OECD/OCDE

1996/03/22

試験ガイドライン No.422

反復投与毒性試験と生殖／発生毒性スクリーニング試験の併合試験

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 (1996), Test No. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, 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-422-1996.pdf.

©OECD(1996)

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

1996 年 3 月 22 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

反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の複合試験

はじめに

1. 1990 年 1 月、ロンドンで開催された生殖発生毒性のスクリーニング方法に関する専門委員会は、既存化学物質の初期評価で効果的に使用できる「反復投与と生殖発生毒性の複合スクリーニング試験」のプロトコールについて議論し、合意に達した(1)。

2. この試験ガイドラインはロンドンでの会議で合意されたプロトコールの最新版であり、1992 年 10 月に東京で開催された生殖毒性スクリーニング方法に関する専門委員会で検討したものである(2)。生殖発生毒性スクリーニング部分は、高生産量化学物質に対して用いられているこれまでの方法についての加盟国における経験と、陽性対照物質についての探索的試験から得られた経験に基づくものである(3)(4)。反復投与毒性部分はガイドライン 407（更新のための現在の提案）に従う。

ガイドラインの目的

3. 化学物質の毒性特性の評価では、急性毒性試験で毒性に関する初期情報を得た後に反復投与を用いた経口毒性を決定する。この試験では、比較的限られた期間に反復投与したことにより生じる健康被害についての情報を得る。基本の反復投与毒性試験の試験方法は、90 日試験が要求されない化学物質（製造量が一定の限度量を超えない場合など）に用いられるか、または長期試験への予備試験として用いられる場合がある。

4. また、本試験は生殖発生毒性スクリーニング試験を含むため、これにより被験物質が雌雄の生殖器系の生殖能に与えるかもしれない影響、すなわち生殖腺の機能、交尾行動、受胎、胚・胎児（conceptus）の発生、及び分娩への影響について、化学物質の毒性の初期評価段階で使用することで、また問題となっている化学物質について使用することで、初期情報を得ることができる。本試験では、生殖発生についてすべての情報が得られるわけではない。特に、出生前の暴露による出生後の影響、または出生後の暴露から誘発される影響を特定する手段が限られている。（他の理由のうち）評価項目の選択性及び試験期間が短期間であることから、本方法は生殖発生への影響がないこと明確に主張できる証拠を提供するものではない。したがって、ネガティブデータは、生殖発生において絶対的な安全性を示すものではないが、そのような情報は、実際の暴露が、無毒性量（NOAEL）に対応する投与量よりも明らかに低い場合は、ある程度の安心を提供するものである。

5. 本ガイドラインでは特定評価指標として神経学的作用に重点をおき、情報を可能な限り得るため、注意深い動物の症状観察が求められる。本方法により神経毒性を示す可能性のあ

る物質を特定することができ、さらに詳細な試験の実施の必要性を正当化できる。また、免疫学的作用の基礎情報も得ることができる。

6. 他の全身毒性、生殖発生毒性、神経毒性、免疫毒性に関わる研究データがない時には、陽性結果は初回リスク評価や、追加試験の必要性および時期を決定するのに有用である。本試験は、特にスクリーニング情報データセット（SIDS）の一部として、毒性情報がほとんどないか全くない既存化学物質の評価に有用であり、反復投与毒性試験（ガイドライン 407）および生殖発生毒性試験（ガイドライン 421）を、それぞれ別に実施する代わりに利用可能である。さらに、広範な生殖発生試験や、その他関連性があると考えられる場合に、用量設定試験として用いることもできる。

7. 一般に妊娠動物と非妊娠動物の感受性には差があると想定されている。全身毒性と生殖発生毒性の両方を評価するのに十分な本複合試験では、個々の試験を行う時よりも用量レベルを設定するのが複雑かもしれない。特に、本試験では、個別に反復投与試験を行うよりも全身毒性に関する結果を解釈するのが困難であるが、血清および病理組織学的パラメータを同時に評価しない場合は特段である。技術的に複雑なため、本複合スクリーニング試験を実施するには、かなりの程度の毒性試験の経験が必要である。一方、動物数が少ないことを除き、本複合試験は生殖発生への直接作用と、他の作用（全身毒性）からくる二次的作用とを区別する、より良い手段となる。

