

「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律関係事務の取扱いについて」（平成12年3月31日付け12動薬A第418号
農林水産省動物医薬品検査所長通知）別添2 動物用医薬品等の承認申請資料のためのガイドライン等 新旧対照表

（下線部分は改正部分）

改正後	現行
<p>9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験 (1)～(5) (略) (6) 遺伝毒性試験 (VICH GL23R2) ア 緒言 (ア) 目的 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たり、遺伝毒性作用による潜在的危険性の検討を含めて、多くの毒性学的評価が勧告される。多くのがん原性物質及び/又は<u>遺伝毒性物質</u>には遺伝毒性的な作用機序があり、これはそうではないという信頼できる証拠がない限り、遺伝毒性物質は潜在的がん原性物質とみなすのが賢明である。遺伝毒性試験の成績は、一日摂取許容量 (ADI) の数値に影響しないのが普通であるが、<u>がん原性試験が必要か及び ADI を設定できるかどうかの判断に影響することがある。</u></p> <p>このガイドラインの目的は、<u>残留動物用医薬品の遺伝毒性試験法の国際的ハーモナイゼーションを確実にすることである。</u></p>	<p>9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験 (1)～(5) (略) (6) 遺伝毒性試験 (VICH GL23R) ア 緒言 (ア) 目的 ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するに当たり、遺伝毒性作用による潜在的危険性の検討を含めて、多くの毒性学的評価が勧告される。多くのがん原性物質及び/又は<u>変異原性物質</u>には遺伝毒性的な作用機序があり、これはそうではないという信頼できる証拠がない限り、遺伝毒性物質は潜在的がん原性物質とみなすのが賢明である。<u>加えて、繁殖及び/又は発生毒性を起こさせる物質は、遺伝毒性学的メカニズムを含む作用機序を有していることがある。</u>遺伝毒性試験の成績は、一日摂取許容量 (ADI) の数値に影響しないのが普通であるが、ADI を設定できるかどうかの判断に影響することがある。</p> <p>このガイドラインの目的は、遺伝毒性試験法の国際的ハーモナイゼーションを確実にすることである。</p>

(イ) 背景

このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品のADI設定に必要な安全性データを、関連する規制当局が相互に受け入れることを促進するために作成される一連のVICHガイドラインの一つである。これは「9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品を評価する試験」の「(1) 試験への一般的アプローチ」¹とあわせて読むべきである。VICHGL23は、ヒト用医薬品のICHガイドライン：“Genotoxicity: A Standard Battery of Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals”²及び“Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals”³を検討した後に作成された。

VICH GL23 (R2)では、OECD Guidelines for Testing of Chemicals、WHO International Programme on Chemical Safety (IPCS) Environmental Health Criteria (EHC) 240⁴、ICH guideline S2(R1)⁵及びEFSA (2011)⁶並びにEU、日本、米国、オーストラリア、カナダ、ニュージーランド及び英国における各国／地域のガイドライン及びヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する現行の方法も考慮した。VICHは、試験に使用する動物の代替、苦痛の軽減改善、及び削減という3Rの原則に基づき、動物試験を最小限にとどめるよう努力している。

(ウ) 適用範囲

(イ) 背景

ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を確立するためのEU、日本及び米国の遺伝毒性試験の要件には相違がある。

このガイドラインは、ヒト食品中残留動物用医薬品のADI設定に必要な安全性データを、関連する規制当局が相互に受け入れることを促進するために作成される一連の VICH ガイドラインの一つである。これは「9-1 ヒト食品中残留動物用医薬品を評価する試験」の「(1) 試験への一般的アプローチ」(VICH GL33)とあわせて読むべきである。このガイドラインは、ヒト用医薬品のICHガイドライン：“Genotoxicity: A Standard Battery of Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals”及び“Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals”を検討した後に作成された。OECD Guidelines for Testing of Chemicals並びにEU、日本、米国、オーストラリア、ニュージーランド及びカナダにおける各国／地域のガイドライン及びヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する現行の方法も考慮した。

(ウ) 適用範囲

このガイドラインは、残留動物用医薬品(親化合物及び／又は代謝物を含む。)の遺伝毒性の評価に使用できる標準的な試験の組合せを勧告する。標準的な試験の組み合わせは、残留動物用医薬品の遺伝毒性の可能性の評価において、ヒト用医薬品の遺伝毒性を試験するためのICHの要件と調和して、合理的な信頼性を達成することを目的としている。本ガイドラインは、標準的な試験の組み合わせの変更及び結果の解釈についても助言する。

