OECD/OCDE

2015/07/28

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.

Reference:

OECD (2016), 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-422-2016.pdf.

©OECD(2015)

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

2015 年 7 月 28 日採択

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併合試験

はじめに

1. 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は、科学の進歩に照らして定期的に見直される。このスクリーニング試験ガイドライン 422 の初版は、1990 年のロンドン(1)、1992 年の東京(2)の 2 回にわたる専門委員会において検討された「反復投与と生殖／発生毒性の併合スクリーニング試験」のプロトコールに基づいて、1996 年に採択された。

2. 本試験ガイドラインは、既存の高生産量化学物質に対し、従来の方法により加盟国で得られた経験、および陽性対照物質を用いた探索的試験から得られた経験に基づく生殖／発生毒性スクリーニングのパート(3)(4)と、試験ガイドライン 407 に一致する反復投与毒性のパートとを組み合わせたものである。

3. 本試験ガイドラインでは、内分泌かく乱化学物質関連の評価項目を更新した。今回の更新は、内分泌かく乱の可能性がある物質のスクリーニングおよび試験について、既存の各種試験ガイドラインを改訂し新規試験ガイドラインを作成するため、1998 年に OECD で開始された優先度の高い作業についてのフォローアップとして行われた(5)。これに関連して、試験ガイドライン 407（げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験）は、2008 年、被験物質の内分泌活性の検出に適したパラメータが強化された。試験ガイドライン 422 を更新した目的は、内分泌かく乱化学物質の暴露期間が発生における感受期の一部（出生前期または出生後早期）に及ぶ場合、内分泌かく乱化学物質関連の一部評価項目を各種スクリーニング試験ガイドラインに含めることである。

4. 今回選択された内分泌かく乱化学物質関連の評価項目の追加分は、試験ガイドライン 443（拡張一世代生殖毒性試験）の一部でもあり、これらの評価項目の組み入れに関わる科学的・技術的疑問や、その組み入れに必要な試験デザインの適合可能性に取り組んだ実用化試験に基づいて、試験ガイドライン 422 に含められた(6)。

© OECD, (2015)
本資料は、個人的な非営利目的であれば、出典を適切に明記するという条件で、OECD に事前の承諾を得ることなく自由に使用してよい。本資料を商業的に利用する場合は、必ず OECD の書面による承諾を得なければならない。

5. 本ガイドラインは、被験物質が雌雄の生殖能、すなわち生殖腺の機能、交尾行動、受胎、受胎産物の発生、分娩などに与える影響について限定的な情報を得られるように計画されている。ただし、既存の試験ガイドライン 414、415、416、443 の代替法ではなく、それらを置き換えるものでもない。

最初に考慮すべき事項

6. 被験物質の毒性特性を評価・検討する場合、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の検討が可能となる。この試験では、比較的限られた期間の反復暴露により生じ得る健康被害の可能性についての情報が得られる。試験方法は、90 日試験が必要とされない化学物質（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基本的な反復投与毒性試験からなる。試験を実施する場合には、安全性評価に用いられる実験動物の人道的評価項目としての客観的な徴候の認識、評価、および使用に関する OECD ガイダンス文書 No. 19 (7)に概説された指針および考慮事項に従うこと。

7. さらに、この試験は生殖／発生毒性スクリーニング試験を含むため、被験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被験物質について使用することで、被験物質が雌雄の生殖能（生殖腺の機能、交尾行動、受胎、受胎産物の発生、分娩など）に与える可能性がある影響について、初期情報を得ることもできる。この試験では、生殖発生についてすべての面の完全な情報が得られるわけではない。特に、出生前の暴露による影響の出生後の発現、または出生後の暴露で誘発される影響の検出手段としては限定的である。（他の理由もあるが）評価項目が限られ、試験期間が短いことから、本方法は生殖／発生への影響がないと明確に主張できる証拠を提供するものではない。加えて、他の生殖／発生毒性試験データがない場合、陽性結果は初期の危険有害性評価に有用であり、追加試験の必要性とその時期に関する決定に寄与する。

8. 内分泌かく乱化学物質関連のパラメータにより得られた結果は、「内分泌かく乱化学物質の試験および評価に関する OECD の概念的枠組み」(8)に照らして検討されるべきである。この概念的枠組みでは、強化された本試験ガイドライン 422 は、内分泌かく乱化学物質関連の評価項目の有害作用データを示す *in vivo* 試験法としてレベル 4 に相当する。しかし、内分泌かく乱化学物質のシグナルが 1 つ認められても、そのままこの被験物質が内分泌かく乱化学物質であるという十分な証拠とはみなせないと考えられる。

9. 本ガイドラインでは特異的な評価項目として神経学的作用にも重点を置き、情報を可能な限り多く得るため、実験動物に対する慎重な一般状態の観察の必要性が強調されている。本方法により神経毒性を示す可能性のある化学物質を特定すべきであり、それには、この

© OECD, (2015)

神経毒性の側面のさらに詳細な試験を必要とすることがある。また、本方法により免疫学的作用の基本的な徴候も得ることができる。

10. 他の全身毒性、生殖／発生毒性、神経毒性、あるいは免疫毒性に関わる研究データがない場合、陽性結果は初期の危険有害性評価に有用であり、追加試験の必要性とその時期に関する決定に寄与する。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、入手可能な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）の 2 つを、それぞれ別に実施する代わりとして役立つと考えられる。本試験は、より広範な生殖／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。

11. 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。その結果、全般的な全身毒性と特異的な生殖／発生毒性の両方を評価するのに十分な本併合試験では、個々の試験を分けて行う場合よりも用量を設定するのが複雑であると考えられる。さらに、本試験では、個別に反復投与試験を行う場合よりも全般的な全身毒性に関する結果を解釈するのが困難であり、血清および病理組織学的パラメータを本試験において同時に評価しない場合、特にその困難は著しいと考えられる。このように技術的に複雑なため、本併合スクリーニング試験を実施するには、かなりの毒性試験の経験が必要である。一方、関与する動物数が少ないことを除き、本併合試験は生殖／発生の直接作用と、他の（全身毒性）作用に続発する作用とを区別する、より良い手段となり得る。

