齟齬がある場合、**原文のみが有効とみなされます**。内容について疑義が生じた場合、もしくは研究に公的な認証を必要とする場合は、原文に準拠してください。

本翻訳を使用したことに起因する如何なる損害について、当所は一切責任を負いません。

This document and translation are NOT official work by OECD. In the event of any discrepancy between the original work and the translation, **only the text of the original work should be considered valid**. Refer to the original document when there is any doubt about the translation, or legal or official verification is needed for your study. NIHS takes no responsibility even if you get any damage by using this translation.

Original work:

OECD (2008), Test No. 407: Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/topics/policy-sub-issues/testing-of-chemicals/previous-test-guidelines/section-4/replaced-test-guidelines/replaced-test-guideline-407-2008.pdf.

©OECD(2008)

You are free to use this material subject to the terms and conditions available at http://www.oecd.org/termsandconditions/

経済協力開発機構 （OECD）の化学物質の試験に関するガイドライン Section 4 Health effects
邦訳: 国立医薬品食品衛生研究所(NIHS) 安全性予測評価部

2008 年 10 月 3 日採択

経済協力開発機構（OECD）の化学物質の試験に関するガイドライン

げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験

はじめに

1. 化学物質の試験に関する OECD ガイドラインは科学的進歩に照らして定期的に再検討される。テストガイドライン 407 の初版は 1981 年に採択された。1995 年には、試験に用いた動物から追加的な情報、特に神経毒性および免疫毒性に関する情報を得るための改訂版が採択された。

2. OECD は 1998 年に、既存のテストガイドラインを改訂するとともに内分泌撹乱作用が疑われる物質のスクリーニングと試験に関する新しいテストガイドラインを開発するという優先度の高い活動を開始した（8）。その活動の 1 つの要素は、「げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験」に関する既存の OECD ガイドライン（TG 407）を更新し、被験物質の内分泌活性の検出に適したパラメータを加えることである。この更新については、追加的パラメータの妥当性と実用性、および（抗）エストロゲン活性・（抗）アンドロゲン活性・（抗）甲状腺活性を有する化学物質の検出能、試験施設内および施設間再現性ならびに先の TG 407 で要求されたパラメータと新パラメータの不一致について検討するために、広範な国際的プログラムが実施された。それによって得られた膨大なデータが編集され、包括的な OECD 報告書において詳細に評価されている（9）。このテストガイドライン 407 更新版は、国際的な試験プログラムにおける経験および得られた結果の成果である。この TG 407 により、内分泌系を介する特定の作用を他の毒性学的作用と関連付けて考えることが可能になる。

ガイドラインの目的および限界

3. ある化学物質の毒性学的特性を判定および評価する場合には、急性毒性試験で最初の毒性情報を得たあとで反復経口投与毒性試験を行なってもさしつかえない。本 TG の目的は、検査対象を十分な範囲まで拡大し、毒性作用の標的になる可能性のある器官が受ける影響を研究することである。本 TG により、比較的限られた期間の反復暴露でも発生する可能性の高い、健康に対する危険有害性（神経系、免疫系、内分泌系に対する影響を含む）に関する情報が得られる。こうした特定の評価項目を用いると、神経毒性（これについては一層詳細な研究が当然必要であろう）を有する化学物質および甲状腺の生理機能に影響を及ぼす化学物質であれば判別されるはずである。両性または片性の若齢成熟動物の生殖器に影響を及ぼし、免疫学的作用を示す可能性のある化学物質に関するデータも得られるであろう。

4. TG 407 による結果を危険有害性の判定およびリスク評価に用いる。内分泌関連パラメータによる結果を「OECD 内分泌撹乱化学物質の試験と評価に関する概念的フレームワーク（Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disrupting Chemicals）」（11）に関連付けて報告する。本法は基本的な反復投与毒性試験を含んでおり、この毒性試験は、90 日間試験が必要とされていない化学物質（例えば、生産量が一定の限界を超えない物質）に使用されたり、長期試験の予備試験として実施される場合がある。暴露期間は 28 日間とする。

5. 被験物質の内分泌活性の検出に適したパラメータのバリデーションを行なうために実施された国際的プログラムでは、この TG 407 で得られるデータの質は試験施設の経験にかなり依存す