イ 試験の標準的組合せ

このガイドラインは、動物用医薬品の遺伝毒性の評価に使用できる標準的な試験の組合せを勧告する。ほとんどの場合において、試験成績は試験物質に遺伝毒性があるか否かを明確に指摘する。しかし、試験の標準的な組合せは、特定の系統の動物用医薬品には適当でない。例えば、一部の抗菌薬は、細菌の遺伝子突然変異試験に使用する試験菌株に対して毒性を示すことがある。このガイドラインは、このような薬物の試験に必要な、試験の基本的組合せの修正を助言する。試験の標準的又は修正組合せの成績が不明確又はあいまいな場合があれば、成績の評価及び解釈について助言する。ある場合には追加試験を要求されることがあり、例えば異数性の可能性を示す及び／又は生殖細胞に影響がある可能性を示す物質がそうである。

ほとんどの場合において、試験されるのは親化合物であるが、時には食品中に残留する一つ又はそれ以上の主要代謝物も試験する必要があるであろう。おそらく代謝物を試験する必要があるであろう例として、代謝物が親化合物の分子構造に存在しない構造的な警告を示す場合、及び食品中残留物が主として親化合物と基本的に異なる分子構造をもつ代謝物の場合がある。塩、エステル、包合体及び結合型の残留物は、逆のことが証明されない限り、通常、親化合物と同じ遺伝毒性があると仮定される。

イ 試験の標準的組合せ

VICH は、標準的な試験の組み合わせに次の2つのオプションを推奨しており、どちらのオプションも同程度に適切と判断される。

・オプション1は、細菌遺伝子突然変異試験、*in vitro* 哺乳類細胞染色体異常試験、及び *in vivo* げっ歯類造血細胞染色体異常試験を含む。

・オプション2は、細菌遺伝子突然変異試験、*in vivo* げっ歯類造血細胞染色体異常試験、及び第二の *in vivo* 試験を含む。

一部の管轄地域では、法律により可能な限り 3R の実施が義務付けられている。したがって、オプション2を使用する科学的根拠がある場合、または第二の *in vivo* 試験を、動物の数を増やすことなく反復投与試験に統合できる場合を除き、オプション1が推奨される。

試験を実施する際には、遺伝毒性に関する OECD テストガイドラインの最新版を使用する必要がある。

ほとんどの場合において、試験されるのは親化合物であるが、時には食品中に残留する一つ又はそれ以上の主要代謝物も試験されることがある。特に、主要な代謝物が対象種で産生されるが実験動物種では産生されない場合、及び/または警告構造がある場合である。主要代謝物とは、代謝研究で対象動物種から採取されたサンプル中に 100 µg/kg 以上含まれるまたは総残留の 10%以上を占める代謝物のことである⁷。一

三つの試験から成る以下の組合せを動物用医薬品の遺伝毒性のスクリーニングに使うことが勧告される。

部の地域では、代謝物に親化合物の分子構造には存在しない警告構造がある場合等、主要代謝物以外の他の代謝物の試験も考慮する必要がある。塩、エステル、抱合体及び結合型の残留物は、反証がない限り、通常、親化合物と同じ遺伝毒性があると想定される。

標準的な試験の組み合わせに加えて、他の利用可能な情報 (*in silico* データや公表文献等) は、残留動物用医薬品の遺伝毒性の可能性に関する証拠の重み付け評価の一部として追加の証拠を提供する可能性がある。*in silico*(定量的)構造活性相関((Q)SAR)評価を実施する場合、2つの補完的な(Q)SAR法 (エキスパートルールベース及び統計ベース) を使用する必要がある⁸。現在の(Q)SARモデルは、細菌を用いた変異原性の予測に対してのみ有効である⁸。

I. 細菌の遺伝子突然変異試験

細菌の遺伝子突然変異試験は、オプション1及び2の最初の試験である。*Salmonella typhimurium*や*Escherichia coli*の遺伝子突然変異を調べる細菌復帰突然変異試験に関して、広範なデータベースが構築されている。しかし、細菌の遺伝子突然変異試験は、遺伝子突然変異を誘発する潜在的な物質を検出する上では効率的な試験だが、変異原性のある物質をすべて検出できるわけではない。

