OECD/OCDE

1983/05/26

# 試験ガイドライン No.415

一世代生殖毒性試験

**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 (1983), Test No. 415: One-Generation Reproduction Toxicity Study, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264070844-en.

©OECD(1983)

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

# 一世代生殖毒性試験

## １．序論

・基礎的前提条件

－固体、液体、気体または蒸気の被験物質
－被験物質の化学的確認
－被験物質の純度（不純物）
－溶解性
－融点／沸点（適切な場合）
－pH（適切な場合）

・基準となる文書

適切な国際的基準はない。

## ２．試験法

### A. 緒言、目的、範囲、関連性、適応および限界

この生殖試験法の指針は、性腺機能、発情周期、交尾行動、受胎、分娩、授乳、離乳といった、雄および雌の生殖の遂行に対する被験物質の影響に関する一般的な情報を得るために立案したものである。あらゆる場合における特定の原因や影響を検索するために立案したものではない。吸入経路によって物質を投与する試験の場合にはこの試験法の修正が必要であろう。この試験から、新生児の病態、死亡、行動異常および奇形発生のような被験物質の発生毒性に関する予備的な情報も得られ、その後に実施される試験の手引として有用であろう。

・試験法の原則

被験物質は段階的な用量で雄および雌動物の数群に投与する。雄については、精子形成に対する悪影響を調べるために、その成長期および少なくとも 1 回の完全な精子形成期（大体マウスでは 56 日、ラットでは 70 日）を通して被験物質を投与する。

本テストガイドラインを使用するものは、序文の特に3、4、7及び8を熟慮すること。

一世代生殖毒性試験

P 世代の雌については、発情に対する悪影響を調べるために、少なくとも２回の完全な発情周期を通して被験物質を投与する。ついで雄雌動物を交配させる。被験物質は、交配期間中は雄雌両動物に、その後の妊娠および授乳期間中は雌動物のみにそれぞれ投与する。。

## B. 試験手順の解説

・準備

健康で若い成熟動物をランダムに数群に割りあてる。動物は少なくとも５日間馴化飼育する。被験物質は飼料または飲料水に添加して投与することを推奨するが、その他の投与経路によっても差しつかえない。全試験期間を通して同じ方法で投与する。もしも投与を容易にするために溶媒またはその他の添加剤を用いる場合には、毒性作用を現さないことが明らかな物質を使用しなければならない。１週間に７日投与すること。

・試験動物

*動物種の選択*

本指針はラットまたはマウスの使用を前提としたものである。これら以外の動物種を使用する場合には適切な修正を必要とするであろう。多産でない系統を用いてはならない。以前に試験に使用したことがない健康な動物を用いる。種、系統、性および体重と年（週）齢またはそのどちらかが明確な動物を用いる。

*動物数と性*

各処置群および対照群において､妊娠末期にそれぞれ大体 20 匹の妊娠動物が確保されるために必要な十分な数の動物を用いる。不妊を惹起するような物質についてはこの数は不可能かもしれない。この目的とするところは、P 動物の受胎能、妊娠および母性行動ならびに受胎から離乳までの F1 新生児の吸乳、成長、発達に対する被験物質の影響を適切に評価するための十分な数の妊娠動物と次世代動物を確保することにある。

一世代生殖毒性試験

*飼育条件*

動物室の温度は 22℃（± 3 ℃）、相対湿度は 30～70%とする。人工照明の場合には 12 時間明暗交代とする。飼育には通常の実験動物用の飼料が用いられ、飲料水は自由に摂取させる。妊娠動物はケージに個別に収容し、巣作りをするための材料を用意する。

・試験条件

*用量濃度*

少なくとも 3 段階の用量の処置群および 1 群の対照群を用いる。被験物質の投与にあたって溶媒を使用する場合、対照群には用いた溶媒の最大用量を投与する。もしも被験物質の投与によって摂餌量または食餌効率の低下が認められた場合には、制限食対照群を考慮する必要があるかもしれない。

