OECD/OCDE

1981/05/12

試験ガイドライン No.451

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 (1981), Test No. 451: Carcinogenicity Studies, 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-451-1981.pdf.

©OECD(1981)

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

癌原性試験

1．序論

・経口投与による試験のための基礎的前提条件

－固形または液状の被験物質
－被験物質の化学的同定
－被験物質の純度および不純物
－溶解性
－投与時の飼料または飲料中水での安定性
－加水分解と pH の関係
－復合物生成能
－融点／沸点

・吸入による試験のための基礎的前提条件

－ガス、揮発性物質またはエアゾール状／粒子状の被験物質
－被験物質の化学的性状
－被験物質の純度および不純物
－液状被験物質：蒸気圧、沸点
－エアゾール／微粒子：粒子の大きさ、形および密度分布
－引火点
－爆発性

・基準となる文書

毒性ならびに安全性評価の指針を準備すべく多くの文書が出版されている。これらの文書を一覧すると、目的や実験計画には多少違いがあるが、多くの共通点を持っている。これらの指針の発展がみられるとともに、多くの国々で用いられている試験的な指針が利用できた。WHO（世界保健機関）と IARC（国際癌研究機関）の代表専門家の意見と多くの国際機関の専門家の努力に感謝する。

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。

癌原性試験

２．試験法

A. 緒言、目的、範囲、関連性、適応および限界

長期癌原性試験の目的は、被験物質を適当な経路で種々な量を試験動物に与え、その被験物質の投与中または投与後における腫瘍性病変の出現を試験動物の生涯の大半にわたり観察することである。このような試験には注意深い試験計画の記載と高い水準の病理学的ならびに偏りのない統計学的解析が要求される。これらの要求項目についてはよく知られており、ここ数年間、特別な改変はなされていない。

B. 試験手順の解説

・被験物質とその混合試料の性状

－毒性試験を始める前に被験物質の特性の記述がなされるべきである。化学的同定および化学構造に関する情報はときとして構造活性相関と生物学的または毒性学的性状を明らかにするための解析に用いられる。被験物質の物理・化学的性状は被験物質の投与法の選択、研究計画または被験物質の取り扱い、貯蔵などに関する重要な情報を与えてくれる。

－被験物質の組成は、主な不純物も含めて、試験の開始に先だって明らかにしておくべきである。

－被験物質の安定性も含めた必要な物理・化学的性質は、癌原性試験の開始に先だって明らかにしておくべきである。

－投与時の媒体や生体試料中の被験物質（可能であれば主な不純物も含めて）の定性的および定量的分析方法の開発は、長期試験開始に先だって行うべきである。

癌原性試験

・試験動物

動物種の選択

活性がわかっていない物質については２種の動物を使って試験することが勧められている。１種の動物において明瞭な発癌作用が認められれば、ヒトに対して癌原性の危険性の警告と考えられるが、試験した全部の種（少なくとも２種）において陰性の所見の場合にのみ陰性の証拠として十分とみなされる。ラットやマウスは比較的寿命が短く、飼育の費用が安く、薬理学や毒性学的研究で広く使用され、腫瘍の発生に感受性があり、純系あるいは十分に特徴の知られた系統が利用できるために好んで使用されてきた。これらの特色により、それらの動物の生理や病理については多くの情報が利用できる。

動物種や系統を選択する際に、特別に感受性が高いものを選ぶことは重要である。たとえば、一般的にラットよりもマウスの方が肝癌が発生しやすく、逆にマウスよりもラットの方が皮下腫瘍が発生しやすい。マウスとウサギの皮膚は、ラットやハムスターに比べ、塗布により、とくに多環炭化水素を使用したときにはおそらく腫瘍発生の感受性が高い。ハムスターはマウスより、またおそらくはラットよりも膀胱癌発生の感受性が高い。

非げっ歯類、とくにイヌや霊長類は過去にはあまり使われなかった。現在は使用されてはいるが、十分な数を扱うのが難しいこと、観察期間が長いこと、霊長類は入手しにくいことなどにより、非げっ歯類は長期実験には不向きとされている。また、種々の化学物質の代謝の比較研究によって、霊長類やイヌはげっ歯類よりもヒトに近いということが必ずしも示されてはいない。しかし、げっ歯類を用いての長期実験に対する原則の多くは、非げっ歯類を用いての実験にも適用できる。

