OECD/OCDE

2009/09/07

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 (2009), 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-451-2009.pdf.

©OECD(2009)

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

2009 年 9 月 7 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

癌原性試験

はじめに

1. OECD の化学物質の試験に関するガイドライン（TG）は、科学的進歩、実際の評価法の変化および動物愛護に関する配慮を踏まえて定期的に見直されている。試験ガイドライン 451「癌原性試験」の初版は 1981 年に採択されたが、動物愛護の分野と規制要件における最近の変化を反映するため、改訂版の作成が必要と考えられた(1)(2)(3)(4)(5)。TG 451 の改訂は、試験ガイドライン 452「慢性毒性試験」および 453「慢性毒性／癌原性併合試験」の改訂と並行して行われ、試験に用いた動物から更なる情報を得ることと、用量設定に関する記載をより充実させることを目的としていた。なお、本試験ガイドラインは、農薬および工業用化学物質を含む広範囲の化学物質の試験に用いられるように計画されている。ただし、医薬品では試験の詳細と要件が一部異なっている可能性のあることに注意する（日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイダンス S1B：「医薬品の癌原性試験」参照）。

2. 大部分の癌原性試験はげっ歯類を用いて実施されるため、本試験ガイドラインは主にこれらの種で行われる試験への適用を意図している。非げっ歯類の種で癌原性試験を行う必要がある場合は、本ガイドラインにまとめた原則および手順と、OECD TG 409「非げっ歯類における 90 日間反復経口投与毒性試験」(6)にまとめた原則および手順とを併せ、適切に修正を加えながら適用すること。なお、慢性毒性および癌原性試験の計画と実施に関する OECD のガイダンス文書 No. 116 (7)に更なるガイダンスが示されている。

3. 癌原性試験で用いられる 3 つの主な投与経路は、経口、経皮および吸入である。投与経路の選択は、被験物質の物理的および化学的特性とヒトの主たる暴露経路による。暴露経路の選択に関しては、更なる情報がガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。

4. 本ガイドラインは、癌原性試験で最も一般的に用いられる経口での暴露に焦点を絞っている。経皮または吸入経路での暴露による癌原性試験は、ヒトの健康に対するリスク評価で必要となったり、ある種の規制制度下で要求されたりすることもあろうが、両暴露経路は技術的にかなり複雑な部分があるため、そのような試験は個別に計画する必要がある。ただし、ここにまとめた経口投与による癌原性評価のためのガイドラインは、推奨される投与期間や臨床および病理学的検査項目などの点で、吸入試験や経皮試験のプロトコールの基礎となるであろう。被験物質の経皮(7)および吸入経路(7)(8)での投与に関する OECD のガイダンスも発行されている。吸入経路による暴露を用いた長期試験を計画する際には、TG 412 (9)および TG 413 (10)と、急性吸入試験

© OECD（2009 年）
出典が適切に示されている限り、本文書の非営利目的での個人的使用は自由であり、OECD による事前の承諾を必要としない。本文書を営利目的で使用する場合には、OECD の文書による許可を必要とする。

についての関連する OECD ガイダンス文書(8)を併せて特に参考にすること。また、経皮経路で実施する試験の場合には、TG 410 (11)を参考にすること。

5. 癌原性試験では、用いる動物種の全生涯にわたって反復暴露したときに生じる可能性のある健康に対するハザードについての情報が得られる。この試験により、癌原性を含めた物質の毒性影響に関する情報が得られ、標的器官と蓄積の可能性が明らかになることも期待され、更に毒性に関して、また（非遺伝毒性発癌物質の場合には）腫瘍反応に関して、有害影響がみられない量（無毒性量）の推定値が得られる。この無毒性量は、ヒトにおける暴露の安全基準確立に用いることができる。なお、可能な限り多くの情報が得られるように、動物の一般状態を注意深く観察することの必要性も強調されている。

6. 本試験ガイドラインで取り扱う癌原性試験の目的は以下のとおりである。

- 同時対照群と比較して、腫瘍の発生頻度の増加、悪性腫瘍の割合の増加、または腫瘍発生の早期化をもたらす、化学物質の癌原性の検出
- 癌原性の標的器官の検出
- 腫瘍発生時期の確認
- 腫瘍の用量反応関係の確認
- 無毒性量（NOAEL）またはベンチマークドーズ（BMD）確立のための開始点の決定
- ヒトの低用量暴露への癌原性の外挿
- 作用機序に関する試験仮説へのデータ提供(2)(7)(12)(13)(14)(15)

