OECD/OCDE

2018/06/25

試験ガイドライン No.414

出生前発生毒性試験

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 (2018), Test No. 414: Prenatal Developmental Toxicity Study, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264070820-en.

©OECD(2018)

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

OECD/OCDE 414
採択
2018 年 6 月 25 日

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

出生前発生毒性試験

はじめに

1. OECD の化学物質の試験に関するガイドラインは、科学の進歩を踏まえて定期的に再検討がなされる。この試験ガイドライン（TG 414）の初版は 1981 に公布され、2001 年には OECD の「生殖発生毒性試験に関する専門家集団（Expert Group on Reproductive and Developmental Toxicity Testing）」が出した見解に基づき改訂がなされた(1)。2018 年、TG 414 は再度改訂され、内分泌かく乱化学物質の検出力を高めることを目的として評価項目が追加された。

2. 試験方法に評価項目を追加することについての科学的および技術的懸念に取り組んだ実現可能性調査を行った後に選択された内分泌かく乱物質関連評価項目（胎児の AGD および母動物の甲状腺ホルモン）が、TG 414 に追加された(2)。2018 年の最新版では、TG 414 にラット固有の要件が含まれるため、ラットには適用されるが、ウサギには適用されない。

最初に考慮すべき事項

3. この発生毒性試験ガイドラインは、出生前曝露が妊娠被験動物および発生中の生物に与える影響について全般的な情報を得られるように計画されている。この情報には、胎児の死亡、構造異常、または発育異常と同様に母体への影響の評価などが含まれる。機能不全は発生の重要な要素であるが本ガイドラインには含まれない。機能不全については、別の試験、または本試験の補足として、発生神経毒性に関するガイドラインに基づき検討される。機能不全、その他の出生後の影響に関する試験については、ガイドライン 416、421／422、426 および 443(3～7)を参照する。

© OECD, (2018)

本資料は、http://www.oecd.org/termsandconditions/に掲載されている諸条件に従って自由に使用することができる。

本ガイドラインは、2018 年 6 月 25 日付けにて作成された手順書に従い、「化学品評価におけるデータ相互受け入れに関する理事会決定（Decision of the Council on the Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals）」の「補遺 I」を改訂するための「権限の委任に関する理事会決定（Decision of the Council on a Delegation of Authority）」に則って［C（2018）49］、OECD の化学品委員会と化学品、農薬、バイオテクノロジーに関する作業部会との合同会議で改訂された。

4. 本ガイドラインは、被験化学物質の物理化学的性状または毒性学的特性といった特定の知識に基づき、個別に調節が必要となる場合がある。こうした調節は、より情報量の多い試験が実施できることが説得力のある科学的根拠によって示唆される場合に許容される。この場合、その科学的根拠を必ず試験報告書に記録すること。本試験の実施にあたっては、OECD の人道的理由による安楽死に関するガイダンス文書 19 にて概説されている指針および検討事項に従わなければならない(8)。

用いた定義を補遺 A に示す。

試験の概要

5. 通常、妊娠動物への被験化学物質の投与は、少なくとも着床から安楽死予定日の前日までとする。安楽死予定日は、早産によるデータ欠損のリスクがなく正常な出産日に可能な限り近い日とすること。本ガイドラインは、器官形成期（げっ歯類 5〜15 日目、ウサギ 6〜18 日目など）だけでなく、適宜、着床前から妊娠の全期間を経て帝王切開日までの作用も検討の対象とする。帝王切開後は速やかに母動物を安楽死させて子宮内容物を検査し、胎児の軟組織および骨格の異常を評価する。

試験の準備

動物種の選択

6. 試験では最も妥当な動物種を用い、出生前発生毒性試験で一般的に用いられている実験動物種および系統を使用することが推奨される。試験の動物種としては、げっ歯類種はラット、非げっ歯類種はウサギが望ましい。別の動物種を使用する場合には、その妥当性を示すこと。

飼育および給餌条件

7. 動物飼育室の温度は、げっ歯類 22 ± 3°C、ウサギ 18 ± 3°C 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。