モルモットやウサギは、ときに使用されるが、小げっ歯類のような便利さが少なく、寿命がより長く、飼育管理に問題があることなどの不利がある。

選ばれた３種のげっ歯類についてみると、ハムスターにくらべてマウスやラットがより広く使用されてきた。シリアン・ゴールデン・ハムスターは主として呼吸器系や尿路系での発癌作用をみるにはよい材料とされているが、将来、この種属は一般的な癌原性のスクリーニングにも広範に使用されるようになるであろう。

純系、近交系や１代雑種が他の系よりもよいという科学的根拠はない。重要なことは、動物の特徴がよくわかっていて、健康なコロニーに由来することである。特徴がよくわかっているコロニーならば無作為交配の動物でも、あるいは同種交配を極力避けた動物でもよい。純系の動物を利用することは、たとえば平均生存期間などのよく知られた特徴や自然腫瘍発生率の予測などを利用できる利点がある。２系の純系からの交雑マウスはとくに頑健で長寿であるのでよいと思われるが、手に入れるのが難しい。ハムスターは一般に無作為に交配しているが、純系の入手も可能である。

使用する動物系についての腫瘍の発生状況をよく知っておくと、試験の結果を評価するために非常に役立つ。自然発生腫瘍の頻度の低い系を選択すべきである。多くの場合、純系でない場合は純系よりもバックグラウンドの腫瘍発生率が予測しにくい。

性および試験開始時の週齢

雌雄の両性を用いるべきである。

長期癌原性試験では、通常、離乳期または離乳期以後の動物を用いてきた。この方法によると、動物の生涯の大半にわたって被験物質を暴露させ、腫瘍の発生を観察することができる。

ウイルス発癌が宿主の年齢に影響されるという事実から、新生児では発癌物質に対する感受性も高いであろうという点に関心がもたれ、最近では、出生前の胎児を被験物質に暴露させる実験も試みられている。ある組織、とくに神経組織の感受性は胎児期においてより高いことが示されている。この現象は、胎児期の活発な器官形成と細胞増殖によるものとされている。胎児の感受性がどの程度に高いのかはよくわかっていない。

新生児は、通常、成熟動物よりも感受性が高いとされているが、必ずしもその通りではない。現在では、胎児期での暴露が癌原性を現し、それ以後の暴露では現れないような化学物質はごく限られている。

胎児、新生児および離乳期動物は、成熟動物とは解剖学的、生化学的、生理学的な特徴、ウイルス感受性、ホルモン環境、免疫能力などの点でも異なっている。これらの差異が発癌にどの程度影響を及ぼしているかについてはさらに将来研究する必要がある。

げっ歯動物での投与は、離乳と環境馴化が終りしだい直ちに開始すべきであり、できれば6週齢以前が望ましい。胎児あるいは新生児を用いる実験は、特殊な場合には推奨される。

試験群の規模

試験結果の信頼度を高めるには、統計学的な意見を求めるべきである。動物を試験群と対照群に適切に分類するための適切な無作為割り付け法はとくに重要である。

十分な数の動物が用いられるべきであり、その結果が試験の最終段階において、各群に十分な動物数を持ち、十分生物学的および統計学的評価を可能とする。

上記のような理由で、試験群とその対照群は少なくとも雌雄各 50 匹で構成すべきである。各群の数を少し増加させても、統計学的処理にはほとんど貢献しない。試験計画で、中間に屠殺する予定があるならば、最初の動物数はその分だけ増やしておかなければならない。

動物飼育、給餌および給水

環境条件の厳密な規制と適切な動物管理技術は、意義ある結果を得るために必須である。このような管理の一部として、動物施設への出入りは過度にならないよう監視する。

動物の収容状態、合併症、薬物療法、餌・空気・水・床敷の中の不純物、一般的な動物管理設備などの諸要因が動物試験の結果に重大な影響を与える。

癌原性試験

試験経過中にときとして発生する感染症あるいは寄生虫症は、もしげっ歯類が特定の病原微生物の存在しない状態で飼育、維持されていれば容易に抑制の助けとなる。長期試験に用いる床敷は滅菌しておくべきである。動物は静かで換気のゆきとどいた、光量、温度、湿度がよく管理された部屋で飼育されるべきである。実際は、動物が環境条件に馴化するまで始められるべきではなく、また外部から搬入された動物は十分な検疫期間を経てから実験に用いるべきである。