最初に考慮すべき事項

7. 化学物質の癌原性の評価では、試験計画の焦点を絞って最小限の使用動物数でより効率よく癌原性を検討することができるように、試験機関は試験実施前に被験物質に関して入手可能なあらゆる情報を考慮する。その物質が既知の遺伝毒性発癌物質であったり、その可能性を有していたりするか否かによって最適な計画は異なってくる場合があるため、癌原性が疑われる物質の作用機序(2)(7)(12)(13)(14)(15)に関する情報と考察は特に重要である。作用機序に関する考察については、更なるガイダンスがガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。

8. 試験計画に役立つ情報としては、被験物質の特定データ、化学構造および物理化学的性質、遺伝毒性試験を含む *in vitro* または *in vivo* 毒性試験の結果、予想される用途およびヒトへの暴露の可能性、（定量的）構造活性相関データ、構造類似物質の変異原性／遺伝毒性、癌原性およびその他の毒性データ、トキシコキネティクスデータ（単回投与、また可能であれば反復投与時のキネティクスデータ）ならびに他の反復暴露試験で得られたデータなどがある。癌原性の評価は、28 日または 90 日間反復投与毒性試験で毒性に関する最初の情報が得られてから実施する。また、短期発癌イニシエーション・プロモーション試験からも有用な情報が得られることがある。要するに、癌原性試験のための段階的方法は、その化学物質の健康に対する有害作用の総合的評価の一環として考える(16)(17)(18)(19)。

9. 実験計画と目的からみて結果の解析に最適な統計手法を試験開始前に確立する。考慮すべき事項としては、生存率の補正、生存期間と関連づけた累積腫瘍リスクの解析、腫瘍発生時期の

解析および1つまたは複数の群が途中で終了した場合の解析を統計手法に含めるか、といったことがある。適切な統計解析法についてのガイダンスおよび世界的に認められている統計手法に関する主要文献は、ガイダンス文書 No. 116 (7)ならびに慢性毒性および癌原性試験の解析と評価に関するガイダンス文書 No. 35 (20)に示されている。

10. 癌原性試験の実施にあたっては、安全性評価に用いる実験動物での、人道的評価項目としての症状の認識、評価および使用に関する OECD のガイダンス文書 No. 19 (21)にまとめられた基本理念と考察、特にその段落 62 に常に従うこと。この段落には*「反復投与を行う試験において動物が進行性の症状を示し、状態が次第に悪化していくような場合は、人道的殺処分を行うべきか否かを十分な情報に基づいて決定する。決定に際しては、その動物を試験で生かしておくことによって得られる情報の価値を、その個体の全体的な状態との対比の上で考慮する。動物を生かしておくと決めた場合は、必要に応じて観察頻度を増やす。また、投与の中断で疼痛や苦痛を軽減できるときは、試験目的に悪影響を与えることなく一時的に投与を中断したり、試験用量を減量したりすることも可能な場合がある」*と述べられている。

11. 慢性毒性および癌原性試験における用量設定の原則に関する詳細なガイダンスと考察は、ガイダンス文書 No. 116 (7)および国際生命科学研究機構（ILSI）の 2 つの出版物(22)(23)にみることができる。用量設定で中核となる戦略は試験の主要目的による（段落 6）。適切な用量段階の設定には、ハザードのスクリーニングと、低用量での反応およびその意義の評価との間でバランスをとる必要がある。これは特に慢性毒性／癌原性併合試験（TG 453）を実施しようとするときに重要である（段落 12）。

12. 慢性毒性試験（TG 452）と癌原性試験（TG 451）を別々に行うよりも、慢性毒性／癌原性併合試験（TG 453）を行うことを考慮する。併合試験では、2 つの試験を別々に行うのに比べて時間と費用の点で効率がよく、かつ慢性毒性部分でも癌原性部分でもデータの質が損なわれることはない。ただし、慢性毒性／癌原性併合試験（TG 453）を行う場合には、用量設定の原則（段落 11、22～25）について慎重に考慮すること。また、一部の規制体制では個別の試験を要求される場合がある。

13. 本試験ガイドラインで用いた定義はガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。

試験の概要

14. 被験物質を、供試動物からなるいくつかの群に段階的な用量でその生涯の大部分の期間にわたって毎日、通常は経口で投与する。吸入または経皮による試験を行ってもよい。動物の毒性徴候および腫瘍性病変の発生を注意深く観察する。試験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。