8. 試験結果の解釈に影響を及ぼす傾向がある、または影響を及ぼす可能性のあるホルモン活性物質（植物エストロゲンなど）を、許容できないほど高濃度に含有している可能性のある飼料または床敷を避けるよう注意する。実験動物用飼料中に高濃度の植物エストロゲンが含まれると、げっ歯類の子宮重量が増加することが知られている。植物エストロゲンの摂取量の目安は、げっ歯類用飼料 1 g 当たりゲニステイン相当量として 350 µg を超えないものとする。

9. 交配にはその目的に合ったケージを用いる。交配したげっ歯類は個別飼育が好ましいが、少数匹ずつ飼育してもよい。交配した雌動物には、妊娠末期に巣材を与える。ウサギの場合は個別飼育とする。

供試動物の準備

10. 以前に実験に供されたことのない健康な動物を、飼育室環境に 5 日間以上馴化

© OECD 2018

した後に用いる。供試動物については、動物種、系統、供給元、性、体重または週齢を明らかにする。現実的に可能な限り、全試験群の動物の体重および週齢を均一にする。各用量群とも未経産の若齢成熟雌動物を用いる。同種同系統の動物を交配させ、兄妹交配は避ける。げっ歯類では膣栓または膣垢中の精子が観察された日、ウサギでは交尾日または、人工授精を行った場合はその実施日を妊娠 0 日とする。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。各個体には固有の識別番号を付与する。交配した雌動物は対照群と投与群に無作為に割り付け、同じ雄で交配させた雌は全群に均一に分配する。同様に、同じ雄で人工授精を行った雌は全群に均一に分配する。

試験の手順

動物数および性別

11. 各投与群および対照群には、剖検の時点で着床部位のある雌がおよそ 20 匹得られるように十分な数の雌を含める。着床部位のある雌が 16 匹未満の場合、その群は妥当とみなされない場合がある。母体死亡率が 10%を超えない限り、試験は無効とはならない。

投与の準備

12. 投与を円滑にするために溶媒、その他の添加物を使用する場合は、被験化学物質の吸収、分布、代謝、滞留、排泄に対する影響、被験化学物質の化学的性質に対する影響（その毒性学的特性を変える可能性のあるもの）、および動物の摂餌量や飲水量または栄養状態に対する影響といった特性について考慮する。溶媒は、発生毒性のないもの、および生殖への影響のないものを使用すること。

用法

13. 通常、被験化学物質は着床（交配後 5 日目など）から予定帝王切開の前日まで毎日投与する。予備試験が実施されている場合、着床前損失の可能性が高いことが示唆されていない限り、交配から安楽死予定日の前日まで期間を延長して、全妊娠期間を投与期間としてもよい。妊娠中の不適切な取り扱いやストレスは、出生前死亡に至る可能性のあることが知られている。投与と無関係な要因による胎児死亡を防ぐため、妊娠動物の不必要な取り扱いや騒音などの外的因子によるストレスを回避すること。

14. 少なくとも 3 段階の用量および同時対照を設ける。健康な動物を対照群と投与群に無作為に割り付ける。用量は、毒性作用が段階的に生じるように間隔をあけて設定する。被験化学物質の物理化学的性質や生物学的影響による制限がない限り、最高用量は一定の発生毒性や母体毒性（臨床徴候または体重減少）を生じさせるが、死亡や重度の苦痛を引き起こさない用量とする。中間用量は少なくとも 1 用量において、最小の毒性作用が観察できる用量とする。最低用量は、母体毒性および発生毒性のいずれの徴候も生じることのない用量とする。最高用量から最低用量に至る各用量段階は、投与量と影響との関連性を明らかにし、無毒性量（NOAEL）か、またはベンチマーク用量を決定できるような検出限界に近い用量を得られるように設定する。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 群目を追加した方がよい場合が多い。母体 NOAEL の設定が

© OECD 2018

目的であるものの、これを設定しない試験も実施可能である(9)。

15. 用量段階の設定では、被験化学物質や関連物質についてその時点で得られているあらゆる毒性データ、ならびに代謝やトキシコキネティクスに関する追加情報を考慮する。これらの情報は投与法の適切さを示す根拠ともなる。