12. この試験では、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 日反復投与試験を実施する場合と比較すると、用いる各群当たりの雌雄数が少ない。

13. 本ガイドラインは、被験物質の経口投与を想定している。他の暴露経路を用いる場合には、修正が必要となる場合がある。

14. ある混合物について規制目的を意図してデータを生成する場合、この試験ガイドラインを用いる前に、ガイドラインからその目的に合った適切な結果が示され得るか、また、示される場合の理由について検討する。当該混合物の試験の規制要件がある場合には、こうした検討は不要である。

15. 用いた定義を補遺 1 に示す。

© OECD, (2015)

試験の概要

16. 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。雄については、屠殺予定日の前日まで（前日を含む）少なくとも 4 週間（交配前最短 2 週間、交配期間中および交配後約 2 週間）投与を行う。雄における交配前の投与期間が限られているため、受胎能は精巣毒性に関する特に高感度な指標とはならない可能性がある。このため、精巣の詳細な組織学的検査が必須である。交配前に 2 週間の投与期間を設け、その後、交配／受胎能を観察し、併せて全体で少なくとも 4 週間の投与期間とし、続いて雄の生殖腺の詳細な病理組織学的検査をすることで、雄の受胎能および精子形成に対する大部分の影響を十分に検出できると考えられる。

17. 雌については、試験期間全体を通じて投与を行う。これには交配前 2 週間（少なくとも性周期全体を 2 回分含むようにするため）、受胎までの期間（個体ごとに異なる）、妊娠期間および分娩後少なくとも 13 日間、すなわち屠殺予定日の前日まで（前日を含む）が対象となる。

18. 馴化および投与前の性周期評価後の試験期間は雌の生殖能にもよるが、約 63 日間である［交配前期間 14 日間以上、交配期間 14 日間（最長）、妊娠期間 22 日間、哺育期間 13 日間］。

19. 投与期間中は毎日、動物の毒性徴候を注意深く観察する。試験期間中の死亡または屠殺動物は剖検し、試験終了時には生存動物を屠殺して剖検する。

試験方法

動物種の選択

20. この試験ガイドラインは、ラットによる実験を想定している。この試験ガイドライン 422 内で指定されたパラメータを、別のげっ歯類種において検討する場合には、その妥当性の詳細について示すこと。試験ガイドライン 407 の場合、内分泌かく乱化学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った。受胎率が低い系統や発生異常の頻度が高いことが分かっている系統は用いない。試験には以前に実験手順に供されたことのない、健康な未交配動物を用いる。供試動物については、動物種、系統、性、体重および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。試験を長期間の予備試験または全世代試験として実施する場合、両試験には同じ系統かつ同じ供給元の動物を用いるのが望ましい。

© OECD, (2015)

飼育および給餌条件

21. すべての手順について、実験動物の地域管理基準に従うこと。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よい。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、被験物質に合った混合を確保する必要性により、飼料の選択は影響を受けることがある。

22. 同性の動物を少数の群単位で飼育する。なお、科学的妥当性がある場合には、個別飼育してもよい。群飼いでは 1 ケージ当たりの動物数を 5 匹以下とする。交配手順はその目的に合ったケージにおいて行う。妊娠雌動物は個別飼育とし、巣材を与える。哺育中の雌は、出生児とともに個別飼育する。

23. 餌の夾雑物について定期的に分析する。飼料のサンプルは、試験報告書の完成まで保管すること。

動物の準備

24. 健康な若齢成熟動物を対照群と投与群に無作為に割り付ける。ケージの位置による影響の可能性が最小限になるようケージを配置する。各動物には個体識別を施し、試験開始前に 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

25. 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。経口経路を選択した場合、被験物質は通常強制経口投与されるが、代わりに混餌または飲水投与してもよい。

26. 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使用について検討することが推奨される。水以外の溶媒を用いる場合には、その溶媒の毒性について知っておくこと。また、溶媒中での被験物質の安定性および均一性について判定すること。

© OECD, (2015)

手順

動物数および性

27. 各群とも雄 10 匹以上、雌 12～13 匹で開始することが推奨される。雌の暴露前の性周期を評価し、典型的な 4～5 日の周期を示さない動物は使用しない。したがって、1 群あたりの雌を 10 匹にするため、雌の追加が推奨される。これにより、顕著な毒性作用がみられる場合を除き、各群 8 匹以上の妊娠雌動物が得られると予想される。これは、通常 1 群あたりの妊娠雌動物数として許容できる最小数である。その目的は、受胎、妊娠、母性および授乳行動、ならびに F_1 出生児の受胎から分娩後 13 日までの成長および発生に対して被験物質が与える影響の可能性について、意味のある評価ができるように十分な妊娠数および出生児数を得ることである。中間屠殺を予定する場合、動物数は試験終了前の屠殺予定動物数分だけ増加させる。投与後 14 日以上の全身毒性作用の可逆性、持続性、または遅発性を観察するため、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、したがって、生殖／発生毒性の評価には用いない。

投与量

28. 一般には、少なくとも 3 投与群および 1 対照群を設ける。適切な一般毒性データを入手できない場合、使用用量決定の一助とするため用量設定試験（同じ系統かつ同じ供給元の動物）を行ってもよい。対照群の動物は、被験物質の投与を除き、投与群の動物と同一に取り扱う。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。

29. 用量は、入手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して選択する。妊娠動物と非妊娠動物の感受性の差も考慮する。最高用量は毒性作用を生じさせる目的で選択されるが、死亡も重度の苦痛も引き起こさない用量とする。次に、投与量依存性の反応および最低用量において無毒性量（NOAEL）を求めるために、用量を降順に選択する。用量を降順に設定する場合、2～4 倍間隔で通常最適になるが、きわめて大きな投与量間隔（10 倍を超える場合など）を用いる場合、4 番目の投与群追加が望ましい。