一つの部屋に１種以上の動物を飼うのは避けるべきである。被験物質に不注意による交叉暴露の機会が少しでもある場合には、各部屋で一つの化学物質のみを試験すべきである。交叉暴露に対する配慮は、試験動物と同じ部屋で飼われている対照動物にも払うべきである。もし対照動物が違う部屋で飼育されると、試験成績の評価に際し別の問題が起こるであろう。

ケージ、架台およびその他の備品は、定期的に、容易に洗浄できるものでなければならない。消毒剤や殺虫剤のような生物学的活性化合物は、動物試験の結果に影響するので、動物に接触する可能性のあるところでは、とくに使用を避けるべきである。より詳しい動物飼育方法は、科学文献、動物飼育関連書および OECD を含む Good Laboratory Practices の公的な文書などから得ることができる。

飼料は試験動物種の栄養要求を満たし、試験結果に影響するおそれのある不純物を含んでいてはならない。これは飼料中の不純物や種々の栄養物の量は試験動物の生理過程を変えることがすでに明らかにされているからである。げっ歯類は自由に摂餌や飲水ができ、少なくとも週に１回、飼料をかえるようにする。現在、一般（標準）飼料、合成飼料、各種の配合飼料のような三つのタイプの飼料が利用されている。初めの二つのタイプが発癌性の生物試験に最も広く使われている。どの飼料を選んだにしても、供給者は基礎飼料中の栄養成分や不純物の量を定期的に検査すべきである。飼料の成分の代謝の影響を腫瘍発生や動物の寿命と同じ位知ることは望ましいことである。

被験物質自身が栄養成分であるような場合（たとえば工業的に処理した蛋白質や澱粉質；微生物飼化蛋白，照射食品の製品）には飼料の組成にとくに注意しなければならない。何故ならば、このような製品は、普通は相当する栄養成分（たとえば調整澱粉対非調整澱粉，微生物飼化蛋白対大豆粉）のかわりに 20%ないし 60%の量で飼料に混ぜなければならないからである。

癌原性試験

世界各国での工業用および農業用化学物質の使用パターンが様々であるため、OECD として飼料中に含まれる不純物を一つのリストに統一して掲げることは難しい。この事実にもかかわらず、発癌性に影響を及ぼすことが知られている一般的な飼料成分（たとえば抗酸化剤, 不飽和脂肪酸, セレン）は、影響を現す濃度で入ってはならない。発癌性試験の評価に影響があると思われる一般的な飼料不純物は、それらの存否についてとくに注意をはらうべきである。これに関係するものとして、たとえば残留農薬、塩素化あるいは多環芳香族炭化水素、エストロゲン、重金属、ニトロソアミン、マイコトキシン類などである。

さらに、基礎飼料の定期的な分析は、発癌物質を含めて、栄養成分と非意図的汚染物質の両方について試験実施機関で行うのがよい。このような分析結果は保存しておき、各々の被験物質の最終報告に添付する。

飲料水あるいは飼料に入れて被験物質を投与するときには安定性を試験することが必要である。慢性試験に先立って、正確に安定性と均一性を試験することにより飼料を調整する頻度と必要とされる検査の頻度を決めるようにしなければならない。

飼料を滅菌するときには、被験物質および飼料成分に及ぼす影響を知るべきである。栄養成分量を適切に調整しなければならない。生物検定に対する化学的殺菌剤（たとえばエチレンオキサイド）の影響を確かめなければならない。

癌原性試験の期間中、研究者は使用する水の中に潜在的な不純物が存在する可能性があることを考慮しておく。たとえば、ヒトが使う上で問題がないとされた水は一般的に満足できるものと思われるが、研究者は利用する水質成分データを可能な限り確かめたほうがよい。