© OECD、（2008）
本文書を個人的に非営利目的で使用する場合には、出典を明らかにすれば OECD の事前の同意がなくとも自由に使用することができますが、営利目的で使用する場合には、必ず文書による OECD の承認が必要です。

ることが示された。これは特に、雌生殖器の周期的変化の病理組織学的評価、ならびに摘出の困難なホルモン依存性小器官の重量測定に関係している。病理組織検査に関するガイダンスは開発されており（19)、テストガイドラインを公表している OECD 公開ウェブサイトで閲覧可能である。本ガイダンスは病理学者の検査を支援し、試験法の感度を向上させることを意図している。さまざまなパラメータが内分泌関連毒性を示唆することが分かり、TG に導入されている。有用性を証明するデータが不十分であるか、または内分泌撹乱物質の検出に役立つそれらパラメータの能力を評価するバリデーションプログラムで弱い証拠しかみられなかったパラメータは、随意選択の評価項目として提案されている（付録 2 を参照のこと)。

6. バリデーションの過程で得られたデータから判断すると、(抗）アンドロゲンまたは（抗）エストロゲン作用様式を有する物質を漏れなく判別するには、本試験法の感度は十分ではないことが強調されなければならない（9)。本 TG は、内分泌撹乱作用に最も敏感な生活環で実施されるわけではない。にもかかわらず、バリデーションの過程では甲状腺機能に及ぼす作用が弱い化合物も強い化合物も判別され、エストロゲンまたはアンドロゲン受容体を通じて作用する内分泌活性物質では強いものも中程度のものも判別されたが、ほとんどの例でエストロゲンまたはアンドロゲン受容体に弱い影響を及ぼす内分泌活性物質は判別されなかった。したがって、本試験法を内分泌活性のスクリーニング試験法ということはできない。

7. したがって、そのような作用様式に関連する影響がないからといって内分泌系への影響がない証拠とみなすことはできない。そのため、内分泌系介在作用に関しては、化合物の特性評価は本 TG のみの結果に基づいてはならず、内分泌活性の特性評価のためには、化学物質に関する既存のすべてのデータを考慮に入れた証拠の重みづけ手法が用いられるべきである。この理由に関しては、内分泌活性に関する規制上の最終決定（化合物の特性評価）は、広範な根拠に基づくべきであり、本 TG の適用から得られる結果のみを当てにしてはならない。

8. すべての動物実験手順を動物管理に関する地域基準に従って実施することはさしつかえない。管理と処置に関する下記の説明は最小限の実施基準を示すものであり、規制が一層厳重な地域では代わりにその規制に従う。OECD は、動物の人道的扱いに関するガイダンスも提供している（14)。

9. 使用した定義を付録 1 に示す。

試験の概要

10. 数群の実験動物に対して被験物質を段階的な用量（1 群当たり 1 用量）で 28 日間にわたり 1 日 1 回経口投与する。投与期間中は動物を毎日、念入りに観察して毒性徴候の有無を確認する。死亡動物または試験中の安楽死動物は剖検し、試験終了時の生存動物は安楽死させて剖検する。28 日間試験では反復経口暴露の影響に関する情報が得られ、長期試験が必要であるかどうかが分かる。また、より長期の試験における濃度選択に関する情報が得られる。本 TG を用いて得られるデータから、被験物質の毒性の特性評価が可能になり、用量反応関係があるかどうかが明らかになるとともに無毒性量（NOAEL）の決定が可能になる。

試験方法

動物種の選択

11. げっ歯類の中ではラットが望ましいが、他のげっ歯類も使用できる。本 TG で規定するパラメータを別のげっ歯類を用いて検討する場合には、根拠を詳細に説明する。他の動物種でも毒性

物質に対してラットと同じように応答するはずであるという考えは生物学的にもっともなことであるが、小型の動物種を用いると、摘出する器官が小型になるという技術的問題のために変動が大きくなることもある。内分泌撹乱物質の検出に関する国際的バリデーションプログラムで使用された動物種はラットのみである。一般に使用されている実験動物の系統の中から健康な若齢成熟動物を選択する。雌では未経産・非妊娠の動物を用いる。離乳後投与可能になれば直ちに、かつ、いかなる場合であっても 9 週齢未満で投与を開始する。動物の試験開始時の体重の変動幅を最小限に抑え、雌雄それぞれに平均体重から± 20%を超えないようにする。長期試験の予備試験として反復経口投与を行なう場合は、両試験とも同じ系統および同じ入手先の動物を使用することが望ましい。