被験物質の物理化学的特性または生物学的効果によって制限を受けない限り、理想的には、最高用量は親 (P) 動物に対して毒性を現すが死亡させない量とする。中間用量 (複数のこともある) は被験物質に起因するわずかな毒性影響を現す量とし、低用量は親動物および新生児に対していかなる悪影響をも現さない量とする。

強制経口投与またはカプセルによって投与する場合、投与量は各動物の体重に基づいて決定し、1 週ごとに調整する。妊娠期の雌動物については、毎日の体重あるいは妊娠 0 日か 6 日目の体重に基づいて投与量を決定しても差しつかえない。

*限度試験*

反復投与試験において毒性が弱いことが認められた物質の場合、少なくとも 1,000mg/kg 用量で生殖障害が認められなければ、それ以外の用量での試験は必要ないと考えられる。予備試験において母動物に明らかな毒性が認められた高用量が受胎能に悪影響を示さない場合、それ以外の用量での試験は必要ないと考えられる。

## 一世代生殖毒性試験

・試験の実施

*試験計画*

雄親（P）動物への毎日の投与は、離乳後、少なくとも５日間の馴化飼育の後、大体５～９週齢時から開始する。ラットでは交配前 10 週間投与を続ける（マウスでは８週間)。雄動物は交配期間の終了時に屠殺して検査する。また、第２産児を得るために投与を続けた場合には試験終了前の適当な時期に屠殺して検査する。

雌親（P）動物については、少なくとも５日間の馴化飼育ののち投与を開始し、交配前少なくとも２週間投与を続ける。さらに、３週間の交配期間、妊娠期間を通して F1 新生児の離乳まで毎日投与を続ける。被験物質についてその代謝や誘導や生体内蓄積が知られている場合には、この投与スケジュールは修正を考慮する必要がある。

*交配方法*

この試験では雄と雌との１対１または１対２での交配が行われる。

１対１の交配の場合、雌は同一の雄と交尾が成立するまで、あるいは３週間を限度として同居させる。雌については膣垢中の精子または膣栓の検査を毎朝行う。精子または膣栓が確認された日を妊娠０日とする。

交尾が成立しなかった雌雄動物についてはその原因を検索する。そのための方法としては、生殖能力が確かめられている雄または雌との再交配、生殖系器官の顕微鏡的検査および発情周期や精子形成の検査があげられる。

*同腹児数*

受胎能試験の期間を通して被験物質を投与した動物は自然分娩させ、同腹児数を調整することなく、離乳期まで哺育させる。もしも同腹児数を調整する場合には次の方法がある。すなわち、生後４日目に、同腹児数ができるかぎり雄４匹と雌４匹になるように余分な新生児を取り除く。

発育状態が悪い新生児のみを選んで取り除くことは適切でない。各腹あたり雌雄それぞれ４匹に調整することができない場合には、どちらかの性に片寄っても差しつかえない（たとえば雄５匹と雌３匹)。同腹児数が８匹以下のものについては数を調整しない。

・観察

試験期間を通して少なくとも１日に１回は各動物を観察する。行動の変化、分娩の障害や遅延の徴候、および死亡を含むすべての毒性徴候を記録する。摂餌量は、交配前および交配期間中は毎週測定する。妊娠期間中は毎日測定されるであろう。分娩後および授乳期間中は同腹児の体重測定と同じ日に測定する。P 雌雄動物の体重は投与開始第１日目とその後は毎週測定する。これらの観察結果はそれぞれの成熟動物ごとに報告する。

妊娠期間は妊娠０日から起算する。各同腹児について、出産後できるかぎり早い時期に、総児数と性、死産児数、生存児数および外表異常の有無を調べる。死亡した新生児および４日齢児に屠殺した新生児は保存し、奇形発生について調べる。

生存児については、出産の翌朝と生後４日、７日およびその後は試験の終了まで毎週、匹数を数えるとともに体重を個別に測定する。母動物および新生児において観察された身体的あるいは行動異常を記録する。