癌原性試験

・試験の実施

用量段階および投与回数

危険性評価の目的のためには、併置対照群に加え、少なくとも３段階の投与段階が設定されるべきである。最大量は、腫瘍以外の原因で正常な寿命を変化させずに、最小限の毒性徴候を表すのに十分な用量であるべきである。毒性の徴候とは、血清中の酵素の変動とか体重増加抑制現象（10%以下の）などである。餌に混じて投与する場合は、栄養成分（給餌と水の項参照）の場合を除いては最高濃度は５％を超えるべきではない。

最小量は、動物の正常な成長、発達および寿命を妨げるべきではないし、他の毒性徴候を表す量であってはならない。一般的には、最大量の 10%以下であってはならない。

中間量は、物質の毒性的生体内動態がしられている場合には、それを参考にして高濃度群と低濃度群の大体中間に設定すべきである。

これらの投与量の選択は、すでに存在するデータ、できれば亜慢性毒性試験の結果からなされるべきである。

暴露の頻度は、通常は毎日であるが、投与経路によって変わり得る。被験物質を飲料水または飼料中に混ぜて投与する場合には連続投与が可能となる。投与する頻度は、被験物質の毒性学的生体内動態によっても決定される。

対照群

被験物質への暴露という点を除いては、処置群とあらゆる点において同一な併置対照群を設定すべきである。

エアゾールなどの吸入試験または生物学的活性の未確認な乳化剤の経口投与実績などの特殊な場合には陰性対照群が用いられるべきである。

この陰性の対照群は、被験物質もしくは種々の賦形剤にも暴露されない点を除いては、他の処置群の動物と同様に処置されるものである。

癌原性試験

・投与経路

３種類の主な投与経路とは、経口、経皮および吸入である。投与経路の選択は、被験物質の物理的・化学的性状と、ヒトにおける主な暴露の形式によるものである。

一般的には、暴露の頻度は選択された投与経路の形式によって変化し得るものである。さらに、被験物質の毒性学的生体内動態がもしわかっているのであれば、それに従って決められるべきである。

経口投与試験

被験物質が消化管から吸収されることが立証されているときには、経口投与が望ましい。動物は、被験物質を飼料中または飲料水中、あるいは胃ゾンデによる強制投与法によって、試験期間で定められている期間にわたり投与されねばならない。もし被験物質が、飲料水中または飼料中に混ぜられる際には、暴露は連続的となる。被験物質が飼料中に混入されている場合は、栄養成分の場合を例外として、最高濃度が５％を越えるべきではない（飼料の項参照)。理想的には、週５日間の投与では投与しない日に毒性からの回復が起こり、ひいてはその後の評価に影響を与えるため、一般には週７日間毎日投与がなされねばならない。しかしながら実務的な見地からは週５日投与は容認される。

経皮投与試験

皮膚への暴露がヒトへの主たる暴露経路と予想される場合には選ばれるであろうし、皮膚障害発現のモデルとしても選ばれることがある。皮膚の発癌を誘導するための特異な試験法については、本指針ではふれていない。

吸入試験

本指針では、吸入試験についてやや詳細に規定している。これは他の試験に比べ複雑な技術的問題を抱えているからである。しかし、気管内注入法も特殊な場合には有用な手段の一つとなる点を認識しておくべきである。

癌原性試験

長期暴露は労働試験に基づいて設定されており、動物の暴露はチャンバー内の濃度が平衡になった後、１日６時間、週５日（間歇暴露）とするか、あるいは一般環境での暴露を想定し、動物に餌を与えたり、チャンバーの手入れのための時間を約１時間を見込んで１日 22～24 時間、週７日の暴露（連続暴露）としてある。いずれの場合にも、通常、動物は一定濃度の被験物質に暴露される。間歇暴露と連続暴露の大きな違いは、前者では１日の暴露のあと 17～18 時間も回復期がある点であり、週末にはさらに長い回復期があることである。

間歇暴露および連続暴露のいずれを選ぶかは、試験の目的およびヒトでの暴露状態をもとに行われるが、それぞれの試験の技術的困難さも考慮に入れなければならない。たとえば、連続暴露では、環境大気中の暴露状態を模倣したものとしての利点はあるが、暴露中に給水、給餌を必要とすること、より複雑な（しかも確実な）エアゾールや蒸気の発生やそのモニター技術が求められるといったことで相殺される面もある。