飼育および給餌条件

12. 実験動物管理に関する地域の基準に従って、すべての手順を行なう。動物飼育室の温度は 22℃（± 3℃）とする。相対湿度は目標値を 50～60%とし、30%以上で 70%を超えないこと（飼育室清掃時を除く）が望ましい。照明は人工照明で明暗周期を 12 時間明期、12 時間暗期とする。飼料としては通常の実験動物用飼料を用いてよい。飲料水は自由に摂取させる。なお、被験物質を混餌投与する場合は被験物質とよく混合できる飼料を選択することが必要であろう。動物は同性の動物を少数ずつまとめて収容する。科学的根拠がある場合は個別に収容してもさしつかえない。群飼の場合、1 ケージ当たりに収容する動物数を 5 匹以下とする。

13. 飼料は定期的に汚染物質の分析を行なう。飼料から採取した試料を報告書の最終化まで保管する。

動物の準備

14. 健康な若齢成熟動物を対照群と被験物質投与群に無作為に割り付ける。ケージは、その位置による影響が最小限になるような方法で配置する。動物には固有の識別番号を付与し、投与試験開始まで 5 日間以上ケージで飼育して飼育室環境に馴化させる。

投与の準備

15. 被験物質は強制経口投与、混餌投与または混水投与する。経口投与の方法は、試験の目的、被験物質の物理的／化学的性質およびトキシコキネティクスにより決まる。

16. 被験物質は必要に応じて適切な媒体に溶解するか、懸濁させる。可能な限り、まず水溶液／水性懸濁液の使用を考慮し、次に油（コーン油など）の溶液／懸濁液を、その後に他の媒体の溶液を考慮することを推奨する。水以外の媒体を使用する場合には、媒体の毒性を把握しておかなければならない。媒体中の被験物質の安定性を確認する。

手順

動物数および性別

17. 各用量で 10 匹以上（雌雄各 5 匹）の動物を用いる。中間安楽死を計画する場合には、動物数を試験終了前に計画屠殺する動物の数の分、増やしておく。毒性作用の可逆性、持続性または遅発性を投与終了後 14 日間以上観察するために対照群と最高用量群に各 10 匹（雌雄各 5 匹）からなるサテライト群の追加を考慮する。

© OECD、（2008）

用法

18. 一般的に被験物質投与群を少なくとも 3 群とし、対照群 1 群とともに試験するが、他のデータを評価して 1000 mg/kg 体重/日の用量で影響がないと予想される場合は限度試験を行なうことができる。適切なデータがない場合は、試験用量設定が可能になるように用量設定試験（同じ系統、同じ入手先の動物を用いて）を実施してもよい。対照群動物は、被験物質の投与以外、被験物質投与群と同様の方法で取り扱う。被験物質投与に媒体を使用する場合には、対照群には媒体を最大容量で投与する。

19. 被験物質または関連物質について利用可能な既存の毒性および（トキシコ）キネティクスデータを考慮に入れて用量を設定する。毒性徴候を誘発するが、死亡または重度の毒性症状を来すことのない用量を最高用量に設定する。その後は、用量を順次下げていき、用量相関的応答がみられるとともに最低用量では無毒性となるような用量（NOAEL）を設定する。用量段階の設定には通常公比 2～4 が最適であり、用量間隔が非常に大きい場合（公比 10 を超える場合など）には、4 群目の追加が望ましい。

20. 一般毒性（体重減少、肝臓・心臓・肺・腎障害など）、または毒性応答ではない可能性もあるそのほかの変化（摂餌量低下、肝腫大など）が認められる場合は、免疫系、神経系、内分泌系の変化に敏感な評価項目への影響を慎重に評価する。

限度試験

21. 本試験法の手順を用いて 1000 mg/kg 体重/日以上の 1 用量段階、または混餌投与もしくは混水投与の場合はその用量に相当する飼料中または飲水中の濃度（対体重比による）で試験しても、明確な毒性作用が示されない場合、かつ、構造的に関連のある化合物のデータからは毒性が予想されない場合には、3 用量段階を用いた完全な試験は必要ないであろう。ヒトへの暴露がより高用量の使用を示唆する場合を除き、限度試験が適用される。