・病理

***剖検***

P 世代動物は、屠殺あるいは死亡したとき、とくに生殖系器官に注意しながら構造的異常や病理学的変化について肉眼的に検査する。死亡または瀕死状態の新生児については奇形に関する検査を行う。

一世代生殖毒性試験

*病理組織学*

必要と考えられる場合、全例の P 動物について卵巣、子宮、頸管、膣、精巣、精巣上体、精のう、前立腺、凝固腺、下垂体および標的器官を顕微鏡的検査のために保存する。この試験以外の頻回投与の試験においてこれらの器官が検査されていない場合には、高用量群と対照群の全例の動物および試験期間中に死亡した動物で検査可能なものについて、これらの器官を顕微鏡的に検査する。そして、これらの動物で異常が認められた器官はその他のすべての P 動物について検査する。肉眼的に病理変化が認められた組織についてはすべて顕微鏡的検査を行う。交配方法の項で述べたように、不妊症が疑われたと考えられる動物の生殖系器官も顕微鏡的検査に供されよう。

## ３．データおよび報告

・結果の処理

成績は、通常、表形式にまとめ、各群について試験開始時の動物数、授精能を示した雄動物数、妊娠動物数、各種の変化とその発現率を示す。数値として表される結果は、可能な場合、適切な統計学的手法をもちいて評価する。一般に容認されている統計学的手法を用いられるが、試験デザインの一部として選定すること。

・結果の評価

生殖毒性試験の成績は、観察された影響、剖検所見および顕微鏡的所見について評価する。評価の中には、被験物質の用量と受胎能、臨床的異常、体重変化、致死作用、およびその他の毒性影響を含む各種の異常の有無、頻度および程度との関係が含まれる。適切に実施された生殖試験からは、無作用レベルの満足な推定ができるとともに、成績、分娩、授乳および生後の成長に対する悪影響について理解することができる。

・試験報告

試験報告には次の情報を含める。

－使用動物種／系統
－性別と用量別の毒性反応の成績（受胎率、妊娠率および生存率を含む）
－試験期間の動物の死亡時期、または動物が終了時まで生存していたかどうか
－各同腹児の体重、新生児の平均体重、および終了時の新生児の個別体重表
－生殖、新生児、生後の成長などに対する毒性影響またはその他の影響
－各種の異常徴候の観察時期およびその後の経過
－P 動物の体重の成績
－剖検所見
－顕微鏡的検査所見の詳細（実施された場合）
－結果の推計学的処理

・結果の解釈

生殖毒性試験から、ある種の物質の反復経口的な暴露の影響に関する情報が提供される。試験結果は亜急性毒性試験、催奇形試験およびその他の試験の成績とともに解釈しなければならない。試験結果は無作用レベルおよびヒトが暴露された場合の許容範囲に関して有用な情報を提供するが、ヒトへの外挿には限界がある。

## ４．参考文献

1. E.I. Goldenthal, Guidelines for Reproduction Studies for Safety Evaluation of Drugs for Human Use. Drug Review Branch, Division of Toxicological Evaluation, Bureau of Science, Federal Drug Administration, Washington, D.C. 1966.
2. T. Hasegawa, M. Hayashi, F.J.G. Ebling and I.W. Henderson, Fertility and Sterility. Elsevier, New York, 1973.

3. E.F. Oakberg: Am. J. Anat. 99, 507~516, 1956.
4. E.C. Roosen-Runge: Biol. Rev. 37, 343~377, 1962.
5. R.D. Yates and M. Gordon : Male Reproductive System. Masson, New York, 1977.
6. National Academy of Sciences, Principles and Procedures for Evaluating the Toxicity of Household Substances. Washington, 1977.
7. A.K. Palmer: in Handbook of Teratology, Vol. 4 (edited by J.G. Wilson and F. Clarke Graser) Plenum Press, New York, 1978.
8. A.K. Palmer: in Developmental Toxicology (edited by C.A. Kimmel and J. Buelke-Sam Raven Press, New York, 1981.