© OCDE（2009 年）

試験方法

動物種の選択

15. 本ガイドラインは主にげっ歯類を用いた癌原性の評価法について述べている（段落 2）。げっ歯類以外の種の方がヒトの健康に対する影響の予測により適していることを示唆するデータがある場合には、それらの使用を考慮してもよい。種の選択については妥当性を示すこと。げっ歯類の種はラットが望ましいが、マウスなど他のげっ歯類動物を用いてもよい。癌原性試験におけるマウスの使用については、有用性が限られている可能性があるが(24)(25)(26)、現在の規制プログラムの中にはマウスを用いた癌原性試験を要求するものが依然として存在する。ラットおよびマウスは、寿命が比較的短いこと、薬理試験や毒性試験において広く用いられていること、腫瘍の誘発に対して感受性があること、および十分に特性のはっきりした系統が入手可能であることから、好ましい実験モデルとされてきた。このような特徴の結果、その生理と病理については豊富な情報が存在する。種および系統の選択に関しては、更なる情報がガイダンス文書 No. 116 (7) に示されている。

16. 一般的に用いられている系統の健康な若齢成熟動物を使用する。癌原性試験は、より短期間の予備的な毒性試験と同じ系統および供給元の動物を用いて行うことが望ましい。ただし、その系統および供給元の動物では長期試験における通常の生存率の許容基準（ガイダンス文書 No. 116 (7)参照）を満たすのが難しいと分かっている場合は、長期試験の生存率が許容基準内である系統の使用を考慮する。また、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

飼育および給餌

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が、個別飼育は科学的に妥当性のある場合のみ検討する(27)(28)(29)。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。動物飼育室の温度は 22°C ± 3 °C とする。相対湿度は目標値を 50～60%とし、30%以上、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 12 時間明期、12 時間暗期とする。飼料は、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、飼料は、供試動物種の栄養学的要件を全て満たすとともに、試験結果に影響を与える可能性のある汚染物質（残留農薬、難分解性の汚染有機物、植物エストロゲン、重金属およびカビ毒を含むが、それのみとは限らない）の濃度が可能な限り低いものであること。栄養および飼料中の汚染物質濃度については定期的（少なくとも試験開始時および使用バッチの変更時）に分析し、その情報を最終報告書に含める。試験に用いた飲料水の分析情報も同様に示す。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て動物の栄養学的要件にも合った飼料を選択する必要が生じる場合がある。

動物の準備

18. 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 7 日間以上馴化した後に用いる。げっ歯類の場合、離乳および馴化後可能な限り速やかに投与を開始する（8 週齢前の開始が望ましい）。供試動物については、動物種、系統、供給元、性、体重および週齢を明らかにする。また、試験開始時、使用動物の雌雄別の体重のばらつきは最小限とし、各性の全供試動物の

平均体重の ± 20%を超えないこととする。動物は対照群と投与群に無作為に割り付ける。無作為化後は雌雄とも各群の平均体重間に有意差があってはならず、統計学的有意差がみられた場合は、可能であれば再度無作為化を行う。各動物には固有の識別番号を付し、その番号を入墨、マイクロチップの埋め込み、その他適切な方法で永続的に表示する。

手順

動物数および性

19. 雌雄の動物を用いる。また、詳細な生物学的および統計学的評価が可能なように、十分な数の動物を用いる。このため、各用量群および同時対照群には少なくとも雌雄各 50 匹を含める。試験目的によっては、個々の用量群に動物を不均等に割り付けることにより、主要な評価項目の統計検出力を高めることが可能な場合がある（低用量での癌原性を推測するため、同群に 50 匹より多く割り付けるなど）。ただし、群の大きさをある程度大きくしても、試験の統計検出力はあまり大きくは増加しないことを認識しておく必要がある。統計検出力を最大にするための試験の統計計画と用量設定に関しては、更なる情報がガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。

中間屠殺およびサテライト（モニター）群の設定

20. 科学的妥当性があれば、腫瘍性変化の進行に関する情報とメカニズム的な情報を得るため、中間屠殺（12 カ月時など）を設定してもよい。ただし、先に行ったその物質の反復投与毒性試験においてそのような情報がすでに得られている場合には、中間屠殺は科学的に妥当であるとはいえない可能性がある。試験計画に中間屠殺を含む場合、各用量群の中間屠殺用の動物数は通常雌雄各 10 匹とし、これら試験完了前に計画殺する動物数を試験計画に含める総動物数に追加する。必要であれば、試験中の疾病状態の監視のため、追加のモニター動物群（通常雌雄各 5 匹）を設けてもよい(30)。なお、ガイダンス文書 No. 116 (7)には更なるガイダンスが示されている。

