

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

試験の概要

| 世代 | 期間(週間) | 作業手順 | 試験項目 |
|----|---------|---|---|
| F0 | 生育(10週) | | 体重と餌を週1回測定 交配前3週間性周期観察 |
| | 交配(2週) | 雌雄1:1で交配。交配は膈内精子・膈栓により確認(妊娠0日) | 交配状況の観察 同居開始から交配確認までの期間 |
| | 妊娠(3週) | | 妊娠0、7、14、20日目に体重を測定 摂餌量を妊娠0、7、14、20日目に測定 |
| | 出産 | | 出産状況の観察 |
| | 哺育(3週) | 出産後4日目に各同復児数を雌雄4匹に調整(不可能な場合は雌雄計8匹) | 新生児数、死産児数、外表異常、性別および生存児体重測定 母動物の出産後0、4、7、14、17、21日目に体重測定、出産後0、4、7、14日目に摂餌量測定 出生後4(調整前)、7、14、21日目に児動物の生存数および性別確認、体重を測定 児動物の耳介開展、上切歯の萌出、眼瞼の開裂を観察 |
| F1 | 離乳 | 生後21日目に継代用の各群雌雄26匹を全腹より1匹ずつ無作為に選抜。 F0雌雄、選抜外のF1児 屠殺 | 母動物について剖検後、対照群と最高投与量群の病理組織検査。また、継代用以外の児動物を殺処分し、肉眼的病理検査 F0雄 精子検査 |
| | 生育(10週) | | F1雌雄の性成熟(膈開口、包皮開裂) 観察(選抜動物) |
| | 交配(2週) | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) |
| | 妊娠(3週) | | |
| | 出産 | | (P世代に準ずる) 哺育0日目肛門-生殖突起間測定 |
| | 哺育(3週間) | (P世代に準ずる) | (P世代に準ずる) |
| F2 | 離乳 | (F1世代に準ずる) | (F1世代に準ずる) |
| | 生育 | | |
| | 生後21日 | | F2児屠殺、肉眼的病理検査 |

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\begin{aligned} \text{交尾率(\%)} &= \frac{\text{交尾動物数(確認された数)}}{\text{交配動物数(同居させた数)}} \times 100 \\ (\text{交配率}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{妊娠率(\%)} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数(確認された数)}} \times 100 \\ (\text{受胎率}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{出産率(\%)} &= \frac{\text{生存児を出産した腹数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{新生児生存率(\%)} &= \frac{\text{生後4日目における生存児数}}{\text{出産児数}} \times 100 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{離乳率(\%)} &= \frac{\text{離乳時の生存児数}}{\text{生後4日目における生存児数}} \times 100 \end{aligned}$$

肉眼的病理検査；親世代の雌雄について、主要器官の異常の有無に留意して剖検し、脳、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、下垂体、前立腺、精囊、精巣、胸腺、精巣上体、子宮および卵巣重量を測定した。児動物は、頸、胸および腹腔を観察し、脳、脾臓および胸腺の重量を測定した。

病理組織学的検査；各世代の雌雄の親動物を対象にして、対照群および高投与量群の下垂体、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、膈、子宮および卵巣および肉眼的異常のみられた組織の病理組織学的観察を行なった。また、対照群及び800 ppm群のF0及びF1雌親動物の卵巣の卵胞数を計数した。

精子検査；対照群及び800 ppm群のF0及びF1雄親動物を対象として、屠殺時に精巣(右側)から精子浮遊液を作製し、生存率、数を計数した。精巣上体尾部(右側)から精子を採取し、数及び形態を調べた。F0世代の検査にて800 ppm群の精巣上体のサンプリングミスにより精子数および形態が評価できなかつたので、280 ppm群を評価した。この件について、二世世代繁殖試験の最高用量800 ppm(26匹)および対照群(26匹)を用いて、F0世代の投与期間をカバーする20週間投与した追加試験(Covance 6840-109)を実施し、結果は本報告書にAppendix 45として添付されている。

追加試験の結果概要：

一般症状および臓器重量に投与と関連する変化は観察されなかつた。試験期間中、800 ppm群に平均体重および摂餌量に低値が認められた。精巣および精巣上体の精子数および精子形態にも、投与による影響は観察されなかつた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

結果 : 概要を以下に示す。

[親世代の死亡/症状]

F0 世代: 対照群の雄 1 例が生育期間に、100 ppm 群の雌 1 例が哺育期間中に死亡したが、これらの死亡に投与との関連は認められなかった。全ての投与群で一般症状に投与と関連する変化は観察されなかった。

F1 世代: 全ての投与群で死亡は認められなかった。また、一般症状にも投与と関連する変化は観察されなかった。

[親世代の体重]

F0 世代: 雄の 800 ppm 群では生育期間の 1~10 週に平均体重と体重増加量に有意な増加抑制が認められた。雄の 280 ppm 群では生育期間の前半に体重増加量の有意な増加抑制が認められた。雌の 800 ppm 群でも生育期間の 3~10 週に平均体重と 0-10 週の体重増加量に有意な増加抑制が認められ、妊娠および哺育期間中についても有意な平均体重の増加抑制が認められた。

F1 世代: 雄の 800 ppm 群では生育期間の 0~10 週に平均体重の有意な増加抑制が、0-13 週に体重増加量の有意な増加抑制が認められた。雄の 100 ppm 群では生育期間の 0~2 週に体重増加量の有意な増加抑制が認められたが、用量との関連性がなく投与による変化とは考えなかった。雌の 800 ppm 群でも生育期間の 0~10 週に平均体重の有意な増加抑制が認められ、妊娠および哺育期間中についても有意な平均体重の増加抑制が認められた。体重増加量についても生育期間の 0-13 週に有意な増加抑制が認められた。

各世代の 100 ppm 群の雌雄および 280 ppm 群の雌の体重に投与による影響はみられなかった。

[摂餌量]

F0 世代: 雄の 800 ppm 群では生育期間の 0~6 週に平均摂餌量の有意な減少が認められた。雄の 280 ppm 群では生育期間の 0~2 週に平均摂餌量の有意な減少が認められた。雌の 800 ppm 群では生育期間の 0~10 週に平均摂餌量の有意な減少が認められた。妊娠期間の平均摂餌量は全ての投与群で有意な減少が認められたが、100 および 280 ppm 群は明確な用量との関連性がないことから、投与による影響とは考えられない。この期間の 800 ppm 群の有意な減少は投与による影響である。哺育期間の摂餌量は 800 ppm 群に投与による影響が認められた。

F1 世代: 雄の 800 ppm 群では生育期間の 1~8 週に平均摂餌量の有意な減少が認められた。雄の 100 ppm 群では生育期間の 1 週に平均摂餌量の有意な減少が認められた。雌の 800 ppm 群では生育期間の 1~4 週、6~7 週および 9~10 週に平均摂餌量の有意な減少が認められ。妊娠期間の平均摂餌量は、800 ppm 群で全妊娠期間、280 ppm 群で妊娠 7-14 日に有意な減少が認められた。哺育期間の摂餌量は 800 ppm 群で哺育 7-10 日に有意な減少が認められた。

各世代の雌雄とも 100 ppm 群の摂餌量に投与による影響はみられなかった。

[繁殖成績]

F0 世代: 性周期、交尾率、妊娠率、妊娠期間、出産率に投与による影響はみられなかった。

F1 世代: 性周期、交尾率、妊娠率、妊娠期間、出産率に投与による影響はみられなかった。

親動物の交配能力および繁殖成績では、各世代、各交配において一定した変化はみられず、投与による影響はみられなかった。

[精子検査]

F0 世代: 精巣の精子生存率、精子数および精巣上体の精子数、形態に投与による影響はみられなかった。

F1 世代: 精巣の精子生存率、精子数および精巣上体の精子数、形態に投与による影響はみられなかった。

[児動物への影響]

F1 児: 投与群の出生時の新生児数、生存児数および性比、新生児生存率、離乳率に投与による影響はみられなかった。

800 ppm 群の哺育 14 および 21 日の生存児数に有意な減少が認められた。新生児の体重変化についても、800 ppm 群の雌雄ともに哺育期間中、有意な体重増加抑制が認められた。

身体発育分化(耳介開展、上切歯萌出、眼瞼開裂)に投与による影響は認められなかった。選抜された 800 ppm 群の F1 児の性成熟(包皮開裂、膣開口)には、有意な遅延が認められた。280 ppm 群の包皮開裂(43.32 日)にも有意な遅延が認められた。280 ppm 群の包皮開裂(43.32 日)は、Covance の背景データ(41.14 - 42.35 日)より外れていたが、この動物種の他施設の背景データ内(次頁参照)にはあり、毒性学的な意味はないと考える。800 ppm の膣開口(33.98 日)は、Covance の背景データ内(1994-1998 年, N=8, 平均 32.9 日, 31.74 - 34.33 日)にあった。

包皮開裂の背景データ

| 試験機関 | 試験数 | 平均(日) | SD | 最短(日) | 最長(日) |
|--|-----|-------|------|-------|-------|
| Covance Laboratories INC.(1994-1998) | 5 | 41.7 | 0.48 | 41.14 | 42.35 |
| Huntingdon Life Sciences(1993-1998) | 4 | 43.9 | 0.91 | 42.8 | 45.0 |
| International Life Science Institute(1989-1997) | 38 | 43.6 | 0.95 | 41.8 | 45.9 |
| WIL Research Laboratories INC.(1994-1998) | 8 | 42.9 | 1 | 41.6 | 44.3 |

選抜されなかった F1 児の肉眼的病理検査では投与による影響はみられなかった。800 ppm 群の雌雄の剖検時の体重に有意な低値が認められた。また、800 ppm 群の雌雄の脳、脾臓、胸腺重量の有意な低値も認められた。これらの臓器重量の変化は体重低下に伴った影響である。

F2 児：投与群の出生時の新生児数、生存児数および性比に投与による影響はみられなかった。

800 ppm 群の哺育 4 日(調整前)の生存児数に有意な減少が認められ、新生児生存率、離乳率も有意な減少が認められた。100 ppm 群の離乳率(94%)にも有意差が認められたが、Covance の背景データ内(1994-1998 年, N=401, 平均 98.5%, 94 - 100%)にあることから、投与による影響とは考えなかった。新生児の体重変化についても、800 ppm 群の雌雄に哺育期間中(雌の 21 日を除いて)の有意な体重増加抑制が認められた。

身体発育分化については、800 ppm 群で眼瞼開裂に有意な遅延が、耳介開展に統計学的な有意差は認められないが遅延傾向がみられた。上切歯萌出には変化はみられなかった。肛門-生殖突起間距離には投与による影響はみられなかった。

F2 児の肉眼的病理検査では投与による影響はみられなかった。800 ppm 群の雌雄の剖検時の体重に有意な低値が認められた。また、800 ppm 群の雌雄の脳、脾臓、胸腺重量(雄のみ)の有意な低値が認められた。これらの臓器重量の変化は体重低下に伴った影響である。

F1 および F2 新生児の外表面観察では、投与に関連する一定した変化は認められなかった。800 ppm で観察された身体的発達への影響は、体重を反映した影響である。繁殖機能、交尾行動、妊娠率等に投与による影響はみられない。

〔病理所見〕

F0 世代: 死亡した対照群の雄の剖検を行なった結果、肝の腫脹および暗赤色調、腹腔内の赤色液体が、100 ppm 群の雌の死亡例では腎臓と腸間膜に腫瘍が観察された。その他の動物(最終解剖(F1 離乳時))には、異常は観察されなかった。

解剖時の臓器重量測定では、投与に関連した変化は認められなかった。雌の 800 ppm 群での腎臓の対脳重比の有意な減少および脳の対体重比の有意な増加は、最終体重の低下に比例した変化で、臓器への直接的な影響ではない。雌雄とも 100 および 280 ppm 群に投与による影響はみられなかった。組織学的検査にも投与による影響はみられなかった。

F1 世代: 全ての動物(最終解剖)の肉眼的病理検査には投与による影響はみられなかった。

解剖時の臓器重量測定では、投与に関連した変化は認められなかった。800 ppm 群の脳および腎臓(雌雄)、脾臓、胸腺および副腎(雄)、精巣および精巣上体の有意な減少とそれに関連した対体重比および対脳重比の変化は、最終体重の低下に比例した変化で、臓器への直接的な影響ではない。

組織学的検査にも投与による影響はみられなかった。

以上の結果から、2 世代にわたって検体を飼料中に混入して投与した場合、800 ppm 群においては F0 および F1 世代の親動物に対して体重増加抑制および摂餌量の低下が認められた。また、F1 児の体重増加抑制および生存児数の減少とともに F2 児の新生児生存率および離乳率の低下、体重増加抑制が認められた。

280 ppm では雄に体重増加抑制および摂餌量低下が認められた。100 ppm 投与群では投与による影響は認められず、親動物および児動物に対する無影響量(NOEL)は 100 ppm(F0 世代:雄 6.5 mg/kg/day、雌 7.6 mg/kg/day、F1 世代:雄 7.5 mg/kg/day、雌 8.4 mg/kg/day、各世代・各性の平均 7.5 mg/kg/day)であると判断される。繁殖能力および妊性に対する無影響量(NOEL)は 800 ppm(F0 世代:雄 51.0 mg/kg/day、雌 60.1 mg/kg/day、F1 世代:雄 63.3 mg/kg/day、雌 72.6 mg/kg/day、各世代・各性の平均 61.8 mg/kg/day)であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