16. 同時対照群を設け、投与群と同じ投与法にて行う。この群は擬似投与対照群、または被験化学物質投与に溶媒を用いる場合には溶媒対照群とする。すべての群に同容量の被験化学物質または溶媒を投与する。対照群の動物は、投与群の動物と同様に取り扱う。溶媒対照群には、用いられる最大量の溶媒を投与すること（最低用量群と同様）。

限度試験

17. 本ガイドラインに記載された手順を用いて経口投与試験を行った結果、1000 mg/kg 体重/day 以上の 1 用量において毒性がみられなかった場合、かつ、構造的または代謝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。ヒトの予想曝露量から、限度試験においてより高い経口用量を使用する必要性が示唆されることもある。吸入や経皮など、他の投与方法については、被験化学物質の物理化学的性状から達成可能な最高曝露量が示唆されることが多い（例えば、皮膚投与は重度の局所毒性を生じない）。

投与

18. 被験化学物質または溶媒は通常、挿管にて経口投与する。他の投与経路を用いる場合は、試験実施者はその選択について妥当性と理由を明らかにする。またこの場合、試験方法を適宜修正すること(10～12)。被験化学物質は毎日ほぼ同じ時刻に投与する。

19. 各個体に対する投与量は、通常その個体の直近の体重値に基づいて決定する。ただし、妊娠後期の投与量調整には注意を要する。過度な母体毒性を防ぐために、用量選択には既存のデータを用いる。ただし、投与群の母動物に過度の毒性が認められた場合には、該当する動物を安楽死させる。複数の妊娠動物が過度な毒性の徴候を示す場合は、その用量群を終了することを考慮すること。被験化学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単回投与することが望ましい。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。容量は体重 100 g 当たり 1 mL を超えてはならないが、水溶液の場合には例外的に体重 100 g 当たり 2 mL を使用してもよい。コーン油を溶媒として用いる場合は、体重 100 g 当たり 0.4 mL を超えないようにすること。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。

母動物の観察

20. 一般状態の観察は少なくとも 1 日 1 回、投与後に作用がピークに達する時間を考慮してなるべく毎日同一時刻に実施し、その結果を記録する。死亡、瀕死、関連する行動変化、および明らかな毒性徴候など、動物の状態を記録すること。

体重および摂餌量

© OECD 2018

21. 0日（外部の繁殖業者から交配済み動物を入手する場合は妊娠3日目まで）、投与初日、投与期間中（少なくとも3日おき）、および安楽死予定日に体重を測定する。妊娠雌動物と非妊娠雌動物の体重測定値を混同してはならない。

22. 体重測定と同じ日に3日間隔で摂餌量を記録する。

剖検

23. 雌を出産予定日の前日に安楽死させる。安楽死予定日より前に流産または早産の徴候を示す雌は安楽死させ、肉眼的病理検査に供する。

24. 母動物については、試験期間終了時、または試験期間中の死亡時に、構造異常の有無を肉眼検査する。甲状腺の重量測定および病理組織学的検査をすべての母動物について実施し、病理学的変化を調べる。帝王切開中の母動物の評価、およびその後の胎児分析は、バイアスを最小限にするために投与群をふせたまま実施することが望ましい。試料採取を投与群間で無作為に行う（すなわち、1つの用量群からすべてを採取して次の用量群へと順に試料採取することを避ける）ことで、サンプリングバイアスを回避するように努める。

子宮内容物の検査

25. 試験期間終了後ただちに、または死亡後可能な限り速やかに子宮を摘出し、動物の妊娠状態を確認する。一見して非妊娠と思われる子宮は、非妊娠状態を確認するためにさらに検査する（例えば、げっ歯類では硫化アンモニウム染色、ウサギではSalewski染色または他の適当な代替法を用いる）(13)。