30. 一般毒性（体重減少、肝臓、心臓、肺、もしくは腎臓に関する影響など）、または、毒性反応ではないと考えられるそれ以外の変化（摂餌量の減少、肝腫大など）が認められた場合、観察された影響への内分泌系の関与について慎重に考察する。

© OECD, (2015)

限度試験

31. 1000 mg/kg 体重/day 以上の 1 用量投与による経口投与試験、または、混餌投与により飼料中あるいは飲水中でこれに相当する割合（体重測定結果に基づく）とした経口投与試験を行い、この試験用に記載された手順を用いて毒性作用が認められない場合で、かつ構造的に関連する物質のデータに基づいて毒性なしと予測され得る場合には、複数の用量を用いた完全な試験は不要であると判断してよい。ヒトの暴露量からより高用量使用の必要性が示されない限り、この限度試験が適用される。吸入や経皮適用など、他の投与方法については、被験物質の物理化学的性状により、達成可能な最高暴露によることが多い。

投与

32. 被験物質を動物に週 7 日、毎日投与する。被験物質を強制経口投与する場合には、胃ゾンデ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 回に投与可能な最大液量は供試動物の大きさによって左右されるが、体重 100 g あたり 1 mL を超えないこと。ただし、水溶液の場合は例外とし体重 100 g あたり 2 mL を使用してもよい。通常高濃度ほど悪影響を示すと考えられる刺激性または腐食性の被験物質を除き、濃度を調節して被験物質の量のばらつきを最小限にし、すべての用量で用量が一定になるようにする。

33. 飼料または飲水を介して被験物質を投与する場合には、含まれる被験物質量が正常な栄養や水のバランスを妨げ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、動物の体重単位で用量を一定にする方法を用いることができるが、いずれを用いたか明記すること。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い、少なくとも週 1 回調整して動物の体重単位の用量を一定に保つ。長期間の予備試験または全世代生殖毒性試験として本併合試験を行う場合、両試験には同様の飼料を用いる。

試験スケジュール

34. 雌雄とも 5 日間以上馴化させ、雌の正常な性周期のスクリーニング（2 週間の投与前期間）を行った後、交配の少なくとも 2 週間前に投与を開始する。動物が完全に性成熟に達した後、速やかに性周期の評価が開始されるように試験を計画する。その時期はラットの系統や施設によってやや異なる場合があるが、例えば Sprague Dawley 系ラットでは 10 週齢時、Wistar 系ラットでは約 12 週齢時である。母動物と出生児は、分娩後 13 日またはその直後に屠殺する。採血前に母動物を一晩絶食させるために（これが望ましいが）、母動物とその出生児を必ずしも同日に屠殺する必要はない。出生日（すなわち分娩完了日）を分娩後 0 日とする。交尾の証拠が確認されない雌は、交配期間終了日の 24～26 日後に屠殺する。交配期間中は雌雄とも投与を継続する。雄については、総投与期間が最低でも 28 日間になるま

© OECD, (2015)

で、少なくとも交配期間後もさらに投与する。雄はその後屠殺するか、または、別の選択肢として適切であると考えられる場合には、2 回目の交配実施の可能性に備え、飼育および投与を継続する。

35. 雌親動物に対しては、妊娠期間全体および少なくとも分娩後 13 日まで（13 日を含む）、すなわち屠殺前日まで（前日を含む）、毎日投与を継続する。被験物質を吸入または経皮経路で投与する試験では、少なくとも妊娠 19 日まで（妊娠 19 日を含む）投与を継続し、投与は生後 4 日までに可能な限り速やかに再開する。

36. 追加観察を予定しているサテライト群の動物は（設定している場合）、交配はさせない。サテライト群の動物は､雌親動物の最初の屠殺予定日からさらに少なくとも 14 日間生存させ、毒性作用からの遅発もしくは持続、または回復を検出するため、その間投与は行わない。

37. 試験スケジュールの概略図を補遺 2 に示す。

<u>性周期</u>

38. 通常の性周期を有する供試雌動物を選択するため、投与開始前に性周期をモニターする（段落 22 参照）。投与期間開始から交配の証拠が認められるまで、毎日膣垢によるモニターも行う。投与開始により性周期の変動を生じ得る急性のストレス作用が懸念される場合、供試動物に 2 週間暴露させた後、交配前期間中、毎日膣垢を採取して最低 2 週間性周期をモニターし、交配期間に交配の証拠が認められるまで引き続きモニタリングすることも可能である。膣／子宮頸部の細胞を採取する際には、粘膜を刺激して偽妊娠を引き起こすことのないように注意する (8) (9)。

<u>交配手順</u>

39. 本試験では通常 1 対 1 交配（雄 1 匹と雌 1 匹の交配）を行う。ただし、時に雄で死亡がみられた場合には例外もあり得る。交尾の証拠が認められるまで、または、2 週間が経過するまで、雌を同じ雄と同居させる。精子または膣栓の存在について毎朝雌を検査する。交配の証拠が確認された日（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備え、同じ群の生殖能力が確認されている雄と雌の再交配を考慮することがある。

<u>同腹児数</u>

40. 生後 4 日目においては、児動物数を調節してもよい。その際には、使用したラットの系統で通常得られる同腹児数に応じ、一腹当たりの児動物数ができる限り雌雄各 4～5 匹に近づ

© OECD, (2015)

