

表1 農水省，EPA，OECD および医薬品ICHの生殖毒性試験ガイドライン

1. 催奇形性試験

項 目	農水省 (1985)	EPA (DRAFT, 1996)	EPA, TSCA (FINAL, 1997)	OECD (DRAFT, 1996)	ICH StudyC (厚生省, 1997)
動物数	妊娠動物 ラット：20 匹以上/群 ウサギ：12 匹以上/群	ラット，ウサギとも妊娠動物 20 匹以上/群	ラット，ウサギとも妊娠動物約 20 匹/群	EPA(DRAFT)と同じ	ラット，ウサギとも最終評価の妊娠動物 16-20 匹/群が得られる匹数とする。
馴化期間				5 日以上	
妊娠 0 日の定義	膣栓または膣垢中に精子を確認した日を妊娠 0 日とする。ただし，交尾観察，人工受精を行った場合は当該日の翌日を妊娠 0 日とする。	膣栓または膣垢中に精子を確認した日を妊娠 0 日とする。	齧歯類では膣栓または膣垢中に精子を確認した日，ウサギでは受精日を妊娠 0 日とする。	EPA(DRAFT)と同じ	膣栓または膣垢中に精子を確認した日。
母動物投与	経路	強制経口投与	強制経口投与，吸入の場合は全身曝露が適切（鼻部曝露は拘束ストレスがあるため）	強制経口投与	臨床適用経路
	用量	最低 3 用量群＋対照群 最高用量は体重減少など被験物質に由来する明らかな毒性徴候が母獣に現れる量，低用量は毒性徴候がない用量，中間用量は最高用量と最低用量の等比中項。	最低 3 用量群＋対照群 最高用量は発生毒性または母体毒性を示し，10% 以上の母体の死亡がない量，中用量は僅かな毒性が現れる量，低用量は母体毒性，発生毒性がない用量。 蓄量（例 NOAEL）又は最も感度が高い指標の検出限界付近の用量。 公比は 2～4 が適切で，10 以上にするよりは，第 4 用量の追加が望ましい。	最低 3 用量群＋対照群 最高用量は発生毒性または母体毒性を示し，10% 以上の母体の死亡がない量，中用量は僅かな毒性が現れる量，低用量は母体毒性，発生毒性がない用量（NOAEL）又は検出限界 付近の用量公比は 2～4 が適切で，10 以上にするよりは，第 4 用量の追加が望ましい。	最低 3 用量群＋対照群 最高用量は母動物に軽度の毒性を発現することが望ましい。 用量反応関係が疑わしい場合は，第 4 用量の追加が望ましい。
	限界量	1000 mg/kg	経口，経皮は 1000 mg/kg 吸入は 2 mg/L	経口は 1000 mg/kg 吸入，経皮は投与限界量	1000 mg/kg
	限界試験	1000 mg/kg 投与で胎児毒性，催奇形性がなければ，それ以外の群での試験は不要。	限界用量で毒性がない場合又は類似物質のデータから影響がないと予測される場合は，3 用量での試験は不要。	TSCA(FINAL)と同じ	
	期間	ラットは妊娠 6～15 日又は 7～17 日，ウサギは妊娠 6～18 日（ウサギで交尾確認日，人工授精日を 0 日とした場合は 7～19 日になる） 投与期間を分娩予定日の前日まで延長しても良い	少なくとも着床から帝王切開まで 予備試験で着床前胚死亡作用の証左がなければ，投与を受精から剖検前日までの全妊娠期間に延長することも可。	少なくとも着床から帝王切開前日まで 予備試験で着床前胚死亡作用の証左がなければ，投与を受精から剖検前日までの全妊娠期間に延長することも可能。	着床から硬口蓋の開鎖までの期間 ラット妊娠 7-17 日 ウサギ妊娠 6-18 日
	液量	投与開始日または至近日の体重に基づいて算出。	至近日の体重に基づいて算出。	EPA(DRAFT)と同じ	EPA(DRAFT)と同じ
	一般状態	少なくとも 1 回/日。	少なくとも 1 回/日ケージサイド観察，体重測定日には詳細に観察。	EPA(DRAFT)と同じ	農水と同じ
体重	投与前，投与中，投与終了後を含む。	妊娠 0 日と剖検日，投与期間は少なくとも 3 日間隔で測定。	EPA(DRAFT)と同じ	EPA(DRAFT)と同じ	少なくとも週 2 回，投与期間中の妊娠動物の体重を毎日測定することにより有益な情報が得られることもある。
摂餌量	投与前，投与中，投与終了後を含む。	体重と同じ日に測定。	少なくとも 3 日間隔で，望ましくは体重と同じ日に測定。	EPA(DRAFT)と同じ	少なくとも週 1 回
子宮重量		妊娠子宮を測定する。	妊娠子宮（頸部含む）を測定する。	TSCA(FINAL)と同じ	