結果の概要[1]

| 世代 | | 親：F0 | | 児：F1 | | 親：F1 | | 児：F2 | | |
|-----------|-------|----------------------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 100 | 280 | 800 | 0 | 100 | 280 | 800 | |
| 動物数 | ♂ | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| | ♀ | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| 一般状態 | | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | |
| 死亡数 | ♂ | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | ♀ | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 親動物 | 体重(g) | 0週 | 176.8 | 177.0 | 177.0 | 176.7 | 95.0 | ↓82.3 | 91.0 | ↓74.6 |
| | | 1週 | 238.5 | 235.7 | 231.9 | ↓222.5 | 158.2 | ↓143.0 | 148.3 | ↓125.9 |
| | | 2週 | 288.4 | 285.5 | 281.6 | ↓269.8 | 220.2 | ↓204.4 | 207.5 | ↓177.8 |
| | | 3週 | 333.6 | 330.1 | 324.2 | ↓309.6 | 278.6 | 263.7 | 264.1 | ↓228.1 |
| | | 4週 | 365.0 | 358.7 | 352.2 | ↓338.4 | 335.1 | 322.6 | 321.2 | ↓280.2 |
| | | 5週 | 395.2 | 388.4 | 381.3 | ↓366.9 | 372.8 | 364.7 | 363.0 | ↓321.6 |
| | | 6週 | 420.0 | 413.1 | 405.7 | ↓390.3 | 408.4 | 403.0 | 400.1 | ↓356.6 |
| | | 7週 | 438.2 | 432.9 | 425.5 | ↓405.2 | 437.7 | 429.7 | 427.9 | ↓384.0 |
| | | 8週 | 443.4 | 437.9 | 428.5 | ↓417.0 | 456.8 | 452.2 | 448.4 | ↓403.2 |
| | | 9週 | 460.9 | 452.5 | 446.4 | ↓432.7 | 480.8 | 475.1 | 471.0 | ↓422.3 |
| | 生育期間 | 0週 | 465.6 | 460.0 | 451.2 | ↓438.1 | 494.1 | 485.1 | 480.3 | ↓433.6 |
| | | 0週 | 137.5 | 139.1 | 140.7 | 137.5 | 85.7 | 79.3 | 82.1 | ↓66.4 |
| | | 1週 | 159.1 | 161.8 | ↑167.7 | 156.6 | 129.5 | 123.5 | 126.5 | ↓104.7 |
| | | 2週 | 182.0 | 180.5 | 189.4 | 174.3 | 163.2 | 159.1 | 159.4 | ↓135.5 |
| | | 3週 | 204.7 | 205.2 | 212.5 | ↓195.2 | 189.4 | 185.7 | 184.8 | ↓160.2 |
| | | 4週 | 220.1 | 220.5 | 227.2 | ↓207.2 | 210.5 | 208.7 | 204.7 | ↓178.1 |
| | | 5週 | 238.2 | 235.3 | 242.8 | ↓220.2 | 229.8 | 228.6 | 222.2 | ↓195.1 |
| | | 6週 | 247.3 | 245.9 | 250.4 | ↓231.6 | 244.4 | 241.3 | 237.7 | ↓208.5 |
| | | 7週 | 252.5 | 251.2 | 255.0 | ↓233.9 | 255.7 | 254.1 | 247.7 | ↓218.0 |
| | | 8週 | 257.4 | 256.5 | 260.5 | ↓241.3 | 264.6 | 264.8 | 259.1 | ↓229.8 |
| | 妊娠期間 | 0日 | 262.8 | 262.2 | 268.1 | ↓247.2 | 279.9 | 275.5 | 270.2 | ↓239.5 |
| | | 10週 | 269.7 | 265.0 | 271.7 | ↓248.4 | 280.9 | 278.0 | 272.2 | ↓241.6 |
| | | 0日 | 270.3 | 266.5 | 274.7 | ↓246.9 | 290.6 | 293.7 | 285.3 | ↓253.3 |
| | | 7日 | 299.3 | 292.5 | 300.9 | ↓268.2 | 316.4 | 318.9 | 309.5 | ↓271.9 |
| | 哺育期間 | 14日 | 326.0 | 321.0 | 327.9 | ↓294.3 | 341.5 | 342.4 | 334.0 | ↓293.8 |
| | | 20日 | 391.3 | 384.0 | 394.9 | ↓358.6 | 396.3 | 407.7 | 404.9 | ↓350.7 |
| | | 0日 | 304.1 | 302.7 | 304.9 | ↓271.8 | 324.0 | 320.3 | 309.1 | ↓278.4 |
| | | 4日 | 315.6 | 312.3 | 315.3 | ↓278.3 | 329.6 | 325.0 | 314.7 | ↓275.3 |
| | | 7日 | 317.8 | 319.2 | 320.9 | ↓290.3 | 339.8 | 338.6 | 324.6 | ↓287.7 |
| | | 10日 | 327.6 | 324.8 | 329.7 | ↓298.1 | 345.8 | 350.2 | 334.8 | ↓298.0 |
| 14日 | | 321.1 | 325.5 | 329.1 | ↓299.8 | 332.0 | 337.7 | 330.4 | ↓303.8 | |
| 17日 | 334.8 | 330.4 | 335.3 | ↓307.2 | 352.1 | 357.2 | 343.5 | ↓311.8 | | |
| 21日 | 299.6 | 303.5 | 301.8 | 288.6 | 328.5 | 335.1 | 328.1 | 306.9 | | |

Dunnett's t-test ↓: P<0.05, ↓↓: P<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

結果の概要[2]

| 世代 | | 親 : F0 | | | | 親 : F1 | | | | |
|-----------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 100 | 280 | 800 | 0 | 100 | 280 | 800 | |
| 動物数 | ♂ | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| | ♀ | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| 親動物 | 体重増加量(g) | | | | | | | | | |
| | 0-1 週 | 61.7 | 58.7 | ↓54.8 | ↓45.8 | 63.2 | 60.7 | ↓57.3 | 51.3 | |
| | 0-2 週 | 111.6 | 108.5 | ↓104.5 | ↓93.1 | 125.3 | 122.2 | ↓116.5 | ↓103.3 | |
| | 0-3 週 | 156.9 | 153.0 | 147.1 | ↓132.9 | 183.6 | 181.4 | ↓173.1 | ↓153.5 | |
| | ♂ | 0-4 週 | 188.2 | 181.7 | ↓175.2 | ↓161.7 | 240.1 | 240.3 | 230.2 | ↓205.7 |
| | 0-5 週 | 218.5 | 211.4 | ↓204.2 | ↓190.2 | 277.8 | 282.4 | 272.0 | ↓247.0 | |
| | 0-6 週 | 243.2 | 236.0 | 228.7 | ↓213.7 | 313.4 | 320.7 | 309.1 | ↓282.0 | |
| | 0-10 週 | 288.8 | 283.0 | 274.1 | ↓261.4 | - | - | - | - | |
| | 0-13 週 | - | - | - | - | 434.0 | 438.2 | 418.7 | ↓391.3 | |
| | 生育期間 | 0-1 週 | 21.6 | 22.7 | ↑27.1 | 19.1 | 43.8 | 44.2 | 44.4 | ↓38.3 |
| | 0-2 週 | 44.5 | 41.3 | 48.8 | ↓36.8 | 77.6 | 79.8 | 77.3 | ↓69.1 | |
| | 0-3 週 | 67.2 | 66.1 | 71.8 | ↓57.7 | 103.7 | 106.4 | 102.7 | ↓93.8 | |
| | ♀ | 0-4 週 | 82.6 | 81.4 | 86.5 | ↓69.7 | 124.9 | 129.3 | 122.5 | ↓111.7 |
| | 0-5 週 | 100.7 | 96.2 | 102.1 | ↓82.7 | 144.1 | 149.3 | 140.0 | ↓128.7 | |
| | 0-6 週 | 109.8 | 106.8 | 109.8 | ↓94.1 | 158.8 | 162.0 | 155.6 | ↓142.1 | |
| | 0-10 週 | 132.2 | 125.8 | 131.0 | ↓110.9 | - | - | - | - | |
| | 0-13 週 | - | - | - | - | 207.9 | 214.8 | 203.0 | ↓190.9 | |
| | 妊娠期間 | 0-7 日 | 29.00 | 26.00 | 26.17 | ↓21.25 | 25.78 | 25.23 | 24.16 | ↓18.62 |
| | 7-14 日 | 26.79 | 28.56 | 26.96 | 26.08 | 25.13 | 23.50 | 24.52 | 21.88 | |
| | 14-20 日 | 65.25 | 62.92 | 67.00 | 64.38 | 54.78 | 65.27 | 70.92 | 56.96 | |
| | 0-20 日 | 121.04 | 117.48 | 120.13 | 111.71 | 105.70 | 114.00 | 119.60 | 97.46 | |
| | 哺育期間 | 0-4 日 | 11.46 | 9.56 | 10.44 | 6.42 | 5.70 | 5.78 | 5.58 | -1.55 |
| | 4-7 日 | 3.28 | 6.92 | 5.56 | 12.08 | 10.15 | 8.62 | 9.96 | 9.00 | |
| | 7-10 日 | 9.72 | 5.60 | 8.84 | 7.73 | 5.95 | ↑12.33 | 10.17 | 10.33 | |
| | 10-14 日 | -6.44 | 0.72 | -0.64 | 1.69 | -13.70 | -12.50 | -4.42 | ↑5.78 | |
| | 14-17 日 | 13.64 | 4.88 | 6.20 | 7.46 | 20.10 | 19.50 | 13.13 | 8.06 | |
| | 17-21 日 | -35.12 | -27.04 | -33.50 | -18.62 | -23.70 | -23.34 | -15.42 | ↑-4.89 | |
| | 0-21 日 | -2.68 | 0.29 | -3.10 | ↑16.77 | 4.50 | 11.19 | 19.00 | 26.89 | |

-は実施していないことを示す

Dunnett's t-test ↑↓: P<0.05, ↑↑↓↓: P<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

結果の概要[3]

| 世代 | | 親：F0 | | 児：F1 | | 親：F1 | | 児：F2 | | | |
|------------------|---------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 100 | 280 | 800 | 0 | 100 | 280 | 800 | | |
| 動物数 | ♂ | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | | |
| | ♀ | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | | |
| 親動物 | 授餌量(g) | ♂ | 1週 | 22.1 | 21.9 | ↓21.1 | ↓18.8 | 18.3 | ↓17.0 | 17.3 | ↓15.5 |
| | | | 2週 | 23.7 | 23.4 | ↓22.5 | ↓21.8 | 23.2 | 22.4 | 22.6 | ↓20.4 |
| | | | 3週 | 24.2 | 24.2 | 23.2 | ↓22.2 | 26.2 | 25.3 | 25.3 | ↓23.0 |
| | | | 4週 | 23.9 | 23.9 | 23.4 | ↓22.6 | 27.3 | 27.5 | 27.4 | ↓25.1 |
| | | | 5週 | 24.4 | 24.3 | 23.9 | ↓22.9 | 28.8 | 29.0 | 29.2 | ↓27.0 |
| | | | 6週 | 24.1 | 24.5 | 23.8 | ↓22.9 | 29.2 | 29.6 | 29.5 | ↓27.3 |
| | | | 7週 | 23.3 | 23.7 | 23.2 | 22.4 | 29.1 | 30.0 | 29.1 | ↓27.3 |
| | | | 8週 | 22.9 | 23.1 | 22.9 | 22.7 | 29.3 | 30.2 | 29.0 | ↓27.6 |
| | | | 9週 | 23.3 | 23.1 | 23.1 | 22.2 | 28.9 | 29.3 | 29.3 | 27.3 |
| | | | 10週 | 23.5 | 23.9 | 22.6 | 22.7 | 29.4 | 28.4 | 29.0 | 27.7 |
| | 生育期間 | ♀ | 1週 | 16.2 | 16.3 | 16.3 | ↓14.5 | 15.8 | 15.0 | 14.9 | ↓13.3 |
| | | | 2週 | 16.6 | 16.3 | 17.3 | ↓15.6 | 18.2 | 17.7 | 17.9 | ↓16.3 |
| | | | 3週 | 17.3 | 17.4 | ↑18.4 | ↓16.4 | 18.6 | 18.5 | 18.2 | ↓16.9 |
| | | | 4週 | 17.9 | 17.3 | 18.2 | ↓16.1 | 19.3 | 19.3 | 19.2 | ↓18.0 |
| | | | 5週 | 18.6 | ↓17.4 | 18.6 | ↓16.3 | 19.6 | 19.4 | 19.2 | 18.3 |
| | | | 6週 | 18.5 | 17.9 | 18.5 | ↓16.5 | 20.0 | 19.7 | 20.0 | ↓18.5 |
| | | | 7週 | 17.9 | 17.6 | 17.8 | ↓16.2 | 20.6 | 20.8 | 20.5 | ↓19.0 |
| | | | 8週 | 16.9 | 16.6 | 17.5 | ↓15.3 | 20.3 | 20.6 | 20.5 | 19.4 |
| | | | 9週 | 17.5 | 16.8 | 17.8 | ↓16.1 | 20.6 | 20.2 | 20.1 | ↓18.8 |
| | | | 10週 | 17.3 | ↓16.0 | 17.4 | ↓16.1 | 20.2 | 20.4 | 19.9 | ↓18.7 |
| 妊娠期間 | 0-7日 | 23.0 | ↓21.1 | ↓21.1 | ↓17.5 | 22.4 | 22.4 | 21.9 | ↓19.2 | | |
| | 7-14日 | 24.3 | ↓22.5 | ↓22.3 | ↓19.6 | 24.6 | 23.0 | ↓22.5 | ↓21.3 | | |
| | 14-20日 | 25.5 | ↓24.1 | ↓23.7 | ↓21.2 | 25.7 | 24.9 | 24.4 | ↓23.2 | | |
| | 0-21日 | 24.2 | ↓22.5 | ↓22.3 | ↓19.4 | 24.2 | 23.4 | 22.9 | ↓21.1 | | |
| 哺育期間 | 0-4日 | 31.6 | 29.5 | 31.4 | ↓26.6 | 31.4 | 31.3 | 33.9 | 26.9 | | |
| | 4-7日 | 40.0 | 39.8 | 40.7 | 38.3 | 41.4 | 45.8 | 45.3 | 39.8 | | |
| | 7-10日 | 48.5 | 46.5 | 47.3 | 42.8 | 46.8 | 51.9 | 52.3 | ↓40.7 | | |
| | 10-14日 | 55.2 | 53.7 | 53.7 | ↓50.1 | 51.7 | 56.8 | 57.0 | 47.4 | | |
| | 0-14日 | 43.9 | 42.2 | 43.0 | ↓38.8 | 42.0 | 45.5 | 47.2 | 38.4 | | |
| 検体摂取量(mg/kg/day) | | | | | | | | | | | |
| 生育期間 | ♂ 0-10週 | 0 | 6.5 | 17.9 | 51.0 | 0 | 7.5 | 21.0 | 63.3 | | |
| | ♀ 0-10週 | 0 | 7.6 | 21.7 | 60.1 | 0 | 8.4 | 23.8 | 72.6 | | |
| 妊娠期間 | 1-3週 | 0 | 6.8 | 18.5 | 50.9 | 0 | 6.6 | 18.5 | 55.2 | | |
| 哺育期間 | 1-3週 | 0 | 13.2 | 37.5 | 108.1 | 0 | 13.7 | 40.3 | 105.5 | | |

Dunnett's t-test ↑↓:P<0.05、↓:P<0.01、

検体摂取量は、生育期間(13 intervals)、妊娠期間(3 intervals)、哺育期間(4 intervals)から算出した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