I. 細菌の遺伝子突然変異試験

細菌の遺伝子突然変異試験として、*Salmonella typhimurium* と *Escherichia coli* の菌株を用いた遺伝子突然変異を調べる細菌復帰突然変異試験の非常に膨大なデータベースが構築されている。最もよくバリデートされている菌株は *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537 (又は TA97 又は TA97a)、TA98 及び TA100 である。これらの菌株は、一部の酸化的変異原性物質及び架橋形成物質を検出できないことがあり、これを修正するために、*Escherichia coli* WP2 (pKM101)、WP2uvrA (pKM101) 又

II. In vitro 哺乳類細胞試験

オプション 1 の第二の試験は物質が染色体異常を誘発する可能性を評価するものである。これは、次の三試験のいずれかを用いて評価することができる。

- ①染色体（構造）異常誘発能と異数性の両方を検出する哺乳類細胞を用いた in vitro 小核試験
- ②染色体（構造）異常誘発を検出する分裂中期細胞分析を使用した in vitro 染色体異常試験
- ③遺伝子突然変異と染色体損傷の両方を検出する哺乳類細胞を用いた in vitro 遺伝子突然変異試験

III. In vivo げっ歯類造血細胞染色体異常試験

オプション 1 の第三の試験及びオプション 2 の第二の試験は、試験の標準的組合せが全ての潜在的遺伝毒性物

は Salmonella typhimurium TA102 も細菌試験に使用すべきである。しかしながら、細菌の遺伝子突然変異試験は、遺伝子突然変異を誘発する固有の可能性を持つ化合物を検出する効果的な一次スクリーニングではあるが、潜在の変異原性を持つ全ての化合物を検出するわけではない。一部の染色体（構造）異常誘発物質はサルモネラ試験で突然変異を起こさない（例えば無機の砒素化合物）。

II. 染色体損傷を調べるための細胞遺伝学的試験 (In vitro 分裂中期染色体異常試験又は in vitro 小核試験) 若しくは in vitro マウスリンフォーマ tk 遺伝子突然変異試験

第二の試験は化合物が染色体異常を誘発する可能性を評価すべきものである。これは、次の三試験のいずれかを用いて評価することができる。

- ①染色体（構造）異常誘発能と異数性の両方を検出する分裂中期の解析を用いる in vitro の染色体異常試験
- ②染色体（構造）異常誘発と異数性の活性を検出するin vitro の哺乳類細胞を用いる小核試験
- ③遺伝子突然変異と染色体損傷の両方を検出できるよう修正されたマウスリンフォーマ試験

III. In vivo げっ歯類造血細胞染色体異常試験

第三の試験は、試験の標準的組合せが全ての潜在的変異原性物質を検出するということを更に確実にするため

質を検出するというを更に確実にするための in vivo 試験である。この試験は小核試験又は細胞遺伝学的試験のいずれかとすることができる。

IV. 第二の in vivo 試験

オプション 2 の第二の試験には、in vivo 哺乳類アルカリコメットアッセイ、あるいは in vivo トランスジェニックマウス/ラット突然変異試験が含まれる。Pig-a アッセイ等、他の検証済みの in vivo 試験も受け入れられる。

ウ 標準的組合せの変更

ほとんどの物質について、遺伝毒性試験のために試験の標準的組合せで十分なはずである。場合によっては、試験法の選択又は個々の試験のプロトコールの変更が必要である。標準的な試験の組み合わせを使用しないことについては、科学的な妥当性が示される必要がある。

物質の物理化学的性質（例えば、pH、溶解性、安定性及び揮発性）が時に標準的な試験条件を不適當にする。試験を実施

に、試験の標準的組合せに追加されている。VICH は幾つかの系統の化合物の試験に、幾つかの当局が最初に in vitro 試験だけから成る突然変異試験の組合せを使用し、in vitro の組合せで陽性又はあいまいな成績が出たときにだけ in vivo 試験を必要とする方法を勧告していることを知っている。VICH はこのアプローチを考慮したが、ヒト用医薬品の遺伝毒性を試験するための ICH の要件と調和させるために、試験の基本組合せに in vivo 試験を含めることを選んだ。この試験は小核試験又は細胞遺伝学的試験のいずれかとすることができる。