8. 本試験では、従来の 28 日反復投与試験よりも投与期間が長い。しかし、生殖発生毒性スクリーニング試験に加えて従来の 28 日反復投与試験と比較すると、各群の雌雄数が少ない。

9. 本ガイドラインは、被験物質の経口投与を想定している。他の投与経路を用いる場合は修正を必要とする可能性がある。

10. 定義を補遺 1 に示す。

試験の概要

11. 被験物質を段階的な用量で、雌雄動物からなるいくつかの群に投与する。雄は剖検死の前日を含み、最短で 4 週間を投与する（交配前最短 2 週間、交配期間中、交配後約 2 週間を含む）。交配前の投与期間が雄では限られていることから、受胎は特に精巣毒性を示す指標とはならない。したがって、精巣の詳細な病理組織学的検査は必須である。最短 4 週間にわたる 2 週間の交配前期間と交配／受胎観察期間の後に雄生殖腺の病理組織学的検査を行うのは、雄生殖能および精子形成への主な影響を検出するのに十分である。

12. 雌には、試験期間中投与を行う。交配前 2 週間（完全な性周期を 2 サイクル終了した）、妊娠までの変動期間、妊娠期間、分娩までの最短 4 日、安楽死前日までを含む。

13. 馴化後、試験期間は雌の行動に基づき約 54 日間（交配前最短 14 日、交配 14 日（まで）、妊娠 22 日、哺育 4 日）とする。

14. 投与期間中は、毒性の徴候について毎日観察する。死亡した動物または安楽死させた動物はすべて剖検し、終了時まで生存した動物もすべて剖検する。

試験方法

動物種の選択

15. 本試験ガイドラインの動物種としては、ラットが望ましい。他の動物種を用いる場合には、試験方法を適宜修正する必要がある。受胎率が低い系統や発生異常の頻度が高いことがわかっている系統は用いない。健康で未交配の、他の試験で用いていない動物を用いる。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。試験開始時、使用動物の体重のばらつきは最小限とし、各性の平均体重の 20%を超えないこととする。試験を長期試験または全世代試験の予備試験として実施する場合には、同じ供給元の同じ系統の動物が望ましい。

飼育および給餌条件

16. 動物飼育室の温度は 22±3℃とする。清掃時を除き、相対湿度は 30%以上、70%を超えないことが望ましい。照明は人工照明で 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さしつかえない。飲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には、被験物質とよく混合できる飼料を選択する必要がある。

17. 動物は個別飼育するか、または同性の動物を少数匹ずつ飼育する。ケージには 5 匹を超えて収容しないこと。交配にはその目的に合ったケージを用いる。妊娠した雌を分娩用ケージに個別に収容し、確かな品質の適切な巣材を与える。

動物の準備

18. 健康な若齢動物を無作為に割付け、投与群ケージに割付ける。ケージの位置による影響を最小限にするように考慮しながら、ケージを配置する。各動物には固有の識別番号を付す。試験開始前に飼育室環境に 5 日間以上馴化した後に用いる。

投与の準備

19. 他の投与経路がより適切と考えられない限り、被験物質の経口投与が推奨される。経口投与が選択されると被験物質は強制経口投与とするが、混餌または飲料水を用いての投与も可能である。

20. 必要に応じて、被験物質を適切な溶媒に溶解または懸濁する。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、その後に他の溶

