

ラット肝中期発がん性試験による調査の基準（草案）

1 試験の方法

ラット肝中期発がん性試験は、2段階発がんモデルによる試験方法（伊東法）とする。投与方法は、被験物質の物理化学的性質及び人体がばく露される経路を考慮して選択する。

2 試験に用いる動物

- (1) 試験に用いる動物は、原則として、6週齢前後の雄若齢成熟ラットとする。
- (2) 1群当たりの動物数は、肝臓の前がん病変（胎盤性グルタチオンS転移酵素陽性巣：GST-P陽性細胞巣）の数及び総面積の変化を検出するのに必要な統計検出力が得られる匹数とする。

3 投与群及び対照群

- (1) 試験における被験物質投与群の数は、3段階以上とする。
- (2) 被験物質投与群の他に被験物質対照群、起始物質対照群及び陽性対照群を設定する。
- (3) 被験物質対照群には、被験物質の代わりに、その媒体を投与する。
- (4) 起始物質対照群には、起始物質の代わりに、その媒体を投与する。
- (5) 陽性対照群には、被験物質の代わりに既知の陽性物質を投与する。

4 被験物質の用量

被験物質の用量は、次に定めるところによる。

- (1) 用量は、あらかじめ実施した用量設定試験の結果又は同等の知見に基づき決定する。
- (2) 最高用量は、最小限の毒性兆候を表すのに十分な用量、若しくは技術的に投与可能な上限の用量とする。

5 試験手順

試験は、起始物質ジエチルニトロソアミン（DEN）の200 mg/kg体重を腹腔内に単回投与後、第3週目より6週間、被験物質を毎日、投与し、第8週目に解剖する。なお、第3週目の終わりに肝の2/3を切除する。

6 観察及び測定事項

- (1) 各群の全例について、一般状態及び体重を適切な頻度で観察する。
- (2) 必要に応じて摂餌量を適切な頻度で測定する。
- (3) 試験に使用したすべての動物を解剖し、臓器の肉眼的観察をする。免疫組織学的に肝臓の前がん病変（GST-P陽性細胞巣）の数及び総面積の測定を行う。また、肝臓の病理組織学的検査を行う。

なお、被験物質の毒性を考慮して、適切な器官・組織についても病理組織学的検査を行う。