用量群および投与量

21. 用量設定と用量間隔のあらゆる面についてのガイダンスは、ガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。少なくとも 3 段階の用量および同時対照を設ける。用量は一般により短期の反復投与試験や用量設定試験に基づいて設定するが、設定の際には、被験物質や関連物質に関して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する。

22. 被験物質の物理化学的性質や生物学的作用による制限がない限り、最高用量は主要な標的器官と毒性影響を明らかにするが、苦痛、高度な毒性、病的状態または死亡を引き起こさないような用量とする。すなわち、最高用量は通常、以下の段落 23 に示す点を考慮しながら、体重増加抑制（約 10%）などで示される明らかな毒性が得られるように設定する。試験目的（段落 6 参照）によっては、明らかな毒性を示す用量より低い用量を最高用量とすることもある（ある用量で問題となる有害作用が発現するが、その作用自体は寿命や体重にほとんど影響を与えない場合など）。

© OCDE（2009 年）

23. 用量とその間隔は、用量反応関係を確立するために、また被験物質の作用機序によっては、最低用量においてNOAELその他試験で意図する成果（BMDなど、段落25参照）を得るために設定される場合もある。低用量の設定で考慮すべき点としては、予測される用量反応曲線の傾き、代謝や毒性作用機序に重要な変化が生じる用量、予測される閾値、また予測される低用量の外挿の開始点などがある。

24. 用量間隔の設定は被験物質の特性によるため、このガイドラインで規定することはできないが、公比2～4で用量を下げていくとしばしば良好な試験成績が得られる。用量間隔が非常に大きい場合（公比がおおよそ6～10を超える場合など）には、4群目を追加した方がよいことが多い。一般に10を超える公比は避けるべきで、用いる場合には妥当性を示す必要がある。

25. ガイダンス文書No. 116 (7)で更に述べているように、用量設定にあたって考慮すべき点には以下のようなものがある。

- 用量反応関係における既知の非線形性または変化点、もしくはそれらの可能性
- トキシコキネティクスと、代謝の誘導、飽和または投与用量と体内用量の非線形関係がみられる／みられない用量範囲
- 前駆病変、影響のマーカー、背景にある主要な生物学的過程の進行を示す指標
- 作用機序における主要な局面（またはそれが疑われるもの）。例えば、細胞毒性の発現、ホルモン濃度の乱れ、恒常性維持機構の崩壊などがみられる用量。
- 用量反応曲線のうち、特に頑健な推定が必要となる領域（予測されるBMDまたは閾値と考えられる値を含む範囲など）
- ヒトで予測される暴露量に関する考察

26. 対照群は未投与群または溶媒対照群（被験物質投与に溶媒を用いる場合）とする。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。溶媒を用いる場合には、全用量群のうちで用いられる最大量の溶媒を対照群に投与する。被験物質の混餌投与で嗜好性の悪化のため摂餌量の顕著な減少がみられるときには、より適切な対照として、給餌量を揃えた追加の対照群が有用な場合がある。

被験物質投与の準備および投与

27. 被験物質は通常飼料や飲水を介して、または強制的に経口投与する。投与経路と投与方法に関しては、追加の情報がガイダンス文書No. 116 (7)に示されている。投与経路および投与方法は、試験の目的、被験物質の物理化学的性状、生物学的利用性およびヒトの主な暴露経路と暴露方法による。投与経路と投与方法についてはその選択根拠を示すこと。なお、動物愛護の観点から、強制経口投与法は通常、この投与経路と投与方法がヒトで起こりうる暴露に相当すると考えるのが妥当な物質（医薬品など）の場合のみ選択する。農薬など、食物または環境中の化学物質

については、飼料や飲水を介しての投与が一般的である。ただし、状況によっては（職業暴露など）、その他の経路による投与がより適切な場合もある。

28. 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。溶媒その他の添加物については、必要に応じて、被験物質の吸収、分布、代謝、滞留に対する影響、被験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摂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。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、溶媒の毒性が分かっている必要がある。また、投与条件下（飼料中など）での被験物質の安定性および投与溶液または調製飼料の均一性（該当する場合）に関する情報を示す。

29. 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り、混餌投与による長期毒性試験では、栄養の不均衡を防ぐため、飼料中の化学物質濃度は通常、全飼料の 5%（上限）を超えないこととする。また、被験物質の混餌投与では、飼料中濃度（mg/kg 飼料または ppm）を一定にする方法か、動物の体重あたりの用量（mg/kg 体重、週 1 回算出）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く。