媒の溶液を考慮することが推奨される。水以外の溶媒を用いる場合には、溶媒の毒性がわかっていなければならない。また、溶媒中での被験物質の安定性を分析する。

手順

動物数および性

21. 各群には、開始時に雌雄各 10 匹以上が得られるように十分な数の動物を含める。顕著な毒性作用がみられる場合を除き、通常の最低許容数である各群最低 8 匹の妊娠した雌が得られることが予測される。上記の目的は、受胎、妊娠、母動物の行動と吸乳、F1 出生児の受胎から出生後 4 日までの成長および発達について、意味のある評価ができるように十分な妊娠数および児動物数を得ることである。中間剖検を予定したならば、試験終了前に剖検を予定する動物数を増加させる。投与後 14 日以上の全身毒性の回復性、持続性、遅延を観察するため、対照群および最高用量群に雌雄各 5 匹をサテライト群として追加することを考慮する。サテライト群の動物は交配させず、生殖発生毒性試験の評価には用いない。

投与量

22. 少なくとも 3 段階の用量および同時対照を設ける。被験物質の一般毒性データが有効でない場合、用量を設定する目的で用量設定試験を行う。対照群の動物は、被験物質を投与しないこと以外、投与群の動物と同様に取り扱う。被験物質の投与に溶媒を用いる場合には、用いられる最大量の溶媒を対照群に投与する。

23. 被験物質および関連物質の既知の毒性ならびに（トキシコ）キネティクスデータを考慮し、用量を決定する。妊娠動物と非妊娠動物の感受性の差も考慮する。最高用量は毒性を生じさせるが、死亡や重度の苦痛を引き起こさない用量とする。その下の各用量段階は投与量と影響との関連性を明らかにし、最低用量で有害作用がみられない用量を設定する。公比を 2～4 とした用量段階の設定が通常最適であり、非常に大きな用量間隔（公比 10 を超えるような）を使用するよりは、4 群目を追加した方がよいことが多い。

限度試験

24. 本ガイドラインに記載された方法で経口投与試験を行なった結果、1000 mg/kg 体重/day 以上の 1 用量において、あるいは混餌または飲水による投与（体重に基づく）では、それに相当する飼料中または飲水中濃度において毒性がみられなかった場合、および構造的に関連する化合物のデータから毒性がないと予想される場合には、数段階の用量を用いた完全な試験は不要と考えられ、ヒトの暴露量からより高用量の必要性が示唆されない限り、限度試験が適用される。吸入や経皮など他の投与方法については、多くの場合、被験物質の物理化学的性質が最高投与可能量を決定するであろう。

投与

25. 被験物質を動物に週 7 日投与する。強制経口投与する場合には、胃ゾンデまたは適切な挿入カニューレを用いて単回投与する。最高用量は、試験動物の大きさにより 1 回で投与できる量とする。1 回に投与する量は、体重 100 g 当たり 1 mL を超えないようにする。ただし、水溶液については体重 100 g 当たり 2 mL まで可能とする。通常、高濃度ほど影響が顕著になる刺激性または腐食性物質の場合を除き、被験物質溶液の濃度を調節して量のばらつきを最小限にし、全用量で投与容量が一定になるようにする。

26. 飼料または飲水を介して被験物質を投与する場合には、飼料中や飲水中の被験物質量が正常な栄養や水のバランスを乱さないようにすることが重要である。被験物質の混餌投与では、飼料中濃度（ppm）を一定にする方法か、動物の体重当たりの用量を一定にする方法が用いられるが、いずれを用いたかを明らかにしておかなければならない。被験物質の強制経口投与では、毎日ほぼ同じ時刻に投与を行ない、少なくとも週 1 回、投与量を調整して体重当たりの用量を一定に保つ。長期試験または全世代生殖毒性試験への予備試験として複合試験を行う場合、同じ飼料を用いる。

試験スケジュール

27. 雌雄の親動物を 5 日以上馴化して、交配前 2 週間から被験物質を投与する。動物が完全に成熟してからすぐに交配を開始するよう、試験を予定する。この方法により、異なる実験室での異なるラットの系統の差、例えば Sprague Dawley は 10 週、Wister は 12 週などの差を少なくできる。雌親と児動物については、出生後 4 日目またはそのすぐ後に安楽死させる。（望ましいならば）雌親は採血前に一晩絶食させるが、雌親と児動物を同日に安楽死させる必要はない。出生日（分娩が完全な場合）を出生後 0 日と定義する。交配がみられない雌については、交配期間最終日から 24～26 日後に安楽死させる。雌雄ともに交配期間中は投与を継続する。雄は交配期間後も 28 日の投与期間が終了するまで投与を継続する。その後安楽死させるか、適切ならば、2 度目の交配が可能となるよう投与を継続する。