く様に、余剰な児動物を無作為選択して取り除く。余剰の児動物 2 匹から血液試料を採取、プールし、血清 T4 濃度の測定に用いる。体重や肛門･生殖突起間距離（AGD）などに基づいて児動物を選択して除去するのは適切ではない。一腹あたり雌雄各 4～5 匹を確保できない場合は、雄 6 匹と雌 4 匹などの調整が許容される。~~一腹児数が少なくて余剰な児動物を 2 匹得られない場合には、予定通り飼育されている児動物の内の 2 匹を、血清 T4 測定用の採血に用いることができる。~~**同腹の児動物数が淘汰水準（一腹あたり 8 匹もしくは 10 匹）を下回った場合には、児動物の除去は行わない。もし、同腹の児動物数が淘汰水準より 1 匹しか多くなかった場合には、1 匹だけを除去して、予定されている血清 T4 測定用の採血に充てる。**~~同腹の児動物数が淘汰水準（一腹あたり 8 匹もしくは 10 匹）を下回った場合には、生後 13 日に行われる乳頭保持の評価により多くの雄の児動物を確保するため、生後 4 日には、雌を優先して児動物 2 匹を除去して採血に充てる。ただし、できる限り、続いて試験に供される雌の児動物数は、一腹当たり 2 匹未満にしないこと。~~［訳注：ENV/JM/TG(2016)27 (13-Apr-2016)による修正。取消線は原文からの削除、太字は追記を意味する。］

41. 同腹児数を調節しない場合、一腹につき児動物 2 匹を生後 4 日に屠殺し、血清甲状腺ホルモン濃度測定用の血液試料を採取する。~~可能であれば、乳頭保持の評価に充てる雄の児動物を確保するため、ここで選ばれる一腹につき 2 匹の仔動物は雌とする。~~**一腹当たりの児動物数が 8 匹もしくは 10 匹（使用したラットの系統で通常得られる一腹児数による）を下回った場合には、児動物の屠殺は行わない。もし、児動物の数が通常の一腹児数より 1 匹しか多くなかった場合には、1 匹だけを除去して、予定されている血清 T4 測定用の採血に充てる。**［訳注：ENV/JM/TG(2016)27 (13-Apr-2016)による修正。取消線は原文からの削除、太字は追記を意味する。］

観察

42. 一般状態の観察を少なくとも 1 日 1 回、望ましくは毎日同時刻に行い、投与後に予想される影響が最大となる期間を考慮に入れる。動物の健康状態を記録する。少なくとも 1 日 2 回、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。

43. 最初の暴露前に 1 回（個体内比較を可能にするため）、その後週 1 回以上、すべての親動物について詳細な一般状態の観察を実施する。この観察は、飼育ケージの外の標準的な観察台で行い、望ましくは毎日同時刻とする。観察結果を注意深く記録し、試験実施施設により明確に定義されるスコアリングシステムを用いることが望ましい。試験条件のばらつきが最小限になるように、望ましくは投与内容を知らされていない観察者が観察を行うように取り組む。認められる徴候には、皮膚、被毛、眼、粘膜、分泌物・排泄物の発生、自律神経活動（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸パターンの異常など）の変化を含めるべきであるが、これらに限られるものではない。歩行、姿勢、および動物の取り扱いに対する反応の変化、ならびに間代性もしくは強直性の動き、常同運動（過度の毛づくろい、反復的な旋回など）、

© OECD, (2015)

分娩困難もしくは遅延分娩、または異常行動（自傷、後ずさり歩行など）の存在についても記録する(10)。

44. 試験中 1 回、種々の刺激に対する感覚反応（聴覚刺激、視覚刺激、固有受容器刺激など）(8) (9) (11)、握力評価(12)、自発運動量の評価(13)を各群から無作為に選んだ雌雄各 5 匹について行う。準拠可能なさらに詳細な手順は、各参考文献に記載されている。ただし、参考文献記載以外の代替的な手順を使用できる。雄では、こうした機能検査を投与期間終了時、すなわち屠殺予定の直前だが血液学的検査または血液生化学検査のための採血前に行う（段落 53～56、および脚注 1 参照）。この機能検査期間中、雌は生理学的に同じ状態を保ち、望ましくは哺育最終週の間に 1 回（哺育 6～13 日など）、すなわち屠殺予定の直前に検査する。可能な限り、雌親動物と児動物とを引き離す回数を最小限にすること。

45. 本試験終了時に 1 回行う機能検査は、本試験に続く亜慢性（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、機能検査はその継続試験に含むこと。一方、本反復投与試験からの機能検査データが利用できれば、続く亜慢性または長期試験の用量選択に役立つ。

46. 例外として、機能検査を著しく妨げる毒性徴候を示す群については、機能検査を省略できる。

47. 妊娠期間を記録し、妊娠 0 日から算出する。分娩後可能な限り速やかに各同腹児を検査し、児動物の数および性、死産児数、生存産児数、矮小児数（対応する対照児動物より顕著に小型の児動物）、ならびに肉眼的異常について確認する。

48. 生存児動物の数および性別を確認し、児動物は分娩後 24 時間以内（分娩後 0 または 1 日）、ならびに少なくとも分娩後 4 日および 13 日に体重を測定する。段落 35 記載の観察に加え、出生児の異常行動があれば記録する。

49. 各児動物の AGD を出生後同じ日（生後 0～4 日の間）に測定する。AGD を測定した日に児動物の体重を測定し、AGD を児動物のサイズ、望ましくは体重の立方根で補正する(9)。OECD ガイダンス文書 151 (10)に推奨されているとおり、生後 12 日または 13 日に雄の児動物の乳頭数／乳輪数を計数する。

<u>体重および摂餌量／摂水量</u>

50. 雌雄について、投与開始日、その後は少なくとも週 1 回、および終了時に体重を測定する。妊娠期間中の雌については妊娠 0、7、14 および 20 日に、また分娩後 24 時間以内（分娩後

© OECD, (2015)

0 または 1 日)、ならびに少なくとも分娩後 4 日および 13 日に体重を測定する。各成熟動物について、個体ごとにその測定結果を報告する。

51. 交配前、妊娠および哺育期間中、摂餌量を少なくとも週 1 回測定する。交配期間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、これらの期間中摂水量も測定する。