暴露チャンバー

動物は、19%の酸素濃度と均一な分布を保つために１時間あたり 12～15 回の換気が行えるように設計されたチャンバー内で試験される。対照群および暴露群用のチャンバーは、被験物質に暴露されるという点を除いてすべての点で暴露条件が匹敵するように構造とデザイン上同一であるべきである。被験物質がチャンバー外へ漏れないように通常チャンバー内をわずかに陰圧に維持する。チャンバーは、動物の匹数が最小であり、被験物質の暴露が最大となるべきである。チャンバー内の大気を一定に保つ一般的ルールとしては、動物の総体積がチャンバー容積の５％を越えないようにすることである。

物理学的測定

チャンバー内の空気濃度の大きな変動やチャンバー操作上での大きな不都合を避けるために次のような測定をして注意して行う。

(a) 流量：チャンバーを通過する空気流量を連続的に監視することが望ましい。

(b) チャンバー内濃度 : 暴露期間中は、被験物質の実効濃度をできるだけ一定に保つべきである。

(c) 温度ならびに湿度 : げっ歯類においてはチャンバー内の温度は 22℃（± 2 ℃）に、湿度は 30～70%に維持されるべきである。ただし、チャンバー内の空気環境に被験物質を水で懸濁した場合はこの限りではない。いずれも継続的に監視すべきである。

(d) 粒子の大きさの測定 : 液体や固体のエアゾールを含めてチャンバー内の粒度分布を調べる。エアゾールの粒子は使用される被験物質に吸入可能な大きさでなければならない。チャンバー内の暴露空気のサンプルは、動物が呼吸しているものと同じものを採取すべきである。試料空気は、動物が暴露されている粒子分布を代表するものであり、エアゾールの大部分が吸入されない場合でも、その浮遊エアゾールのすべてを重量的に示すものとすべきである。粒子の大きさの分析は、発生装置を調整中はエアゾールの安定性を確かめるためにしばしば行い、その後は動物が暴露されている間は粒度分布が適切に維持されていることを調べるために必要なだけ頻繁に行う。

・試験期間

癌原性試験の期間は、使用動物の正常の寿命の大部分を包含することが必要である。試験期間はすべての動物の生存期間とすべきことが示唆されている。しかしながら、中には一部の動物で平均的な生存期間を大幅に越えることもあり、実験の継続期間が不必要に延長され、実験の実施および結果の評価を複雑にすることもある。むしろその系の大多数にあてはまると予想される寿命の一定の期間を終了時期とするのが望ましい。大多数の化学物質はこのような観察期間内に腫瘍を発生させる可能性が大であるためである。

次のような指針が推奨される。

(a) 一般に、試験の終了は、マウス、ハムスターで 18 カ月、ラットで 24 カ月とすべきである。しかしながら、ある系統で、より長い寿命ないしは低い自然腫瘍発生率を示す場合においてもマウス、ハムスターでは 24 カ月、ラットでは 30 カ月で終了すべきである。

(b) しかしながら試験の終了は、低用量群または対照群の生存数が 25%に達したときでもよい。明らかな性差がある場合の試験の終了は、各々の性において別の試験と見做すべきである。単に、高用量群において明らかな毒性によって終了前に死んでしまったような場合があっても、それは試験の終了の目安とはならない。

試験が陰性であることを認めるためには次の基準が必要である。

(1) いずれの群においても動物の 10%以上が自己融解、共食い、または飼育上の問題で失われてはならない

(2) すべての群の生存数は、マウス、ハムスターにおいて 18 カ月時点で、ラットにおいては 24 カ月時点で 50%以上でなければならない

３．データおよび報告

・観察

臨床症状は１日１回以上綿密に観察する。たとえば、死亡が発見された動物の剖検や冷蔵保存、衰弱あるいは瀕死動物の隔離や屠殺といった試験のために動物の損失を最少にするための適当な処置がとられるように観察が毎日なされねばならない。疾病、自己融解や共食いによる動物の損失を最小限にするとともに、すべての中毒作用の始まりやその進行をみきわめるために注意深い観察がなされねばならない。