28. 雌親には妊娠期間中および出生後 3 日（を含む）または屠殺日（を含む）まで投与を継続する。被験物質を吸入または経皮で投与する試験では、最短で妊娠 19 日（を含む）まで投与する。

29. サテライト群の動物は追跡観察を予定し、交配はさせない。毒性の影響の遅延、維持、回復を発見するため投与せず、雌親の最初の剖検から少なくとも 14 日まで生存させる。

30. 試験スケジュールを補遺 2 に示す。

交配手順

31. 通常、本試験では 1 対 1 交配（雄 1 匹に対し雌 1 匹）とする。雄が死亡した場合を除く。各交配では、それぞれの雌を同じ雄 1 匹と交配するまで、または 2 週間が経過するまで同居させる。精子または膣栓の有無について毎朝雌を検査し、膣栓または精子が認められた日を

妊娠 0 日とする。交配が成功しなかった場合には、同じ群の生殖能力が確認されている雄との再交配を考慮してもよい。

観察

32. 一般状態の観察を 1 日 1 回以上行なう。観察は同時刻が望ましく、投与後、影響が最大になると予想される時間を考慮に入れて観察する。健康状態を記録する。1 日 2 回以上、すべての動物について病気の有無および生死を確認する。

33. 最初の投与前 1 回（個体内比較のため）、その後週 1 回以上、すべての動物について詳細な症状観察を実施する。観察は、ケージの外にて観察台で同時刻に行うことが望ましい。観察を注意深く記録する。スコアリングシステムを用いることが望ましく、臨床検査値により明確に定義する。試験状態の変動が最小限になるよう努力し、投与内容を知らない観察者が観察を行うことが望ましい。徴候も含むがこれに限らず、皮膚、被毛、眼・眼球および粘膜の変化、分泌・排泄、自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸パターンの異常など）も含む。歩行、姿勢、取扱操作に対する反応の変化、ならびに間代性または強直性の動き、常同運動（過度の身づくろい、旋回）、分娩困難または長期化、異常行動（自咬、後ずさり）についても記録する。

34. 試験中 1 回、種々の刺激に対する感覚運動反応（聴覚刺激、視覚刺激、固有受容器刺激）(5)、(6)、(7)、握力測定(8)、自発運動量(9)を各群から無作為に選んだ雌雄各 5 匹について行う。さらに詳細な手順は、各参照に記載する。しかし、参照手順の代替となる手順も可能である。雄では機能観察を投与期間終了まで行い、安楽死の直前で血液学的検査または血液生化学検査のための採血前まで行う。機能検査期間中、雌は生理学的に同じ状態に保ち、哺育中で安楽死の直前が望ましい。児動物の高熱を防ぐために、母体を 30～40 分で児動物から離す。

35. 試験終了時までに 1 回行う機能検査は、亜慢性（90 日）試験または長期試験への予備試験として実施する場合には省略できる。この場合、機能検査は追跡試験に含むこと。反復投与試験で得た機能検査のデータは、次に続く亜慢性または長期試験で用量を選択する裏付けとなる。

36. 例外として、機能検査を過度に妨げる範囲まで毒性徴候が観察された群については、機能検査を省略することができる。

37. 妊娠期間を記録し、妊娠 0 日から計数する。出産後すみやかに産児数、性、死産児数、生存児数、小仔（対照と比較すると有意に小さい）、肉眼的異常の有無について記録する。

38. 生存児を計数し、性別、体重を分娩後 24 時間以内（出生後 0 日または 1 日）と出生後 4 日に記録する。親動物の観察（33 段落と 34 段落を参照）に加えて、児動物の異常行動も記録する。