投与

22. 動物への投与は 28 日間、毎週、7 日間毎日行なう。被験物質を強制経口投与する場合には、胃管または適切な挿管カニューレを用いて動物に単回投与する。 1 回で投与できる液体の最大容量は供試動物の大きさによる。容量は 1 mL/100 g 体重を超えてはならないが、水溶液の場合には例外的に 2 mL/100 g 体重の容量を使用可能である。通常、濃度が高くなるにつれて影響の増悪がみられる刺激性物質または腐食性物質の場合を除いて、すべての用量で容量が一定になるように濃度を調節して、投与容量の変動を最小限にする。

23. 混餌投与または混水投与を行なう物質では、被験物質含有量を、栄養または水分の正常なバランスに影響を及ぼさない程度にすることが重要である。被験物質を混餌投与する場合には、一定の飼料中濃度（ppm）で投与してもよいし、動物の体重に対する一定の用量で投与してもよい。代わりの方法を用いる場合には詳細に説明する。強制経口投与を行なう物質では、毎日ほぼ同時刻に投与を行ない、必要に応じて動物の体重に対する用量の比を一定に維持できるように調節する。反復投与を長期試験の予備試験として行なう場合には、両試験で同じような飼料を使用する。

© OECD、（2008）

観察

24. 観察期間は 28 日間とする。フォローアップ観察用のサテライト群の動物は、投与なしで 14 日間以上飼育を続け、遅発性毒性の発現、毒性の持続性または回復性を調べる。

25. 一般状態の観察は 1 日 1 回以上、望ましくは毎日同時刻に行なう。その際、予想される影響が投与後に最も強く表れるまでの期間を考慮する。動物の健康状態を記録する。すべての動物について病的状態および死亡の有無を 1 日 2 回以上確認する。

26. 詳細な症状観察を、初回投与前に 1 回（被験動物内比較のため）およびその後は週 1 回以上、すべての動物について実施する。この観察はホームケージ外のオープンアリーナで、できれば毎回同時刻に行なう。また、できれば試験施設で明確に定義されたスコアリングシステムを用いて、その結果を慎重に記録する。試験条件の変動を最小限にするとともに投与状況を知らされていない観察者が観察することが望ましい。皮膚・被毛・眼・粘膜の変化、分泌物および排泄物の発生、ならびに自律神経系活動（流涙、立毛、瞳孔の大きさ、異常な呼吸パターンなど）をはじめとする各種の徴候を観察する。歩行、姿勢、取扱い時の反応、ならびに間代性または強直性運動の存在、常同行動（過剰な身づくろい、反復性旋回など）、または奇妙な行動（自傷行動、逆方向への歩行など）も記録する（2）。

27. 暴露 4 週目には様々な種類の刺激（2）（例えば、聴覚、視覚、固有感覚刺激）（3）（4）（5）に対する感覚反応性の評価、握力検査（6）および自発運動量測定（7）を行なう。それらの標準的な手順についての詳細な情報は、それぞれの参考文献でも示されている。しかし、参考文献に示されている手順とは別の手順も使用できる。

28. 試験を亜急性（90 日間）試験の予備試験として実施する場合には、暴露 4 週目の機能観察を省略してもよい。その場合には、機能観察を本試験のフォローアップ試験で行なう。一方、反復投与試験から機能観察に関するデータが得られれば、次の亜急性試験における用量を設定する際に役に立つことがある。

29. 例外として、機能試験の成績に重大な影響を及ぼすほどの毒性徴候がその他の点で認められる群についても機能観察を省略してもよい。

30. 剖検では、すべての雌から膣垢を採取して性周期を決定することもできる（随意）。このような観察から、屠殺時における性周期の段階が分かり、エストロゲン感受性組織の組織学的評価が促進される（病理組織検査に関するガイダンス（19）を参照のこと）。

体重および摂餌量／摂水量

31. 体重はすべての動物について週 1 回以上測定する。摂餌量は週 1 回以上測定する。混水投与の場合は、摂水量も週 1 回以上測定する。

© OECD、（2008）

血液学的検査

32. 以下の血液学的検査項目を試験期間の最終時点に行なう。すなわち、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、網状赤血球数、白血球数および白血球分画、血小板数、血液凝固時間／能の測定である。被験物質または推定される代謝物に酸化能があるか、または酸化能が疑われる場合には、メトヘモグロビン濃度およびハインツ小体などのほかの項目も測定する。