ウ 標準的組合せの部分的修正

ほとんどの物質は試験の標準的組合せで十分なはずであるが、試験法の選択又は個々の試験のプロトコールの修正が必要な場合があるであろう。

物質の物理化学的性質（例えば、揮発性、pH、溶解性、安定性など）が時に標準的な試験条件を不適當にする。試験を実施

する前にこのことを考慮することが不可欠である。標準的な条件が偽陰性または偽陽性の結果をもたらすことが明らかな場合には、変更したプロトコールを用いるべきである。遺伝毒性試験のための OECD Guidelines for Testing of Chemicals では、試験物質の物理的特性による個々の試験法の感受性についての助言及び採用する余地のある補正手段についての助言が示されている。代替的な遺伝毒性試験(新しいアプローチ方法を含むその他の検証済みの遺伝毒性試験)は、ケースバイケースに考慮される。ただ、それらの使用には妥当性が必要である。

(ア) 抗菌性物質

細菌は抗菌性物質による阻害を受けやすい可能性がある。このような物質では、それぞれの OECD ガイドラインに従って細胞毒性を示す限度までの濃度で細菌の遺伝子突然変異試験を実施し、哺乳類細胞を用いた遺伝子突然変異をみる in vitro 試験で細菌での試験を補うことが適当である。

(イ) 代謝活性化

代謝活性系の存在下と非存在下で *in vitro* 試験を実施すべきである。ラットの酵素誘導された肝臓S9 mix以外の代謝活性系、例えばヒトミクロソームから調製された物やハムスターで酵素誘導された肝臓S9 mixを使用することもできる。代替の代謝活性系を選択する場合には、科学的根拠を説明すべきである。

する前にこのことを考慮することが不可欠である。標準的な条件が偽陰性の結果をもたらすことが明らかな場合には、修正したプロトコールを用いるべきである。遺伝毒性試験のための OECD Guidelines for Testing of Chemicals には、試験物質の物理的特性による個々の試験法の感受性について助言があり、採用する余地のある補正手段についての助言もある。遺伝毒性試験の代替組合せを用いて試験する薬剤は、ケースバイケースに考慮される。試験の標準的組合せを用いない場合には、科学的妥当性を説明すべきである。

(ア) 抗菌性物質

この場合には、細胞毒性を示す限度までの濃度で細菌試験を実施し、哺乳類細胞を用いた遺伝子突然変異をみる in vitro 試験で細菌試験を補うことが適当であろう。

(イ) 代謝活性化

代謝活性系の存在下と非存在下で *in vitro* 試験を実施すべきである。最も汎用されている代謝活性系は、酵素誘導剤 (Aroclor 1254のみ、又はフェノバルビタールと β -ナフトフラボンの組合せ)を投与したラットの肝臓から採取したS9mixである。代替の代謝活性系を選択する場合には、科学的根拠を説明すべきである。

エ 推奨試験の概要

オプション1及び2の標準的な試験の組み合わせを、それぞれのOECDガイドラインとともに下表に示す。

表1 オプション1及び2の標準的な試験の組み合わせ

タイプ	試験	項番号	オプション1	オプション2	OECD TG 番号
<i>In vitro</i>	細菌の復帰突然変異試験	4.1	最初の試験	最初の試験	471
	哺乳類細胞を用いる小核試験	4.2	第二の試験 (これらのうちの 一つ)		487
	哺乳類細胞の染色体異常試験	4.2			473
	<i>Hprt</i> 遺伝子及び <i>Xprt</i> 遺伝子を用いた哺乳類細胞の遺伝子突然変異試験	4.3			476
	チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞遺伝子突然変異試験	4.3			490
哺乳類赤血球小核試験	4.4	第三の試験 (これらのうちの 一つ)			第二の試験 (これらのうちの 一つ)
<i>In vivo</i>	哺乳類骨髄染色体異常試験	4.4			475
	哺乳類アルカリコメットアッセイ	4.5	第三の試験 (これらのうちの 一つ)		489
	トランスジェニックげっ歯類の体細胞および生殖細胞を用いた突然変異試験	4.5			488