すべての動物について臨床症状や死亡率の記録が必要である。腫瘍発生については特別の注意が必要である。発生時期、発生部位、大きさ、目でみえるまたは触れる腫瘍の出現およびその進行などが記録されねばならない。

摂飼料は、最初の 13 週は毎週、それ以降は動物の健康状態や体重の変化に異状がなければおよそ３カ月の間隔で測定されねばならない。

癌原性試験

もし、臨床的観察で試験中に動物の健康状態の悪化を示すようであれば、当該動物の白血球百分率検査を行わねばならない。

12 カ月目、18 カ月目、および屠殺前に全動物について血液塗株標本を作製する。白血球百分率検査は最高用量群と対照群について実施する。これらの所見、とくに屠殺前の所見もしくは病理検査所見から必要と考えられる場合には、次のより低い用量群についても白血球百分率検査を同様に行う。

・病理

病理学的検索は、すなわち肉眼的検査、顕微鏡的検査とともに、しばしば癌原性試験の基礎となるものである。それゆえ、最新の注意でもって、診断を含む詳細な記録がなされ、報告されねばならない。

剖検手順

注意深く行われた剖検は次の病理組織学的検索によい情報を与え、またある場合にはより詳細な特定部位の顕微鏡的検索に役立つものである。不十分な剖検は、たとえ顕微鏡的検索が十分に行われようと、それによって代用されうるものではない。剖検は十分に訓練を積んだ実験動物病理学者の指導のもので行われなければならない。

実験の途中で死亡または衰弱して屠殺した動物のすべてについて完全な剖検がなされねばならない。屠殺前に、すべての動物から白血球像のための血液が採取されねばならない。肉眼的に観察しうる腫瘍または腫瘍を疑わせる病変のすべてが保存されねばならない。そして肉眼的観察と顕微鏡的検索を比較検討する試みがなされねばならない。

すべての動物のすべての器官および組織は顕微鏡的検索のために保存されねばならない。これには通常以下のような器官および組織のサンプルが含まれる。脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む)、胸腺、肺（気管を含む)、心、唾液腺、肝、脾、腎、副腎、食道、胃、十二指腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、子宮、膀胱、リンパ節、膵、生殖腺、副生殖器、雌の乳腺、皮膚、筋肉、末梢神経、脊髄、胸骨と骨髄、大腿骨（関節を含む)、眼など肺、膀胱の器官を保存するためには固

定液で膨張させるのが普通であるが、吸入試験の際に肺を膨張させることは、十分な組織学的検索のための必須の条件である。吸入試験などのような特別な場合には、鼻腔、咽頭、喉頭を含むすべての呼吸器系器官の保存が必要である。

もし、他の臨床検査がなされていたら、それらは病理学者に有意義な指示を与えるので、顕微鏡的検査を行う前にその情報を入手せねばならない。

病理組織学的検索

十分な癌原性試験を行うために、肉眼的検索とともに顕微鏡的検索は必須である。おそらくはすべての組織のあらゆる検索が望まれるところであるが、省資源の観点からはより選択的な追究をすることになる。最小限、以下のことが顕微鏡的検索のために要求される。

(a) すべての群の動物について、肉眼的に観察された腫瘍および腫瘍を疑わせる病変のすべて

(b) ①死亡または途中で屠殺したすべての動物のあらゆる器官および組織、②最高濃度群および対照群のすべての動物のあらゆる器官および組織。すべての病理組織学的病変について注意が払われなければならないが、過形成、前癌状態ないしは腫瘍性病変ではとくに十分な記載がなされなければならない

(c) もしこれらの過形成、前癌状態、腫瘍性病変などに関して、最高濃度群と対照群との間に有意の差がみられれば、実験に用いられたすべての動物の当該器官または組織について顕微鏡的検索を行わなければならない

注記：高濃度群の生存動物が対照群の動物よりも非常に少ない場合には、次に低い濃度群の動物について前述のような検索を行わなければならない。

(d) 実験結果で、動物の寿命や腫瘍発生に影響するかもしれない作用の発現に本質的な変動を示す事実があれば、より低い濃度群についても上述のように検索しなければならない

(e) 投与群にみられた変化の意味を評価するためには、用いた動物の系統における（同じ飼育環境における，すなわちバックグランドの成績）腫瘍または自然発生を疑わせる病変の発生頻度の成績が必要となる