<u>血液学的検査</u>

52. 試験中に 1 回、以下の血液学的検査を各群から無作為に選んだ雌雄各 5 匹について実施する：ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度、赤血球数、網状赤血球数、総白血球数、白血球分画、血小板数、血液凝固時間／凝固能。被験物質またはその推定代謝物に酸化性があるか、または酸化性が疑われる場合、メトヘモグロビン濃度およびハインツ小体がそれ以外に実施すべき測定項目として挙げられる。

53. 採血は指定部位から行う。雌は採血中、生理学的に同じ状態を保つ。妊娠開始のばらつきに関連する実務的困難を避けるため、雌の採血は交配前期間終了時、または安楽死の直前か剖検手順の一部として採血する方法に代えてもよい。雄の血液試料は、動物の安楽死手順の直前かその一部とするのが望ましい。あるいは、雌の採血を交配前期間終了時に実施した場合、雄の採血も交配前期間終了時としてよい。

54. 血液試料は適切な条件下で保存する。

<u>血液生化学検査</u>

55. 組織における主な毒性作用、および特に腎臓や肝臓に及ぼす作用を検討するため、各群から選択した雌雄各 5 匹から得た血液試料について、血液生化学検査を実施する。採血前に動物を一晩絶食させることが推奨される[(1)]。血漿または血清検査にはナトリウム、カリウム、血糖値、総コレステロール、尿素、クレアチニン、総蛋白、総アルブミン、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など)、胆汁酸を含む。追加の酵素（肝またはそれ以外に由来する）およびビリルビンの測定結果は、特定の状況下で有用な情報となり得る。

(1) 多くの血清および血漿測定項目、特に血糖値については一晩の絶食が望ましい。その主な理由は、非絶食により必然的に生ずるばらつきが増大し、わずかな影響をマスクし解釈を困難にする傾向があることによる。しかし、一方で、一晩の絶食は（妊娠）動物の一般的な代謝を妨げ、哺育や哺乳行動を乱し、特に給餌試験では被験物質への当該日暴露の障害となるおそれがある。一晩絶食を採用した場合、血液生化学検査は、雄については試験 4 週の機能検査実の<u>後に</u>行う。雌親については、児動物を取り除いた日（生後 13 日など）からさらに 1 日おく。雌親は哺育 13～14 日から一晩絶食させ、試験終了日の血液を血液生化学検査に用いる。

© OECD, (2015)

56. 次のスケジュールに基づいて、定められた部位から血液試料を採取する。
- 生後 4 日、腹あたり児動物 2 匹以上から
- 13 日の終了時、すべての母動物あたり児動物 2 匹以上から
- 終了時、すべての成熟雄動物から

すべての血液試料を適切な条件下で保存する。13 日の児動物および成熟雄動物から採取した血液試料について、血清甲状腺ホルモン（T4）濃度を評価する。関連性がある場合には、母動物および 4 日の児動物から採取した血液試料の T4 について、さらに評価する。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。甲状腺ホルモン分析用に、児動物の血液を同腹ごとにプールできる。甲状腺ホルモン（T4 および TSH）は「総濃度」として測定するのが望ましい。

57. 各群から無作為に選択した雄 5 匹について、以下の尿検査を試験最終週の規定採尿時に、任意で実施する：すなわち、外観、溶量、浸透圧または比重、pH、蛋白、糖、潜血／血球数である。

58. さらに、一般的な組織損傷の血清マーカーの検査を考慮する。被験物質の既知の特性により、関連する代謝プロファイルが影響を受ける、あるいは影響が疑われる場合、実施すべき他の測定項目には、カルシウム、リン酸塩、空腹時トリグリセリドおよび空腹時血糖、特定ホルモン、メトヘモグロビン、コリンエステラーゼが挙げられる。これらの項目は、ケースバイケースで決定する必要がある。

59. 以下の要因はホルモン測定結果のばらつき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（動物に対し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）
- ホルモン濃度測定用検査キット（標準曲線により異なる可能性がある）

60. ホルモン測定目的専用の血漿試料は当日のほぼ同時刻に採取する。ホルモン濃度分析時に得られる数値は市販の各種測定キットにより異なる。

61. 背景ベースラインデータが十分でない場合、投与開始前か、望ましくは実験群には含まれない一連の動物において、血液学的検査および血液生化学検査のばらつきの検討を考慮する。雌の場合、データは哺育中の動物からのものでなければならない。

© OECD, (2015)

病理学的検査

剖検

62. 試験のすべての成熟動物について、体表、開口部、頭蓋腔、胸腔、腹腔とその内容器官の注意深い検査を含む完全かつ詳細な剖検を行う。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。性周期の段階を判定し、雌生殖器の病理組織学的検査との相関の有無を可能にするため、剖検日に膣垢検査を行う。

63. すべての成熟雄動物について精巣および精巣上体（加えて肛門挙筋＋球海綿体筋の複合体、カウパー腺、陰茎亀頭）の重量を測定し、全成熟動物の卵巣、精巣、精巣上体、副生殖器および肉眼的病変が示されたすべての器官を保存する。すべての成熟雄動物について、精巣および精巣上体(加えて肛門挙筋と球海綿体筋の複合体、カウパー腺、**さらには凝固腺全体が付随した精嚢全体および前立腺、**および陰茎亀頭)**を取り出して結合組織を除き、好適にはそれらが乾燥しないように切除の後できるだけ早くそれらの湿重量を測定し、**また、全成熟動物の卵巣、精巣、精巣上体、副生殖器および肉眼的病変が示されたすべての器官を保存する。[訳注 : ENV/JM/TG(2016)27 (13-Apr-2016)による修正。太字は追記を意味する。]

64. すべての雌雄成熟動物、および 13 日の各一腹雌雄児動物各 1 匹から、その後の病理組織学的検査に供するため、甲状腺を最も適切な固定溶液に保存する。甲状腺重量は、固定後に測定する。切り出しはきわめて慎重になされるべきで、組織損傷を避けるため固定後のみに行う。組織損傷により病理組織学的分析が損なわれる可能性がある。血液試料は、動物の安楽死手順の直前か剖検の一部として指定の部位から採取し、適切な条件下で保存する（段落 56 参照）。