(ア) 細菌突然変異試験

細菌の復帰変異原性試験は、OECDテストガイドライン471²に従って実施すべきである。この試験では、少なくとも5種類のアミノ酸要求性の*S. typhimurium*株及び*E. coli*株を使用して、塩基対置換またはフレームシフトによ

エ 試験の実施

(ア) 細菌突然変異試験

細菌の復帰変異原性試験は、OECD テストガイドライン471¹に設定されているプロトコールに従って実施すべきである。

る点突然変異を検出する。試験菌株のもつ「機能欠如」の突然変異が復帰して、必須アミノ酸を合成する細菌の機能的能力を回復し、アミノ酸を補給しなくても細菌が増殖する能力をもつようになる突然変異を検出する。

(イ) *In vitro* 哺乳類細胞染色体異常試験

In vitro 哺乳類細胞小核試験は、OECD 試験ガイドライン 487¹⁰に従って実施すべきである。この試験は、間期細胞の細胞質内における小核を検出するための遺伝毒性試験である。小核は、無動原体染色体断片（セントロメアが欠如している）、又は細胞分裂の分裂後期に細胞の極に移動できない全染色体に由来する可能性がある。この試験は、被験物質への曝露中又は曝露後に細胞分裂を行った細胞において、染色体構造異常誘発性及び異数性誘発性物質の活性を検出する。この試験は異数性の検出に推奨されるため、染色体構造異常誘発性の推奨試験となる。

In vitro 染色体異常試験は、OECD テストガイドライン 473¹¹に従って実施すべきである。この試験は、哺乳類培養細胞において構造的染色体異常を誘発する物質を特定する。構造異常には、染色体レベル及び染色分体レベルの2種類がある。*In vitro* 染色体異常試験では、倍数性（核内倍加を含む。）が生じる可能性がある。異数性誘発物質は倍数体を誘発する可能性があるが、倍数性だけでは異数性誘発能があるとはいえず、単に細胞周期の変動又は細

(イ) *In vitro* 哺乳類細胞染色体異常試験

染色体異常試験は、OECD テストガイドライン 473²に従って実施すべきである。

これらの細胞遺伝学的試験は染色体（構造）異常誘発能を検出するはずであり、異数性も検出することがある。倍数性の誘発を検出するには、より長時間の連続処理（例えば、正常細胞周期の3倍）を行うことにより、感受性を高めることができる。細胞遺伝学的試験における高倍数性と倍数性の発生率及び／又は分裂指数の変化を記録する

胞毒性を示すだけである。この試験は異数性を検出する
ようには設計されていない。

(ウ) *In vitro* 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験

Hprt 遺伝子及び *xprt* 遺伝子を用いた哺乳類細胞遺伝

ことで、異数性誘発能の潜在性に関する限られた情報が
得られる。異数性誘発能の指標（例えば、倍数性の誘発）
があれば、FISH（fluorescence *in situ* hybridization）又は
染色体ペインティングのような適当な染色法を用いて、
これを確認すべきである。染色体の明らかな消失が人為
的に起こることがあるので、高倍数性だけを異数性誘発
の明確な指標とみなすべきである。

In vitro の哺乳類細胞を用いる小核試験（OECD テスト
ガイドライン 487⁶）は、OECD テストガイドライン 473²
に記載されている染色体異常試験の代替法として、遺伝
毒性試験の最初の組み合わせの一部として実施してもよ
い。*In vitro* の哺乳類細胞を用いる小核試験は、染色体（構
造）異常誘発能と異数性誘発能の両方を検出でき、そして
同時に分裂の遅延、アポトーシス、染色体切断及び染色体
の損失を検出できる。

マウスリンフォーマ tk 法を実施する場合、小コロニー
と大コロニーの両方の測定を含めるようにプロトコール
を修正すべきである。プロトコールは OECD テストガイ
ドライン 476⁵ に設定されている基準に合わせるべきで、
適切な陽性対照（染色体（構造）異常誘発物質）を使用す
べきである。

(ウ) *In vitro* 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験

In vitro 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験を用いる場合に

子突然変異試験は、OECD テストガイドライン 476¹² に従って実施すべきである。この試験は遺伝子突然変異の検出に使用できる。この試験では、使用されるエンドポイントは、ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシル・トランスフェラーゼ (HPRT) の変異及びキサンチン・グアニン・ホスホリボシル・トランスフェラーゼ (XPRT) の導入遺伝子における突然変異を測定する。HPRT 突然変異試験及び XPRT 突然変異試験は、さまざまな遺伝的事象のスペクトルを検出する。

チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子を用いた哺乳類細胞遺伝子突然変異試験は、OECD テストガイドライン 490¹³ に従って実施すべきである。この試験は遺伝子突然変異の検出に使用できる。テストガイドラインには、2 つの特定 TK ヘテロ接合体細胞株 (マウスリンフォーマ試験 (MLA) には L5178Y TK^{+/−}3.7.2C 細胞、TK6 試験には TK6 TK^{+/−}細胞) を必要とする 2 つの代替 *in vitro* 哺乳類遺伝子突然変異試験が含まれる。tk 遺伝子座を用いて検出される遺伝的事象には、遺伝子突然変異及び染色体事象の両方が含まれる。

(エ) *In vivo* 染色体異常試験

OECD テストガイドライン 474¹⁴ に記載されている *in vivo* 哺乳類小核試験は、試験動物、通常はげっ歯類 (マウス又はラット) の骨髄及び/又は末梢血細胞から採取

は、OECD テストガイドライン 476⁵ に従って実施すべきである。

(エ) *In vivo* 染色体異常試験

哺乳類赤血球小核試験 (OECD テストガイドライン 474³) 又は哺乳類骨髄染色体異常試験 (OECD テストガイドライン 475⁴) を遺伝毒性試験の最初の組合せの一部と

した赤血球を分析することにより、赤芽球の染色体又は染色体分裂装置の損傷を検出するために使用される。この試験は、染色体断片又は染色体全体から構成される小核の形成をもたらす細胞遺伝学的損傷を誘発する物質を同定する。この試験は反復投与毒性試験に組み込むことができる。

OECD テストガイドライン 475¹⁵に記載されている *in vivo* 哺乳類染色体異常試験では、試験動物(通常はげっ歯類(マウスまたはラット))の骨髓細胞内で試験物質によって誘発される構造的染色体異常を検出する。

(オ) 第二の *in vivo* 染色体異常試験

OECD テストガイドライン 489¹⁶に記載されている *in vivo* アルカリコメットアッセイ (*in vivo* アルカリ単細胞ゲル電気泳動法とも呼ばれる。)は、DNA 損傷を誘発する物質を同定する。アルカリ条件下で、この試験は一本鎖切断及び二本鎖切断を検出できる。この試験は反復投与毒性試験に組み込むことができる。

OECD テストガイドライン 488¹⁷に記載されているトランスジェニックげっ歯類体細胞及び生殖細胞突然変異試験は、体細胞及び生殖細胞における遺伝子突然変異を検出する。この試験では、染色体に組み込まれたプラスミドまたはファージシャトルベクターのコピーを複数含むトランスジェニックラットまたはマウスが使用

して実施するのがよいであろう。哺乳類赤血球小核試験は骨髓あるいは末梢血のいずれかの分析で実施できよう。末梢血を用いて実施する場合、試験動物種はラットではなく、マウスにすべきである。これはラットでは脾臓において循環血液中の小核赤血球が除去されるからである。

これらの試験は、物質が *in vivo* で遺伝毒性を現すかどうかという質問に定性的回答を与えるために設計されるもので、無影響量を確認するためではない。

される。導入遺伝子には、28 日間の投与期間中に被験物質によって誘発される様々なタイプの突然変異を検出するためのレポーター遺伝子が含まれている。

(カ) 反復投与毒性試験における *in vivo* 遺伝毒性試験の統合

VICH は上記の *in vivo* 試験を可能な限り反復投与毒性試験に組み込むことを推奨する。さらなるガイダンスは ICH S2(R1)⁵、IPCS⁴ 及び OECD テストガイドライン 474¹⁴ に記載されている。

オ 試験成績の評価

物質の潜在的遺伝毒性の評価は、知見を総合的に考慮し、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の両方の固有値及び限界を認識した上で行うべきである。その他の入手可能な情報 (*in silico* データ及び公表文献等) は、残留動物用医薬品の遺伝毒性の可能性に関する証拠の重み付け評価の一部として、追加的な証拠を提供する可能性がある⁴。

