OECD/OCDE

1986/10/23

試験ガイドライン No.485

遺伝毒性：マウス転座試験

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 (1986), Test No. 485: Genetic toxicology, Mouse Heritable Translocation Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264071506-en.

©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：マウス転座試験

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

マウス転座試験は、哺乳動物生殖細胞に生じた染色体構造異常および数的異常を、F1 個体に遺伝した状態で検出するものである。

・試験法の原則

本試験法で検出される染色体変化の種類は、相互転座、および、もしも雌の子孫が含まれている場合には、X 染色体の欠失である。転座保有個体あるいは XO 雌個体は妊性が低下するが、これにより細胞遺伝学的分析を行う F1 個体の選択が行える。完全な不妊はある種の転座（X 染色体－常染色体間、および c/t 型）に由来する。転座は、雄個体（F1 雄個体あるいは F1 雌個体の雄子孫）の第一減数分裂前期の最終期から分裂中期にある細胞で、細胞遺伝学的に観察される。XO 雌個体は、骨髄の分裂細胞を検索して 39 本の染色体しかみいだせなかった場合に細胞遺伝学的に確認される。

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

本試験では、繁殖が容易であること、および細胞学的によく調べられていることから、便利なマウスを用いる。特別な系統は必要ではないが、平均１腹子数が８匹以上で比較的安定している系統を用いる。性成熟した動物を用いる。

動物数

必要動物数は、転座の自然発生頻度、および陽性結果を得るために必要な最低頻度によって決められる。試験は、通常、雄の F1 個体の分析によって行われ、被験物質の１用量あたり 500 匹程度という多数の F1 雄個体が必要である。

・試験条件

対照

同時に行った対照、あるいは蓄積された対照データを適切な対照データとして用いることができる。同じ実験室で最近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。

用量段階

毒性効果が最小限度に抑えられ、かつ生殖行動あるいは生存には影響を及ぼさない範囲での最高用量１用量で試験を行う。用量－反応関係を得るには、さらに２点のより低い用量を加える。毒性を示さない物質は、単回投与の場合には 5g/kg まで、連続投与の場合には 1g/kg/日までの用量で試験する。これが不適切な場合には可能な最高用量を用いる。

投与経路

投与は、通常、経口もしくは腹腔内注射で行うが、他の投与経路を用いてもよい。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。

遺伝毒性：マウス転座試験

・試験の実施

投与および交配

投与法には２種類ある。単回投与が最も広く用いられているが、被験物質を 35 日間毎日投与する方法を用いてもよい。投与後の交配回数は投与法により決められるが、処理を受けた生殖細胞のすべての分化段階が検索されるように留意すべきである。交配後は、雌動物は個別にケージで飼育する。子供が産まれたときは、日付、１腹子数、および性別を記録しておく。雄の子供はすべて離乳させ、雌の子供はすべて、実験に用いない限り廃棄する。

転座異型接合性の検討

下記の２種類の手法のうちいずれかが用いられる。

－F1 固体の妊性試験、およびそれに続く、細胞遺伝学的分析による転座保有個体の確認。

－妊性試験によって事前に選ばれなかった全ての雄 F1 個体の細胞遺伝学的分析。

a）妊性試験

F1 個体の妊性の減少は、１腹子数の観察あるいは交配雌個体の子宮内容の観察により確認される。

妊性減少の決定基準は用いたマウスの系統により決められる。

１腹子数の観察

調べられる F1 雄個体は１匹ずつ、同じ実験群、もしくは飼育集団の雌マウスとともにケージで飼育する。ケージは交配後 18 日目から毎日検査する。誕生時に F2 子孫の１腹子数と性別を記録した後、F2 マウスは廃棄する。もし雌の F1 子孫が検索される場合には、１腹子数の少ない F2 子孫は以後の検索にまわす。雌の転座保有個体は、その個体の産んだ雄の子孫にみられる転座を

細胞遺伝学的に分析することにより確認できる。XO 型の雌は子孫の雄：雌の比が１：１から１：２に変化することにより確認できる。継世代観察を行う場合には、F1 個体は、試験 F2１腹子数が予め設定された正常値を越えた場合には正常とみなして以後の試験からは除外し、そうでない場合には、２回目あるいは３回目の F2１腹を観察する。３回の F2１腹の観察でも正常に戻らない F1 個体については、さらに交配相手の雌の子宮内容の分析をするか、もしくは直接細胞遺伝学的分析を行う。