65. さらに、各群から無作為に選択した雌雄の成熟動物の**少なくとも**各 5 匹**(瀕死状態に陥るなどにより試験終了前に安楽死させたものを除く)について、肝臓、腎臓、副腎、胸腺、脾臓、心臓を取り出して結合組織を除き、好適にはそれらが乾燥しないように切除の後できるだけ早くそれらの湿重量を測定する。**以下の組織を、組織の種類ならびに行おうとする病理組織学的検査の双方に最も適した固定媒体に保存する。すべての肉眼的病変部、脳(大脳、小脳、橋などの代表的な領域)、脊髄、眼、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、気管および肺(固定液で膨らませてから浸漬して保存)、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、精嚢＋凝固腺)、膣、膀胱、リンパ節(流入領域の最も近位にあるリンパ節に加え、試験施設の経験に応じてさらに 1 ヵ所のリンパ節を採取(16))、望ましくは筋肉に極めて近接している末梢神経(坐骨神経または脛骨神経)、骨格筋および骨〔骨髄(切片または採取したばかりの骨髄穿刺液塗抹標本)を含む〕。精巣については、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が推奨され(16) (17) (18)、ホルマリンによる固定

© OECD, (2015)

は推奨されない。これらの固定液を速やかに浸透させるため、精巣の両極の位置で、白膜にそっと浅く穿刺を入れる。一般状態の観察や他の所見から、さらに別の組織を検査する必要が生じることがある。また、被験物質の既知の性質に基づいて、標的器官の可能性があると判断される器官があれば、それも保存する。[訳注：ENV/JM/TG(2016)27 (13-Apr-2016)による修正。太字は追記を意味する。]

66. 以下の組織から内分泌関連作用に関して有益な示唆が得られる可能性がある：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、背側および腹側前立腺）、膣、下垂体、雄の乳腺、副腎である。雄の乳腺の変化に関する立証は十分ではないが、本パラメータはエストロゲン作用を有する物質に対する感受性がきわめて高いと考えられる。段落 65 に記載していない器官／組織の観察は任意である。

67. 死亡した児動物および分娩後 13 日またはその直後に屠殺した児動物は、肉眼的異常について少なくとも外表を注意深く検査する。特に外部性殖器に注意を払い、発達の変化の徴候について検査する。

病理組織学的検査

68. 対照群および高用量群の選択された動物から保存した器官および組織について、完全な病理組織学的検査を行う（雄生殖腺の精子形成段階、精巣間質細胞の構造の病理組織学的検査に特に重点を置く）。必要な場合、児動物および残りの成熟動物の甲状腺について検査する。高用量群で投与に関連する変化が認められた場合には、これらの検査は他の用量群の動物でも行う。内分泌系組織の切開、固定、切片および病理組織学的検査のさらなる情報については、病理組織学的検査に関するガイダンス文書(10)に詳述されている。

69. すべての肉眼的病変部の検査を行う。NOAEL を明らかとするため、他の用量群、特に NOAEL を示すよう求められる群の標的器官を検査する。

70. サテライト群を用いた場合、投与群で影響を示すことが確認された組織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

71. 動物の個体ごとのデータを示す。また、全データを表形式に要約し、各投与群について、試験開始時動物数、試験中に死亡し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、妊娠雌動物数、毒性徴候を示した動物数、認められた毒性

© OECD, (2015)

徴候の内容（毒性作用の発現時期、持続期間、重症度を含む）、病理組織学的変化の種類、および同腹ごとのすべての関連データを示す。生殖／発生に対する影響の評価に非常に有用であることが証明されている総括表の形式を補遺 3 に示す。

72. 可能であれば、一般に認められた適切な統計手法により、数値結果を評価する。用量範囲に沿って影響を比較する場合には、多重 *t* 検定の使用を避ける。統計手法は試験デザインの際に選択する。AGD および乳頭保持の統計解析は、児動物の個体別データに基づき、同腹ごとの影響を考慮に入れる。適切な場合、同腹児を解析単位にする。児動物の体重の統計解析は、児動物の個体別データに基づき、同腹児数を考慮に入れる。試験規模が限られているため、多くの評価項目（特に生殖に関する評価項目）について「有意性」検定形式の統計解析を行っても、その価値は限定的である。最も広く用いられている一部の手法（特に中心傾向の測定結果を求めるパラメトリック検定）は不適切である。統計解析を用いる場合、検査対象の変数の分布に適した方法を選択し、試験開始前に選択すること。

結果の評価

73. この毒性試験の結果は、観察された影響、剖検および顕微鏡検査所見に照らして評価する。評価では、被験物質の用量と異常（肉眼病変、確認された標的器官、不妊、一般状態の異常、影響を受けた生殖能および同腹ごとの能力、体重変化、死亡に対する影響その他の毒性作用など）の有無、頻度、重症度との関連性などを対象とする。

74. 雄の投与期間が短いため、雄の生殖影響を評価する際には、受胎能のデータとともに精巣および精巣上体の病理組織学的検査結果を考慮する。入手可能であれば生殖／発生に関する既存対照データ（同腹児数、AGD、乳頭保持、血清 T4 濃度など）を使用することが試験の解釈の一助として役立つ可能性もある。

75. 品質管理上、既存対照データを収集し、数値データ（特に内分泌かく乱化学物質の検出に関連するパラメータ）の場合、変動係数を算出することが提唱される。実際の試験において評価する場合、これらのデータは比較を目的として使用できる。

試験報告書

76. 試験報告書には、以下の情報を含める。

被験物質：

- 入手可能な場合、供給元、ロット番号、使用期限
- 既知の場合、被験物質の安定性

© OECD, (2015)

単一成分物質：

- 外観、水溶性およびその他の関連する物理化学的性質
- 化学的識別情報、例えば 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の化学的同定など

