OECD/OCDE

2018/06/25

試験ガイドライン No.453

慢性毒性／癌原性併合試験

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 (2018), Test No. 453: Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264071223-en.

©OECD(2018)

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

採択
2018 年 6 月 25 日

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

慢性毒性／癌原性併合試験

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 453 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 453 の改訂は、試験ガイドライン 451「癌原性試験」および 452「慢性毒性試験」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. 大部分の慢性毒性および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。しかし、非げっ歯類の種で慢性毒性および癌原性試験を行う必要がある場合でも、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)に示すように、ここにまとめた原則および手順は、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併せて、適切に修正を加えながら適用することができる。

3. 慢性毒性／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、慢性毒性および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長期試験は、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慢性毒性および癌原性の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。被験物質の吸入(7)(8)および経皮経路(7)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。

© OECD 2018

本資料は、 http://www.oecd.org/termsandconditions/.に掲載されている諸条件に従って自由に使用することができる。

本ガイドラインは、2018 年 6 月 25 日付けにて書面手続きにより「化学品評価におけるデータ相互受け入れに関する理事会決定（Decision of the Council on the Mutual Acceptance of Data in the Assessment of Chemicals）」の「補遺 I」を改訂するための「権限の委任に関する理事会決定（Decision of the Council on a Delegation of Authority）」に則って［C（2018）49］、OECD の化学品委員会と化学品、農薬、バイオテクノロジーに関する作業部会との合同会議で改訂された。

5. 慢性毒性／癌原性併合試験では、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り、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慢性毒性／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
- 腫瘍発生時期の確認
- 化学物質の慢性毒性の検出
- 慢性毒性および癌原性の標的器官の検出
- 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
- ヒトの暴露量における慢性毒性影響の予測
- 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. 化学物質の癌原性および慢性毒性の評価では、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毒性学的特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、作用機序に関する情報、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。慢性毒性／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はじめて実施する。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)。

© OECD 2018

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(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。これは特にこの慢性毒性／癌原性併合試験の場合に重要である。

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、この慢性毒性／癌原性併合試験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、使用動物数もある程度削減でき、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／癌原性併合試験を行う場合には、用量設定の原則（段落 11、22～26）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。使用動物数を削減しながら種々の実験手順を能率的に進めて試験を最も効率よいものとするための、慢性毒性／癌原性併合試験の計画に関する更なるガイダンスがガイダンス文書 No. 116 に示されている。

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 に示されている。

試験の概要

14. 試験計画は慢性毒性部分と癌原性部分の並行する 2 つの部分からなる（期間についてはそれぞれ段落 34 および 35 を参照のこと）。被験物質は通常経口投与とするが、吸入または経皮による試験を行ってもよい。慢性毒性部分では、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（1 群 1 用量）通常 12 カ月間毎日投与する。規制要件によっては期間をより長く、ま

© OECD 2018

たは短くしてもよい（段落 34 参照）。この期間は、蓄積毒性の影響が現われるほど十分に長いが加齢性変化による影響は受けないように設定する。また、試験計画に 1 回または複数回の中間屠殺（3 および 6 カ月時など）を含めてもよく、そのための追加動物群を設けることがある（段落 20 参照）。癌原性部分では、被験物質を供試動物からなるいくつかの群にその生涯の大部分の期間にわたって毎日投与する。これら両部分の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。

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慢性毒性および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。一方、非げっ歯類における慢性毒性／癌原性試験の計画および実施（要求される場合）は、本ガイドラインにまとめた原則と、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)にまとめた原則とに基づいて行う。なお、ガイダンス文書 No. 116 (7)には動物種と系統の選択に関する追加情報が示されている。

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。慢性毒性／癌原性併合試験は、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。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。