親動物の体重および摂餌量／摂水量

39. 雌雄親動物について、投与開始日、その後は少なくとも週 1 回、試験終了時に体重を測定する。加えて、雌の親動物については、少なくとも妊娠 0、7、14、20 日、または分娩から 24 時間以内（出生後 0 日と 1 日）、出生後 4 日に体重を測定する。各親動物について、個体ごとに測定結果を報告する。

40. 交配前期間、妊娠期間、哺育期間中、摂餌量を少なくとも週 1 回測定する。交配中の摂餌量の測定は任意とする。被験物質を飲水投与する場合には、摂水量を測定する。

血液学的検査

41. 試験中に 1 回、以下の血液学的検査を各群無作為に選んだ雌雄各 5 匹に実施する。ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数、総白血球、白血球分画、血小板数、凝固時間、凝固能である。

42. 採血は指定された側から行う。雌の採血中は、生理学的に同じ状態を保つ。妊娠発生での変化に伴う技術的な困難を避けるため、雌の採血は交配前期間終了時、または安楽死直前か剖検手順の一部とする。雄の採血は、安楽死直前か剖検手順の一部とするのが望ましい。雌にとって望ましい時期であれば、雄の採血は交配前期間終了時としてもよい。

43. 採血した血液は適切な状態で保管する。

血液生化学検査

44. 特に腎臓や肝臓などの器官への主な毒性を検討するため、各群無作為に選んだ雌雄各 5 匹に血液生化学検査を実施する。採血前に一晩絶食することが望ましい(1)。血漿または血清検査にはナトリウム、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、アルブミン、肝細胞への作用を示す 2 種以上の酵素（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、ソルビトール脱水素酵素）、胆汁酸を含む。追加の酵素（肝またはその他由来）測定は、特定の環境下で有用な情報となる。

45. 各群無作為に選んだ雌雄各 5 匹について、以下の尿検査を試験最終週の規定された採尿時に任意で実施する。外観、容量、浸透圧、比重、pH、蛋白、糖、血液、血球について検査する。

(1) 多くの血清および血漿、特に血糖の測定は一晩の絶食が望ましい。主な理由として、絶食しないことで明らかな変動が増加し、わずかな効果が隠蔽されて解釈を困難にすることがある。しかし、一晩の絶食は（妊娠）動物の代謝を阻害し、哺育や哺乳行動を乱し、特に給餌試験では被験物質の暴露に影響を及ぼす。一晩絶食を採用したならば、血液生化学検査は試験 4 週の機能検査の後に行う。

46. さらに、組織損傷を示す血清マーカーを検査することを考慮する。カルシウム、リン酸、空腹時トリグリセリド、空腹時血糖、特定ホルモン、メトヘモグロビン、コリンエステラーゼなどの代謝プロファイルが被験物質の既知の特性により影響を受けるか、または受けることが疑われる場合、他の項目を測定する。これらは個々に応じて決定する必要がある。

47. 全体として、被験物質から観察または予期される効果に従い、柔軟なアプローチが必要である。

48. 背景ベースラインデータが十分でない場合、投与前に血液学的および血液生化学検査項目を考慮する。

病理組織学的検査

剖検

49. すべての親動物について、体表、開口部、頭蓋、胸部、腹部腔と器官について注意深く検査する全体の詳細な剖検を行う。検査では、特に生殖器系の器官に注意を払う。着床痕の数を記録する。黄体の計測を強く推奨する。

50. すべての雄について精巣および精巣上体の器官重量を測定し、全成熟動物の卵巣、精巣、精巣上体、生殖付属器と肉眼的病変が観察されたすべての器官を保管する。

51. さらに、各群無作為に選んだ雌雄各 5 匹から、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、脳、心臓を摘出し、乾燥しないよう速やかに湿重量を測定する。選択した雌雄から後の病理組織学的検査のため、以下の器官および組織を適切な保存液に保存する。すべての肉眼的病変部、脳（小脳、大脳、橋を含む代表域）、脊髄、胃、小腸と大腸（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、肺（固定液で膨張させ、浸漬させる）、子宮、膀胱、リンパ節（投与経路を含む 1 リンパ節、全身効果をみるための投与経路から離れた 1 リンパ節）、末梢神経（坐骨または脛骨）筋肉近位が望ましい。および骨髄（新鮮骨髄穿刺でもよい）切片。