多成分物質、UVCB 物質（組成が不明または不定の物質、複雑な反応生成物または生体物質）、混合物：

- 構成成分の化学的同定（上記参照）、含有量および関連のある物理化学的性質によるできる限りの特徴付け

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
- ラット以外の場合は、その種の妥当性

試験条件：

- 用量設定根拠
- 被験物質調合／被験物質混合飼料の調製方法、達成濃度、調製物の安定性および均一性の詳細
- 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）から実際の用量（mg/kg 体重/day）への換算方法
- 飼料および水の質の詳細
- 調整する場合、調整用の児動物選択の無作為化手順に関する詳細な記述

結果：

- 体重／体重変化
- 入手可能な場合、摂餌量、摂水量
- 性および用量ごとの毒性反応データ。受胎、妊娠、その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その他の影響
- 一般状態の観察結果の種類、重症度および期間（可逆性の有無に関して）

© OECD, (2015)

- 感覚反応、握力、自発運動量の評価
- 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客観的な血液生化学検査値
- 正常または異常な性周期の成熟雌動物数および性周期の期間
- 生存産児数、着床胚・胎児死亡数
- 肉眼的に視認可能な異常を有する児動物数、外性器の肉眼的評価結果、矮小児数
- 試験中の死亡時期、または試験終了までの動物の生存状況
- 記録時の着床数、同腹児数と同腹ごとの体重
- 児動物の体重データ
- すべての児動物の AGD（および AGD 測定日の体重）
- 雄の児動物の乳頭保持状況
- 13 日の児動物および成熟雄動物の甲状腺ホルモン濃度（測定した場合には雌親および 4 日の児動物も）
- 親動物の屠殺時体重および器官重量に関するデータ
- 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（入手可能な場合）
- 必要に応じて、結果の統計処理方法

結果の考察

結論

<u>結果の解釈</u>

77. 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の両方に重点を置くため、本試験の結果から、一般毒性がない場合に生じる生殖／発生への影響と、親動物にも毒性を示す投与量にのみ発現する影響とを区別できることになる（段落 7～11 参照）。本試験ではさらなる検討の必要性を示す場合があり、後の試験デザインの指針になると考えられる。生殖および発生に関する結果の解釈には、OECD ガイダンス文書 43 (19)を参照すると有用である。また、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 (16)は、本試験ガイドラインに役立つと考えられる（内分泌系）諸器官および膣垢の作製および評価について情報を提供している。

© OECD, (2015)

参考文献

1) OECD (1990). Room Document No. 1 for the 14th Joint Meeting of the Chemicals Group and Management Committee. Available upon request at Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

2) OECD (1992). Chairman's Report of the ad hoc Expert Meeting on Reproductive Toxicity Screening Methods, Tokyo, 27th-29th October, 1992. . Available upon request at Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

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) OECD (1998). Report of the First Meeting of the OECD Endocrine Disrupter Testing and Assessment (EDTA) Task Force, 10th-11th March 1998, Available upon request at Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

6) OECD (2015). Feasibility Study for Minor Enhancements of TG 421/422 with ED Relevant Endpoints. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 217), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

7) 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.

8) Goldman, J.M., Murr A.S., Buckalew A.R., Ferrell J.M.and Cooper R.L. (2007). The Rodent Estrous Cycle: Characterization of Vaginal Cytology and its Utility in Toxicological Studies, *Birth Defects Research*, Part B, 80 (2), 84-97.

9) Sadleir R.M.F.S. (1979). Cycles and Seasons, in Auston C.R. and Short R.V. (Eds.), Reproduction in Mammals: I. Germ Cells and Fertilization, Cambridge, New York.

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

11) Moser V.C., McDaniel K.M. and 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.

12) Meyer O.A., Tilson H.A., Byrd W.C. and 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.

© OECD, (2015)

13) 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.

14) Gallavan R.H. Jr, J.F. Holson, D.G. Stump, J.F. Knapp and V.L. Reynolds. (1999). "Interpreting the Toxicologic Significance of Alterations in Anogenital Distance: Potential for Confounding Effects of Progeny Body Weights", Reproductive Toxicology, 13: 383-390.

15) OECD. (2013). Guidance Document in Support of the Test Guideline on the Extended One Generation Reproductive Toxicity Study. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 151.). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

16) 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.

17) Hess RA and 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.

18) 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.

19) 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.

20) OECD (2011), Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption (No. 150), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

© OECD, (2015)

補遺 1

定義（OECD ガイダンス文書 150 (20)も参照）

アンドロゲン性とは、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。

抗アンドロゲン性とは、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。

抗エストロゲン性とは、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。

抗甲状腺活性とは、化学物質が哺乳動物で天然の甲状腺ホルモン（T_3 など）の作用を抑制する能力のことである。

発生毒性：生殖毒性の徴候で、子孫における出生前、周産期、出生後の構造的または機能的異常をいう。

用量とは、投与される被験物質の量をいう。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/day など）または一定の飼料中濃度として表される。

投与量とは、用量、投与頻度および投与期間からなる一般的な用語である。

明らかな毒性とは、被験物質投与後の明確な毒性徴候を示す一般的な用語である。これらの徴候については、危険有害性評価基準を満たし、かつ投与量の増加により重度の毒性徴候および死亡の可能性を生じることを予測できることとする。

受胎障害とは、雌または雄の生殖機能または生殖能力の異常をいう。

母動物毒性：妊娠雌動物に対する有害な影響のことで、特異的に生じる直接的影響か非特異的に生じる間接的影響のいずれかに分けられ、妊娠状態に関連するものをいう。

NOAEL とは、無毒性量の略語であり、投与に起因する投与に関連した有害所見が認められない最高用量をいう。

© OECD, (2015)