・試験報告書

すべての試験において次のことが明確にされなければならない。

－試験実施の施設名、所在地
－試験期日
－試験実施担当者、報告責任者

報告書には完全かつ正確な試験の過程の記述および結果の評価に必要なすべての情報が含まれなければならない。データの要約、データの解析、および解析結果より得られる結論の記述が含まれなければならない。要約には最も特徴的なデータ、観察および過形成、前癌状態、または腫瘍などを含む毒性学的影響を示していると考えられる対照データとの相違の要点などが含まれなければならない。

４．参考文献

1. Report of the Subtask Group on Carcinogen Testing to the Interagency Collaborative Group on Environmental Carcinogenesis, United States National Cancer Institute, February, 1976.
2. United States Pharmaceutical Manufactures Association Guidelines for the Assessment of Drug and Medical Device Safety in Animals. February, 1977.
3. Principles for the Testing and Evaluation of Drugs for Carcinogenicity, WHO Technical Report Series No. 426, Geneva, 1969.
4. Guidelines for Carcinogen Bioassay in Small Rodents. Carcinogenesis Bioassay Program, Division of Cancer control and Prevention, United States National Cancer Institute, Bethesda, MD., U.S.A., 1974.

5. The Testing of Chemicals for Carcinogenicity, Mutagenicity, Teratogenicity. Dept. of Health and Welfare, Canada, 1975.
6. Principles and Procedures for Evaluating the Toxicity of Household Substances. United States National Academy of Sciences, Washington, D.C.
7. Toxicity and Clinical Trial Subcommittee, Committee on Safety of Medicines, November, 1977.
8. United States Environmental Protection Agency Pesticide Programs. Proposed Guidelines for Resistering Pesticides in the U.S., Hazard Evaluation : Humans and Domestic Animals. Federal Register, Vol. 43, No. 163, pp. 37336~37403, August 22, 1978.
9. Report of the Chronic Toxicity and Carcinogenicity Panel, United States Food and Drug Administration, December 19, 1977.
10. Food and Drug Administration Advisory Committee on Protocols for Safety Evaluation : Panel on Cascinogenesis : Report on Cancer Testing in the Safety of Food Additives and Pesticides. Tox. Appl. Pharmacol., 20, 419~438, 1971.
11. Concepts of a Bioassay Program in Environmental Carcinogenesis-Norbert Page. in Environmental Cancer (Kraybill and Mehlman, eds.) Vol. 3, Adv. in Mod. Tox., Wiley & Sons, 1977.
12. Chronic Toxicity and Carcinogenicity Guidelines. Norbert Page, J. Env. Path. and Toxicol. : 1, 161~182, 1977.
13. Carcinogenesis Testing of Chemicals, CRC Press. Inc., 1973, ed. L. Golberg. Proceedings of Conference on Carcinogenesis Testing in the Development of New Drugs, May 23~25, 1973, Washington, D.C.
14. Report of Chronic Studies Task Force Committee, Unites States National Center for Toxicological Research (Appendix B) , April 12~21, 1972.
15. Number and Species of Experimental Animals for Inhalation Carcinogenicity Studies, Leong, BKJ, and Laskin, S. Paper presented at Conference on Target Organ Toxicity. Cincinnati, Ohio. Sept., 1975.

16. Principles for Evaluating Chemicals in the Environment. United States National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1975.
17. WHO Publication: Environmental Health Criteria 6, Principles and Methods for Evaluating the Toxicity of Chemicals, Part I, Geneva, 1978.
18. U. S. Environmental Protection Agency, Office of Testing and Evaluation. Proposed Health Effects Test Standards for Toxic Substances Control Act Test Rules. 40 CFR Part 772, Standards for Development of Test Dats, Subpart D-Chronic Health Effects. Federal Register, Vol. 44, No. 91, pp. 27350~27362, 1979.
19. Carcinogenicty testing, edited by I. Berenblum. UICC Technical Report Series, Vol. 2, International Union Against Cancer, Geneva, 1969.
20. IARC Monographs on the Evaluation of the Carciogenic Risk of Chemicals to Humans, Supplement 2, Long-term and short-term screening assays for carcinogens : a critical appraisal ; International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.