52. ホルマリン固定は精巣と精巣上体の通常検査には推奨されず、ブアン固定が望ましい。一般所見および他の所見から追加の組織検査の必要が示唆されることがある。被験物質の既知の特性に基づき、標的器官となり得る器官は保管する。

53. 死亡した児動物、出生後 4 日またはその後すぐに安楽死させた児動物は、肉眼的異常がないか注意深く観察する。

病理組織学的検査

54. 対照群および高用量群の動物から保管した器官ならびに組織に病理組織学的検査を行う（雄生殖腺の精子形成期、間質精巣細胞構造の病理組織学的検査に重点をおく）。高用量

群で投与に関連する変化がみられた場合には、これらの検査は他の用量群でも行う。

55. すべての肉眼的病変部に実施する。NOAEL を解明するために、特に NOAEL がみられる他の用量群の標的器官を検査する。

56. サテライト群を用いた場合、投与群で所見が観察された臓器および器官について病理組織学的検査を行う。

データおよび報告

データ

57. 各動物のデータを提示する。各試験群について、試験開始時動物数、試験中に死亡が発見されたり人道的理由により安楽死させた動物数、死亡または安楽死の時期、受胎動物数、妊娠動物数、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、ならびに同腹児ごとのすべての関連データを総括表として示す。生殖発生毒性の評価に有用となる総括表は、補遺 3 示す。

58. 一般に認められた適切な統計方法により、数値データを評価する。統計方法は試験計画で定めておく。試験の範囲が限られているために、特に生殖系評価指標を含む多くの項目では「有意」を示す検定での統計解析は限られている。最も多く用いられている方法のいくつかには、特に中心傾向のパラメトリック検定は適切でない。統計解析を用いる時には試験変数の分布に適切な方法を選択し、試験開始前に選択する。

結果の評価

59. 毒性試験の結果は、剖検および病理組織学的所見で認められた影響に基づいて評価する。評価では、被験物質の用量と異常（肉眼的病変、判明した標的器官、受胎率、一般状態の異常、生殖能および児動物ごとの成績の変化、体重変化、死亡率に対する影響他の毒性など）の有無、頻度、程度との関連性を明らかにする。

60. 雄の投与期間が短いことから、雄の生殖能効果を評価する際には、精巣および精巣上体の病理組織学的検査を生殖能データとともに考慮する。生殖発生における背景対照データ（同腹児数）が有効であれば、試験の解釈に有用な情報となる。

試験報告書

61. 試験報告書には、以下の情報を含まなければならない。

被験物質
- 物理的性質、また必要に応じて物理化学的特性
- 識別データ

溶媒（必要に応じて）
- 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／系統
- 動物数、週齢、性
- 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
- 被験物質溶液／被験物質混合飼料の調製方法の詳細、濃度分析値、調製物の安定性および均一性
- 被験物質投与の詳細
- 必要に応じて、飼料／飲水中の被験物質濃度（ppm）から実際の投与量（mg/kg 体重/day）への換算方法
- 飼料および水の質の詳細

結果
- 体重データおよび体重変化
- 必要な場合、摂水量、食餌量
- 性および用量ごとの毒性反応データ。受胎、妊娠、他の毒性徴候を含む。
- 妊娠期間
- 生殖、出生児、出生後の成長などに対する毒性他の影響
- 一般状態の変化の種類、程度および期間（可逆性の有無を含む）
- 感覚、握力、自発運動評価
- ベースライン値に基づく血液学的検査
- ベースライン値に基づく血液生化学検査
- 生存産児数、着床後胚損失率
- 肉眼的異常を有する児動物数。わかる場合には、矮小児数も報告する。
- 試験終了時まで生存したか、また試験中に死亡した場合にはその時期
- 記録時の着床数、黄体数（推奨）、同腹児数と体重
- 親動物の屠殺時体重および器官重量
- 剖検所見
- 病理組織学的所見に関する詳細な記述
- 吸収データ（必要な場合）
- 必要に応じて、結果の統計処理方法