エストロゲン性とは、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。

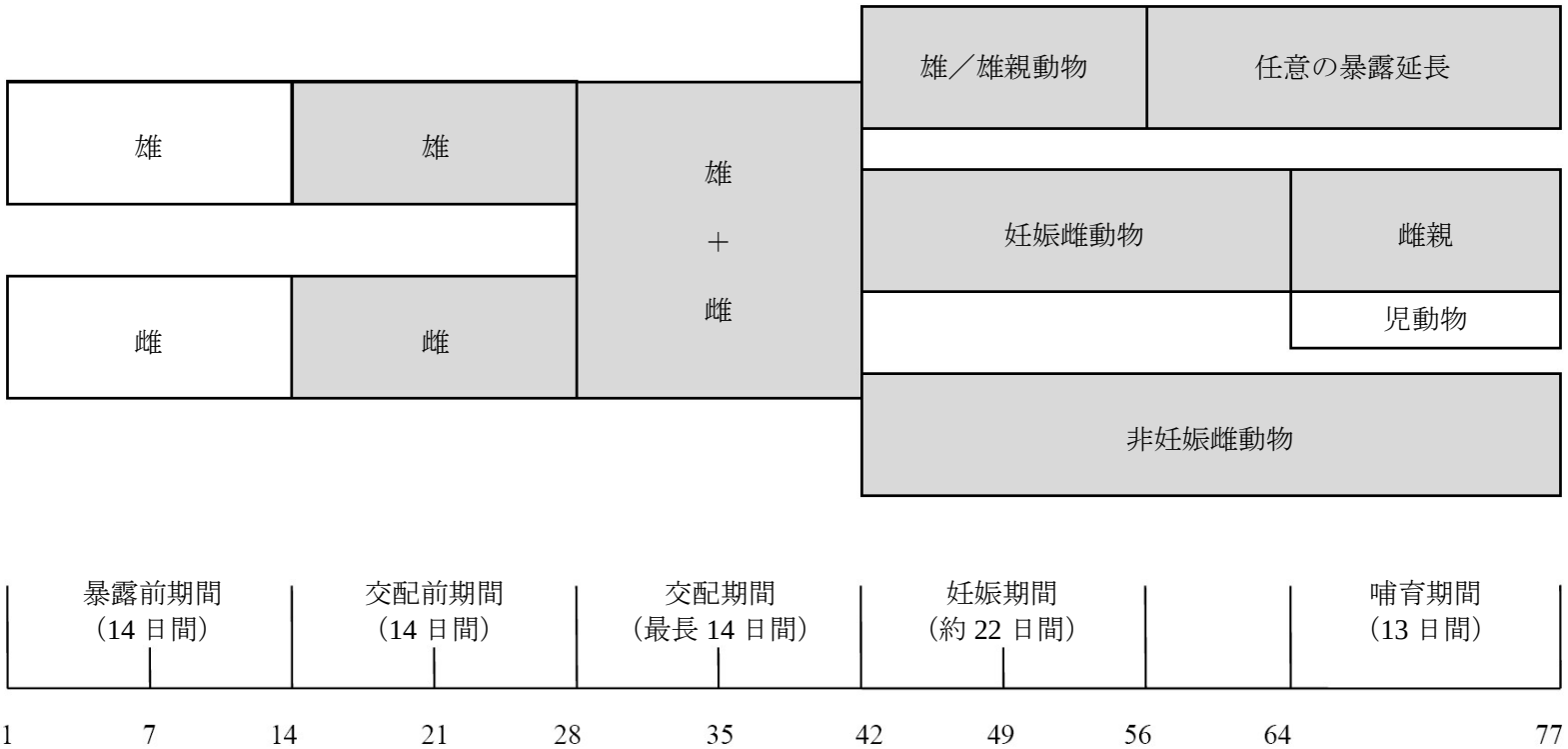
生殖毒性とは、子孫に対する有害な影響、または雌雄の生殖機能や生殖能力の障害を示す。

甲状腺活性とは、化学物質が哺乳動物で天然の甲状腺ホルモン（T_3 など）のように働く能力のことである。

バリデーションとは、試験法の操作上の要求事項および限界を特徴付け、特定の目的に対する試験法の信頼性および妥当性を証明するためにデザインされた科学的な検証プロセスのことである。

© OECD, (2015)

補遺 2：試験スケジュールの概略図（14 日間の完全な交配期間に基づく最長試験期間を示した場合）



© OECD, (2015)

補遺 3
生殖／発生に及ぼす影響の総括表

観察項目	値				
投与量（単位）	**0（対照）**	…	…	…	…
開始時交配対（N）					
性周期（少なくとも平均期間および不規則な周期の頻度）					
交尾が確認された雌（N）					
妊娠した雌（N）					
妊娠 1～5 日（N）					
妊娠 6～…[(1)]日（N）					
妊娠期間 21 日以下（N）					
妊娠期間 22 日（N）					
妊娠期間 23 日以上（N）					
生存産児を有する雌親（N）					
分娩後 4 日に生存児を有する雌親（N）					
着床数／雌親（平均）					
出生時の生存児数／雌親（平均）					
4 日の生存児数／雌親（平均）					
出生時の性比（雄／雌）（平均）					
4 日の性比（雄／雌）（平均）					
出生時の一腹児動物の体重（平均）					
4 日の一腹児動物の体重（平均）					
出生時の児動物の体重（平均）					
AGD 測定時の児動物の体重（雄の平均、雌の平均）					
出生日～生後 4 日の同じ日における児動物の AGD（雄の平均、雌の平均、生後日数の記録）					
4 日の児動物の体重（平均）					
13 日の児動物の体重（平均）					
13 日の雄の児動物における乳頭保持状況（平均）					
異常児動物					
0 匹の雌親					
1 匹の雌親					
2 匹以上の雌親					
出生児死亡					
出生前（着床数－生存産児数）					
0 匹の雌					
1 匹の雌					
2 匹の雌					
3 匹以上の雌					
出生後（生存産児数－出生後 13 日の生存児数）					
0 匹の雌					
1 匹の雌					
2 匹の雌					
3 匹以上の雌					

(1) 交配期間最終日

© OECD, (2015)