26. 頸部を含む妊娠子宮の重量を測定する。試験期間中に死亡した動物では、妊娠子宮の重量は測定しない。

27. 各妊娠動物の黄体数を計数する。

28. 子宮内容物について、胚死亡または胎児死亡および生存胎児の数を調べる。受胎産物の相対死亡時期を推定するために、吸収の程度を記載する（早期か、後期か。定義は補遺を参照）。

胎児の検査

29. 各胎児の性別および体重を調べる。げっ歯類の生存胎児についてはすべて、肛門・生殖結節間距離（AGD）を測定する。

30. 各胎児について外表異常を調べる(14)。

31. 胎児について、骨格および内臓の異常（変異および奇形・異常など）を検査する(15～32)。胎児変化を分類することが望ましいが、必須ではない。分類を行う場合は、各分類を定義する判定基準を明確に示すこと。特に生殖器系に注意を払い、発生変化の徴候の有無を調べる。（骨格および軟部組織の奇形について調べた）すべての胎児について、外表からの胎児の性別（肉眼的検査により判定）を内部（性腺）の性別と比較する。また、雄の胎児については不完全な精巣下降／停留精巣の徴候にも注意する。

32. げっ歯類では、1腹仔のおよそ半数について骨格変化の有無を検査する。残り

© OECD 2018

の半数については、一般に認められているか所定の連続切片作製法を用いるか、詳細な全体解剖を用いて内臓異常を検査する。

33. ウサギなどの非げっ歯類では、全胎児について内臓および骨格異常を検査する。これらの胎児の体について、内臓異常を詳細な解剖で評価し、適宜、心臓の内部構造をさらに評価する(33)。この方法で検査した半数の胎児の頭部を分離して、標準的な連続切片作製法(34)または同等に高感度の方法にて処理し、内臓異常（眼、脳、鼻道および舌）を評価する。頭部を分離した胎児を含めた全胎児の体について、げっ歯類と同一の方法にて骨格異常を検査する。

採血（ラット）

34. 血液試料はすべて適切な条件下で保管する。採血は以下の時点で行う。

- 終了時、すべての母動物から。剖検日の朝、（2 時間以内など）短時間で甲状腺ホルモン（T4、T3）および甲状腺刺激ホルモン（TSH）の必須評価用に採取する。投与群間で無作為に採血することで、サンプリングバイアスを回避するように努める。非妊娠雌動物の血液試料は、妊娠母動物と一緒にプールしてはならない。
- 関連性がある場合には、任意に他のホルモンを測定してもよい。
- 精度管理上、被測定物質、特に内分泌系機能に関連するパラメータについて背景データを収集し、変動係数を算出するよう推奨する。これらのデータは、その後の試験を評価する際に比較目的で使用することができる。

データおよび報告

データ

35. データは個体ごとに提示しなければならない。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、妊娠雌動物数、毒性徴候を示した動物数、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）、病理組織学的変化の種類（甲状腺）、胎児所見の種類、ならびに同腹ごとのすべての関連データについて、全データを群ごとに総括表にまとめる。

36. データ解析の単位として母動物を用い、適切な統計方法により数値データを評価する。一般に認められた統計方法、または最新の統計方法を用いる。用いる統計方法は試験計画で定めておく。安楽死予定日までに死亡した動物のデータも報告する。これらのデータは、関連性が認められれば群平均に含めてもよい。こうした動物のデータの関連性および群平均に含めるか除外するかの判断は、個別に行う。

© OECD 2018

結果の評価

37. 出生前発生毒性試験の結果は、認められた影響に照らして評価する。評価には以下の情報を含める。

- 被験化学物質への動物の曝露と、すべての所見の発生率および重症度との関係の有無の評価を含む、母体および胎児試験結果
- 胎児の外表異常、内臓異常、および骨格異常を分類した場合、その分類に使用した基準
- 必要に応じて、試験結果の解釈に役立つ対照背景データ
- すべての百分率および指標の計算に使用した数値（原資料）
- 独立した審査者または統計担当者が解析結果を再評価および再構成できるよう、解析方法の十分な説明を含む、試験結果に関する妥当な統計解析結果