表1 農水省，EPA，OECDおよび医薬品ICHの生殖毒性試験ガイドライン

1. 催奇形性試験（つづき）

項 目		農水省 (1985)	EPA (DRAFT, 1996)	EPA, TSCA (FINAL, 1997)	OECD (DRAFT, 1996)	ICH StudyC (厚生省, 1997)
胚 胎 児	帝王切開検査	生存胎児数，必要に応じて黄体数	黄体数，胚・胎児死亡数，生存胎児数，吸収胚の程度（死亡時期推定のため） 非妊娠雌は硫化アンモニウム等で着床を確認。	黄体数，胚・胎児死亡数，生存胎児数，吸収胚の程度（早期，後期：死亡時期推定のため） 非妊娠雌は硫化アンモニウム等で着床を確認。	EPA(DRAFT)と同じ	黄体数，死亡胚・胎児数，生存胎児数 非妊娠マウス・ラットは硫化アンモニウムで着床を確認。
	胎児	性別，胎児体重，外表異常	性別，胎児体重，外表異常	性別，胎児体重，外表異常	性別，胎児体重，外表異常	胎児体重，外表異常
	胎児検査	ラットは1/3 ～ 1/2 を骨格検査，残りを内臓検査。 ウサギは全例を内臓検査の後，骨格検査。	ラットは約 1/2 を骨格検査し（硬骨，軟骨），残りを内臓検査。全例を内臓検査後に骨格検査しても良い。 ウサギは全例を内臓，骨格検査する。半数の胎児の頭部は分離し，連続切片法により検査し，残りの胎児の頭部は脳頭頂部で横断して脳の内部を検査。その後，全例の内臓および骨格検査。	ラットは約 1/2 を骨格検査し（望ましくは硬骨，軟骨），残りは連続切片法または解剖により内臓検査する。全例を内臓検査後に骨格検査しても良い。 ウサギは全例を内臓，骨格検査する。軀幹は解剖により内臓検査し，少なくとも半数の胎児の頭部は眼球，脳，鼻腔，舌を適切な方法で検査。その後骨格検査する。	ラットは約 1/2 を骨格検査し（硬骨，軟骨），残りは連続切片法または解剖により内臓検査する。ウサギは全例を内臓，骨格検査する。軀幹は心臓内部を含めて注意深く内臓検査し，半数の胎児の頭部は分離し，連続切片法により検査する。その軀幹と残りの胎児は骨格検査する。	ラットは約 1/2 を骨格検査し，残りは内臓検査する。 ウサギは内臓検査のために新鮮標本の顕微解剖法を用いる場合は全例を内臓，骨格検査する。対照群と高用量群との間に有意な変化が認められない場合は，中・低用量群の検査は不要。
その他			帝王切開と胎児検査は盲検 子宮重量補正の体重変化を算出	帝王切開と胎児検査は盲検 子宮重量補正の体重変化を算出 統計解析は同腹児が基本単位 背景データを使用した場合は，動物の系統，供給源，媒体，投与経路も含め提示。 毒性変化がなかった場合は，被験物質の吸収，生物学的活性の測定を考慮すべき。	子宮重量補正の体重変化を算出 毒性変化がなかった場合は，被験物質の吸収，生物学的活性の測定を考慮すべき。	統計解析は同腹児が基本単位。