結果の概要[4]

| 世代 | | 親 : F0 | | 児 : F1 | | 親 : F1 | | 児 : F2 | | | |
|-------------------|----------------------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 100 | 280 | 800 | 0 | 100 | 280 | 800 | | |
| 親 動物 | 剖検時 ♂ | 523.0 | 529.0 | 524.7 | 513.0 | 593.4 | 583.5 | 581.4 | ↓534.8 | | |
| | 体重(g) ♀ | 316.3 | 308.4 | 317.7 | ↓291.5 | 344.1 | 344.7 | 336.5 | ↓302.8 | | |
| | 脳 | ♂ | 重量(g) | 2.19 | 2.22 | 2.23 | 2.18 | 2.30 | 2.25 | 2.22 | ↓2.07 |
| | | | 対体重比(%) | 0.413 | 0.421 | 0.428 | 0.428 | 0.390 | 0.388 | 0.384 | 0.391 |
| | | ♀ | 重量(g) | 1.97 | 2.05 | 1.99 | 2.00 | 2.07 | 2.09 | 2.07 | ↓1.95 |
| | | | 対体重比(%) | 0.628 | ↑0.667 | 0.629 | ↑0.691 | 0.604 | 0.611 | 0.620 | ↑0.648 |
| | 腎 ⁽¹⁾ | ♂ | 重量(g) | 3.49 | 3.48 | 3.40 | 3.42 | 4.07 | 4.06 | 4.06 | ↓3.56 |
| | | | 対脳重比(%) | 1.600 | 1.567 | 1.526 | 1.569 | 1.772 | 1.810 | 1.831 | 1.720 |
| | | ♀ | 重量(g) | 2.31 | 2.35 | 2.31 | 2.16 | 2.55 | 2.50 | 2.47 | ↓2.28 |
| | | | 対脳重比(%) | 1.169 | 1.149 | 1.159 | ↓1.083 | 1.234 | 1.199 | 1.195 | 1.175 |
| | 脾臓 | ♂ | 重量(g) | | | | | 0.86 | 0.87 | 0.82 | ↓0.77 |
| | | | 対体重比(%) | | | | | 0.146 | 0.150 | 0.142 | 0.145 |
| | | ♀ | 対脳重比(%) | | | | | 0.376 | 0.388 | 0.370 | 0.374 |
| | | | 重量(g) | | | | | 0.60 | 0.65 | 0.64 | 0.64 |
| | 肝臓 | ♂ | 対体重比(%) | | | | | 0.176 | 0.190 | 0.190 | ↑0.213 |
| | | | 対脳重比(%) | | | | | 0.292 | 0.312 | 0.307 | ↑0.329 |
| | | ♀ | 重量(g) | | | | | 20.39 | 20.10 | 20.61 | 19.60 |
| | | | 対体重比(%) | | | | | 3.432 | 3.424 | 3.544 | ↑3.657 |
| | 胸腺 | ♂ | 重量(g) | | | | | 12.65 | 12.74 | 12.36 | 12.01 |
| | | | 対体重比(%) | | | | | 3.685 | 3.707 | 3.676 | ↑3.975 |
| ♀ | | 重量(g) | | | | | 0.49 | 0.41 | 0.50 | ↓0.38 | |
| | | 対体重比(%) | | | | | 0.066 | 0.062 | 0.066 | ↓0.057 | |
| 副腎 ⁽¹⁾ | 重量(g) | | | | | 0.67 | 0.69 | 0.68 | 0.72 | | |
| | 対体重比(%) | | | | | 0.198 | 0.202 | 0.204 | ↑0.241 | | |
| 精巣 ⁽¹⁾ | 重量(g) | | | | | 3.84 | 3.71 | 3.80 | ↓3.53 | | |
| 肉眼的病理検査 | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | | | |
| 病理組織学検査 | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | | | |
| 精子検査 | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | | | |
| 性周期 | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | | | |
| 交尾率(%) | ♂ | 100 | 100 | 96 | 100 | 88 | 100 | 96 | 100 | | |
| | ♀ | 100 | 100 | 96 | 100 | 88 | 100 | 96 | 100 | | |
| 妊娠率(%) | ♂ | 100 | 96 | 100 | 100 | 87 | 92 | 96 | 88 | | |
| | ♀ | 100 | 96 | 100 | 100 | 87 | 92 | 96 | 88 | | |
| 出産率(%) | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | | |
| 妊娠期間(日) | | 22.0 | 21.8 | 22.0 | 22.0 | 22.1 | 22.0 | 22.1 | 21.8 | | |

空欄は変化なし

病理組織学検査は対照群と 800 ppm 群のみ実施

精子検査は、対照群と 800 ppm 群のみ実施、但し F0 世代の精巣上体は対照群と 280 ppm で実施

Dunnett's t-test ↑↓: P<0.05

⁽¹⁾ 腎臓、副腎および精巣重量は両側合計の結果を示す

結果の概要[5]

| 世代 | | 親 : F0 | | 児 : F1 | | 親 : F1 | | 児 : F2 | | | |
|------------------------|--------------------------|----------------------|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 100 | 280 | 800 | 0 | 100 | 280 | 800 | | |
| 児 動 物 | 検査動物数 (腹数) | 26 | 25 | 25 | 26 | 20 | 24 | 24 | 23 | | |
| | 出生時の新生児数 | 13.50 | 13.84 | 13.44 | 13.08 | 12.70 | 14.50 | 14.92 | 12.26 | | |
| | 出生時の生存児数 | 13.46 | 13.68 | 13.20 | 12.65 | 12.60 | 13.96 | 14.50 | 12.04 | | |
| | 生存児数 | 4日 (調整前) | 12.77 | 13.56 | 12.92 | 12.15 | 11.70 | 13.61 | 13.79 | ↓8.41 | |
| | | 4日 (調整後) | 7.81 | 8.00 | 7.76 | 7.85 | 7.10 | ↑8.00 | 7.96 | 6.36 | |
| | | 14日 | 8.00 | 7.96 | 7.64 | ↓7.35 | 7.00 | 7.86 | 7.75 | 6.11 | |
| | | 21日 | 7.96 | 7.92 | 7.64 | ↓7.35 | 7.00 | 7.86 | 7.75 | 6.11 | |
| | 外表異常 | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | | |
| | 性比 | ♂ (%) | 48 | 52 | 45 | 46 | 53 | 50 | 49 | 51 | |
| | 生存児 体重 ⁽²⁾ | ♂ | 0日 | 6.50 | 6.41 | 6.57 | ↓6.03 | 6.31 | 6.42 | 6.49 | ↓5.97 |
| | | | 4日 ⁽¹⁾ | 9.83 | 9.38 | 9.87 | ↓8.37 | 9.66 | 9.04 | 8.98 | ↓7.54 |
| | | | 7日 | 15.93 | 14.97 | 15.84 | ↓12.73 | 15.31 | 14.58 | 13.89 | ↓11.69 |
| | | | 14日 | 33.10 | 31.12 | 32.68 | ↓25.96 | 31.71 | 31.18 | 29.84 | ↓25.87 |
| | | ♀ | 21日 | 51.10 | 48.84 | 50.27 | ↓39.89 | 48.47 | 48.29 | 46.79 | ↓41.22 |
| | | | 0日 | 6.11 | 6.06 | 6.24 | ↓5.73 | 5.97 | 5.98 | 6.11 | ↓5.57 |
| | | | 4日 ⁽¹⁾ | 9.46 | 9.05 | 9.35 | ↓8.04 | 9.19 | 8.57 | 8.29 | ↓7.22 |
| | | | 7日 | 15.17 | 14.37 | 15.04 | ↓12.49 | 14.67 | 13.82 | 12.98 | ↓11.50 |
| | 14日 | 31.90 | 30.05 | 31.51 | ↓25.78 | 29.97 | 29.77 | 28.61 | ↓25.41 | | |
| | 21日 | 48.67 | 46.57 | 47.74 | ↓39.45 | 45.37 | 45.81 | 44.66 | 40.27 | | |
| | 新生児生存率 (%) | | 95 | 99 | 98 | 96 | 94 | 90 | 95 | ↓66 | |
| 離乳率 (%) | | 96 | 99 | 99 | 94 | 98 | ↓94 | 97 | ↓73 | | |
| 眼瞼開裂 ⁽²⁾ | (日) | 14.46 | 14.80 | 14.36 | 14.83 | 14.56 | 14.65 | 14.35 | ↑15.44 | | |
| 上切歯の萌出 ⁽²⁾ | (日) | 11.08 | 11.25 | 11.77 | 11.41 | 11.40 | 11.00 | 11.09 | 11.49 | | |
| 耳介開展 ⁽²⁾ | (日) | 3.12 | ↑3.59 | 3.21 | 3.50 | 3.20 | 3.48 | 3.45 | 4.01 | | |
| 膣開口 ⁽²⁾ | (日) | 31.08 | 31.81 | 31.80 | ↑33.98 | - | - | - | - | | |
| 包皮開裂 ⁽²⁾ | (日) | 41.56 | 42.36 | ↑43.32 | ↑46.48 | - | - | - | - | | |
| 肛門-生殖突 | ♂ | - | - | - | - | 1.88 | 1.85 | 1.88 | 1.84 | | |
| 起間距離 ⁽²⁾ mm | ♀ | - | - | - | - | 0.70 | 0.70 | 0.69 | 0.69 | | |

-は実施していないことを示す

新生児生存率および離乳率 Fisher-Irwin Exact test ↓: P<0.05、↓: P<0.01

その他は Dunnett's t-test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

⁽¹⁾ 同腹新生児数の調整後の体重

⁽²⁾ Covariate adjusted の平均値

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット繁殖〉

結果の概要[6]

| 世代 | | 親 : F0 | | | | 親 : F1 | | | | 親 : F1 | | | | 児 : F2 | | | | | |
|-------------|-------|----------------------|---------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|--|
| 投与量 (ppm) | | 0 | | 100 | | 280 | | 800 | | 0 | | 100 | | 280 | | 800 | | | |
| 検査動物数 (腹数) | | 26 | | 25 | | 25 | | 26 | | 20 | | 24 | | 24 | | 23 | | | |
| 肉眼的病理検査 | | 検体投与に起因する異常は認められなかった | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 児 動 物 | 剖検時 | ♂ | | 49.5 | | 48.3 | | 48.7 | | ↓39.1 | | 48.0 | | 48.1 | | 46.0 | | ↓39.4 | |
| | 体重(g) | ♀ | | 47.3 | | 45.2 | | 46.6 | | ↓38.9 | | 45.0 | | 45.0 | | 43.6 | | ↓39.6 | |
| | 脳 | ♂ | 重量(g) | 1.52 | | 1.52 | | 1.50 | | ↓1.39 | | 1.48 | | 1.50 | | 1.46 | | ↓1.38 | |
| | | | 対体重比(%) | 3.110 | | 3.207 | | 3.120 | | ↑3.632 | | 3.141 | | 3.157 | | 3.216 | | ↑3.602 | |
| | | ♀ | 重量(g) | 1.48 | | 1.48 | | 1.46 | | ↓1.36 | | 1.43 | | 1.43 | | 1.41 | | ↓1.35 | |
| | | | 対体重比(%) | 3.151 | | ↑3.309 | | 3.146 | | ↑3.564 | | 3.245 | | 3.217 | | 3.275 | | ↑3.481 | |
| | 脾臓 | ♂ | 重量(g) | 0.24 | | 0.24 | | 0.24 | | ↓0.18 | | 0.23 | | 0.23 | | 0.22 | | ↓0.19 | |
| | | | 対脳重比(%) | 0.159 | | 0.158 | | 0.157 | | ↓0.131 | | 0.154 | | 0.157 | | 0.153 | | ↓0.139 | |
| | | ♀ | 重量(g) | 0.23 | | 0.23 | | 0.24 | | ↓0.19 | | 0.22 | | 0.22 | | 0.22 | | ↓0.20 | |
| | | | 対脳重比(%) | 0.158 | | 0.154 | | 0.161 | | ↓0.141 | | 0.153 | | 0.157 | | 0.153 | | 0.145 | |
| | 胸腺 | ♂ | 重量(g) | 0.24 | | 0.25 | | ↑0.26 | | ↓0.21 | | 0.24 | | 0.24 | | 0.25 | | ↓0.22 | |
| | | | 対体重比(%) | 0.486 | | 0.510 | | ↑0.536 | | ↑0.529 | | 0.508 | | 0.492 | | 0.536 | | ↑0.549 | |
| ♀ | | 対脳重比(%) | 0.158 | | 0.162 | | ↑0.173 | | 0.149 | | 0.165 | | 0.157 | | 0.169 | | 0.156 | | |
| | | 重量(g) | 0.26 | | 0.25 | | 0.26 | | ↓0.22 | | 0.25 | | 0.23 | | 0.24 | | 0.22 | | |
| ♀ 対体重比(%) | | 0.543 | | 0.537 | | 0.568 | | 0.552 | | 0.548 | | ↓0.511 | | 0.546 | | 0.567 | | | |
| 対脳重比(%) | | 0.173 | | 0.165 | | 0.182 | | ↓0.158 | | 0.171 | | 0.161 | | 0.169 | | 0.166 | | | |

Dunnett's t-test ↑↓: P<0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット発達神経毒性>

発達神経毒性試験

ラットを用いた発達神経毒性試験

(資料 No. 毒 A22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:2008 年

検体純度 :

試験動物 : CrI:CD (SD)IGS BR 系ラット、交配した雌各群 25 匹、開始時 11 週齢

投与期間 : 1999 年 11 月 18 日~1999 年 12 月 29 日

P 世代; 交配開始から F1 児離乳まで(11 月 11 日~12 月 29 日)

F1 世代; 母動物を介して妊娠時から離乳まで

試験経過; 試験開始日(1999 年 11 月 2 日)、F1 児の剖検終了日(2000 年 2 月 18 日)、神経病理検査終了日(2000 年 10 月 21 日)、形態計測終了日(2003 年 7 月 14 日)、報告書作成日(2003 年 11 月 21 日)、改訂報告書作成日(2008 年 1 月 30 日)

投与方法 : 検体は 0、2.5、10 および 45 mg/kg/day の用量で妊娠 6 日から哺育 21 日まで投与した。投与液は冷蔵保管し、8 日以内に使用した。投与液は適切に調製されており、均一性、安定性、濃度とも適当であった。

投与量設定根拠;

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

試験項目及び結果:

方法および概要を下表にまとめた。

試験の概要

| 世代 | 期間 | 作業手順 | 世代 | 期間 | 作業手順 |
|--------------|---------------|-------------------------------------|----|--|---|
| P | 交配 | 動物受領時から哺育 21 日まで 毎日詳細な身体検査を実施 | F1 | 生後 0 日 | 刺背で個体識別、性別確認、外 表観察、体重、生死確認、死亡/ 切迫屠殺動物の解剖 |
| | | 体重、摂餌量測定(妊娠 0、3、 6、9、12、15、20 日) | | 生後 1 日 | 体重 |
| | 妊娠 (6 日) | 投与開始(雌 25 匹/群) 詳細な症状観察 | | 生後 4 日 | 性別確認、8 匹/腹に調整、詳細 な症状観察、体重、評価予定外 の動物の剖検 |
| | 妊娠 (12 日) | 詳細な症状観察 | | 生後 7 日 | 体重 |
| | | 解剖: 途中死亡動物 | | 生後 11 日 | 性別確認、詳細な症状観察、体 重、剖検、神経病理/脳重量測定/ 形態計測(各群各性 10 匹) |
| | 出産哺育 (0 日) | 出産状況の観察 | | 生後 13 日 | 運動活性(各群各性 10 匹) |
| | 哺育 (1 日) | 体重、摂餌量測定(哺育 1、4、 7、10、16、21 日) | | 生後 14 日 | 体重 |
| | 哺育 (4 日) | 詳細な症状観察 | | 生後 17 日 | 体重、運動活性 |
| | 哺育 (7 日) | 詳細な症状観察 | | 生後 20 日 | 聴覚驚愕反応(各群各性 10 匹) |
| | | | | 生後 21 日 | 性別確認、金属製耳標装着、詳 細な症状観察、体重、運動活性 |
| 哺育 (21 日) | 解剖 | 生後 22 日 | | 学習/記憶(各群各性 10 匹) | |
| | | 生後 25 日 | | 膈開口チェック開始、体重 | |
| | | 生後 28 日 | | 体重(以後は毎週測定) 評価予定外の動物の剖検 | |
| | | 生後 34 日 | | 詳細な症状観察、体重 | |
| | | 生後 35 日 | | 包皮開裂チェック開始、体重 | |
| | | 生後 45 日 | | 詳細な症状観察、体重 | |
| | | 生後 60 日 | | 詳細な症状観察、体重、聴覚驚 愕反応 | |
| | | 生後 61 日 | | 運動活性 | |
| | | 生後 62 日 | | 学習/記憶 | |
| | | 生後 72 日 | | 剖検、神経病理/脳重量測定/形 態計測(各群各性 10 匹) 評価予定外の動物の剖検 | |

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

試験項目及び結果:

母動物

一般状態および生死; 一般状態および生死を1日に2回観察した。詳細な身体検査は毎日、処置開始の前から哺育21日まで、投与の約1時間後に行った。出産時には日に3回観察した。母動物の詳細な症状観察は妊娠中に2回(妊娠6および12日)、哺育中に2回(哺育4および7日)、次の項目について行った。

ケージからの搬出の容易さ、流涙/着色流涙、立毛、眼瞼閉鎖、赤色/堅い付着物、眼球突出、活動性、痙攣/振戦、身繕い、異常行動/常同行動、扱い易さ、流涎、被毛、呼吸速度/特徴、粘膜/眼/皮膚の色、筋緊張、歩行、覚醒、排尿/脱糞、後退

45 mg/kg 群の雌が出産中に死亡した(妊娠23日)。この動物には死亡前に重篤な症状はみられず、剖検でも特に異常はなかった。他の動物は全て定期解剖まで生存した。毎日の症状観察では対照群に比べて投与群の前肢脱毛が増加し、45 mg/kg 群で顕著であった。投与群では前肢の痂皮と鼻周囲の赤色物質付着がやや増加した。これら所見は妊娠期間の投与時に最初にみられた。他には投与に関連した臨床症状はみられなかった。投与直後に一過性(30-45秒)にみられた変化として床敷に顔を突っ込み、口を拭う行動が45 mg/kg 群の全例、10 mg/kg 群の9例に認められ、検体が口に合わないためと考えられた。詳細な症状観察では対照群と投与群の間に顕著な差は認められなかった。

| 性別 | 雌 | | | |
|-----------------|------|------|-------|--------|
| | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
| 投与量 (mg/kg/day) | | | | |
| 前肢脱毛 | 4/25 | 7/25 | 5/25 | 10/25 |
| 前肢痂皮 | 1/25 | 2/25 | 2/25 | 5/25 |
| 鼻周囲の赤色物質付着 | 2/25 | 5/25 | 3/25 | ↑9/25 |
| 投与後に床敷で口を拭う | 0/25 | 0/25 | ↑9/25 | ↑25/25 |

分子、分母は各々発生匹数と検査匹数

Fisherの直接確率法(両側) ↑: P<0.05, ↑↑: P<0.01

体重および摂餌量; 妊娠0、3、6、9、12、15 および20日、哺育1、4、7、10、16 および21日に体重および摂餌量を測定した。

45 mg/kg 群で体重増加量の抑制が妊娠期間にみられ、同群の摂餌量も減少した。哺育期間では反対に体重増加量は同群で有意に増加した。

| 性別 | 雌 | | | | |
|-----------------|--------------------|-----|-----|-----|----------|
| | 0 | 2.5 | 10 | 45 | |
| 投与量 (mg/kg/day) | | | | | |
| 妊娠期間 | 体重(妊娠20日、g) | 385 | 387 | 388 | ↓370(96) |
| | 体重増加量(妊娠6-20日、g) | 110 | 112 | 112 | ↓93(85) |
| | 摂餌量(妊娠6-20日、g/day) | 22 | 21 | 21 | ↓18(82) |
| 哺育期間 | 体重(哺育1日、g) | 284 | 288 | 285 | ↓265(93) |
| | 体重増加量(哺育1-21日、g) | 33 | 31 | 34 | ↑47(142) |
| | 摂餌量(哺育1-21日、g/day) | 50 | 49 | 52 | 50 |

括弧内の数値は対照群に対する変動率(%)

Dunnnett's検定 ↓: P<0.05, ↓↓: P<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

繁殖能力；全動物に自然分娩させ(生後0日、哺育0日)、生後21日まで哺育させた。各動物について妊娠期間を計算した。

45 mg/kg 群の雌1匹が出産中に死亡した(妊娠23日)。各群の妊娠率、妊娠期間に差はみられなかった。

| 性別 | 雌 | | | |
|-----------------|------|------|------|-------|
| | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
| 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
| 交配数 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| 妊娠数 | 23 | 23 | 23 | 25* |
| 妊娠率 | 92 | 92 | 92 | 100* |
| 平均妊娠期間(日) | 21.5 | 21.5 | 21.5 | 21.7* |

*: 出産中に死亡した母動物1匹を含む

児動物

一般状態および生死；出産の日を生後0日とした。出産完了後に児の生死、性別を確認し、奇形の有無を検査し、刺青で個体識別した。生後4日に同腹子の数を8匹に調整した。生後21日の離乳後、児動物に耳標を付けて個体識別した。生死は1日に2回観察した。症状は離乳前は生後1、4、7、11、17、21日に、離乳後は毎週1回観察した。詳細な症状観察は各群各性10匹をケージから出して、生後4、11、21、34、45、60日に母動物と同じ項目(一部該当しない項目有)について評価した。

一腹当たりの出生児数、性比、生存同腹子の数(生後0日)に投与の影響はみられなかった。生後0-1日の生存率は45 mg/kg 群で減少した(生後1日に3匹の母動物で全同腹子死亡がみられた)。以降の離乳までの期間の生存率は投与群と対照群の間に差はなかった。投与と関連した臨床症状は認められなかった。

| 性別 | 雌 | | | |
|----------------------|-------|------|------|-------|
| | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
| 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
| 平均出生児数 | 15.1 | 15.3 | 15.5 | 14.9 |
| 出生時の性(%、雄/腹) | 52.9 | 51.3 | 54.4 | 47.3 |
| 生存同腹子数(生後0) | 15.0 | 15.3 | 15.4 | 14.4* |
| 同腹子内生存率 | | | | |
| 生後0日 (産児数に対する相対値) | 99.1 | 99.4 | 99.5 | 94.4* |
| 生後0日-生後1日 | 99.0 | 96.7 | 99.4 | ↓85.1 |
| 生後1日-生後4日(選別前) | 100.0 | 99.1 | 99.8 | 99.7 |
| 生後4日-生後21日(選別後) | 94.2 | 95.7 | 94.9 | 99.2 |

*: 出産中に死亡した母動物と出生児1匹は含まない(安楽死させた為)

Dunnett's検定 ↓: P<0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

体重；離乳前は生後 1、4、7、11、17、21 に、離乳後は生後 28-72 日まで毎週体重を測定した。

離乳前の体重増加量(生後 1-4、4-7、7-11、11-14、14-17、17-21 日)に有意差は認められなかった。生後 1 日における 45 mg/kg 群雌雄の体重は対照に比べて低値であり、雌では有意差を伴っていた。離乳後の体重増加量(生後 21-28、28-35、35-42、42-49、49-56、56-63、63-70、70-72 日)では対照に比べて各群で統計学的に有意な減少が散見されたが、全期間(生後 21-72 日)では投与に関連した有意な減少が 45 mg/kg 群の雌雄に認められた。同群の平均体重は離乳後の多くの時期に有意な低値を示した。2.5 mg/kg 群に散見された変化は投与量との関連がなく、検体の影響とは考えられない。

| 性別 | 雄 | | | 雌 | | |
|-----------------|-----|----|-----|-----|----|-----|
| | 2.5 | 10 | 45 | 2.5 | 10 | 45 |
| 投与量 (mg/kg/day) | | | | | | |
| 生後1日 | | | 95 | | | ↓91 |
| 生後28日 | | | ↓95 | | | |
| 生後35日 | | | | | | ↓90 |
| 生後42日 | | | | | | ↓93 |
| 生後49日 | | | ↓95 | | | ↓94 |
| 生後56日 | | | ↓94 | ↓96 | | ↓94 |
| 生後63日 | | | ↓93 | | | ↓94 |
| 生後70日 | | | ↓93 | | | ↓95 |
| 生後72日 | ↓96 | | ↓93 | | | ↓94 |
| 生後21-72日 | ↓95 | | ↓92 | | | ↓94 |

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

Dunnnett's検定 ↓: P<0.05、↓↓: P<0.01

成長の指標；雄の児動物については生後 35 日から包皮開裂を毎日検査した。雌の児動物については生後 25 日から膣開口を毎日検査した。開始時の齢および体重を記録した。

包皮開裂、膣開口への影響は何れの群にも認められなかった。膣開口のみられた日の体重は 45 mg/kg 群で有意に減少していた。

| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| 包皮開裂 | 日齢 | 43.6 | 43.7 | 43.1 | 43.9 |
| | 体重(g) | 226.3 | 223.1 | 223.4 | 215.8 |
| 膣開口 | 日齢 | 32.2 | 32.3 | 32.7 | 32.5 |
| | 体重(g) | 107.8 | 106.4 | 110.5 | ↓101.0 (94) |

Dunnnett's検定 ↓: P<0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

聴覚驚愕反応；生後 20 日および 60 日に各群各性 10 匹の児動物(各時期とも同じ動物)を用い、個々の動物を 15 x 16 x 23 インチの円柱状容器(照明、観察窓、音源、運動センサー装着)に入れ、驚愕反応を計測した。約 20 ミ秒持続する 115 デシベルのノイズ刺激を与え、反応を 100 ミ秒記録した。このセッションを 8 秒間隔に 50 回行い、最大反応電圧(Vmax)、平均反応電圧(Vave)および Vmax までの潜伏時間(Tmax)を記録した。

投与と関連した聴覚驚愕反応の低下が 45 mg/kg 群の雄にみられ、Vmax と Vave は生後 20 日および 60 日で低下した。同群雌でも Vmax と Vave の低下、Tmax の有意な増加が生後 20 日にみられたが、生後 60 日に影響はみられなかった。

| 性別 | | 雄 | | | 雌 | | |
|-----------------|------|-----|----|-----|-----|----|------|
| 投与量 (mg/kg/day) | | 2.5 | 10 | 45 | 2.5 | 10 | 45 |
| 生後20日 | Vmax | | | ↓58 | | | 71 |
| | Tmax | | | | | | ↑112 |
| | Vave | | | ↓58 | | | ↓69 |
| 生後60日 | Vmax | | | 47 | | | |
| | Tmax | | | | | | |
| | Vave | | | 46 | | | |

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

反復測定ANOVA、Dunnett's検定 ↑↓: P<0.05

運動活性測定；生後 13、17、21 および 61 日に各群各性 10 匹の児動物(可能な限り各時期とも同じ動物)を用い、個々の動物の運動活性(総合および歩行)を自発運動量測定装置を用いて 5 分間隔で計 60 分計測した。総合運動活性は運動能力(身繕いの様に赤外線ビームを単回遮断する場合)と歩行運動活性(連続して 2 本以上のビームを遮断)を合わせたものと定めた。

投与と関連した変化および統計学的有意差は、何れの時期にも認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

学習および記憶検査; 生後 22 日(開始日)および 62 日に各群各性 10 匹の児動物(各時期とも異なる動物)を用い、水を満たした T-迷路(Biel 迷路と同様の装置)からの脱出時間およびエラーの回数を記録した。試験は 3 段に分け、7 日間連続で行った。フェーズ 1(検査 1 日目)では直線の水路の脱出台(水面下)の向かいに動物を置き、水泳能力のために 4 回試技させて脱出時間を記録した。フェーズ 2(検査 2-3 日目)では経路 A の迷路を解くもので、連続学習を検査した。試技は 1 日 2 回(間隔は最短で 1 時間)、2 日間連続で行い、各試技には 3 分の時間を与え、不成功でも時間経過後には強制終了とした。検査 4-6 日目に経路 B の迷路(経路 A の逆)を解かせた。フェーズ 3(検査 7 日目)は経路 A の迷路を解かせて、記憶力を検査した。試技は 2 回与えた(試技 11、12)。データの評価には、フェーズ 1 では個体毎に 4 試技の平均を求め、これから群平均を求めた。フェーズ 2 では各試技の試技時間とエラー回数の群平均を求めると共に、個体毎に 10 試技の平均試技時間と平均エラー回数を求めた後にこれらの群平均を求めた。フェーズ 3 でもフェーズ 2 と同様に平均を求めた。フェーズ 1(水泳能力)、2(全試技の平均試技時間と平均エラー回数)、3(全試技の平均試技時間と平均エラー回数)の値を示す。