30. 経口投与の場合は、被験物質を動物に毎日（週 7 日）、げっ歯類では通常 24 カ月間にわたって投与する（段落 32 も参照のこと）。週 5 日の投与など、その他の投与法を用いる場合には、その妥当性を明らかにする必要がある。経皮投与の場合は、TG 410 (11)に示すように、被験物質を動物に通常少なくとも 1 日 6 時間、週 7 日、24 カ月間にわたって適用する。吸入経路による暴露は 1 日 6 時間で週 7 日行うが、妥当性が示されれば週 5 日暴露も可能である。いずれの場合も、暴露期間は通常 24 カ月間とする。なお、ラット以外のげっ歯類の種を鼻部暴露する場合には、種特異的な苦痛を最小限にするため、最長暴露時間を調整してもよい。ただし、1 日 6 時間より暴露時間を短くする場合には、その根拠を示す。TG 412 (9)も参照すること。

31. 被験物質を動物に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毎日ほぼ同じ時刻に投与する。通常は 1 日 1 回一度に全量を投与するが、化合物が局所刺激性物質である場合などは、分割投与（1 日 2 回投与）することで 1 日あたりの用量を維持することも可能である。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異なるが、可能な限り少量とし、げっ歯類に対しては通常体重 100 g あたり 1 mL を超えないようにする(31)。また、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。ただし、腐食性または刺激性物質の可能性のあるものは例外で、局所への高度な影響を避けるため希釈する必要がある。消化管に対して腐食性または刺激性を示す恐れのある濃度での試験は避けること。

試験期間

32. 試験期間はげっ歯類では通常 24 カ月間で、これは使用する動物の正常な寿命の大部分に相当する。試験で用いる動物種の系統の寿命によっては試験期間をより短く、または長くしてもよいが、その妥当性を示すこと。マウスの特定の系統（AKR/J、C3H/J、C57BL/6J など）では 18 カ月間がより適当である可能性がある。試験期間、試験の終了および生存率に関するいくつかの

© OCDE（2009 年）

ガイダンスを次に示す。陰性の癌原性試験が認められる条件を試験の生存率との関連で考察した内容を含め、更なるガイダンスは、慢性毒性および癌原性試験の計画と実施に関する OECD ガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。

- 低用量群または対照群の生存動物数が 25%を下回った場合は、試験の終了を考える。
- 高用量群のみが毒性のために試験途中で死亡しても、それによる試験の終了は考えない。
- 雌雄の生存率は分けて考える。
- 試験で得られるデータが統計学的に有効な評価を行うのに十分でなくなる時点まで試験を延長することはしない。

観察

33. 全ての動物について、通常、1 日の始めと終わり（週末および祝日を含む）に、病気の徴候および生死を確認する。加えて、毒性学的に意味のある特異的な徴候の有無を 1 日 1 回確認する。強制経口投与の場合、この確認は投与後、予想される影響が最大になる期間を考慮しながら行う。腫瘍発生には特に注意を払い、肉眼的に認められる腫瘍および触知可能な腫瘍について、それぞれの発生時期、位置、大きさ、外観および進行具合を記録する。

体重、摂餌量／摂水量および食餌効率

34. 全ての動物について、投与開始時、最初の 13 週間は少なくとも週 1 回、その後は少なくとも月 1 回体重を測定する。また、摂餌量および食餌効率を最初の 13 週間は少なくとも週 1 回、その後は少なくとも月 1 回求める。被験物質を飲水投与する場合には、摂水量を最初の 13 週間は少なくとも週 1 回、その後は少なくとも月 1 回測定する。更に、試験において飲水行動の変化がみられた場合にも、摂水量の測定を考慮する。

血液学的検査、臨床生化学的検査およびその他の測定

35. 試験から最大限の情報を得るため（特に作用機序に関する考察のため）、血液学的および臨床生化学的検査用に採血を行ってもよいが、これは試験責任者の判断による。尿検査を行ったほうがよい場合もある。癌原性試験の一部としてこのような試料を採取することの価値に関しては、更なるガイダンスがガイダンス文書 No. 116 (7)に示されている。適切と判断された場合には、血液学的および臨床化学的検査用の採血ならびに尿検査を、中間屠殺（段落 20）の一部として、および試験終了時に、各群雌雄最低 10 匹ずつについて行う。指定部位から血液試料を採取し（麻酔下での心臓穿刺または眼窩静脈叢からの採血など）、必要であれば、適切な条件下で保存する。検査用の血液塗抹標本を作製してもよい（特に骨髄が標的器官と考えられる場合）。ただし、癌原性の評価における血液塗抹検査の価値には疑問が呈されている(32)。