33. 血液試料は、動物を安楽死させる直前またはその作業の一部として指定された部位から採取し、適切な条件で保管する。動物は安楽死前の一晩、絶食させる[1]。

臨床生化学検査

34. 組織に対する主要な毒性作用、具体的には腎臓および肝臓に対する影響を検討するために、動物（切迫屠殺動物や試験終了前の安楽死動物を除く）を安楽死させる直前またはその作業の一部としてすべての動物から得られた血液試料を用いて臨床生化学検査を行なう。血漿または血清を用いて、ナトリウム、カリウム、血糖、総コレステロール、尿素、クレアチニン、総蛋白およびアルブミン、肝細胞障害の指標である少なくとも 2 種の酵素（アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼなど）、胆汁酸を測定する。一定の状況下では、追加の酵素（肝臓などを起源とする）およびビリルビンを測定すれば有用な情報が得られることがある。

35. 随意ではあるが、試験の最終週に採尿時間を設定して採取した尿を用いて以下の尿検査を実施することができる。すなわち、外観、尿量、浸透圧または尿比重、pH、蛋白、糖、潜血／血液細胞である。

36. さらに、一般的な組織損傷を示す血漿または血清マーカーの検討のための研究を考慮する。被験物質の既知の性質から、関連する代謝プロファイルへの影響があると考えられるか、または疑われる場合には、カルシウム、リン酸塩、トリグリセリド、特殊なホルモン、コリンエステラーゼなどの他の項目も測定する。特定のクラスの化学物質に関してはこれらの項目を確認することが必要であり、そうでない場合はケースバイケースで確認する。

37. 内分泌関連評価項目の国際的評価において、甲状腺ホルモン（T3、T4）および TSH の測定の明確な利点が証明されなかったが、脳下垂体－甲状腺軸に対する影響が示唆される場合には、血漿や血清試料を保存して T3、T4、TSH（随意）を測定すれば役に立つかもしれない。これらの試料は−20℃で凍結保存してもさしつかえない。以下の要因はホルモン測定の変動および絶対的濃度に影響する可能性がある。

- 屠殺時間（ホルモン濃度には日内変動があるため）
- 屠殺方法（ホルモン濃度に影響する可能性のある過度のストレスを避ける）
- ホルモン濃度測定キット（標準曲線により異なる可能性がある）

[1] 多くの血清および血漿検査、特に糖検査では一晩の絶食が望ましい。このように薦める主要な理由は、非絶食条件では必然的に変動が大きくなり、その結果、微妙な影響が覆い隠されて評価が困難になりがちであるということである。しかしその一方で、一晩の絶食により動物の一般的な代謝が影響を受け、特に混餌投与試験では、被験物質の毎日の暴露が妨げられることがある。一晩の絶食を選択した場合の臨床生化学検査は試験 4 週目の機能観察後に行なう。

甲状腺活性を有する化学物質であるかどうかを判断する場合には、ホルモンレベルよりむしろ病理組織検査で判別すると一層信頼度が高い。

38. ホルモン測定専用の血漿試料はほぼ同時刻に採取する。甲状腺の病理組織学的変化に基づいて必要と考えられる場合には T3、T4、TSH 測定を考慮することを推奨する。ホルモン濃度測定で得られる数値は市販の測定キットにより異なる。したがって、一貫性のある背景データに基づいて評価基準を設定するのは不可能かもしれない。代わりに、研究室は管理用の変動係数を T3 および T4 については 25 未満に、TSH については 35 未満に維持できるように努める。すべての濃度を ng/mL の単位で記録する。

39. 背景ベースラインデータが不十分である場合には、投与開始前に、または、できれば試験群に含まれていない動物を用いて血液学的および臨床生化学検査項目の測定を考慮する。

病理検査

肉眼病理検査

40. すべての供試動物について、身体の外表、すべての開口部、頭蓋腔・胸腔・腹腔およびその内容物の注意深い検査を含む、完全で詳細な肉眼病理検査を行なう。すべての動物（切迫屠殺動物や試験終了前の安楽死動物を除く）の肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺＋凝固腺を含む精嚢腺（全体として）、胸腺、脾臓、脳、心臓を、付着する組織から適切な方法で切除して、乾燥しないように摘出後はできるだけ速やかに湿重量を測定する。前立腺複合組織を摘出する場合は、液が充満した精嚢腺の穿刺を避けるよう注意する。代替法として、精嚢腺と前立腺の重量は摘出および固定後に測定してもよい。