投与に関連した変化は何れの項目にも認められなかった。

| 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 2.5 | 10 | 45 | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
| 生後 22日 | 水泳能力(秒) | 9.05 | 9.34 | 9.14 | 9.61 | 9.37 | 10.52 | 9.68 | 8.66 |
| | フェーズ2試技時間(秒) | 78.64 | 90.56 | 77.42 | 96.24 | 85.52 | 88.04 | 80.24 | 85.40 |
| | フェーズ2エラー回数(回) | 14 | 16 | 15 | 19 | 15 | 18 | 16 | 16 |
| | フェーズ3試技時間(秒) | 63.76 | 49.46 | 65.58 | 61.35 | 82.94 | 65.35 | 61.70 | 60.81 |
| | フェーズ3エラー回数(回) | 16 | 13 | 17 | 15 | 21 | 17 | 17 | 17 |
| 生後 62日 | 水泳能力(秒) | 7.15 | 6.39 | 6.67 | 6.81 | 7.66 | 6.68 | 7.44 | 6.65 |
| | フェーズ2試技時間(秒) | 64.20 | 59.99 | 60.63 | 58.10 | 64.64 | 62.34 | 62.11 | 57.87 |
| | フェーズ2エラー回数(回) | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 | 13 | 12 | 11 |
| | フェーズ3試技時間(秒) | 48.53 | 59.55 | 52.03 | 66.15 | 61.31 | 50.43 | 51.01 | 58.35 |
| | フェーズ3エラー回数(回) | 12 | 13 | 13 | 16 | 12 | 13 | 11 | 12 |

Dunnett's検定 で有意差なし

母動物

屠殺後の観察； 出産した雌は哺育 21 日に二酸化炭素の吸入で安楽死させ、胸腔、腹腔を検査し、肉眼所見から必要と判断された場合は臓器を保存した。他の動物については下表に示すように検査した。

| 動物の区分 | 剖検 | 着床数の記録(他) | 胎児の外表検査 | 剖検から必要なら臓器を保存する |
|------------------------------------|---------------|-----------|---------|-----------------|
| 途中死亡動物 | 剖検 | 着床数、黄体数 | ○ | ○ |
| 交配から25日以内に分娩しなかった動物 | 安楽死後に剖検 | 着床数 | - | ○ |
| 全同腹子が死亡した動物 | 安楽死後に剖検 | 着床数 | - | ○ |
| 出産したが児動物の性比が基準(雌雄が3:5~5:3)に合致しない動物 | 哺育4日に安楽死後、剖検 | 着床数 | - | ○ |
| 出産した動物 | 哺育21日に安楽死後、剖検 | 着床数 | - | ○ |

○:実施、-: 該当せず

途中死亡動物： 45 mg/kg 群の 1 例が児を 1 匹出産後に死亡し、子宮には 16 匹が残された。本動物に他の所見はみられなかった。

交配から 25 日以内に分娩しなかった動物： 対照、2.5 および 10 mg/kg 群の各群 2 匹は未妊娠であった。内臓に異常所見はみられなかった。

全同腹子死亡の動物： 45 mg/kg 群の 3 匹が哺育 1 日までにロスを生じた。内臓に異常所見はみられなかった。

出産したが児動物の性比が基準に合致しない動物： 対照、2.5 および 10 mg/kg 群の各群 1 匹が合致しなかった。この 3 匹の内臓に異常所見はみられなかった。

出産した動物： 哺育 21 日の定期解剖で、内臓に異常所見はみられなかった。平均着床数、出生児数、不明箇所(unaccounted site)には投与の影響はみられなかった。

児動物

屠殺後の観察； 生後 0~4 日に死亡、切迫屠殺した動物、性比の基準に合致しなかった動物は外表を観察し、体腔の検査で性を確認し、胃内のミルクの有無を検査した。外表に異常のある個体は 10%中性緩衝ホルマリンに保存した。生後 4 日の同腹子数の調整で余剰となった児動物は同日に体重を測り、安楽死させ、廃棄した。生後 4 日以降に死亡した児動物は詳細な剖検を行い、肉眼所見から必要と判断された場合は臓器を保存した。

行動評価に選択されなかった児動物は、生後 28 日に二酸化炭素の吸入で安楽死させ、剖検した。

神経病理/脳重量測定に付されなかった児動物は、生後 72 日に二酸化炭素の吸入で安楽死させ、剖検した。外表、開口部、頭蓋、胸腔、腹腔、骨盤腔と臓器を検査し、肉眼所見から必要と判断された場合は臓器を保存した。

途中死亡・切迫屠殺した児動物では、45 mg/kg 群で胃にミルクのない個

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

体が増加した。生後 4 および 28 日の非選択児では 10 mg/kg 群に腎盂拡張がみられた。生後 72 日の非選択児、生後 11 および 72 日の脳重量測定に用いられた児動物には投与と関連する所見はみられなかった。なお、下表については報告書で統計解析が行われていない。

| 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 2.5 | 10 | 45 |
|------------------------|------|-------|------|-------|
| 途中死亡・切迫屠殺 | | | | |
| 胃にミルクなし | 1/7 | 10/13 | 3/3 | 32/39 |
| 胃にミルクなし (腹/腹) | 1/7 | 3/5 | 3/3 | 8/11 |
| 奇形 (後肢回転異常、紐状尾) | 0/7 | 0/13 | 0/3 | 1/39 |
| 生後4および28日の非選択児 腎盂拡張 | 0/38 | 0/37 | 1/39 | 0/25 |

分子、分母は各々発生数と検査数

神経病理/脳重量測定に選択した児動物；生後 11 日に各腹から雄 1 匹、雌 1 匹 (各群各性 10 匹) を二酸化炭素の吸入で安楽死させ、灌流固定した。試験終了時 (生後 72 日)、機能検査に用いられた各群各性 10 匹の児動物を二酸化炭素の吸入で安楽死させ、灌流固定した。固定後、脳をはずし、重量を測定し、大きさ (長さと幅) を記録した。脳および脊髄の異常所見を記録した。

生後 11 および 72 日の脳と脊髄に病変はみられず、脳重量および長さにも投与と関連した変化は認められなかった。脳の幅は生後 72 日において 45 mg/kg 群の雄で有意に減少した。しかし、同群での脳の長さは対照群と変わらず、顕微鏡観察で脳病変も認められないことから、本所見は検体投与とは関連しないと考えられた。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | | |
|---------------|------|------|------|------|---------------|------|------|------|------|
| | 0 | 2.5 | 10 | 45 | 0 | 2.5 | 10 | 45 | |
| 生後11日 (mm) | 脳の幅 | 13.6 | 13.5 | 13.6 | 13.4 | 13.3 | 13.5 | 13.7 | 13.3 |
| | 脳の長さ | 16.1 | 16.1 | 16.2 | 16.0 | 15.9 | 15.9 | 16.0 | 15.8 |
| 生後72日 (mm) | 脳の幅 | 15.3 | 15.2 | 15.1 | ↓14.6 (95) | 14.8 | 14.8 | 14.8 | 14.1 |
| | 脳の長さ | 20.6 | 20.9 | 20.5 | 20.2 | 19.8 | 19.9 | 19.8 | 19.5 |

括弧内の数値は対照群に対する変動率 (%)

Dunnett's検定 ↓: P<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

神経病理検査；生後 11 日に灌流固定した各群各性 10 匹の児動物について組織標本を作製し、対照と高用量群のみ評価した。脳をパラフィンに包埋、薄切後にヘマトキシリン・エオジンで染色し、嗅球、大脳皮質、海馬、基底核、視床、視床下部、中脳、脳幹および小脳を検査した。

生後 72 日に灌流固定した各群各性 10 匹の児動物について下記組織の標本を作製し、対照と高用量群のみ評価した。中枢神経系はパラフィンに、末梢神経系はプラスチックに包埋し、薄切後にヘマトキシリン・エオジンで染色した。

脳：嗅球、大脳皮質、海馬、基底核、視床、視床下部、中脳、脳幹、小脳

脊髄：頸膨大、腰膨大

ガッセル神経節/三叉神経、腰部背根神経節、腰部背根神経線維、腰部腹根神経線維、頸部背根神経節、頸部腹根神経線維、坐骨神経、腓腹神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼球、骨格筋(腓腹筋)

生後 11 および 72 日に投与に関連した影響は児動物にみられなかった。生後 72 日において対照と 45 mg/kg 群に同様にみられた変化は腰部背根および腹根神経線維、坐骨、腓腹、脛骨、腓骨神経の変性であり、髄鞘の膨化、拡張、空胞化から成っていた。網膜の異常も雌の 45 mg/kg 群に 1 例みられた。

| 性別 | | 雄 | | 雌 | |
|-----------------|-------------|-------|------|------|------|
| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 45 | 0 | 45 |
| 生後72日 | 腰髄の変性 | 1/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 腰部背根神経線維の変性 | 1/10 | 1/10 | 2/10 | 2/10 |
| | 腰部腹根神経線維の変性 | 1/10 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| | 坐骨神経の変性 | 10/10 | 9/10 | 8/10 | 6/10 |
| | 腓腹神経の変性 | 3/10 | 0/10 | 1/10 | 0/10 |
| | 脛骨神経の変性 | 5/10 | 3/10 | 4/10 | 1/10 |
| | 腓骨神経の変性 | 6/10 | 4/10 | 4/10 | 2/10 |
| | 眼球網膜の異形成 | 0/10 | 0/10 | 0/10 | 1/10 |

分子、分母は各々発生数と検査数

Kolmogorov-Smirnov検定で有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット発達神経毒性〉

脳の形態計測；硝子スライドから、コンピュータソフトを用いて画像（生後 11 および 72 日）を取り込み、デジタイザで計測した。Level 1 (Paxinos and Watson rat brain atlas, 1988, Academic Press, Plate 11)では大脳半球の高さ、皮質垂直厚、Level 3 (Plate 21)では皮質半径厚、海馬錐体神経層垂直厚、歯状回門垂直高、歯状回門垂直長、Level 5 (Plate 44)では橋の垂直厚を計測した。

生後 11 日に、雌の 45 mg/kg 群では Level 3 の海馬錐体神経層垂直厚が有意に増加した。本所見は生後 72 日にはみられず、雄でも両時期に認められないことから、検体投与に起因するものではない。生後 72 日には、同群雌に Level 3 の歯状回門垂直長が有意に減少した。本所見は生後 11 日にはみられず、雄でも両時期に認められないことから、検体投与に起因するものではない。

| 性別 | | 雄 | | 雌 | |
|------------------|--------------------|--------|-------------|--------|---------------|
| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 45 | 0 | 45 |
| 生後11日 Level 3 | 海馬錐体神経層 垂直厚(cm) | 0.1070 | 0.1062 (99) | 0.0955 | ↑0.1058 (111) |
| | 歯状回門垂直長 | 0.1217 | 0.1201 (99) | 0.1169 | 0.1183 (101) |
| 生後72日 Level 3 | 海馬錐体神経層 垂直厚(cm) | 0.0963 | 0.0957 (99) | 0.0923 | 0.0888 (96) |
| | 歯状回門垂直長 | 0.1359 | 0.1233 (91) | 0.1267 | ↓0.1137 (90) |

括弧内の数値は対照群に対する変動率(%)

Dunnett's検定 ↑↓: P<0.05

CrI:CD(SD)系ラットに検体を 0、2.5、10 および 45 mg/kg/day の用量で妊娠 6 日から哺育 21 日まで投与した。母動物への影響は死亡(1 匹)、体重増加の抑制、摂餌量の減少が 45 mg/kg 群にみられた。児への発達毒性影響は、生後に死亡する動物の増加、離乳後の体重増加抑制が 45 mg/kg 群にみられた。聴覚驚愕反応の抑制が 45 mg/kg 群の雌雄にみられたが、他の機能検査、神経病理、脳形態計測に異常は認められなかった。これらの結果から、母動物への毒性、発達毒性、発達神経毒性の NOAEL は何れも 10 mg/kg/day と結論される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット催奇形〉

⑩ 催奇形性試験

1) ラットにおける催奇形性試験

(資料 No. 毒 A23)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年 (改訂 1997 年)

検体純度 :

試験動物 : Crj:CD(SD)系妊娠ラット(11 週齢)、1 群 24 匹

試験期間 : 器官形成期間(妊娠 6~15 日)の 10 日間投与
(動物試験: 1992 年 3 月 3 日~1992 年 4 月 1 日)

投与方法 : 検体を Tween 80 を 0.01% 含む 5% アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、5、16 および 50 mg/kg/day の投与量で、妊娠 6 日目から 15 日目までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒を同様にして投与した。

使用した投与懸濁液は濃度分析を行ない、保存安定性についても問題がないことを確認した。

妊娠 0 日目; 膣垢中の精子を確認した日と定義した。

投与量設定根拠;

観察・検査項目

親動物; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠 0 日目および妊娠 6~21 日目まで毎日体重を測定した。摂餌量は妊娠 6~21 日目まで毎日測定した。

妊娠 21 日目に帝王切開し、黄体数、生存および死亡胎児数、吸収胚数を検査した。

子宮を摘出した後、病理解剖を行ない、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣の重量を測定し、各臓器重量の対体重比を妊娠 21 日目の補正体重(体重-妊娠子宮重量)を用いて算出した。

生存胎児; すべての生存胎児について性別判定、体重測定、外表観察を行なった。また、各腹の胎児の約 1/2 を内臓観察に、残りを骨格観察に用いた。

結果

親動物; 何れの投与群にも死亡や中毒症状は認められなかった。

50 mg/kg/day 群では妊娠 8~16 日目に体重の有意な減少が、妊娠 6~7、7~8 および 6~15 日目の体重増加量に有意な減少が認められた。摂餌量については妊娠 7~11 日目に有意な減少、妊娠 18 および 21 日目に

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット催奇形〉

有意な増加が認められた。また、病理解剖では投与による影響は認められず、肝臓重量および対体重比、腎臓重量の対体重比の有意な増加が認められた。

その他の投与群には投与による影響は認められなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量および性比に対する影響は認められなかった。

着床所見において、16 mg/kg/day 群で吸収胚数および着床後損失率に有意な増加がみられたが、投与量相関 ($p=0.12$ および $p=0.11$ 、Cochran-Armitage の傾向検定) はなく、50 mg/kg/day 群には統計学的な有意差は認められないことから投与による影響ではないと考えられた。

生存胎児；

[外表異常]

外表奇形は対照群の 1 例 (0.3%) に短尾が認められたのみであり、投与による影響は認められなかった。

外表変異として胎盤出血が 50 mg/kg/day 群の 3 (0.9%) 例に認められ、投与量相関が認められたが ($p<0.05$ 、Cochran-Armitage の傾向検定)、50 mg/kg/day 群の発生率に統計学的有意差は認められず、投与による影響とは考えられなかった。

[内臓異常]

内臓奇形は何れの投与群でも観察されなかった。

内臓変異として、腎盂拡張、尿管拡張、胸腺の頸部残留、第 3 脳室拡張、脳出血などが認められたが、投与量との関連および統計学的有意差は認められず、投与による影響はみられなかった。

[骨格異常]