病理学的検査

剖検

36. モニター動物（段落 20 参照）およびその他のサテライト動物を除き、試験に供した全ての動物について、体表、全ての体孔、ならびに頭蓋腔、胸腔および腹腔とその内部臓器の注意深い検査を含む、完全かつ詳細な肉眼剖検を行う。モニター動物およびその他のサテライト動物については、試験責任者の判断により、個々の場合に応じて剖検が必要になることがある。器官重量は、加齢性の変化に加え、より後期には腫瘍発生によってもデータの有用性が損なわれるため、通常癌原性試験では測定しない。ただし、科学的根拠の重要度（weight of evidence）の評価を行ったり、特に作用機序に関して考察したりするには、これらが非常に重要な場合もある。なお、サテライト試験の一部として測定する場合には、試験開始後 1 年以内に行う。

37. 以下に示す組織を、組織の種類およびその後に予定している病理組織学的検査の双方に関して最も適切な固定液中で保存する(33)（［］内の組織は任意）。

全ての肉眼病変	心臓	膵臓	胃（前胃、腺胃）
副腎	回腸	上皮小体	［歯］
大動脈	空腸	末梢神経	精巣
脳（大脳、小脳および延髄／橋の一部を含む）	腎臓	下垂体	胸腺
盲腸	涙腺（外涙腺）	前立腺	甲状腺
子宮頸	肝臓	直腸	［舌］
凝固腺	肺	唾液腺	気管
結腸	リンパ節（表在および深部の両方）	精嚢	膀胱
十二指腸	乳腺（雌は必須、雄は肉眼的に採取可能な場合）	骨格筋	子宮（頸部を含む）
精巣上体	［上気道（鼻、鼻甲介および副鼻腔を含む）］	皮膚	［尿管］
眼（網膜を含む）	食道	脊髄（3 カ所：頸部、中胸部および腰部）	［尿道］
［大腿骨および関節］	［嗅球］	脾臓	膣
胆嚢（ラット以外の種）	卵巣	［胸骨］	骨髄の一部または新鮮吸引骨髄、あるいはその両方
ハーダー腺			

両側性の器官（腎臓、副腎など）は両側とも保存する。一般状態その他の所見から、追加組織の検査の必要性が示唆される場合もある。また、被験物質について分かっている性質から標的器官と考えられるものも全て保存する。経皮投与の試験では、経口投与で示した器官の保存に加え、適用部位の皮膚を特に採取して保存する必要がある。吸入試験では、

© OCDE（2009 年）

呼吸器の保存および検査組織はTG 412 (9)とTG 413 (10)の推奨に従うこととし、その他の器官／組織については（特に保存した呼吸器の組織に加えて）経口投与で示したものを検査する。

病理組織学的検査

38. 毒性病理検査の実施にあたっての最良の方法についてはガイダンスが出されている(33)。最低限、次の組織を検査する。

- 高用量群および対照群の全組織
- 試験中の死亡または屠殺動物の全組織
- 腫瘍を含め、肉眼的異常がみられた全組織
- 高用量群で投与に関連する病理組織学的変化が認められた場合には、他の全ての用量群の全ての動物についても同じ組織を検査する。
- 両側性の器官（腎臓、副腎など）は、両側とも検査する。

データおよび報告

データ

39. 評価した全項目について動物の個体ごとのデータを示す。また、全データを総括表にし、各試験群について、試験開始時動物数、試験中に死亡して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、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）、病変を示した動物数、病変の種類、ならびに各病変を示した動物の割合を示す。総括表には、病変の程度に加え、毒性影響または病変がみられた動物の平均と標準偏差（連続データの場合）を示す。

40. 背景データは試験結果の解釈に有用な場合がある（同時対照群から得られたデータが、同じ試験施設／コロニーの対照動物の最近のデータと比較して明らかにはずれている場合など）。背景データを評価に用いる場合には、同じ施設において当該試験以前の5年間に得られた同一齢／系統の動物のデータを提出する。

41. 必要に応じて、適切かつ一般的に認められている統計方法を用いて数的結果を評価する。統計方法と解析するデータは試験計画の段階で選択するものとする（段落9）。選択にあたっては、必要な場合に生存率による補正もできるようにする。

試験報告書

42. 試験報告書には、以下の情報を含む。

被験物質：

- 物理的性質、純度、物理化学的特性
- 特定データ

- 物質の供給元
- バッチ番号
- 化学分析証明書

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／系統および選択の妥当性
- 試験開始時の動物数、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：