38. 毒性作用がないことを実証する試験では、被験化学物質の吸収および生物学的利用能を確立するためにさらなる調査の実施を考慮する。

試験報告書

39. 試験報告書または試験記録には以下の具体的な情報を含める。

- 被験化学物質：
  - IUPAC または CAS 名、CAS 番号、SMILES または InChI コード、構造式、純度、該当する場合で現実的に可能であれば不純物などの化学的識別情報。
  - 入手先、ロット番号、入手可能であれば使用期限
  - 既知であれば、被験化学物質の安定性
  - 既知であれば、被験化学物質の均一性
- 単一成分物質：
  - 外観、水溶解度およびその他の関連する物理化学的性状
- 多成分物質、UVCB 物質および混合物：
  - 成分の化学的識別情報（上記参照）、定量的組成、ならびに関連のある物理化学的性状によって可能な限り特徴付けること
- 溶媒（該当する場合）：
  - 水以外の場合は、溶媒選択の妥当性
- 供試動物
  - 使用した動物種および系統
  - 動物数および週齢
  - 供給元、飼育条件、飼料など
  - 試験開始時の個体ごとの体重
- 試験条件
  - 用量設定根拠
  - 被験化学物質溶液／被験化学物質混合飼料の調製方法の詳細、濃度の実測値、調製物の安定性および均一性
  - 被験化学物質投与の詳細
  - 該当する場合には、飼料／飲料水中の被験化学物質濃度（ppm）から実

© OECD 2018

際の用量（mg/kg 体重/day）への換算方法
- ○ 環境条件
- ○ 飼料品質および水質の詳細

結果

- 以下のような用量別の母体毒性反応データ
  - ○ 試験開始時の動物数、生存動物数、妊娠数、流産数、早産動物数
  - ○ 試験中の死亡日または試験終了までの生存の可否
  - ○ 安楽死予定日までに死亡した動物のデータは報告対象であるが、群間統計比較には含めない
  - ○ 異常一般状態のごとの観察日とその後の経過
  - ○ 体重、体重変化、妊娠子宮重量（オプションとして妊娠子宮重量で補正した体重変化を含む）
  - ○ 摂餌量、および測定してあれば摂水量
  - ○ ラットの母動物の甲状腺ホルモン T4、T3 および甲状腺刺激ホルモン（TSH）、ならびにその他のホルモン濃度（測定した場合）、各ホルモンの測定に用いたキットまたは抗体の詳細、試験施設における対照背景データ（平均値および標準偏差）、検出限界／定量限界
  - ○ 剖検所見（子宮重量を含む）
  - ○ 母体および発生への影響に関する NOAEL 値をそれぞれ報告すること
- 以下を含む、着床を認めた 1 腹の用量別発生評価項目
  - ○ 黄体数
  - ○ 着床数、生存胎児、死亡胎児および吸収の数と割合
  - ○ 着床前および着床後損失の数と割合
- 以下を含む、生存胎児を認めた 1 腹の用量別発生評価項目
  - ○ 生存出生児の数と割合
  - ○ 性比
  - ○ 胎児体重（できれば性別ごとおよび雌雄合わせて）
  - ○ すべてのげっ歯類の胎児の肛門・生殖結節間距離（性別ごとおよび体重に関連付けて統計学的評価を行う）
  - ○ 外表、内臓、骨格の奇形、および他の関連する変化
  - ○ 妥当ならば、分類の基準
  - ○ 何らかの外表、内臓、骨格の異常を有する胎児および 1 腹仔の総数と割合、ならびに個別の異常および他の関連する変化（雄の胎児については不完全な精巣下降／停留精巣の徴候にも注意する）の種類と発生率
- 結果の考察
- 結論

結果の解釈

40. 出生前毒性試験では、妊娠中にある物質を反復経口投与したときの影響について情報を得ることができる。試験結果は、亜慢性試験、生殖試験、トキシコキネティクス試験その他の試験の所見と合わせて解釈する。一般毒性および発生毒性の両方の評価項目に重点が置かれるため、本試験の結果では、一般毒性のないときに生じる発