骨格奇形として、頸椎後椎骨欠損、肋骨の部分肥大、肋骨癒合、肋骨分岐、胸骨癒合がみられたが、投与量との関連および統計学的有意差は認められず、投与による影響はみられなかった。

骨格変異として、第 14 肋骨に負の投与量相関が認められたが ($p<0.05$ 、Cochran-Armitage の傾向検定)、投与との関連性はないと考えられた。

第 13 肋骨短小が 0、5、16 および 50 mg/kg/day 群にそれぞれ 1 (0.6%)、6 (3.6%)、1 (0.6%)、15 (9.3%) 例認められ、50 mg/kg/day 群では有意な増加が認められた。この所見については、投与量相関が認められたが ($p<0.01$ 、Cochran-Armitage の傾向検定)、低および中用量の傾向検定では投与量相関は認められなかった。また、該当施設 (1982-1998: 試験数 11、総胎児観察数 1657) の CD(SD)Rat の第 13 肋骨短小を示した胎児数は 0-2 例/試験 (試験毎の発生率は 0%-1.3%) であった。

化骨進行度について、投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、検体を妊娠ラットに投与したとき、親動物に対して 50 mg/kg/day で体重増加抑制、摂餌量の減少および肝臓重量の増加が認められたことから、親動物における無毒性量 (NOAEL) は 16 mg/kg/day であった。

胎児に対しては何れの投与群でも何ら異常が認められないことから、無毒性量 (NOAEL) は 50 mg/kg/day 以上であった¹⁾。また、最高用量の 50 mg/kg/day でも胎児動物に催奇形性を及

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット催奇形〉

ばさないと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット催奇形〉

| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 5 | 16 | 50 | |
|-----------------|------------|-----------|-----------|----------|-----------|---------|
| 1群当りの動物数 | | 24 | 24 | 24 | 24 | |
| 親動物 | 一般状態 | | | | | |
| | 死亡数 | | | | | |
| | 妊娠数 (妊娠率%) | 23 (95.8) | 23 (95.8) | 24 (100) | 23 (95.8) | |
| | 体重 (g) | 6日 | 301.2 | 300.2 | 302.3 | 302.5 |
| | | 8日 | 308.1 | 308.3 | 306.8 | ↓292.9 |
| | | 9日 | 310.6 | 312.4 | 308.5 | ↓293.9 |
| | | 10日 | 317.1 | 317.1 | 313.1 | ↓300.6 |
| | | 11日 | 321.2 | 322.8 | 319.1 | ↓306.1 |
| | | 12日 | 326.7 | 328.0 | 324.2 | ↓310.7 |
| | | 13日 | 330.6 | 334.1 | 329.9 | ↓315.2 |
| | | 14日 | 336.7 | 339.2 | 335.1 | ↓321.1 |
| | | 15日 | 343.3 | 344.0 | 342.1 | ↓327.3 |
| | | 16日 | 352.0 | 356.2 | 351.9 | ↓336.6 |
| | | 17日 | 366.3 | 371.0 | 366.9 | 352.2 |
| | | 21日 | 427.7 | 434.2 | 428.1 | 422.6 |
| | 体重増加量 (g) | 0-6日 | 29.9 | 28.6 | 30.5 | 30.1 |
| | | 6-7日 | 2.4 | 3.6 | 1.1 | ↓-5.8 |
| | | 7-8日 | 4.6 | 4.5 | 3.5 | ↓-3.7 |
| | | 8-9日 | 2.5 | 4.1 | 1.7 | 1.0 |
| | | 20-21日 | 9.9 | 9.9 | 9.0 | 15.6 |
| 6-15日 | | 42.1 | 43.8 | 39.8 | ↓24.8 | |
| 15-21日 | | 84.4 | 90.3 | 86.0 | 95.3 | |
| 0-21日 | 156.4 | 162.7 | 156.3 | 150.2 | | |
| 摂餌量 (g) | 5-6日 | 24.2 | 24.5 | 25.2 | 23.6 | |
| | 6-7日 | 22.5 | 23.9 | 22.0 | ↓12.9 | |
| | 7-8日 | 23.4 | 25.0 | 23.2 | ↓12.8 | |
| | 8-9日 | 23.6 | 26.5 | 23.4 | ↓16.4 | |
| | 9-10日 | 25.5 | 25.9 | 24.5 | ↓21.5 | |
| | 10-11日 | 24.1 | 26.1 | 24.5 | ↓20.8 | |
| | 11-12日 | 24.9 | 26.4 | 25.6 | 22.7 | |
| | 16-17日 | 27.8 | 28.3 | 30.0 | 29.8 | |
| | 17-18日 | 28.3 | 28.9 | ↑31.0 | ↑31.7 | |
| | 18-19日 | 29.3 | 29.2 | 30.3 | 31.6 | |
| 19-20日 | 25.3 | 26.5 | 26.7 | 28.0 | | |
| 20-21日 | 19.5 | 19.7 | 19.1 | ↑23.5 | | |
| 臓器重量 | 肝臓 | 重量 (g) | 14.152 | 14.899 | 14.324 | ↑15.673 |
| | | 対体重比 (%) | 4.410 | 4.540 | 4.414 | ↑4.875 |
| | 腎臓 (右) | 重量 (g) | 1.038 | 1.065 | 1.026 | 1.080 |
| | | 対体重比 (%) | 0.324 | 0.327 | 0.317 | 0.336 |
| | 腎臓 (左) | 重量 (g) | 1.007 | 1.034 | 1.024 | 1.080 |
| | | 対体重比 (%) | 0.314 | 0.317 | 0.316 | ↑0.336 |

空欄は正常あるいは該当動物なしを示す

多重比較法 (Dunnett or Scheffe) ↑↓: P < 0.05、↑↑↓: P < 0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット催奇形〉

| | | 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 5 | 16 | 50 |
|---------|---------------------|-----------------|----------|-----------|------------|----------|
| 親動物 | 着床所見 | 検査動物数 | 23 | 23 | 24 | 23 |
| | | 黄体数/母体 | 20.7 | 19.4 | 20.8 | 20.1 |
| | | 着床数/母体 | 15.5 | 15.5 | 15.8 | 14.9 |
| | | 生存胎児数/母体 | 15.0 | 14.8 | 14.8 | 14.1 |
| | | 吸収胚数 | 12 (3.4) | 16 (4.5) | ↑ 25 (6.6) | 18 (5.3) |
| | | 着床前損失率 (%) | 23.6 | 19.0 | 21.8 | 26.2 |
| | | 着床後損失率 (%) | 3.4 | 4.4 | ↑ 6.7 | 7.3 |
| 胎児動物 | 胎児 | 平均胎児重量 (g) 雄 | 5.277 | 5.363 | 5.121 | 5.211 |
| | | 雌 | 4.954 | 5.098 | 4.946 | 4.930 |
| | | 平均胎盤重量 (g) | 0.534 | 0.539 | 0.527 | 0.582 |
| | 性比 (雄の%) | | 48.4 | 50.0 | 45.1 | 53.7 |
| | 外表異常 | 検査胎児数 | 345 | 340 | 355 | 324 |
| | | [奇形] | | | | |
| | | 短尾 | 1 (0.3) | | | |
| | | [変異] | | | | |
| | | 皮下出血 | 2 (0.6) | 1 (0.3) | 1 (0.3) | 5 (1.5) |
| | 胎盤出血 ⁽¹⁾ | | | | 3 (0.9) | |
| | 内臓異常 | 検査胎児数 | 174 | 175 | 180 | 162 |
| | | [変異] | | | | |
| 腎盂拡張 | | 13 (7.5) | 8 (4.6) | 19 (10.6) | 10 (6.2) | |
| 尿管拡張 | | | 1 (0.6) | 1 (0.6) | | |
| 胸腺の頸部残留 | | 8 (4.6) | 7 (4.0) | 5 (2.8) | 3 (1.9) | |
| 第3脳室拡張 | | | | 1 (0.6) | | |
| 脳出血 | 1 (0.6) | | | | | |

括弧内の数値は母体当りの平均 (%) を、空欄は正常あるいは該当動物なしを示す

Mann-Whitney の U 検定 ↑: P < 0.05

(1) Cochran-Armitage の傾向検定 P < 0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ラット催奇形〉

| | | 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 5 | 16 | 50 |
|--------------------------------------|--|--------------------------|----------|----------|-----------|-----------------|
| 胎 骨 児 格 動 異 物 常 | | 検査胎児数 | 171 | 165 | 175 | 162 |
| | | [奇形] | | | | |
| | | 頸椎後椎骨欠損 | 1 (0.6) | | | |
| | | 肋骨の部分肥大 | 1 (0.6) | | 1 (0.6) | 1 (0.6) |
| | | 肋骨癒合 | 1 (0.6) | | | |
| | | 肋骨分岐 | 1 (0.6) | | | |
| | | 胸骨癒合 | | | 1 (0.6) | |
| | | [変異] | | | | |
| | | 頸椎椎体の二葉型 | | 1 (0.6) | | |
| | | 胸椎椎体の二葉型 | 7 (4.1) | 12 (7.3) | 8 (4.6) | 11 (6.8) |
| | | 頸椎椎体分離 | 10 (5.8) | 10 (6.1) | 10 (5.7) | 11 (6.8) |
| | | 胸椎椎体分離 | 1 (0.6) | 2 (1.2) | 3 (1.7) | 1 (0.6) |
| | | 腰椎数の異常 | | | 1 (0.6) | 1 (0.6) |
| | | 第 13 肋骨短小 ⁽¹⁾ | 1 (0.6) | 6 (3.6) | 1 (0.6) | ↑2) 15 (9.3) |
| | | 波状肋骨 | 1 (0.6) | | 1 (0.6) | 1 (0.6) |
| | | 第 14 肋骨 ⁽¹⁾ | 8 (4.7) | 5 (3.0) | 2 (1.1) | |
| | | 第 12 肋骨 | 2 (1.2) | | | |
| | | 胸骨不対称 | 11 (6.4) | 16 (9.7) | 21 (12.0) | 15 (9.3) |
| | | 胸骨の二葉型 | | | | 2 (1.2) |
| | | 胸骨分離 | 1 (0.6) | | | 2 (1.2) |

括弧内の数値は母体当りの平均 (%) を、空欄は正常あるいは該当動物なしを示す

Fisher の直接確率法および Mann-Whitney の U 検定 ↑: P < 0.001

(1) Cochran-Armitage の傾向検定 P < 0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ウサギ催奇形〉

2) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. 毒 A24)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年(改訂 1997 年)

検体純度 :

試験動物 : ニュージーランド白色ウサギ(約 5 ヶ月齢)、1 群 17 匹

試験期間 : 器官形成期間(妊娠 6~18 日)の 13 日間投与
(1993 年 2 月 4 日~1993 年 3 月 16 日)

投与方法 : Tween 80 を 0.01% 含む 5% アラビアゴム水溶液に検体を懸濁させ、0、7.5、15 および 30 mg/kg/day の投与量で、妊娠 6 日目から 18 日目までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には溶媒を同様にして投与した。

使用した投与懸濁液は濃度分析を行ない、保存安定性についても問題ないことを確認した。

妊娠 0 日目; 交尾の翌日を妊娠 0 日目と定義した。

投与量設定の根拠;

観察・検査項目

親動物; 一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、6、7、8、10、12、14、16、18、19、20、22、24 および 28 日目に体重を測定した。摂餌量は妊娠 0 日目を除いて、体重測定と同日に測定した。

妊娠 28 日目に帝王切開し、子宮重量、黄体数、着床数、生存および死亡胎児数、吸収胚数を検査した。子宮摘出後に病理解剖を行ない、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣の重量を測定した。各臓器重量の対体重比を妊娠 28 日目の補正体重(体重-妊娠子宮重量)を用いて算出した。

生存胎児; すべての胎児について、外表観察、体重測定、性別判定、骨格および内臓観察を行なった。

結果

親動物; 何れの投与群についても、投与による影響と考えられる死亡や中毒症状は認められなかった。

30 mg/kg/day 群では投与開始直後から体重増加抑制傾向がみられ、妊娠 19 日目に至っても投与開始前より低値であった。摂餌量は投与期間

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ウサギ催奇形〉

を通じて減少傾向がみられ、妊娠 7 および 8 日目に有意な減少が認められた。

0 および 15 mg/kg/day 群では投与開始直後から妊娠 10 または 12 日目にかけて一過性の体重増加抑制の傾向がみられたが、妊娠 14 または 16 日目には投与開始前の体重まで回復した。

また、何れの投与群においても病理解剖および臓器重量に投与による影響はみられなかった。

黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量および性比に対する影響は認められなかった。

生存胎児；

[外表異常]

外表奇形として、30 mg/kg/day 群の 1 例(1.2%)に眼瞼開存と内反手がみられたが、統計学的有意差は認められず、投与による影響はみられなかった。

外表変異は何れの投与群でも観察されなかった。

[内臓異常]

内臓奇形として、小眼球症、右鎖骨下動脈起始異常、心尖部二分が対照群または投与群に観察されたが、投与量との関連および統計学的有意差は認められず、投与による影響はみられなかった。

内臓変異として、腎盂拡張および胸腺の頸部残留が観察されたが、投与量との関連および統計学的有意差は認められず、投与による影響はみられなかった。

[骨格異常]

骨格奇形として、胸椎椎弓欠損、胸椎椎体欠損、肋骨癒合、胸椎椎弓癒合、肋骨分岐、胸骨癒合、腰椎椎弓欠損が観察されたが、投与量との関連および統計学的有意差は認められず、投与による影響はみられなかった。

骨格変異として、第 13 肋骨の短小が 0、7.5、15 および 30 mg/kg/day 群にそれぞれ 3 (3.2%)、16 (16.2%)、6 (6.4%)、4 (4.7%) 例に観察され、7.5 mg/kg/day 群に有意な増加が認められたが、投与量相関 ($p=0.68$ 、Cochran-Armitage の傾向検定)はなく、投与による影響とは考えられなかった。

浮遊肋骨が 0、7.5、15 および 30 mg/kg/day 群にそれぞれ 14 (15.1%)、12 (12.1%)、10 (10.6%)、4 (4.7%) 例に観察され、30 mg/kg/day 群には有意な減少が認められ、負の投与量相関 ($p<0.05$ 、Cochran-Armitage の傾向検定)もみられた。