試験の標準的な組合せに含まれる一連の遺伝毒性試験で、明らかな陰性結果が得られれば、通常、遺伝毒性がないことの十分な証拠とされる。

ある物質が細菌遺伝子突然変異試験で変異原性に関して明らかに陽性の結果を示した場合、発がん性試験を含む *in vivo* 試験が必要となることがある。一部の管轄地域では、遺伝毒性で陽性の所見が得られた場合の結果を法律で規制している¹⁸。

In vitro の遺伝毒性試験では明らかな陽性結果を示すが、骨

オ 試験成績の解釈

化合物の潜在的遺伝毒性の評価は、知見を総合的に考慮し、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の両方の固有値及び限界を認識した上で行うべきである。

試験の標準的な組合せに含まれる一連の遺伝毒性試験で、明らかな陰性結果が得られれば、通常、遺伝毒性がないことの十分な証拠とされる。

In vitro では明らかな遺伝陽性結果を示すが、骨髄を用いて

髓を用いて実施する *in vivo* 遺伝毒性試験では明らかに陰性を示す物質は、骨髄以外の標的組織を用いる他の *in vivo* 遺伝毒性試験によって、遺伝毒性の有無を確認する必要がある。最も適切な試験法をケースバイケースで選択すべきである。

標準的な試験の組み合わせで明確な結論が得られない場合、ICH⁵、IPCS⁴、OECD¹⁹ にフォローアップの考察及び戦略が掲載されている。

カ 用語集

このガイドラインでは、以下の定義が適用される。

異数性誘発能 (Aneugenicity) : 異数性を起こさせる能力

異数性 (Aneuploidy) : 染色体の完全なセットの数の増加又は減少以外の、細胞又は生物種に固有な染色体基本数からの逸脱

染色体 (構造) 異常誘発物質 (Clastogen) : 通常、光学顕微鏡検査で検出可能な染色体の構造的変化を起こさせる物質

染色体 (構造) 異常誘発能 (Clastogenicity) : 染色体の構造的変化 (染色体異常) を起こさせる能力

細胞遺伝学 (Cytogenetics) : 染色体が凝縮されて染色すると光学顕微鏡で見える時期に、通常、分裂細胞で実施される細胞の染色体分析

遺伝子突然変異 (Gene mutation) : 単一遺伝子又はその制御連鎖内の検出可能な永久的変化。変化には点突然変異、挿入、欠失などがある。

実施する *in vivo* 遺伝毒性試験では明らかに陰性を示す物質は、骨髄以外の標的組織を用いる他の *in vivo* 遺伝毒性試験によって、遺伝毒性の有無を確認する必要がある。最も適切な試験法をケースバイケースで選択する必要がある。

試験の標準的組合せでその他の陽性又はあいまいな成績が出た場合には、更なる試験の必要性をケースバイケースで判断すべきである。

カ 用語集

異数性誘発能 (Aneugenicity) : 異数性を起こさせる能力

異数性 (Aneuploidy) : 染色体の完全なセットの数の増加又は減少以外の、細胞又は生物種に固有な染色体基本数からの逸脱

染色体 (構造) 異常誘発物質 (Clastogen) : 通常、光学顕微鏡検査で検出可能な染色体の構造的変化を起こさせる物質

染色体 (構造) 異常誘発能 (Clastogenicity) : 染色体の構造的変化 (染色体異常) を起こさせる能力

細胞遺伝学 (Cytogenetics) : 染色体が凝縮されて染色すると光学顕微鏡で見える時期に、通常、分裂細胞で実施される細胞の染色体分析

遺伝子突然変異 (Gene mutation) : 単一遺伝子又はその制御連鎖内の検出可能な永久的変化。変化には点突然変異、挿入、欠失などがある。

遺伝毒性 (Genotoxicity) : 変化を誘発した機序にかかわらず、
遺伝物質の全ての有害な変化をいう広義な用語

小核 (Micronucleus) : 顕微鏡的に検出可能な核 DNA を含む細胞内小粒子 : 染色体全体あるいは染色体の動原体部分の断片又は無動原体部分の断片を含むことがある。小核の大きさは通常、主核の 1/5 未満で、1/20 以上と定義される。

変異原性 (Mutagenicity) : 生物又は細胞の特性の変化をもたらすことのある生物又は細胞内遺伝物質の量又は構造の永久的変化を起こさせる能力。この変化には核酸内の塩基の連鎖の変化 (遺伝子突然変異) を含むことがある。