41. さらに、随意であるが上記のほかに 2 つの組織、すなわち、左右の卵巣（湿重量）、および頸部を含む子宮の重量を測定することもできる（重量測定のための子宮組織の切除と準備に関するガイダンスは TG 440 に用意されている（18））。なお、乾燥しないよう摘出後できるだけ速やかに重量測定を行なう。

42. 甲状腺重量（随意）は固定後に測定することもできる。切り出しは特に慎重に行ない、組織への損傷を避けるために必ず固定後に行なう。組織損傷により病理組織学的評価が損なわれる可能性がある。

43. 以下の組織は、組織の種類およびその後の病理組織検査計画（パラグラフ 47 を参照のこと）に最も適した固定液に保存する。すなわち、すべての肉眼的病変部、脳（大脳、小脳、橋を含む代表的な領域）、脊髄、眼球、胃、小腸および大腸（パイエル板を含む）、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、胸腺、甲状腺、気管および肺（固定液で膨張固定したあとで浸漬）、生殖腺（精巣および卵巣）、副生殖器（子宮および子宮頸部、精巣上体、前立腺＋凝固腺を含む精嚢腺）、膣、膀胱、リンパ節（最も近傍の所属リンパ節のほかにも、試験施設の経験に従って別のリンパ節を採取（15））、できるだけ筋肉に近い末梢神経（坐骨または脛骨）、ならびに骨格筋および骨ならびに骨髄（切片または代わりに新たに作製した骨髄液標本）である。精巣はブアン（Bouin）固定液または改変デビッドソン（Davidson）固定液に浸漬して固定することを推奨する（16）（17）。精巣の両極の位置で徐々に、かつ浅く白膜に針を刺して固定液を急速に浸透させなければならない。症状観察や他の所見から、追加の組織の検査が必要となることがある。また、被験物質の既知の性質に基づいて標的器官であろうと考えられる器官はすべて保存する。

© OECD、（2008）

44. 以下の組織から内分泌関連作用に関して有益な情報が得られるかもしれない。すなわち、生殖腺（卵巣および精巣）、副生殖器（子宮頸部を含む子宮、精巣上体、凝固腺を含む精嚢腺、背側および腹側前立腺）、膣、下垂体、雄の乳腺、甲状腺、副腎である。文献で十分に立証されていないが、雄の乳腺の変化はエストロゲン作用を有する物質に対して敏感である可能性がある。パラグラフ 43 に記載していない器官／組織の観察は随意である（付録 2 を参照のこと）。

45. 病理組織検査のガイダンス（19）には内分泌系組織の摘出、固定、薄切および病理組織検査の情報がさらに詳細に解説されている。

46. 国際的試験プログラムにおいて、性ホルモンの恒常性に対する作用の弱い化学物質により内分泌系に生じる微妙な作用を検出する上で、雌の生殖器の明らかな病理組織学的変化よりも、様々な組織における性周期の同期性の乱れの方が指標として有用であることが示唆された。そのような作用についての決定的な証拠は得られていないが、性周期の非同期性の徴候を卵巣（卵胞細胞、卵胞膜細胞、顆粒膜細胞）、子宮、子宮頸部、膣の病理組織検査の評価において考慮に入れることを推奨する。性周期の段階が膣垢検査で決定されていれば、それもこの比較に用いることができる。

病理組織検査

47. 対照群および高用量群のすべての動物について、器官の保存および組織の完全な病理組織検査を行なう。被験物質投与に起因する変化が高用量群でみられる場合には、病理組織検査の範囲をほかのすべての用量群まで拡大する。

48. 肉眼的病変はすべて検査する。

49. サテライト群がある場合には、被験物質投与群で影響が認められた組織および器官について病理組織検査を行なう。

データおよび報告

データ

50. 個体ごとのデータを示す。さらに、試験開始時の動物数、試験中に死亡または人道的理由により安楽死させた動物数および死亡または安楽死の時期、毒性徴候を示した動物の数、認められた毒性徴候の内容（毒性の発現時期、持続期間、程度を含む）、病変が認められた動物の数、病変の種類および程度、病変の種類ごとの動物の割合について、データのすべてを群ごとに総括表にまとめる。