- 投与経路の選択根拠、用量設定根拠
- 必要に応じて、データ解析に用いた統計手法
- 被験物質溶液／被験物質混合飼料の調製方法の詳細
- 調製物の濃度、安定性および均一性の分析データ
- 投与経路および被験物質投与の詳細
- 吸入試験の場合、鼻部暴露か、全身暴露か
- 実際の用量（mg/kg 体重/day）、また必要に応じて、飼料／飲水中の被験物質濃度（mg/kg または ppm）から実際の用量への換算係数
- 飼料および水の質の詳細

結果（データの総括表および個体ごとのデータを示す）

全般

- 生存率データ
- 体重／体重変化
- 摂餌量／算出した場合、食餌効率／測定した場合、摂水量
- 測定した場合、トキシコキネティクスデータ
- 検査した場合、眼科学的検査結果
- 検査した場合、血液学的検査結果
- 検査した場合、臨床化学的検査結果

一般状態

- 毒性徴候
- あらゆる異常の発生頻度（およびスコア化した場合はその程度）
- 一般状態の変化の種類、程度および期間（一過性か、永続的か）

剖検データ

© OCDE（2009 年）

- 最終体重
- 測定した場合、器官重量およびその比
- 剖検所見（異常の発生頻度および程度）

病理組織学的検査

- 非腫瘍性病理組織所見
- 腫瘍性病理組織所見
- 肉眼所見と組織所見の対応
- 投与に関連した全ての病理組織所見に関する詳細な記述（程度を含む）
- 実施した場合、スライドのピアレビュー報告書

必要に応じて、結果の統計処理方法

結果の考察（以下を含む）

- モデリング手法に関する考察
- 用量反応関係
- 背景データ
- 作用機序に関する情報についての考察
- BMD、NOAEL または LOAEL の決定
- ヒトにおける意義

結論

参考文献

1. OECD (1995), Report of the Consultation Meeting on Sub-chronic and Chronic Toxicity/Carcinogenicity Testing (Rome, 1995), internal working document, Environment Directorate, OECD, Paris.

2. EPA (2005). Guidelines for Carcinogen Risk Assessment Risk Assessment Forum U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC
http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=116283&CFID=1267360&CFTOKEN=65052793&jsessionid=9830b2c4116e3d8fbbf017414e1a782e7f79TR

3. Combes RD, Gaunt, I, Balls M (2004). A Scientific and Animal Welfare Assessment of the OECD Health Effects Test Guidelines for the Safety Testing of Chemicals under the European Union REACH System. ATLA 32, 163-208.

4. Barlow SM, Greig JB, Bridges JW *et al* (2002). Hazard identification by methods of animal-based toxicology. Food. Chem. Toxicol. 40, 145-191.

5. Chhabra RS, Bucher JR, Wolfe M, Portier C (2003). Toxicity characterization of environmental chemicals by the US National Toxicology Programme: an overview. Int. J. Hyg. Environ. Health 206, 437-445.

6. OECD (1998), *Repeat Dose 90-day Oral Toxicity Study in Non-Rodents*, Test Guideline No. 409, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.

7. OECD (2009), Draft Guidance Document on the Design and Conduct of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies, Series on Testing and Assessment No. 116, available on the OECD public website for Test Guideline at *www.oecd.org/env/testguidelines.*

8. OECD (2009), *Guidance Document on Acute Inhalation Toxicity Testing*, Series on Testing and Assessment No. 39, ENV/JM/MONO(2009)28, OECD, Paris.

9. OECD (2009), *Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day Study*, Test Guideline No. 412, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.

10. OECD (2009), *Subchronic Inhalation Toxicity: 90-Day Study*, Test Guideline No. 413, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.

11. OECD (1981), *Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study,* Test Guideline No. 410, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris.

12. Boobis, A.R., Cohen, S.M., Dellarco, V., McGregor, D., Meek, M.E., Vickers, C., Willcocks, D. & Farland, W. IPCS Framework for analyzing the Relevance of a Cancer Mode of Action for Humans. *Crit. Rev. in Toxic*ol, (2006) 36:793-801.

13. Cohen, S.M., Meek, M.E., Klaunig, J.E., Patton, D.E., and Fenner-Crisp, P.A. (2003) The human relevance of information on carcinogenic Modes of Action: An Overview. *Crit. Rev. Toxicol.* 33:581-589

© OCDE（2009 年）

14. Holsapple, M.P., Pitot, H.C., Cohen, S.N., Boobis, A.R., Klaunig, J.E., Pastoor, T., Dellarco, V.L. & Dragan, Y.P. (2006) Mode of Action in Relevance of Rodent Liver Tumors to Human Cancer Risk. *Toxicol. Sci*. 89:51-56.

