

ラット肝中期発がん性試験による調査の基準（第 1 回 WG 後修正）

1 試験の方法

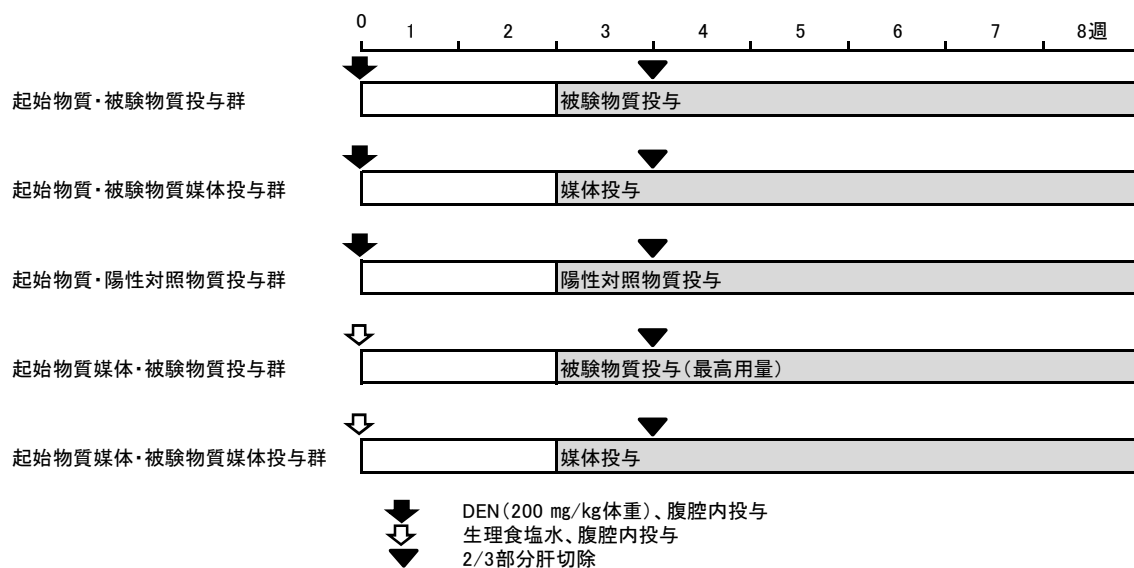
ラット肝中期発がん性試験は、2 段階発がんモデルによる試験方法（伊東法）とする。投与方法は、被験物質の物理化学的性質及び人体がばく露される経路を考慮して選択する。

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、有効匹数 15 匹以上肝臓の前がん病変（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) 試験における起始物質・被験物質投与群の数は、3 段階以上とする。
- (2) 起始物質・被験物質投与群の他に起始物質・被験物質対照媒体投与群を設定する。
また、必要に応じて起始物質対照・陽性対照物質投与群、起始物質媒体・被験物質投与群及び陽性対照起始物質媒体・被験物質媒体投与群を設定する。
- (3) 起始物質・被験物質対照媒体投与群には、被験物質の代わりに、その媒体を投与する。
- (4) 起始物質・対照陽性対照物質投与群には、起始物質被験物質の代わりに、既知の陽性物質（フェノバルビタール等）の代わりに、その媒体を投与する。
- (5) 陽性対照起始物質媒体・被験物質投与群には、被験物質起始物質の代わりに、既知の陽性物質その媒体を投与する。
- (6) 起始物質媒体・被験物質媒体投与群には、起始物質及び被験物質の代わりに、それらの媒体を投与する。



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 **再終了後** 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。