考察

結論

結果の解釈

62. 本試験では反復投与に関連する生殖発生毒性を評価する。特に、一般毒性と生殖発生毒性の評価項目両方に重点を置くため、結果から一般毒性がない生殖発生作用と親動物に毒性

を示す投与量で発現する生殖発生作用を区別できる。また、更なる検討の必要性について情報を示し、後続試験デザインに指針をもたらす。

参考文献

(1) OECD, Paris (1990). Room Document No. 1 for the 14th Joint Meeting of the Chemicals Group and Management Committee.

(2) OECD, Paris (1992). Chairman's Report of the ad hoc Expert Meeting on Reproductive Toxicity Screening Methods, Tokyo, 27th-29th October, 1992.

(3) Mitsumori, K., Kodama, Y., Uchida, O., Takada, K., Saito, M. Naito, K., Tanaka, S., Kurokawa, Y., Usami, M., Kawashima, K., Yasuhara, K., Toyoda, K., Onodera, H., Furukawa, F., Takahashi, M. and Hayashi, Y., (1994). Confirmation Study, Using Nitro-Benzene, of the Combined Repeat Dose and Reproductive/ Developmental Toxicity Test Protocol Proposed by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). J. Toxicol, Sci., 19, 141-149.

(4) Tanaka, S., Kawashima, K., Naito, K., Usami, M., Nakadate, M., Imaida, K., Takahashi, M., Hayashi, Y., Kurokawa, Y. and Tobe, M. (1992). Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test (OECD): Familiarization Using Cyclophosphamide. Fundam. Appl. Toxicol., 18, 89-95.

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

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

(7) 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.

(8) 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.

(9) 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.