子宮内容の分析

転座保有個体の１腹子数の減少は胎児死によるものであり、高頻度の胚死亡は被験動物における転座の存在を示している。F1 雄個体はそれぞれ２～３匹の雌と交配を行わせ、受胎は毎朝膣栓を観察することにより確認する。受胎後の雌は 14～16 日後に屠殺し、子宮内の生存および死亡胚の数を記録する。

b) 細胞遺伝学的分析

精巣標本は空気乾燥法によって作製する。転座保有個体は、減数第一分裂前期の最終期（diakinesis）から分裂中期（metaphase）にある第一次精母細胞中にある多価染色体の存在によって確認される。少なくとも二つの細胞中に多価染色体を確認した場合には、被験動物が転座の保有個体であることが証明される。

もしも交配による選択を行わなかった場合には、すべての F1 雄個体を細胞遺伝学的に検索する。各雄個体あたり少なくとも 25 個の減数第一分裂前期の最終期から分裂中期の細胞を顕微鏡下で観察する。精巣が小さく、最終期前の減数分裂崩壊がある F1 雄個体あるいは XO が疑われる F1 雌個体では、分裂中期細胞、精原細胞あるいは骨髄細胞の検索を行う。10 個の細胞のそれぞれに通常みられない長さの（長いあるいは短い）染色体が存在する場合には、特別な雄の不妊転座（c/t 型）がある証拠となる。雄の不妊をおこすある種のＸ染色体－常染色体間の転座は、分裂細胞の染色体をバンドで解析することによってのみ確認できる。雌個体で 10 個の細胞すべてに 39 本の染色体しか観察されなかった場合には XO 状態の証拠となる。

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。

親個体の交配ごとに、誕生時および離乳時の平均１腹子数および性比を記録する。

遺伝毒性：マウス転座試験

F1 個体の妊性評価に際しては、正常交配すべてについての平均１腹子数、ならびに F1 転座保有個体ごとの１腹子数を表示する。子宮内容の分析に際しては、生存胚・死亡胚数を、正常交配全体の平均および F1 転座保有個体の交配ごとの個別の値で記録する。

最終期－分裂中期細胞の細胞遺伝学的分析については、転座保有個体ごとに、多価染色体像の数と種類および全観察細胞数を記録する。

F1 不妊個体に関しては、合計交配回数ならびに交配期間を記録する。精巣重量および細胞遺伝学的分析についての詳細も記録する。

XO 雌個体に関しては、平均１腹子数、F2 子孫の性比、および細胞遺伝学的検索結果を記録する。可能ならば、F1 転座保有個体を予め妊性試験によって選択しておく。表にはこれらの子孫のうち何匹が転座のヘテロ接合体であったかを記載しておく。

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、少なくとも１点の試験用量において観察された転座頻度の増加が統計学的に有意なことがあげられる。その他の基準としては、転座頻度の増加に統計学的に有意な用量依存性が得られることである。

被験物質がいかなる用量においても統計学的に有意な転座頻度の増加を示さず、また、転座頻度の増加に統計学的に有意な用量依存性がみられない場合には、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。

－マウスの系統、週齢、投与時の体重
－実験群および対照群における雌雄の交配匹数
－もしあれば、同時対照実験あるいは蓄積対照データ
－試験条件、投与法の詳細な記述、用量段階、溶媒
－交配計画

－雌あたりの子孫の数と性別、転座試験を行った子孫の数と性別
－転座試験を行った時期と判定基準
－転座保有個体について、その数と、可能であれば交配データおよび子宮内容データを含む詳細な記述
－細胞遺伝学的検索の手法と顕微鏡分析の詳細。写真などが添付されていることが望ましい。
－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

I.-D. Adler: The cytogenetic heritable translocation test, Biol. Zbl. 97, 441~451, 1978.

R. Albanese, J. Topham, E. Evans, G. Clave and C. Tease: Mammalian germ cell cytogenetics, in Report of the UKEMS Subcommittee on guidelines for mutagenicity testing, Part II, pp.145~172, 1984.

B.M. Cattanach: The heritable translocation test in mice, in Cytogenetic Assays of Environmental Mutagens (edited by T.S. Hsu), pp.289~321, Allenheld Osman, 1982.

W. Generoso, K.T. Caen, S. Hoff and D.G. Gosslee: Heritable translocations, in Chemical Mutagens; Principles and methods for their detection (edited by A. Hollaender), vol.5, pp.55~77, Plenum Press, New York, 1978.

W. Generoso, J.B. Bishop, D.G. Gosslee, G.W. Newell, C.-J. Sheu and E. von Halle: Heritable translocation test in mice, Mutat. Res. 26, 191~215, 1980.

A. Leonard and I.-D. Adler: Test for heritable translocations in male mammals, in Handbook on Mutagenicity Test Procedures (edited by B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols and C. Ramel), pp. 485~494, Elsevier, Amsterdam, 1984.