飼育および給餌条件

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。

© OECD 2018

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。

© OECD 2018

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、げっ歯類の場合、試験の癌原性部分に使用する各用量群（段落 22 に概要を示す）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。一方、げっ歯類の場合、試験の慢性毒性部分に使用する各用量群（段落 22 に概要を示す）および同時対照群には少なくとも雌雄各 10 匹を含める。この数は慢性毒性試験の TG 452 より少ないことに注意する。この併合試験の慢性毒性部分で 1 群あたりの動物数を削減しても、そこから得られるデータの解釈は、より多くの動物を用いる癌原性部分から得られるデータによって裏付けることができる。なお、マウスの試験では、要求されている全ての血液学的検査を行うため、慢性毒性部分の各用量群に追加動物が必要かもしれない。また、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、サテライト群およびモニター動物の設定

20. 科学的妥当性があれば、非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（慢性毒性部分の 6 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。試験の慢性毒性部分（期間は通常 12 カ月間、段落 34）に用いる動物から癌原性部分の中間屠殺のデータが得られるため、全体として使用動物数を削減できる。また、被験物質による毒性学的変化の可逆性を調べるため、試験の慢性毒性部分にサテライト群を設けることもできる。サテライト群は試験の最高用量および対照群のみでよい。更に、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)。中間屠殺、サテライト動物およびモニター動物を含めつつ、一方で全体の使用

© OECD 2018

動物数を最小にするような試験計画については、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。

21. 試験計画にサテライト動物または中間屠殺もしくはその両方を含む場合、そのための各用量群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。中間屠殺およびサテライト動物については、通常、体重、摂餌量／摂水量、血液学的および臨床生化学的検査ならびに病理学的検査など、主試験の慢性毒性部分の動物と同じ検査を行う。ただし、（中間屠殺群では）神経毒性や免疫毒性など特殊な主要項目に限定して検査を行ってもよい。

用量群および投与量

22. 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。慢性毒性部分、癌原性部分の両方について少なくとも 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。

23. 試験を行う者は、用量選択において、得られたデータが OECD 諸国全体の規制（ハザード及びリスク評価、分類とラベリング、ED 評価等）の要件を適切に十分満たすよう検討し確保すべきである。

24. 試験の慢性毒性部分については、1000 mg/kg 体重/day 以上に相当する 1 用量において有害作用がみられそうにないと予測される場合、3 段階の用量を用いた完全な試験は不要と考えられる。その判断は、予備試験の情報と、構造的に関連する物質のデータから毒性がないと予想されるという考察に基づくものであること。このような場合には、ヒトの暴露量からより高い用量の必要性が示唆されない限り、限度用量の 1000 mg/kg 体重/day が適用できる可能性がある。

25. 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、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。ただし、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）。

26. 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、NOAEL その他試験で意図する成果（BMD など、段落 27 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。なお、慢性毒性／癌原性併合試験を実施する場合、主要目的は癌原性のリスク評価のための情報を得ることであり、慢性毒性に関する情報は通常副次的目的である。用量とその間隔を設定する際にはこれを念頭におくこと。

© OECD 2018

27. 用量間隔の設定は試験の目的と被験物質の特性によるため、このガイドラインで詳細に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。

28. 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
- 前躯病変、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（特に中間および低用量の設定時）

29. 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

30. 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。

31. 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

© OECD 2018

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。

32. 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。

33. 経口投与の場合は、被験物質を動物に毎日（週 7 日）、12 カ月間（慢性毒性部分）または 24 カ月間（癌原性部分）にわたって投与する（段落 33 および 34 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、12 カ月間（慢性毒性部分）または 24 カ月間（癌原性部分）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 12 カ月間（慢性毒性部分）または 24 カ月間（癌原性部分）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。