15. Meek, E.M., Bucher, J.R., Cohen, S.M., Dellarco, V., Hill, R.N., Lehman-McKemmon, L.D., Longfellow, D.G., Pastoor, T., Seed, J. & Patton, D.E. A Framework for Human Relevance analysis of Information on Carcinogenic Modes of Action. *Crit. Rev. Toxicol.* (2003). 33:591-653.

16. Carmichael NG, Barton HA, Boobis AR *et al* (2006). Agricultural Chemical Safety Assessment: A Multisector Approach to the Modernization of Human Safety Requirements. Critical Reviews in Toxicology 36, 1-7.

17. Barton HA, Pastoor TP, Baetcke T *et al* (2006). The Acquisition and Application of Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME) Data in Agricultural Chemical Safety Assessments. Critical Reviews in Toxicology 36, 9-35.

18. Doe JE, Boobis AR, Blacker A *et al* (2006). A Tiered Approach to Systemic Toxicity Testing for Agricultural Chemical Safety Assessment. Critical Reviews in Toxicology 36, 37-68.

19. Cooper RL, Lamb JS, Barlow SM *et al* (2006). A Tiered Approach to Life Stages Testing for Agricultural Chemical Safety Assessment. Critical Reviews in Toxicology 36, 69-98.

20. OECD (2002), *Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies,* Series on Testing and Assessment No. 35 and Series on Pesticides No. 14, ENV/JM/MONO(2002)19, OECD, Paris.

21. OECD (2000), *Guidance Document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation,* Series on Testing and Assessment No. 19, ENV/JM/MONO(2000)7, OECD, Paris.

22. Rhomberg, LR, Baetcke, K, Blancato, J, Bus, J, Cohen, S, Conolly, R, Dixit R, Doe, J, Ekelman, K, Fenner-Crisp, P, Harvey, P, Hattis, D, Jacobs, A, Jacobson-Kram, D, Lewandowski, T, Liteplo, R, Pelkonen, O, Rice, J, Somers, D, Turturro, A, West, W, Olin, S. Issues in the Design and Interpretation of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies in Rodents: Approaches to Dose Selection *Crit Rev. Toxicol.* 37 (9) 729 - 837 (2007).

23. ILSI (International Life Sciences Institute) (1997). Principles for the Selection of Doses in Chronic Rodent Bioassays. Foran JA (Ed.). ILSI Press, Washington, DC.

24. Griffiths SA, Parkinson C, McAuslane JAN and Lumley CE (1994) The utility of the second rodent species in the carcinogenicity testing of pharmaceuticals. The Toxicologist 14(1):214.

25. Usui T, Griffiths SA and Lumley CE (1996). The utility of the mouse for the assessment of the carcinogenic potential of pharmaceuticals. In D'Arcy POF & Harron DWG (eds). Proceedings of the Third International Conference on Harmonisation. Queen's University Press, Belfast. pp 279-284.

26. Carmichael NG, Enzmann H, Pate I, Waechter, F (1997). The Significance of Mouse Liver Tumor Formation for Carcinogenic Risk Assessment: Results and Conclusions from a Survey of Ten Years of Testing by the Agrochemical Industry. Environ Health Perspect 105:1196-1203

27. EEC Council Directive 86/609/EEC on the approximation of laws, regulations, and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal 29, L358, 18 December 1986.

28. National Research Council, 1985. Guide for the care and use of laboratory animals. NIH Publication No. 86-23. Washington, D.C., US Dept. of Health and Human Services.

29. GV-SOLAS (Society for Laboratory Animal Science, Gesellschaft für Versuchstierkunde, 1988). Publication on the Planning and Structure of Animal Facilities for Institutes Performing Animal Experiments. ISBN 3-906255-04-2. http://www.gv-solas.de/publ/heft1_1988.pdf

30. GV-SOLAS (Society for Laboratory Animal Science, Gesellschaft für Versuchstierkunde, 2006). Microbiological monitoring of laboratory animals in various housing systems. http://www.gv-solas.de/auss/hyg/hyg-p7_e.html

31. Diehl K-H, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal J-M, van de Vorstenbosch C. 2001. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. Journal of Applied Toxicology, 21:15-23. Available at: http://www.ff.up.pt/farmacologia/pdf/good_practice_lab_animals.pdf

32. Weingand, K., et al. 1996. Harmonization of Animal Clinical Pathology Testing in Toxicity and Safety Studies. Fund. Appl. Toxicol. 29: 198-201.

33. Crissman, J., Goodman D., Hildebrandt P., *et al.* (2004). Best Practices Guideline: Toxicological Histopathology. Toxicologic Pathology 32, 126-131.

© OCDE（2009年）