表1 農水省、EPA、OECDおよび医薬品ICHの生殖毒性試験ガイドライン

2. 繁殖試験

項目	農水省 (1985)	EPA (DRAFT, 1996)	EPA, TSCA (FINAL, 1997)	OECD (DRAFT, 1996)	ICH Study A (厚生省, 1997)	ICH Study B (厚生省, 1997)
親動物	親動物数					
	F0 雄: 20 匹以上/群 雌: 妊娠動物 20 匹以上/群	農水省と同じ	雄: 20 匹以上/群 雌: 妊娠動物約 20 匹/群	農水省と同じ	雌雄同数とし、最終評価の母動物数 16-20 匹/群が得られる匹数	F0,F1とも最終評価の母動物数 16-20 匹/群が得られる匹数
	F1 離乳時にできるだけ多くの腹から無作為に雌雄各 1 匹/腹を選抜。	最低雌雄各 1 匹/腹を選抜	EPA(DRAFT)と同じ	EPA(DRAFT)と同じ		離乳時に 1 腹あたり雌雄各 1 匹を選抜
	馴化期間	1 週間以上	5 日以上	EPA(DRAFT)と同じ	EPA(DRAFT)と同じ	
	経路	経口投与 (混餌) 強制経口投与の場合は、各週の体重に基づき液量算出 (妊娠期の母動物は妊娠 0 日と 6 日の体重でも可)。	経口投与 (混餌) 強制経口投与の場合は、各週の体重に基づき液量算出。	EPA(DRAFT)と同じ	経口投与 (混餌) 強制経口投与の場合は、10 mL/kg 以内 (溶液は 20 mL/kg) とし、毎週の体重を基に液量算出。刺激性物質を除き、一定容量が望ましい。	臨床適用経路
	用量	最低 3 用量群+対照群 高用量は母動物に毒性徴候を示し、死亡がない量、中用量は僅かな毒性徴候が出る量、低用量は母動物、児動物ともに量は毒性徴候がない量。	最低 3 用量群+対照群 最高用量は親動物に毒性徴候を示し、10 % 以上の死亡がない量、中用量は僅かな毒性が出る量、低用量は毒性がない量	最低 3 用量群+対照群 最高用量は親動物に毒性徴候を示し、10 % 以上の死亡がない量、中用量は僅かな毒性が出る量、低用量は毒性がないか、最も感度の高い項目の検出限界に近い量 公比は 2 ~ 4 が適切で、10 以上と大きくするよりは第 4 用量の追加が望ましい	最低 3 用量群+対照群 最高用量は親動物に毒性徴候を示し、10 % 以上の死亡がない量、以下用量依存性を示す用量を設定し、低用量は毒性がない量。公比は 2 ~ 4 が適切で、10 以上と大きくするよりは 第 4 用量の追加が望ましい。	最低 3 用量群+対照群 十分狭い用量間隔を優先させ、必要なら第 4 用量を追加する。「無毒性量」を設定することが望ましい。生殖発生 of 「無毒性量」が得られない場合は、より詳細な研究や追加試験が必要。
	限界用量	(50000 ppm)	強制経口は 1000 mg/kg 混餌は 20000 ppm	強制経口は 1000 mg/kg 混餌は 20000 ppm	1000 mg/kg	1000 mg/kg
	限界試験		限界用量で毒性がない場合又は類似物質のデータから影響がないと予測される場合は、3 用量での試験は不要。	1000 mg/kg で影響がなければ他の群は不要。		
	投与開始	F0 は離乳後間もない時期から F1 は離乳時から	F0 は馴化後 5 ~ 9 週齢から F1 は離乳時から	EPA(DRAFT)と同じ	6 ~ 9 週齢から F1 は離乳時から	
	期間	交配前 8 週間以上、離乳まで。	交配前 10 週間以上	EPA(DRAFT)と同じ	交配前 10 週間以上	交尾前 (雌雄) から交尾、受精、着床まで 雄: 交配前 4 週間 (2 週間も可能、より広範囲の投与が必要な場合もある) 雌: 交配前 2 週間、交配期間を経て着床まで (妊娠 7 日)
動物	一般状態	1 回以上/日	1 回以上/日 ケージサイド観察 1 回/週は詳細観察	EPA(DRAFT)と同じ	2 回以上/日 ケージサイド観察 1 回/週は詳細観察	少なくとも 1 回/日
	体重	投与開始日、その後 1 回以上/週。	投与開始日、その後 1 回以上/週 妊娠 0, 7, 14, 21 日、哺育 0, 4, 7, 14, 21 日	EPA(DRAFT)と同じ	EPA(DRAFT)と同じ	少なくとも 2 回/週
	摂餌量	摂餌量の変化を記録。	1 回以上/週、摂餌効率も算出。 混餌で摂餌量や摂餌効率減少があったら pair-fed 対照の必要性を考慮。	EPA(DRAFT)と同じ	EPA(DRAFT)と同じ	少なくとも 1 回/週、交配中は除く