補遺１

定義

生殖毒性：後代への有害な影響、または雌雄の生殖機能もしくは生殖能力障害を示す。

妊娠毒性：特定の（直接的影響）または特定ではない（間接的影響）妊娠した雌または妊娠状態に関連してみられる有害作用。

受胎障害：雌雄の生殖能力または生殖機能の障害。

発生毒性：出生前、出生直前後、出生後の後代に構造的または機能的障害がみられる生殖毒性。

投与量：投与した被験物質の量。投与量は重量（g、mg）または体重あたりの重量（mg/kg）で表すか、混餌濃度（ppm）とする。

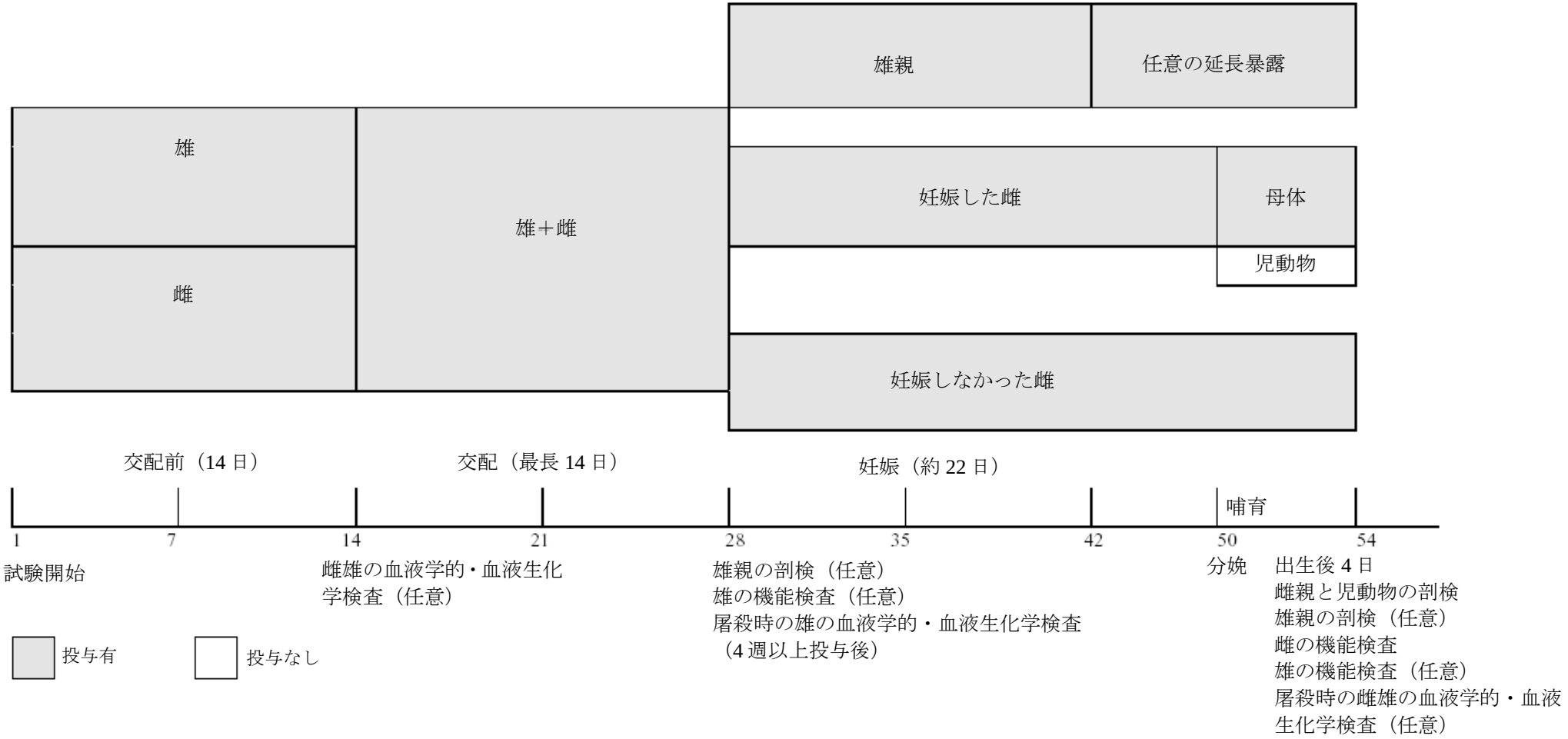
用量：投与量、投与頻度および投与期間で構成される一般的な用語である。

明らかな毒性：被験物質投与後に観察された、明らかな毒性徴候を示す用語。リスク評価には十分であり、投与量を増加すると重度の毒性徴候および死亡の可能性に至ることが予測される。

NOAEL：無毒性量の略語であり、投与に関連する有害な所見が観察されない最高用量である。

補遺 2

試験スケジュールの図、14 日間最長交配期間に基づく最長試験期間



補遺 3

生殖発生に及ぼす影響の要約表

観察	値				
投与量（単位）	**0（対照）**	**...**	**...**	**...**	**...**
ペア開始（N）					
交配が確認できた雌（N）					
妊娠した雌（N）					
妊娠 1 日～5 日（N）					
妊娠 6 日 (1)（N）					
妊娠 21 日（N）					
妊娠 22 日（N）					
妊娠 23 日（N）					
出生児と母体（N）					
出生後 4 日の出生児と母体（N）					
黄体／母体（平均）					
着床／母体（平均）					
生存児／母体（平均）					
4 日の生存児／母体（平均）					
出生時の性比（雌雄）（平均）					
4 日の性比（雌雄）（平均）					
出生時の産児体重（平均）					
4 日の産児体重（平均）					
ペア開始（N）					
交配が確認できた雌（N）					
異常児動物					
母体 0					
母体 1					
母体 2					
流産					
着床前（黄体 - 着床）					
雌 0					
雌 1					
雌 2					
雌 3					
出生前（着床－出生）					
雌 0					
雌 1					
雌 2					
雌 3					
出生後（出生－出生後4日）					
雌 0					
雌 1					
雌 2					
雌 3					

(1) 交配期間最終日