倍数性 (Polyploidy) : 染色体の完全なセットの数の増加又は減少

キ 引用文献

1. VICH GL33. 2010. Safety studies for veterinary drug residues in human food: general approach to testing - Scientific guideline.
2. ICH S2B. 1997. Genotoxicity: A standard battery for genotoxicity

遺伝毒性 (Genotoxicity) : 変化を誘発した機序にかかわらず、
遺伝物質の全ての有害な変化をいう広義な用語

異数性 (Heteroploidy) : 細胞又は生物内の染色体の数の異常。
これは倍数性、異数性、高数性などを含む一般的用語

高倍数性 (Hyperploidy) : 細胞又は生物の染色体の正常数を超える異常

小核 (Micronucleus) : 顕微鏡的に検出可能な核 DNA を含む細胞内小粒子 : 染色体全体あるいは染色体の動原体部分の断片又は無動原体部分の断片を含むことがある。小核の大きさは通常、主核の 1/5 未満で、1/20 以上と定義される。

変異原性 (Mutagenicity) : 生物又は細胞の特性の変化をもたらすことのある生物又は細胞内遺伝物質の量又は構造の永久的変化を起こさせる能力。この変化には核酸内の塩基の連鎖の変化 (遺伝子突然変異)、染色体の構造的変化 (染色体 (構造) 異常誘発能) 及び/又は細胞内の染色体の数の変化 (異数性又は倍数性) を含むことがある。

倍数性 (Polyploidy) : 染色体の完全なセットの数の増加又は減少

キ 引用文献

1. OECD. 1997. Test Guideline 471. Bacterial Reverse Mutation Test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
2. OECD. 1997. Test Guideline 473. In Vitro Mammalian

- testing of pharmaceuticals. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
3. ICH S2A. 1995. Guidance on specific aspects of regulatory genotoxicity tests for pharmaceuticals. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
 4. International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2009. Environment Health Criteria (EHC) 240. Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. 2nd Edition. Section 4.5 Genotoxicity, updated in 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.
 5. ICH S2(R1). 2011. Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
 6. European Food Safety Authority (EFSA). 2011. Scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment. EFSA Journal 2011;9(9):2379.
 7. VICH GL46. 2012. Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: Chromosome Aberration Test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
3. OECD. 1997. Test Guideline 474. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
 4. OECD. 1997. Test Guideline 475. Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
 5. OECD. 1997. Test Guideline 476. In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
 6. OECD. 2010. Test Guideline 487. In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. In: OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.

Metabolism study to determine the quantity and identify the nature of residues.

8. ICH M7(R2). 2023. Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
9. OECD. Test Guideline 471. 2020. Bacterial reverse mutation test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Organization for Economic Cooperation and Development. 10. OECD. Test Guideline 487.2023. In vitro mammalian cell micronucleus test. In: OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Organization for Economic Cooperation and Development.
11. OECD. Test Guideline 473. 2016. In vitro mammalian chromosome aberration test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Organization for Economic Cooperation and Development.
12. OECD. Test Guideline 476.2016. In vitro mammalian cell gene mutation test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Paris, Organization for Economic Cooperation and Development.
13. OECD. Test Guideline 490. 2016. In vitro mammalian cell gene mutation tests using the thymidine kinase gene. Organisation for Economic Co-operation and Development.

14. OECD. Test Guideline 474. 2016. Mammalian erythrocyte micronucleus test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development.
15. OECD. Test Guideline 475. 2016. Mammalian bone marrow chromosome aberration test. In: OECD Guideline for Testing of Chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development.
16. OECD. Test Guideline 489. 2016. In vivo mammalian alkaline Comet assay. Organisation for Economic Co-operation and Development.
17. OECD. Test Guideline 488. 2022. Transgenic rodent somatic and germ cell gene mutation assays. Organisation for Economic Co-operation and Development.
18. European Union. 2018. Commission (EU) Regulation 2018/782 establishing the methodological principles for the risk assessment and risk management recommendations referred to in Regulation (EC) No 470/2009.
19. OECD. 2016. ENV/JM/MONO(2016)33. Overview of the set of OECD Genetic Toxicology Test Guidelines and updates performed in 2014-2015, Series on Testing and Assessment No. 238. Organisation for Economic Co-operation and Development.