表1 農水省, EPA, OECDおよび医薬品ICHの生殖毒性試験ガイドライン

2. 繁殖試験 (つづき)

項目	農水省 (1985)	EPA (DRAFT, 1996)	EPA, TSCA (FINAL, 1997)	OECD (DRAFT, 1996)	ICH Study A (厚生省, 1997)	ICH Study B (厚生省, 1997)
性周期		交配前3週間と交配期間を検査 (正常性周期の雌数, 平均性周期算出)	EPA(DRAFT)と同じ	交配に供する雌は交配前とオプションで交配期間を検査 (正常性周期の雌数, 平均性周期算出)	少なくとも交配期間中は検査	
交配	3週間, 未交尾動物は原因を調査 (生殖器の組織学的検査, 再交配, 発情, 精子形成周期などの検査)	2週間または3回の性周期を含む期間 (交尾所要日数, 交尾までの発情期の回数)	EPA(DRAFT)と同じ	2週間, 雄雌各1匹/腹, 性成熟以前に交配してはならない. 未交尾動物は原因を調査 (生殖器の組織学的検査, 再交配, 発情, 精子形成周期などの検査)	2-3週間, 雄雌1対1	2-3週間, F1雄雌各1匹/腹
2次交配		対照群の生殖能低下, 被験物質による同腹児数の変化があった時, 第1産児の離乳1〜2週後に再交配し第2産児の分娩を考慮.	EPA(DRAFT)と同じ	対照群の生殖能低下, 被験物質による同腹児数の変化があった時, 第1産児の離乳2週後に再交配し第2産児の分娩を推奨.	交配結果が曖昧な場合は雄動物を無処置雌と交配	
精子検査		精巣のホモジネーション耐性精子数, 精巣上体尾部の精子数, 精巣上体尾部又は輸精管の精子の形態, 運動性 (前進精子の割合)	片側精巣のホモジネーション耐性精子数 片側精巣上体尾部の精子数, 精巣上体尾部又は輸精管の精子の形態, 運動性 (前進精子の割合)	EPA(DRAFT)と同じ	精子数, 精子運動性, 精子形態 (オプション) 精管もしくは精巣上体尾部由来サンプル使用が適切.	
剖検	屠殺例は全例を剖検.	交配のために選抜した動物は全例剖検 (雌は着床数, 剖検時の性周期ステージを検査)	EPA(DRAFT)と同じ	交配のために選抜した動物は全例剖検 (雌は着床数, 剖検時の性周期ステージを検査)	全親動物の剖検 雌は妊娠中期以降に剖検 雄は交尾成立後剖検, 妊娠成立を確認する.	全成熟動物の剖検