何れの投与群にも第 13 肋骨がみられ、15 mg/kg/day 群では有意な減少が認められたが、投与量との関連はなく、投与による影響とは考えられない。

化骨進行度に対する影響は認められなかった

以上の結果より、検体を妊娠ウサギに投与したとき、親動物に対して 30 mg/kg/day で体重増加抑制傾向および摂餌量の減少が認められたことから、親動物における無毒性量 (NOAEL) は 15 mg/kg/day であった。胎児に対しては何れの投与群でも何ら異常が認められないことから、無毒性量 (NOAEL) は 30 mg/kg/day 以上であった。また、最高用量の 30 mg/kg/day でも胎児動物に催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ウサギ催奇形〉

| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 7.5 | 15 | 30 | | |
|-----------------|----------|-----------|----------------|----------------|----------------|--------|-------|
| 1群当りの動物数 | | 17 | 17 | 17 | 17 | | |
| 親動物 | 一般症状 | | | | | | |
| | 死亡数 | | ^s 3 | ^s 2 | ^s 1 | | |
| | 妊娠数 (%) | 12 (70.6) | 15 (88.2) | 14 (82.4) | 14 (82.4) | | |
| | 体重 (g) | 0日 | 4152.9 | 4221.6 | 4031.5 | 4072.7 | |
| | | 6日 | 4237.8 | 4298.9 | 4153.1 | 4146.3 | |
| | | 7日 | 4238.8 | 4301.1 | 4125.5 | 4113.2 | |
| | | 10日 | 4221.7 | 4301.8 | 4116.6 | 4045.4 | |
| | | 12日 | 4205.1 | 4306.9 | 4122.8 | 4088.2 | |
| | | 14日 | 4219.6 | 4346.6 | 4155.0 | 4103.1 | |
| | | 16日 | 4268.0 | 4324.3 | 4197.6 | 4130.1 | |
| | | 18日 | 4280.1 | 4332.4 | 4209.6 | 4137.3 | |
| | | 19日 | 4272.9 | 4339.2 | 4219.3 | 4139.0 | |
| | | 20日 | 4282.3 | 4345.3 | 4244.1 | 4167.7 | |
| | 24日 | 4389.5 | 4374.9 | 4232.8 | 4259.0 | | |
| | 28日 | 4447.8 | 4410.3 | 4219.6 | 4305.5 | | |
| | 動物 | 体重増加量 (g) | 0-6日 | 84.8 | 77.3 | 121.6 | 73.6 |
| | | | 6-19日 | 35.2 | 40.3 | 66.3 | -7.3 |
| | | 摂餌量 (g) | 19-28日 | 174.9 | 71.1 | 0.2 | 166.5 |
| | | | 6-28日 | 210.1 | 111.4 | 66.5 | 159.2 |
| | | | 0-28日 | 294.9 | 188.7 | 188.1 | 232.8 |
| 着床所見 | | 検査動物数 | 5-6日 | 182.6 | 207.4 | 182.3 | 171.9 |
| | | | 6-7日 | 182.5 | 179.9 | 154.6 | ↓81.5 |
| | 7-8日 | | 166.5 | 179.2 | 142.1 | ↓71.7 | |
| | 9-10日 | | 165.5 | 182.0 | 138.2 | 117.1 | |
| | 15-16日 | | 160.5 | 109.6 | 141.7 | 134.0 | |
| | 19-20日 | | 141.2 | 150.2 | 140.7 | 166.4 | |
| 27-28日 | 128.7 | 122.9 | 81.3 | 134.1 | | | |
| 着床所見 | 検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 13 | | |
| | 黄体数/母体 | 11.0 | 11.8 | 11.2 | 9.3 | | |
| | 着床数/母体 | 8.8 | 9.1 | 9.2 | 7.2 | | |
| | 生存胎児数/母体 | 7.8 | 8.3 | 7.8 | 6.6 | | |
| | 吸収胚数 | 12 (1.0) | 10 (0.8) | 16 (1.3) | 8 (0.6) | | |

^s: 投与ミスあるいは保定ミスによる死亡

括弧内の数値は母体当りの平均(%)を、空欄は正常あるいは該当する動物なしを示す
多重比較法 (Scheffe) ↓: P<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-ウサギ催奇形〉

| | | 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 7.5 | 15 | 30 | |
|----------------------------|------------|-----------------|-------------|-------------|-----------|---------|---------|
| 胎 児 | 平均胎児重量 (g) | 雄 | 42.91 | 41.59 | 39.38 | 42.13 | |
| | | 雌 | 40.11 | 40.18 | 37.01 | 40.51 | |
| | 平均胎盤重量 (g) | | 5.51 | 5.43 | 5.15 | 5.92 | |
| | 性比 (雄/雌) | | 1.1 | 1.0 | 1.0 | 1.2 | |
| | 外表異常 | 検査胎児数 | | 93 | 99 | 94 | 86 |
| | | [奇形] | | | | | |
| | | 眼瞼開存 | | | | | 1 (1.2) |
| | | 内反手 | | | | | 1 (1.2) |
| | 内臓異常 | 検査胎児数 | | 93 | 99 | 94 | 86 |
| | | [奇形] | | | | | |
| 小眼球症 | | | | | | 1 (1.2) | |
| 右鎖骨下動脈起始異常 | | | 1 (1.1) | | | | |
| 心尖部二分 | | | | 1 (1.0) | | | |
| [変異] | | | | | | | |
| 動 物 骨 格 異 常 | 腎盂拡張 | | 3 (3.2) | 3 (3.0) | 5 (5.3) | 1 (1.2) | |
| | 胸腺の頸部残留 | | | | | 1 (1.2) | |
| | 検査胎児数 | | 93 | 99 | 94 | 86 | |
| | [奇形] | | | | | | |
| | 胸椎椎弓欠損 | | 1 (1.1) | 1 (1.0) | | | |
| | 胸椎椎体欠損 | | | | 1 (1.1) | | |
| | 肋骨癒合 | | | | 1 (1.1) | 2 (2.3) | |
| | 胸椎椎弓癒合 | | | | | 2 (2.3) | |
| | 肋骨分岐 | | | 1 (1.0) | | | |
| | 胸骨癒合 | | 3 (3.2) | 3 (3.0) | 1 (1.1) | 2 (2.3) | |
| | 腰椎椎弓欠損 | | | | 1 (1.1) | | |
| | [変異] | | | | | | |
| | 頸肋骨 | | 1 (1.1) | | | | |
| | 胸骨分節の非対称 | | 1 (1.1) | | | | |
| 胸骨分離 | | 3 (3.2) | | 2 (2.1) | 1 (1.2) | | |
| 胸骨の二葉型 | | 1 (1.1) | 1 (1.0) | | 1 (1.2) | | |
| 第 13 肋骨の短小 | | 3 (3.2) | ↑ 16 (16.2) | 6 (6.4) | 4 (4.7) | | |
| 肋骨の結節形成 | | | 1 (1.0) | | | | |
| 第 13 肋骨 | | 62 (66.7) | 63 (63.6) | ↓ 42 (44.7) | 60 (69.8) | | |
| 浮遊肋骨 ⁽¹⁾ | | 14 (15.1) | 12 (12.1) | 10 (10.6) | ↓ 4 (4.7) | | |

括弧内の数値は母体当りの平均 (%) を、空欄は正常あるいは該当動物なしを示す
カイ二乗法または Fisher の直接確率法 ↓: P<0.05、↑: P<0.01

(1) Cochran-Armitage の傾向検定 P<0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

⑰ 変異原性試験

1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No. 毒 A25)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993 年

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 菌株 (TA98、TA100、TA1535、TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* 1 菌株 (WP2 uvrA) を用い、フェノバルビタールおよび 5, 6-ベンゾフラボンで誘導したラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いた試験で復帰突然変異誘発性を検定した。試験は、プレインキュベーション法で行ない、検体は DMSO に溶解した。本試験の用量段階は、5 用量 (313、625、1250、2500、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$) で実施した濃度設定試験の結果から抗菌性が観察されなかったため、同濃度で実施した。陽性対照としては、ENNG¹、2-NF²、9-AA³ および 2-AA⁴ を用い、DMSO に溶解した。

判定基準 : 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応性および再現性が認められる場合を陽性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた ENNG、2-NF、9-AA および 2-AA では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は、本試験条件下で復帰突然変異誘発性を示さないと判断される。

¹ ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン

² 2-NF : 2-ニトロフルオレン

³ 9-AA : 9-アミノアクリジン

⁴ 2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

復帰突然変異試験 2 回目(表中の数値は 3 反復の平均値)

| 薬物 | 濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$) | S9-Mix の有無 | 復帰変異コロニー数/プレート | | | | | |
|----------|-------------------------------------|---------------|----------------|--------|---------|----------|--------|-----|
| | | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 | |
| 対照(DMSO) | - | - | 113 | 8 | 19 | 26 | 13 | |
| 検体 | 313 | - | 107 | 9 | 16 | 24 | 16 | |
| | 625 | - | 111 | 8 | 20 | 18 | 13 | |
| | 1250 | - | 105 | 12 | 15 | 19 | 16 | |
| | 2500 | - | 93 | 10 | 15 | 21 | 11 | |
| | 5000 | - | 106 | 15 | 16 | 21 | 12 | |
| 対照(DMSO) | - | + | 120 | 10 | 23 | 28 | 16 | |
| 検体 | 313 | + | 116 | 13 | 16 | 28 | 17 | |
| | 625 | + | 112 | 10 | 19 | 36 | 17 | |
| | 1250 | + | 113 | 11 | 20 | 37 | 17 | |
| | 2500 | + | 116 | 10 | 17 | 31 | 13 | |
| | 5000 | + | 116 | 10 | 21 | 22 | 15 | |
| 陽性 対照 | ENNG | 3.0 | - | 491 | 447 | 351 | | |
| | | 5.0 | - | | | | | |
| | | 2.0 | - | | | | | |
| | 2-NF | 0.2 | - | | | | 79 | |
| | 9-AA | 80.0 | - | | | | | 553 |
| | 2-AA | 1.0 | + | 648 | 190 | 627 | | 144 |
| | | 2.0 | + | | | | | |
| | | 10.0 | + | | | | | |
| 0.5 | | + | | | | | | |
| | | | | | | 153 | | |

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

2) CHO 培養細胞を用いた前進突然変異試験

(資料 No. 毒 A26)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター卵巣由来の細胞株 (CHO 細胞) を用い、ラット S9 mix 存在下および非存在下で検体を処理し、6-チオグアニン (6TG) 耐性細胞の出現頻度を指標とする HPRT 遺伝子座の前進突然変異を検定した。

用量設定根拠;

判定基準; 溶媒対照の背景データを超える 10^6 細胞あたり 20 個以上の 6TG 耐性細胞が出現し、かつ、溶媒対照に比較して統計学的有意差をもって、用量依存的に増加が認められた場合、陽性と判定した。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。代謝活性化の有無に関わらず、いずれの検体処理濃度でも変異細胞の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた EMS および MC 群では、溶媒対照に比較して統計学的に有意な変異細胞の出現率の増加が認められた。

以上の結果より、検体は、本試験条件下において、遺伝子突然変異誘発性は陰性と考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

前進突然変異試験の結果 (本試験 1 回目)

| 代謝活性化の有無 | 投与量 (µg/mL) | 変異細胞数/ 10 ⁶ 細胞 | コロニー形成率 (%) | 細胞毒性 (%) |
|----------|----------------------------|------------------------------|-------------|----------|
| - | DMSO ^{*1} | 5 | 76 | 100 |
| | 2000 | 1 | 70 | 77 |
| | 2500 | 11 | 67 | 69 |
| | 3000 | 5 | 67 | 74 |
| | 3500 | 7 | 68 | 27 |
| | EMS ^{*2} (250) | *** 192 | 62 | 69 |
| + | DMSO ^{*1} | 3 | 85 | 100 |
| | 500 | 2 | 77 | 170 |
| | 1000 | 5 | 70 | 127 |
| | 1500 | 3 | 72 | 106 |
| | 2000 | 5 | 79 | 128 |
| | MC ^{*3} (5) | *** 243 | 74 | 114 |

*1: ジメチルスルフォキシド、*2: エチルメタンサルホネート、*3: 20-メチルコラントレン

***: P<0.001 (Weighted Analysis of Variance)

前進突然変異試験の結果 (本試験 2 回目)

| 代謝活性化の有無 | 投与量 (µg/mL) | 変異細胞数/ 10 ⁶ 細胞 | コロニー形成率 (%) | 細胞毒性 (%) |
|----------|----------------------------|------------------------------|-------------|----------|
| - | DMSO ^{*1} | 6 | 66 | 100 |
| | 2500 | 7 | 57 | 96 |
| | 3000 | 5 | 67 | 104 |
| | 3500 | 7 | 64 | 99 |
| | 4000 | 11 | 63 | 61 |
| | EMS ^{*2} (250) | *** 298 | 62 | 127 |
| + | DMSO ^{*1} | 3 | 72 | 100 |
| | 2000 | 2 | 63 | 103 |
| | 2250 | 1 | 52 | 75 |
| | 2500 | 8 | 60 | 37 |
| | 2750 | 0 | 50 | 15 |
| | MC ^{*3} (5) | *** 374 | 54 | 106 |

*1: ジメチルスルフォキシド、*2: エチルメタンサルホネート、*3: 20-メチルコラントレン

***: P<0.001 (Weighted Analysis of Variance)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

3) CHL 培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. 毒 A27)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993 年

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 (CHL 細胞) を用い、非代謝活性化法および代謝活性化法によって検体の染色体異常誘発性を検定した。検体は、DMSO に溶解あるいは懸濁して用いた。

用量設定根拠;

判定基準; 各用量 200 個の中期分裂像 (100 個/シャーレ×2 シャーレ) を観察し、染色体の異常を構造的異常 [ギャップ (gap)、切断 (break)、交換 (exchange) など] および数的異常で分類し計測した。統計解析を行い溶媒対照と比べて、有意に異常細胞が増加した場合に陽性と判定した。

非代謝活性化法; 非代謝活性化法では、24 および 48 時間の連続処理を行った。その結果、24 時間処理では約 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、48 時間処理では 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で細胞の 50% 増殖抑制がみられ、それぞれ 4 用量全てについて染色体の観察を行った。

代謝活性化法; 代謝活性化法では、S9 処理および非処理の条件において、3 時間の暴露処理を行った。その結果、3000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で細胞の 50% 増殖抑制がみられ、4 用量全てについて染色体の観察を行った。

陽性対照には、マイトマイシン C (MMC) およびベンツピレン (BP) を用いた。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。非代謝活性化法では、24 時間および 48 時間処理のいずれの場合にも 50% 細胞増殖抑制濃度以上において、濃度相関を伴い、溶媒対照群と比較して有意に染色体異常頻度を増加させた。代謝活性化法では、最高濃度群は細胞毒性のため観察可能な中期分裂像が全く得られなかったが、3000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で有意に染色体異常を増加させた。また、陽性対照として用いた MMC および BP では、溶媒対照と比較して、著しい染色体異常の誘発が認められた。