© OECD 2018

生影響と、母動物でも毒性を認めるレベルでのみ発現する発生影響との識別が可能である(35)。生殖および発生の結果の解釈に際しては、OECD のガイダンス文書 43 を参照すること(36)。げっ歯類における内分泌系および生殖器系の試験の組織学的評価に関する OECD ガイダンス文書 106(37)には、（内分泌系）諸器官の処理および評価について情報を提供しており、TG 414 試験に役立つと考えられる。

© OECD 2018

参考文献

(1) Organisation for Economic Co-operation and Development (1995). Report of the OECD *Ad Hoc* Working Group on Reproduction and Developmental Toxicity. Copenhagen, Denmark, (13th-14th June 1995).

(2) OECD (2018). Feasibility Study for Minor Enhancements of TG 414 with ED Relevant Endpoints. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No.285, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(3) OECD (2001), Test No. 416: Two-Generation Reproduction Toxicity, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264070868-en

(4) OECD (2016), Test No. 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264264380-en

(5) OECD (2016), Test No. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264264403-en

(6) OECD (2007), Test No. 426: Developmental Neurotoxicity Study, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264067394-en

(7) OECD (2012), Test No. 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264185371-en

(8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluations, Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, (No. 19), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(9) Kavlock R.J. et al. (1996). A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. Risk Anal. 16, 399-410.

(10) Kimmel, C.A. and Francis, E.Z. (1990). Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. Fundam. Appl. Toxicol. 14, 386-398.

(11) Wong, B.A., et al. (1997). Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. CIIT Activities 17, 1-8.

(12) US Environmental Protection Agency (1985). Subpart E - Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350: Inhalation Developmental Toxicity Study.

(13) Salewski, E. (1964). Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterus der Ratte. Naunyn-Schmeidebergs Arch. Pharmakol. Exp. Pathol. 247, 367.

(14) Edwards, J.A. (1968). The External Development of the Rabbit and Rat Embryo. In: Adv. Teratol. D.H.M. Woolam (ed.), Vol. 3. Academic Press, NY.

© OECD 2018

(15) Inouye, M. (1976). Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. Congen. Anom. 16, 171-173.

(16) Igarashi, E. et al. (1992). Frequency of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected By the Double Staining Technique for Ossified and Cartilaginous Skeleton in Rat Foetuses. Congen. Anom. 32, 381-391.

(17) Kimmel, C.A. et al. (1993). Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. Teratology 47, 229-242.

(18) Marr, M.C. et al. (1988). Comparison of Single and Double Staining for Evaluation of Skeletal Development: The Effects of Ethylene Glycol (EG) in CD Rats. Teratology 37, 476.

(19) Barrow, M.V. and Taylor, W.J. (1969). A Rapid Method For Detecting Malformations in Rat Foetuses. J. Morphol. 127, 291-306.

(20) Fritz, H. (1974). Prenatal Ossification in Rabbits as Indicative of Foetal Maturity. Teratology 11, 313-320.

(21) Gibson, J.P. et al. (1966). Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies. Toxicol. Appl. Pharmacol. 9, 398-408.

(22) Kimmel, C.A. and Wilson, J.G. (1973). Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations? Teratology 8, 309-316.

(23) Marr, M.C. et al. (1992). Developmental Stages of the CD (Sprague-Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. Teratology 46, 169-181.

(24) Monie, I.W. et al. (1965). Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. Supplement to Teratology Workshop Manual, pp. 163-173.

(25) Spark, C. and Dawson, A.B. (1928). The Order and Time of Appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, With Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. Am. J. Anat. 41, 411-445.

(26) Staples, R.E. and Schnell, V.L. (1964). Refinements in Rapid Clearing Technique in the KOH- Alizarin Red S Method for Fetal Bone. Stain Technol. 39, 61-63.

(27) Strong, R.M. (1928). The Order, Time and Rate of Ossification of the Albino Rat (Mus norvegicus albinus) Skeleton. Am. J. Anat. 36, 313-355.

(28) Stuckhardt, J.L. and Poppe, S.M. (1984). Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 4, 181-188.