臓器重量		子宮, 卵巣, 精巣, 精巣上体 (全体, 尾部), 精のう (凝固腺と内容液含む), 前立腺, 脳, 肝臓, 腎臓, 副腎, 脾臓, 標的臓器	子宮 (卵管, 頸部含む), 卵巣, 精巣, 精巣上体 (全体, 片側又は両側尾部), 精のう (凝固腺と内容液含む), 前立腺, 脳, 下垂体, 肝臓, 腎臓, 副腎, 脾臓, 標的臓器	EPA(DRAFT)と同じ		
病理組織検査	膣, 子宮, 卵巣, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺, 下垂体, 肉眼的異常部位. 病理組織検査は対照と最高用量群を検査し, 影響を認めた場合は他の群を検査.	膣, 子宮 (頸部含む), 卵巣 (卵管含む), 精巣 (ブアン又は相当液で固定), 片側精巣上体, 精のう, 前立腺, 凝固腺, 標的臓器, 肉眼的異常部位. 精巣上体は縦断切片作製, 卵巣は片側につき5切片を作製し, 原始卵胞を計数. 病理組織検査は対照と最高用量群を検査し, 影響を認めた場合は他の群を検査. 低用量群で生殖への影響が出た場合も同様.	膣, 子宮 (卵管, 頸部含む), 卵巣, 片側精巣 (ブアン又は相当液で固定), 片側精巣上体, 精のう, 前立腺, 凝固腺, 下垂体, 副腎, 標的臓器, 肉眼的異常部位. 精巣上体は縦断切片作製, 卵巣は原始卵胞を検査し, 生殖器, 生殖機能に変化があった場合, 左右合計20切片を作製し, 原始卵胞と胞状卵胞を計数. 病理組織検査は対照と最高用量群の無作為に抽出した雌雄各10匹/群を検査し, 影響を認めた場合は同群の残りとの群を検査. 低用量群で生殖への影響が出た場合も同様.	膣, 子宮 (頸部含む), 卵巣, 片側精巣 (ブアン又は相当液で固定), 片側精巣上体, 精のう, 前立腺, 凝固腺, 標的臓器肉眼的異常部位, 精巣上体は縦断切片作製, 卵巣は片側につき2切片以上を作製し, 成長ろ胞と黄体の有無を検査. 病理組織検査は対照と最高用量群を検査し, 影響を認めた場合は他の群を検査. 低用量群で生殖への影響が出た場合も同様.	肉眼的変化の認められた組織・器官は保存し, 必要に応じて病理組織学的検査実施. 比較検討用に十分な対照群の同じ組織・器官を保存. 状況に応じて全動物から精巣, 精巣上体, 卵巣, 子宮を保存し, 病理組織学的検査実施.	肉眼的変化の認められた組織・器官は保存し, 必要に応じて病理組織学的検査実施. 比較検討用に十分な対照群の同じ組織・器官を保存.

表1 農水省, EPA, OECD および医薬品 ICH の生殖毒性試験ガイドライン

2. 繁殖試験 (つづき)

