OECD/OCDE

1986/10/23

試験ガイドライン No.484

遺伝毒性：マウススポットテスト

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.

本文書は削除されたガイドラインです。

Original work:

OECD (1986), Test No. 482: Genetic Toxicology: Mouse Spot 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/deleted-test-guidelines/deleted-test-guideline-484-1986.pdf.

©OECD(1986)

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

遺伝毒性：マウススポットテスト

1．序論

・前提条件

－固体、液体、揮発性またはガス状被験物質
－被験物質の化学的同定
－被験物質の純度（不純物）
－溶解性
－融点／沸点
－pH
－蒸気圧（もしデータがあれば）

・基準となる文書

適切な国際的基準はない。

2．試験法

A. 緒言

マウススポットテストは、被験物質の経胎盤吸収により生じる胎児細胞の推定される体細胞突然変異を検出する手法である。

・試験法の原則

本試験は、マウス胎内で発育中の胎児を化学物質に暴露させる in vivo 試験である。発育中の胎児の標的細胞は、メラノブラスト（メラニン顆粒を生成する細胞）であり、標的遺伝子は、毛色の色素を決定する遺伝子である。発育中の胎児は多数の毛色決定の遺伝子に関してヘテロ接合体である。メラノブラスト中の色素遺伝子について優性な座位に生じた突然変異、あるいはその遺伝子座の欠失は、子孫の細胞における劣性形質の発現にいたり、F1 マウスの毛色に異なる色調の斑点（スポット）を生じる。本試験はこの種のスポット数を処理群と対照群とで比較を行うものである。

B. 試験手順の解説

・準備

被験物質

被験物質は、可能であれば生理食塩液に溶解もしくは懸濁させる。水に不溶性の物質は適切な

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。

溶媒に溶解もしくは懸濁させる。溶媒は、被験物質の作用を妨害せず、毒性効果を示さないものを用いる。被験物質は処理の直前に調製する。

実験動物

T 系統のマウス（nonagouti, a/a; chinchilla, pink eye, $c^{ch}p/c^{ch}p$; brown, b/b; dilute, short ear, d se/d se; pie bald spotting, s/s）を HT 系統のマウス（pallid nonagouti, brachypody, pa a bp/pa a bp; leaden fuzzy, ln fz/ln fz; pearl pe/pe）もしくは C57/Bl マウス（nonagouti, a/a）と交配させる。Nonagouti の子孫を産むならば、NMRI マウス（nonagouti, a/a; albino, c/c）と DBA マウス（nonagouti, a/a; brown, b/b; dilute d/d）との交配のような、他の適切な交配組み合わせを用いてもよい。

匹数および性

検体の用量ごとに適切な匹数の生存マウスを得られるように、十分な数の妊娠雌マウスを処理する。標本サイズは処理マウスで観察されるスポット数と対照データの大きさによって決められる。

・試験条件

投与経路

妊娠雌マウスに対する通常の投与は経口もしくは腹腔内注射で行うが、必要に応じて吸入その他の投与経路も用いる。腹腔内投与は、被験物質本来の変異原性の評価に適しており、リスク評価に際しては、実際のヒトの暴露に近い投与経路が最も役立つ情報を与えてくれる。

用量段階

毒性の徴候もしくは１腹子数の減少をもたらす用量を含めて、適切な用量幅をおいた少なくとも２点の用量を用いる。比較的毒性の弱い被験物質は 1 g/kg まで、あるいはこれが不適切な場合には、可能な最高用量までを用いる。

対照

溶媒のみを投与したマウスのデータを同時陰性対照として用いる。さらに、もしも均一なデー

タが得られていれば、同じ実験室で得られた蓄積対照データを用いてもよい。同じ実験室で過去12ヵ月以内に行った実験の陽性対照結果が妥当ならば、それらを同時陽性対照に替えることができる。

・試験の実施

単回投与は、通常、膣栓が最初に観察された日を１日目とした場合の妊娠８、９、あるいは10日目に行う。これらの日付はそれぞれ受胎後 7.25、8.25、および 9.25 日に相当する。これらの日付を含む連続投与を行ってもよい。

分析

マウスをコード化し、生後３～４週目のスポット数を計算する。３種類のスポットを以下のように区別する。

a) 腹部正中線を含めて幅 1cm 以内にある白色斑。これは細胞死に由来するものと考えられる（WMVS)。

b) 乳、性器、喉、腋窩および鼠径部、および前頭中央部にみられる黄色アグーチ様斑。これは分化異常（MDS）の結果と考えられる。

c) 毛皮にランダムに分布する色素性の白色斑。これは体細胞突然変異（RS）に由来すると考えられる。

上記すべてのスポットを計数するが、最後の RS のみが遺伝的な変異である。MDS と RS の区別は体毛を蛍光顕微鏡で観察して行う。

３．データおよび報告

・結果の処理

試験成績は表にして示す。

試験成績には、計数したマウスの総数および体細胞突然変異に由来すると考えられるスポット数を記載する。試験成績は１腹ごとに示す。試験成績は適切な統計学的手法を用いて評価する。

・結果の評価

陽性結果と判定するためにはいくつかの基準があり、その一つとして、遺伝的な変化に由来す

るスポット数の増加に統計学的に有意な用量依存性があることがあげられる。その他の基準としては、試験用量の少なくとも１点で統計学的に有意な陽性結果が得られることである。

遺伝的変化由来のスポット数の増加に統計学的に有意な用量依存性がなく、用いたいかなる用量においても統計学的に有意な陽性結果が得られない場合には、この試験系では被験物質には変異原性がないと考える。

・試験報告

試験報告書には以下の情報を記載する。

－交配に用いた系統
－実験群および対照群における妊娠雌マウス数
－実験群および対照群における誕生時および離乳時の平均１腹子数
－被験物質の用量段階
－用いた溶媒
－投与時の妊娠日数
－投与経路
－計数したマウスの総数、実験群および対照群で観察された WMVS、MDS および RS の数
－計数した１腹総数、実験群および対照群での WMVS、MDS および RS がみられたマウスの数
－観察されたならば、全体の形態異常
－もし可能であれば RS の用量－反応関係
－統計学的評価
－試験結果に対する考察
－試験結果の解釈

４．参考文献

R. Braun, L.B. Russell, and J. Schoeneich: Meeting report; Workshop on the practical applications of the mammalian spot test in routine mutagenicity testing of drugs and other chemicals, Gatersleben, GDR, Mutation Res. 97, 155~161, 1982.

L.B. Russel: The mouse spot test as a predictor of heritable genetic damage and other endpoints, in Chemical Mutagens, Principles and methods for their detection, (edited by F.J. de Serres and A. Hollaender), pp.95~109, Plenum Press, New York, 1982.

L.B. Russell, P.B. Selby, E. von Halle, W. Sheridan and L. Valcovic; Use of the mouse spot test in chemical mutagenesis: Interpretation of past data and recommendations for future work, Mutation Res. 86, 355~379, 1981.