51. 可能な限り、適切かつ一般的に認められた統計学的方法により数値データを評価する。用量範囲に沿って効果を比較する場合には、多重 t 検定の使用を避ける。統計学的方法は試験計画時に選択する。

52. データの信頼性管理のために、背景データの収集、ならびに数値データ（特に内分泌撹乱物質の検出に関連するパラメータの数値データ）の変動係数算出を薦める。実際の試験を評価する場合に、これらのデータを比較に用いることができる。

試験報告書

53. 試験報告書には以下の情報を記載する。

被験物質
- 物理的性質、純度および物理化学的特性
- 識別データ

媒体（必要に応じて）
- 水以外の場合は、媒体選択の妥当性

供試動物
- 使用した動物種および系統
- 動物数、週齢および性別
- 入手先、飼育条件、飼料など
- 試験開始時の個体ごとの体重
- ラットでない場合には、動物種選択の理由

試験条件
- 用量設定根拠
- 被験物質溶液／被験物質混合飼料の詳細、濃度の実測値、調製物の安定性および均一性
- 被験物質投与の詳細
- 該当する場合には、飼料／飲料水中の被験物質濃度（ppm）から実際の投与量（mg/kg体重/日）への換算方法
- 飼料の品質および水質の詳細

検討した随意選択の評価項目
- 検討した随意選択の評価項目のリスト

結果
- 体重および体重変化
- 必要に応じて、摂餌量および摂水量
- 性別および用量別の、毒性徴候を含む毒性応答データ
- 症状観察所見の種類、程度、持続期間（回復性があるかどうか）
- 感覚活性、握力および自発運動量評価結果
- 関連するベースライン値を含む血液学的検査値
- 関連するベースライン値を含む臨床生化学検査値
- 安楽死時の体重および器官重量データ
- 剖検所見
- すべての病理組織学的所見の詳細な説明
- 可能であれば吸収データ
- 必要な場合は、結果の統計処理

結果の考察

結論

© OECD、（2008）

付録 1

定義

用量（Dose）とは、被験物質の投与量のことである。用量は、1 日当たり、供試動物の単位体重当たりの被験物質重量（mg/kg 体重/日など）または一定の飼料中濃度として表わされる。

用法（Dosage）とは、用量、投薬頻度、投与期間を含む一般用語である。

明白な毒性（Evident toxicity）とは、被験物質の投与により生じる明確な毒性徴候を表す一般用語である。これは危険有害性評価が可能になる程度の毒性徴候であり、投与量の増加に伴って重度の毒性徴候が発現し、死亡に至る可能性が高くなることを想定できる程度の毒性徴候である。

NOAEL は no-observed-adverse-effect level（無毒性量）の略語である。これは被験物質の投与に起因する有害所見がまったく認められない最高投与量である。

エストロゲン性（Oestrogenicity）とは、化学物質が哺乳動物で天然のエストロゲンホルモン（エストラジオール 17βなど）のように働く能力のことである。

アンドロゲン性（Androgenicity）とは、化学物質が哺乳動物で天然のアンドロゲンホルモン（テストステロンなど）のように働く能力のことである。

甲状腺活性（Thyroid activity）とは、化学物質が哺乳動物で天然の甲状腺ホルモン（T3 など）のように働く能力のことである。

抗エストロゲン性（Antioestrogenicity）とは、化学物質が哺乳動物で天然のエストロゲンホルモン（エストラジオール 17βなど）の作用を抑制する能力のことである。

抗アンドロゲン性（Antiandrogenicity）とは、化学物質が哺乳動物で天然のアンドロゲンホルモン（テストステロンなど）の作用を抑制する能力のことである。

抗甲状腺活性（Antithyroid activity）とは、化学物質が哺乳動物で天然の甲状腺ホルモン（T3 など）の作用を抑制する能力のことである。

バリデーション（Validation）は、試験法の操作上の要求事項および限界を特徴づけるとともに、その信頼性、および特定の目的に対する妥当性を証明するためにデザインされた科学的検討方法である。