34. 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

35. 本試験の慢性毒性部分の投与期間は通常 12 カ月間であるが、特定の規制制度の要件によっては、また特定のメカニズム的な目的によっては、この試験計画でより短い（6 または 9 カ月など）、もしくは長い（18 または 24 カ月など）試験を行ってもよいし、実際にそれらに適用が可能である。ただし、暴露期間を 12 カ月としない場合（特により短期間の場合）には、その妥当性を示すこと。慢性毒性部分に割り付けられた用量群は全て所定の時期に屠殺し、慢性毒性および非腫瘍性病理所見の評価を行う。なお、被験物質による毒性学的変化の可逆性を調べるために設けるサテライト群は、暴露終了後、4 週間以上かつ全試験期間の 1/3 以下の期間、投与を行わずに飼育する。

© OECD 2018

36. 本試験の癌原性部分の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（慢性毒性部分）

37. 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、一般状態の観察を少なくとも 1 日 1 回行う。この観察は毎日同じ時刻に行うことが望ましく、強制経口投与の場合は、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。

38. 少なくとも初回暴露前に 1 回（個体内比較のため）、試験第 1 週の終わり、およびその後は月 1 回、全ての動物について詳細な状態の観察を行う。観察のためのプロトコールは、各観察者間のばらつきが最小限で、試験群とも無関係になるように作成する。これらの観察は飼育ケージの外で行うが、観察台上で、かつ毎回ほぼ同じ時刻にすることが望ましい。その結果は、可能であれば、試験を行う研究所ごとに明確に定めた尺度基準による採点法を用い、注意深く記録する。観察条件の変動は最小になるようにする。観察すべき徴候は、皮膚、被毛、眼および粘膜の変化、分泌物および排泄物の有無、ならびに自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸パターンの異常など）であるが、それに限るものではない。更に、歩行、姿勢および動物の取り扱い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、常同行動（身づくろいの変化、旋回など）および異常行動（自咬、後ずさりなど）も記録する(32)。

39. 被験物質の初回投与前に、全ての動物について検眼鏡その他の適切な器械を用いて眼科学的検査を行う。試験終了時にも全ての動物について同検査を行うことが望ましいが、少なくとも高用量群および対照群については実施し、投与に関連した眼の変化が認められた場合には、全ての動物を検査する。なお、構造解析やその他の情報から眼毒性が示唆される場合には、眼科学的検査の頻度を増やす。

© OECD 2018

40. 先に行われた 28 日間または 90 日間反復投与毒性試験において神経毒性学的影響を惹起する可能性が認められた化学物質については、任意検査として、試験開始前、試験開始後 3 カ月に 1 回（12 カ月時まで）、および試験終了時（12 カ月より長い場合）に、種々の刺激（聴覚刺激、視覚刺激、固有受容器刺激など）(33)(34)(35)に対する感覚運動反応の検査(32)、握力測定(36)、および自発運動量の測定(37)を行ってもよい。従うべき手順の詳細は各参考文献に記載されている。ただし、参考文献に記載された以外の手順を用いることも可能である。

41. 先に行われた 28 日間または 90 日間反復投与毒性試験において免疫毒性学的影響を惹起する可能性が認められた化学物質については、任意検査として、試験終了時にこの評価項目に関する更なる検討を行ってもよい。

体重、摂餌量／摂水量および食餌効率

42. 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。

血液学的検査および臨床生化学的検査

43. げっ歯類を用いた試験では、血液学的検査を全供試動物（各群雄 10 匹、雌 10 匹）について 3、6、12 カ月時および試験終了時（12 カ月より長い場合）に行う。マウスでは、要求されている全ての血液学的検査を行うために、サテライト動物が必要かもしれない（段落 19 参照）。非げっ歯類の試験では、げっ歯類について述べた中間サンプリング時および終了時に、より少数の動物（イヌの試験では各群雌雄 4 匹ずつなど）から採血を行う。ただし、げっ歯類、非げっ歯類とも、先に同程度の用量で実施した 90 日間試験で血液学的検査項目に影響がみられなかった場合は、3 カ月時の測定を行う必要はない。検査では麻酔下で指定部位から血液試料を採取する（心臓穿刺または眼窩静脈叢からの採血など）。