(29) Walker, D.G. and Wirtschafter, Z.T. (1957). The Genesis of the Rat Skeleton. Thomas, Springfield, IL.

(30) Wilson, J.G. (1965) Embryological Considerations in Teratology. In: Teratology: Principles and Techniques, J.G. Wilson and J. Warkany (eds.), University of Chicago, Chicago, IL, pp 251-277.

© OECD 2018

(31) Wilson, J.G. and Fraser, F.C. (eds.) (1977). Handbook of Teratology, Vol. 4. Plenum, NY.

(32) Varnagy, L. (1980). Use of Recent Fetal Bone Staining Techniques in the Evaluation of Pesticide Teratogenicity. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 28, 233-239.

(33) Staples, R.E. (1974). Detection of Visceral Alterations in Mammalian Foetuses. Teratology 9, 37-38.

(34) Van Julsingha, E.B. and C.G. Bennett (1977). A Dissecting Procedure For the Detection of Anomalies in the Rabbit Foetal Head. In: Methods in Prenatal Toxicology (eds. D. Neubert, H.J. Merker and T.E. Kwasigroch). University of Chicago, Chicago, IL, pp. 126-144.

(35) US Environmental Protection Agency (1991). Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. Fed. Register 56, 63798-63826.

(36) OECD (2008). Guidance Document on Mammalian Reproductive Toxicity Testing and Assessment. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 43.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(37) OECD. (2009).Guidance Document for Histologic Evaluation of Endocrine and Reproductive Tests in Rodents. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 106) Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(38) Wise, D.L. et al. (1997). Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1). Teratology 55, 249-292.

© OECD 2018

補遺 A：定義

発生毒性試験：受胎前、出生前発生中、または出生後から性成熟期までの曝露の結果として生じうる、発生中の生物に対する有害作用に関する試験。発生毒性の主な徴候には、1）生物の死亡、2）構造異常、3）発育異常、および 4）機能不全がある。以前は、発生毒性試験を催奇形性試験と呼称することが多かった。

有害作用：生物が生存、生殖または環境に適応する能力を低下させる、ベースラインからのあらゆる処置関連変化。発生毒性試験においては、非常に広義的には、出生前および出生後の両方で受胎産物の正常な発生に干渉するあらゆる作用を含む。

発育異常：出生児の臓器重量、体重または大きさの変化。

形態変化（異常）：奇形および変異の両方を含む、発生における構造変化（38）。

> **奇形／**重度異常：動物にとって有害と考えられ（致命的である可能性もある）、通常は稀にしかみられない構造変化。
>
> **変異／**軽度異常：動物にとってほとんどまたは全く有害作用がないと考えられる構造変化。一過性のものや、対照集団で相対的に高頻度に生じるものなど。

受胎産物：受精から出生までのあらゆる発生段階でみられる、受精した卵子からの派生物の総称。胚体外膜、胚、胎児を含む。

着床：胚盤胞の子宮上皮の貫通および子宮内膜への埋没を含む、胚盤胞の子宮上皮細胞層への付着。

胚：あらゆる生物体の初期または発生段階。特に、長軸の出現後およびすべての主要構造が揃うまでに認められる、受精卵の発生中の産物。

胚毒性：胚の正常な構造、発生、成長、または生存能に対して害をなす性質。

胎児：後胚期の出生前の児。

胎児毒性：胎児の正常な構造、発生、成長、または生存能に対して害をなす性質。

流産：受胎産物（胚または生存能力のない胎児）の、子宮からの早期の娩出。

吸収：子宮に着床した後に死亡し、吸収中であるかまたは吸収された受胎産物。

> **早期吸収：**　識別可能な胚または胎児を伴わない着床の証拠。
> **後期吸収：**　外的縮退変化を伴う死亡した胚または胎児。

NOAEL：無毒性量の略語であり、投与関連の有害な所見が観察されない最高用量をいう。

甲状腺活性：化学物質がさまざまな機序で甲状腺ホルモンの産生、輸送および代謝を阻害する能力。

© OECD 2018