© OECD、（2008）

付録 2

TG 407 において内分泌撹乱物質（ED）検出に推奨される評価項目

必須の評価項目	随意選択の評価項目
器官重量	
- 精巣 - 精巣上体 - 副腎 - 前立腺＋凝固腺を含む精嚢腺	- 卵巣 - 子宮頸部を含む子宮 - 甲状腺
病理組織検査	

- 生殖腺：
  - 精巣および
  - 卵巣
- 副生殖器：
  - 精巣上体
  - 前立腺＋凝固腺を含む精嚢腺
  - 子宮頸部を含む子宮
- 副腎
- 甲状腺
- 膣
	- 膣垢検査
	- 雄の乳腺
	- 下垂体

ホルモン測定	
	- 循環血中T3、T4濃度 - 循環血中TSH濃度

© OECD、（2008）

参考文献

(1) OECD (Paris, 1992). Chairman's Report of the Meeting of the ad hoc Working Group of Experts on Systemic Short-term and (Delayed) Neurotoxicity.

(2) IPCS (1986). Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. Environmental Health Criteria Document No. 60

(3) Tupper, D.E., Wallace, R.B. (1980). Utility of the Neurologic Examination in Rats. Acta Neurobiol. Exp., 40, 999-1003.

(4) Gad, S.C. (1982). A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. J. Toxicol Environ. Health, 9, 691-704.

(5) Moser, V.C., McDaniel, K.M., Phillips, P.M. (1991). Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of Amitraz. Toxicol. Appl. Pharmacol., 108, 267-283.

(6) Meyer O.A., Tilson H.A., Byrd W.C., Riley M.T. (1979). A Method for the Routine Assessment of Fore- and Hindlimb Grip Strength of Rats and Mice. Neurobehav. Toxicol., 1, 233-236.

(7) Crofton K.M., Howard J.L., Moser V.C., Gill M.W., Reiter L.W., Tilson H.A., MacPhail R.C. (1991). Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. Neurotoxicol. Teratol. 13, 599-609.

(8) OECD (1998). Report of the First Meeting of the OECD Endocrine Disrupter Testing and Assessment (EDTA) Task Force, 10th-11th March 1998, ENV/MC/CHEM/RA(98)5.

(9) OECD. (2006). Report of the Validation of the Updated Test Guideline 407: Repeat Dose 28-day Oral Toxicity Study in Laboratory Rats. Series on Testing and Assessment No 59, ENV/JM/MONO(2006)26.

(10) OECD. (2002). Detailed Review Paper on the Appraisal of Test Methods for Sex Hormone Disrupting Chemicals. Series on Testing and Assessment No 21, ENV/JM/MONO(2002)8.

(11) OECD (2002).Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disrupting Chemicals. http://www.oecd.org/document/58/0,3343,fr_2649_37407_2348794_1_1_1_37407,00.html

(12) OECD (2006). Final Summary report of the meeting of the Validation Management Group for mammalian testing. ENV/JM/TG/EDTA/M(2006)2.

(13) OECD (2006). Draft Summary record of the meeting of the Task Force on Endocrine Disrupters Testing and Assessment. ENV/JM/TG/EDTA/M(2006)3.

(14) OECD (2000) Guidance document on the recognition, assessment and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation. Series on Testing and Assessment No 19. ENV/JM/MONO(2000)7.

(15) P. Haley, R. Perry, D. Ennulat, S. Frame, C. Johnson, J.-M. Lapointe, A. Nyska, P.W. Snyder, D. Walker, and G. Walter (2005). STP Position Paper: Best Practice Guideline for the Routine Pathology Evaluation of the Immune System. Toxicol Pathol 2005 33: 404-407.

(16) Hess RA, Moore BJ. (1993) Histological Methods for the Evaluation of the Testis. In: Methods in Reproductive Toxicology, Chapin RE and Heindel JJ (eds). Academic Press: San Diego, CA, pp. 52-85.

(17) Latendresse JR, Warbrittion AR, Jonassen H, Creasy DM.(2002) Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. Toxicol. Pathol. 30, 524-533.

(18) OECD. (2007). OECD Guideline for Testing of Chemicals N°440: Uterotrophic Bioassay in Rodents: A short-term screening test for oestrogenic properties.

(19) OECD. (2008). Guidance Document on histopathology. Endocrine disruption: Guidelines for histological evaluation (draft). Series on Testing and Assessment.

© OECD、（2008）