44. 以下の項目を検査する(38)：総および型別白血球数、赤血球数、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値（PCV）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC)、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間。物質の毒性によっては、ハインツ小体その他の赤血球の形態異常やメトヘモグロビンなど、上記以外の血液学的検査項目を測定することが適当な場合もある。要するに、それぞれの物質については、観察または予測される影響に応じて柔軟な取組み方を適用すべきということである。また、その化学物質が造血器系に影響を与える場合には、網状赤血球数と骨髄細胞像の検査の必要性も示唆される場合がある。ただし、これらの検査を日常的に行う必要はない。

45. 組織における主な毒性影響、特に腎臓および肝臓に対する影響を調べるため、臨床生化学的検査を全供試動物（各群雄 10 匹、雌 10 匹）から採取した血液について、血液学的検査の項に示したのと同じ間隔で行う。マウスでは、要求されている全ての臨床生化学的検査を行うために、サテライト動物が必要かもしれない。非げっ歯類の試験では、げっ歯類について述べた中間サンプリング時および終了時に、より少数の動物（イヌの試験では各群雌雄 4 匹ずつなど）から採血

© OECD 2018

を行う。ただし、げっ歯類、非げっ歯類とも、先に同程度の用量で実施した 90 日間試験で臨床生化学的検査項目に影響がみられなかった場合は、3 カ月時の測定を行う必要はない。採血前には動物（マウスを除く）を一晩絶食させることが推奨される [1]。以下の項目を検査する(38)：血糖、尿素（尿素窒素）、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、カルシウム、ナトリウム、カリウム、総コレステロール、肝細胞の評価のための少なくとも 2 種類の適切な検査（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、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、総胆汁酸）(39)および肝胆道の評価のための少なくとも 2 種類の適切な検査（アルカリフォスファターゼ、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ、5'-ヌクレオチダーゼ、総ビリルビン、総胆汁酸）(39)。物質の毒性によっては、空腹時トリグリセリド、特定のホルモンおよびコリンエステラーゼなど、上記以外の臨床化学的検査項目を測定することが適当な場合もある。要するに、それぞれの物質については、観察または予測される影響に応じて柔軟な取組み方が必要ということである。

46. 尿検査を全供試動物（各群雄 10 匹、雌 10 匹）について、血液学的および臨床化学的検査と同じ間隔でサンプルを採取して実施する。ただし、先に同程度の用量で実施した 90 日間試験で尿検査に影響がみられなかった場合は、3 カ月時の検査を行う必要はない。臨床病理検査に関する専門家の推奨に含まれていた項目は、外観、尿量、浸透圧または比重、pH、総蛋白および糖である(38)が、その他の項目として、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビンおよび潜血などもある。認められた影響について検討を進めるために必要な場合には、更なる項目の検査を行ってもよい。

47. 一般に、イヌの試験では投与前に基準となる血液学的および臨床生化学的検査値を測定しておく必要があるが、げっ歯類の試験ではその必要はないと考えられている(38)。しかし、基準となる背景データ（段落 58 参照）が不適切な場合には、これらのデータを得ておくことを考慮する。

病理学的検査

剖検

48. 通常、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。ただし、（中間屠殺またはサテライト群では）神経毒性や免疫毒性など特殊な主要項目に限定して検査を行ってもよく（段落 21 参照）、これらの動物については剖検および以下の段落に述べるその後の手順を行う必要はない。また、モニター動物については、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。

49. 段落 47 の後半部分で除外された動物を除く全ての動物について、器官重量を測定する。具体的には、全ての動物（瀕死状態で発見された動物および試験途中の屠殺動物を除く）の副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、甲状腺（固定後秤量、上皮小体を含む）

[1] 血清および血漿の測定項目の多く（特に血糖）については、一晩の絶食が望ましい。これを望ましいとする主な理由は、絶食させないと必然的にばらつきの増大が生じ、より軽微な影響が隠されやすくなって、解釈が困難になると予想されるためである。しかし、一方、一晩の絶食は動物の全身的な代謝に影響を与える可能性があり、また、特に混餌投与試験では、被験物質に対する毎日の暴露が妨げられかねない。なお、全ての動物は同じ生理的条件で評価する必要があるため、詳細な状態の観察および神経学的評価は臨床生化学的検査用の採血とは別の日に予定することが望ましい。