	項 目	農水省 (1985)	EPA (DRAFT, 1996)	EPA, TSCA (FINAL, 1997)	OECD (DRAFT, 1996)	ICH Study A (厚生省, 1997)	ICH Study B (厚生省, 1997)
児 動 物	観察	新生児数, 死産児数, 生存児数, 外表異常	出産児数, 性別, 死亡児数, 生存児数, 外表異常. F1 の性比又は性成熟に変化があった時は F2 の AGD を出生日に測定.	EPA(DRAFT)と同じ	出産児数, 性別, 死亡児数, 生存児数, 外表異常, 矮小児数. F1 の性比又は性成熟に変化があった時は F2 の AGD を出生日に測定.	妊娠中期に帝王切開し, 黄体数, 着床数, 生存胚数, 死亡胚数などを検査.	出産児数, 性別, 死亡児数, 生存児数, 外表異常
	体重	生後 0, 4, (7), 14, 21 日	生後 0(又はその後早い時期), 4, 7, 14, 21 日	生後 0(又はその後早い時期), 4, 7, 14, 21 日, 最終体重	生後 0(又はその後早い時期), 4, 7, 14, 21 日	—	
	児数調整	生後 4 日に無作為に雌雄各 4 匹/群に調整 間引き児は異常の検査.	児数調整は基本的に実施せず, オプション. 実施するなら生後 4 日に無作為に雌雄各 4 または 5 匹/腹に調整 (体重による選抜は不可).	EPA(DRAFT)と同じ	児数調整は基本的に実施せず, オプション. 実施するなら生後 4 日に無作為に雌雄各 4 匹/腹に調整 (体重による選抜は不可).	—	児数調整は実験者が説明を加えなければならない. 実施するなら生後 4 日に無作為に雌雄各 4 匹/腹に調整 (体重による選抜は不可).
	反射機能		反射, 発生への影響の情報を得るため, 発生毒性, 神経発生毒性試験のガイドラインに沿った試験を付加することが可能	EPA(DRAFT)と同じ	反射, 発生への影響の情報を得るため, 発生毒性, 神経発生毒性試験のガイドラインに沿った試験を付加することが可能 機能検査は良い追加項目で, 神経毒性試験を実施しないなら, 離乳後の F1 の機能検査を推奨する. ただし, 明確な毒性がある群の機能検査は除外可能.	—	耳介展開, 毛生, 切歯萌出, 眼瞼開裂, 面正向く反射, 聴覚性驚愕反射, 空中落下正向反射 機能試験は推奨できる特定の試験方法は認められない. 研究者は感覚機能, 運動機能, 学習, 記憶に及ぼす影響を評価する方法を見いだす努力をすることが望ましい.
	性成熟		F1 の交配動物は陰開口, 包皮分離の発現日を検査.	F1 の交配動物は陰開口, 包皮分離の発現日検査. 発現日の体重を測定.	EPA(DRAFT)と同じ	—	EPA(DRAFT)と同じ
	剖検	屠殺例は全例を剖検 (間引き児含む).	未選抜 F1 離乳時, F2 離乳児は雌雄各 3 匹以上/腹を剖検. 死亡児は保存し, 異常, 死因検索. F1 と F2 の離乳後の剖検日は統一.	未選抜 F1 離乳時, F2 離乳児は雌雄各 3 匹以上/腹を剖検. 死亡児は保存し, 異常, 死因検索. F1 と F2 の離乳後の剖検日は統一.	離乳時未選抜 F1 と F2 動物全例を剖検	—	全成熟動物の剖検
	臓器重量		離乳児剖検例の脳, 脾臓, 胸腺	無作為に選抜した F1, F2 離乳児の雌雄各 1 匹/腹の脳, 脾臓, 胸腺	剖検例の脳, 脾臓, 胸腺	—	
そ の 他	病理組織検査		離乳時剖検例の肉眼的異常部位, 標的臓器を採材し, 全ての発生異常を検査.	肉眼的異常部位, 標的臓器は採材し, 被験物質による肉眼的変化があり, 組織検査が評価に貢献すると考えられた場合は検査.	全例の採材臓器 (肉眼的異常部位, 標的臓器) を検査	—	肉眼的変化の認められた組織・器官は保存し, 必要に応じて病理組織学的検査実施, 比較検討用に十分な対照群の同じ組織・器官を保存.
			毒性変化がなかった場合は, 被験物質の吸収, 生物学的活性の測定を考慮すべき.	EPA(DRAFT)と同じ	毒性変化がなかった場合は, 被験物質の吸収, 生物学的活性の測定を考慮すべき.		

—: 検査対象外