© OECD 2018

および子宮について、必要であれば周囲の組織を取り除き、その湿重量を測定する。重量測定は乾燥を防ぐため、摘出後可能な限り速やかに行う。

© OECD 2018

50. 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(40)（［］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検査に加え、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、

© OECD 2018

呼吸器の保存および検査組織はTG 412 (8)とTG 413 (9)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

51. 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(40)。最低限、次の病理組織学的検査を行う。

- 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
- 肉眼的異常がみられた全組織
- 標的組織または高用量群で投与に関連する変化が認められた組織があるとき、他の全ての用量群の全ての動物から採取したそれらの組織
- 両側性の器官（腎臓、副腎など）は、両側とも検査する。

観察（癌原性部分）

52. 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、この確認は投与直後に行う。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。

53. 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

54. 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。これらの検査項目に関する情報は、試験の慢性毒性部分（通常12カ月間、段落34）で用いた動物のデータから得ることができる。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。採血を行う場合には、試験期間終了時の屠殺直前または屠殺手順の一部として実施することとし、麻酔下で指定部位から血液試料を採取する（心臓穿刺または眼窩静脈叢からの採血など）。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、癌原性部分における癌原性の評価のための血液塗抹検査の価値には疑問が呈されている(38)。

© OECD 2018

病理学的検査

剖検

55. モニター動物およびその他のサテライト動物（段落 20 参照）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。

56. 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(40)（［］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

© OECD 2018

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検査に加え、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、呼吸器の保存および検査組織はTG 412 (8)とTG 413 (9)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

57. 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(40)。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（癌原性および慢性毒性）

データ

58. 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。

59. 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。

60. 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

© OECD 2018

は、必要な場合に生存率による補正もできるようにする。

61. 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

© OECD 2018

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

- 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

© OECD 2018

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=65 052793&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 Guidelines: *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
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. (2003) A Framework for Human Relevance analysis of Information on Carcinogenic Modes of Action. *Crit. Rev. Toxicol.* 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. *Crit. Rev. Toxicol.* 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 ents. *Crit. Rev. Toxicol.* 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. *Crit. Rev. Toxicol*. 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. *Crit. Rev. Toxicol*. 36, 69-98.
20. OECD (2002), *Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Chronic Toxicity and*

© OECD 2018

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, 18th 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, December, 1989). Publication on the Planning and Structure of Animal Facilities for Institutes Performing Animal Experiments. ISBN 3-906255-06-9.
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. IPCS (1986). Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. Environmental Health Criteria Document No. 60.
33. Tupper, D.E., Wallace, R.B. (1980). Utility of the Neurologic Examination in Rats. Acta Neurobiol. Exp., 40, 999-1003.
34. Gad, S.C. (1982). A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. J. Toxicol.Environ. lth, 9, 691-704.
35. 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.
36. Meyer O.A., Tilson H.A., Byrd W.C., Riley M.T. (1979). A Method for the RoutineAssessment of Fore- and Hind-limb Grip Strength of Rats and Mice. Neurobehav. Toxicol., 1, 233-236.
37. 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.
38. Weingand K, Brown G, Hall R *et al.* (1996). Harmonisation of Animal Clinical Pathology Testing in Toxicity and Safety Studies. Fundam. & Appl. Toxicol., 29: 198-201.
39. EMEA (draft) document 'Non-clinical guideline on drug-induced hepatotoxicity' (Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/a50115/2006)
40. Crissman JW, Goodman DG, Hildebrandt PK *et al.* (2004). Best Practices Guideline:

© OECD 2018

Toxicological Histopathology. Toxicologic Pathology 32, 126-131.

© OECD 2018