以上の結果より、検体は、本試験条下で染色体異常を誘発するものと判断される。 D_{20} 値は、1914 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

染色体異常試験の結果 (非代謝活性化法)

| 処理時間 | 投与量 (μg/mL) | 観察細胞数 | 染色体異常の細胞数 | | | | | | 染色体異常出現頻度(%) | |
|------|---------------|-------|-----------|-----|------|----|------|-----|--------------|----------|
| | | | 染色分体型 | | 染色体型 | | ギャップ | その他 | -g | +g |
| | | | 切断 | 交換 | 切断 | 交換 | | | | |
| 24 | 陰性対照 | 200 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0.5 | 1.5 |
| | DMSO (5μL/mL) | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0.5 |
| | 250 | 200 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1.5 | 2.5 |
| | 500 | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0.5 |
| | 1000 | 200 | 4 | 3 | 0 | 0 | 8 | 0 | ** 3.5 | *** 7.5 |
| | 2000 | 200 | 9 | 2 | 1 | 1 | 5 | 1 | *** 7.0 | *** 9.5 |
| | MMC (0.05) | 200 | 29 | 30 | 0 | 0 | 3 | 0 | *** 26.5 | *** 27.5 |
| 48 | 陰性対照 | 200 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1.0 | 1.5 |
| | DMSO (5μL/mL) | 200 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1.5 | 1.5 |
| | 175 | 200 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.5 | 1.5 |
| | 350 | 200 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 3.0 | 3.5 |
| | 700 | 200 | 9 | 6 | 0 | 0 | 1 | 0 | ** 7.0 | ** 7.5 |
| | 1400 | 200 | 20 | 8 | 0 | 1 | 4 | 1 | *** 14.5 | *** 16.0 |
| | MMC (0.05) | 200 | 53 | 101 | 0 | 0 | 7 | 2 | *** 62.5 | *** 64.0 |

Fisher's exact test ** : P<0.01、*** : P<0.001

MMC : マイトマイシン C

-g : ギャップのみを持つ細胞を除いた染色体異常出現頻度

+g : ギャップのみを持つ細胞を含めた染色体異常出現頻度

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

染色体異常試験の結果 (代謝活性化法)

| 処理時間 — 回復時間 | S9 Mix の有無 | 投与量 ($\mu\text{g/mL}$) | 観察 細胞数 | 染色体異常の細胞数 | | | | | | 染色体異常 出現頻度(%) | |
|-------------------|---------------|-------------------------------|------------------|-----------|----|------|----|------|-----|------------------|----------|
| | | | | 染色分体型 | | 染色体型 | | ギャップ | その他 | -g | +g |
| | | | | 切断 | 交換 | 切断 | 交換 | | | | |
| 3-21 | + | 陰性対照 | 200 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0.5 | 1.0 |
| | | DMSO ($5\mu\text{L/mL}$) | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.5 | 0.5 |
| | | 750 | 200 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1.5 | 1.5 |
| | | 1500 | 200 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1.5 | 2.0 |
| | | 3000 | 48 ^{a)} | 9 | 3 | 1 | 0 | 2 | 0 | *** 20.8 | *** 22.9 |
| | | 5000 | 0 ^{b)} | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | BP (20) | 200 | 17 | 53 | 2 | 3 | 2 | 4 | *** 34.0 | *** 34.5 |
| | - | 陰性対照 | 200 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1.0 | 1.5 |
| | | DMSO ($5\mu\text{L/mL}$) | 200 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0.5 | 1.5 |
| | | 750 | 200 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0.5 | 2.0 |
| | | 1500 | 200 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0.5 | 1.0 |
| | | 3000 | 200 | 24 | 34 | 1 | 1 | 4 | 11 | *** 27.5 | *** 28.5 |
| | | 5000 | 0 ^{b)} | — | — | — | — | — | — | — | — |
| | | BP (20) | 200 | 4 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2.0 | 3.0 |

Fisher's exact test, *** : $P < 0.001$

BP : ベンツピレン

a) 細胞毒性のため、十分な数の中期分裂細胞が得られなかった。

b) 細胞毒性のため、観察可能な中期分裂像が全く得られなかった。

-g : ギャップのみを持つ細胞を除いた染色体異常出現頻度

+g : ギャップのみを持つ細胞を含めた染色体異常出現頻度

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

4) CHO 培養細胞を用いた染色体異常試験

(資料 No. 毒 A28)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター卵巣由来の細胞株 (CHO 細胞) を用い、非代謝活性化法および代謝活性化法によって検体の染色体異常誘発性を検定した。

用量設定根拠:

判定基準; 各用量 200 個の中期分裂像を観察し、染色体異常を持つ細胞の数と異常の種類を記録した。統計解析には、Fisher の直接確率検定を用いた。

非代謝活性化法; 非代謝活性化法では、細胞周期決定試験の結果から 350 および 175 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では 13 時間、700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では 25 時間の連続処理を行い、3 用量全てについて染色体の観察を行った。

代謝活性化法; 代謝活性化法では、同じく細胞周期決定試験の結果から 337.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では 3 時間の暴露期間後に 10 時間の回復期間を設け、675 および 1350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では 3 時間の暴露期間後に 22 時間の回復期間を設けた。3 用量全てについて染色体の観察を行った。

陽性対照として、マイトマイシン C (MMC) およびベンツピレン (BP) を DMSO に溶解して用いた。

試験結果 : 結果を次頁の表に示す。非代謝活性化法では、175 および 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で染色体異常が認められたが、濃度相関性を伴わず、その異常頻度の増加は軽微であった。代謝活性化法では、675 および 1350 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で濃度依存的に染色体の異常頻度を増加させた。対照試験である-S9 mix の試験群では、いずれの濃度でも染色体異常を誘発しなかった。また、陽性対照として用いた MMC および BP では、溶媒対照に比較して統計学的に有意な染色体異常の誘発が認められた。

以上の結果より、検体は染色体異常誘発性を示すと判断される。本試験における D_{20} 値は、代謝活性化条件において 10592.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

染色体異常試験の結果 (非代謝活性化法)

| 代謝 活性化 の有無 | 投与量 ($\mu\text{g/mL}$) | 観 察 細胞数 | 染色体異常頻度 (%) | | | | | | | | 倍数 体数 |
|------------------|-----------------------------|------------|-------------|-----|------|-----|-----|------|------|------|----------|
| | | | 染色分体型 | | 染色体型 | | その他 | ギャップ | 合計 | | |
| | | | 切断 | 交換 | 切断 | 交換 | | | -g | +g | |
| - | 無処理 | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | DMSO ^{*1} | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.5 | 0 | 0.5 | 3 |
| | 175 | 200 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 1.5 | 0.5 | 0 | 2.5 | 2.5 | 5 |
| | 350 | 200 | 0.5 | 0 | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 0.5 | 0.5 | 3.5 |
| | 700 | 200 | 0.5 | 0.5 | 1.0 | 0.5 | 0 | 0 | 2.5 | 2.5 | 3 |
| | MMC ^{*2} (0.05) | 200 | 1.0 | 2.5 | 7.0 | 0.5 | 0.5 | 1.5 | 11.0 | 12.5 | 7.5 |

*1: ジメチルスルフォキシド、*2: マイトマイシン C

Fisher's test *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001

-g: ギャップのみを持つ細胞を除いた染色体異常出現頻度

+g: ギャップのみを持つ細胞を含めた染色体異常出現頻度

染色体異常試験の結果 (代謝活性化法)

| 代謝 活性化 の有無 | 投与量 ($\mu\text{g/mL}$) | 観 察 細胞数 | 染色体異常頻度 (%) | | | | | | | | 倍数 体数 |
|------------------|-----------------------------|------------|-------------|------|------|-----|-----|------|------|-------------------|----------|
| | | | 染色分体型 | | 染色体型 | | その他 | ギャップ | 合計 | | |
| | | | 切断 | 交換 | 切断 | 交換 | | | -g | +g | |
| - | 無処理 | 200 | 1.0 | 0 | 1.0 | 0 | 1.0 | 0 | 2.5 | 2.5 | 2 |
| | DMSO ^{*1} | 200 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.5 |
| | 337.5 | 200 | 0 | 0.5 | 1.0 | 0 | 0.5 | 0 | 2.0 | 2.0 | 3 |
| | 675 | 200 | 1.0 | 0 | 0 | 0.5 | 0 | 0.5 | 1.5 | 2.0 | 1.5 |
| | 1350 | 200 | 0.5 | 0.5 | 0 | 0 | 0.5 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.5 |
| | BP ^{*2} (20) | 200 | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.5 | 0.5 | 1 |
| + | 無処理 | 200 | 1.0 | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 1.5 | 1.5 | 3.0 | 1.5 |
| | DMSO ^{*1} | 200 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0 | 0 | 0 | 1.5 | 1.5 | 1 |
| | 337.5 | 200 | 1.5 | 1.0 | 0 | 0.5 | 0.5 | 1.0 | 3.5 | 4.5 ^a | 1 |
| | 675 | 200 | 3.5 | 3.5 | 1.0 | 1.0 | 0.5 | 0 | 7.5 | 7.5 | 3 |
| | 1350 | 200 | 3.5 | 8.0 | 0 | 0 | 0 | 1.0 | 10.0 | 11.0 ^b | 6.0 |
| | BP ^{*2} (20) | 200 | 17.5 | 18.5 | 4.5 | 0 | 2.5 | 4.0 | 35.0 | 39.0 ^c | 6.5 |

*1: ジメチルスルフォキシド、*2: ベンツピレン

Fisher's test *: P<0.05, ***: P<0.001

-g: ギャップのみを持つ細胞を除いた染色体異常出現頻度

+g: ギャップのみを持つ細胞を含めた染色体異常出現頻度

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

5) ラット骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験 (資料 No. 毒 A29)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1993 年

検体純度 :

試験動物 : CrI : CD (SD) 系ラット、約 8~10 週齢、
体重 : 雄 196~242 g、雌 173~222 g
屠殺時期毎に各群各性 5 匹 (予備試験は各群各性 2 匹)

試験方法 : ラット骨髄の中期分裂細胞における検体の染色体異常試験を *in vivo* により検討した。

検体は arachis oil B.P. に懸濁して用いた。

濃度設定予備試験;

投与、標本作製、観察法; 各群 10 匹 (雄 5 匹、雌 5 匹) 3 群のラットに 250 mg/kg の検体を単回経口投与し、投与後 6、24 および 48 時間に 1 群ずつ屠殺した。なお、動物には屠殺 2 時間前にコルヒチンを 4 mg/kg を腹腔内投与した。各動物から大腿骨を取り出し、Hanks buffer で骨髄を洗い出し、骨髄細胞を洗浄、固定後、スライド標本を作製し染色して観察した。観察は、各動物から作製した標本あたり 50 個の中期分裂細胞について行った。検体投与群の他に溶媒対照群を検体群と同様に 3 群、さらに陽性対照としてシクロフォスファミド (CP) 50 mg/kg 投与を 1 群 (投与後 24 時間屠殺) それぞれ設けた。

試験結果 : 検体投与群に 2 例の死亡が認められた (6 時間後屠殺群の雄と 24 時間後屠殺群の雌)。骨髄標本の観察結果を次頁の表に示す。

検体の 48 時間処理群で有糸分裂指数の有意な減少がみられた (対照の 5.79 に対して 3.43 で、対照の 59%)。これは、検体が標的組織 (骨髄細胞) に到達し毒性を示したことを表わすものである。検体処置群において、いずれの群においても染色体の構造異常あるいは数的異常数に投与と関連した変化は認められなかった。

陽性対照として用いた CP では、染色体異常の頻度を著しく増加させた。

以上の結果より、検体は *in vivo* 条件下において染色体異常を誘発しないものと判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

染色体異常試験の結果

| 薬物 | 濃度 (mg/kg) | 処理 時間 | 性別 | 観察 細胞数 | 倍 数 体 | 染色体異常を有する細胞数 | | | | | 染色体異常 出現頻度 | | |
|------------------------------|---------------|----------|----|-----------|-------------|------------------|--------|--------|--------|--------|---------------|-------|-------|
| | | | | | | ギ ャ ッ プ | 染色分体型 | | 染色体型 | | そ の 他 | 合計(%) | |
| | | | | | | | 切 断 | 交 換 | 切 断 | 交 換 | | -g | +g |
| 溶媒 対照 (arachis oil) | - | 6 | 雄 | 250 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | / | |
| | | | 雌 | 250 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | | 合計 | 500 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| | | 24 | 雄 | 250 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | / | |
| | | | 雌 | 250 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | | 合計 | 500 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| | | 48 | 雄 | 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | / | |
| | | | 雌 | 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | |
| | | | 合計 | 500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | | 0.2 |
| 検体 | 250 | 6 | 雄 | 200 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | / | | |
| | | | 雌 | 250 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | | 0 | |
| | | | 合計 | 450 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | | 0 | 0.2 |
| | | 24 | 雄 | 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | / | |
| | | | 雌 | 200 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | | 合計 | 450 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| | | 48 | 雄 | 250 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | / | |
| | | | 雌 | 250 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| | | | 合計 | 500 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| 陽性 対照 (CP) | 50 | 24 | 雄 | 182 | 0 | 22 | 57 | 44 | 6 | 0 | 61 | / | |
| | | | 雌 | 188 | 0 | 41 | 67 | 68 | 15 | 1 | 49 | | |
| | | | 合計 | 370 | 0 | 63 | 124 | 112 | 21 | 1 | 110 | | 56.76 |

X²検定あるいは exact test

CP: シクロフォスファミド

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

6) マウス骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験 (資料 No. 毒 A30)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1994 年

検体純度 :

試験動物 : CrI : CD-1 (ICR) 系マウス、約 8 週齢、
体重 : 雄 28.2~34.5 g、雌 21.3~30.2 g
屠殺時期毎に各群各性 5 匹 (予備試験は各群各性 3 匹)

試験方法 : 検体を 5%CMC に懸濁して 0、20、40 および 80 mg/kg の用量を容量 10 mL/kg で強制経口投与した。なお、陽性対照には、シクロフォスファミド (CP) を用い、80 mg/kg の用量を容量 10 mL/kg で単回強制経口投与した。なお、高用量群の第二投与群 (雄 5 匹、雌 5 匹) を設け、高用量群に死亡があった場合に動物を補完した。

投与の 24、48 および 72 時間後に動物を屠殺して、各動物の大腿骨から骨髄を採取した。骨髄をスライドグラス上にメタノールで固定後、ギムザ染色液で染色し、標本を作製した。

動物当たり 1 枚の標本について、1000 個の多染性赤血球 (PCE) を観察し、小核を有する多染性赤血球数 (MNPCE) を計数した。また、正染性赤血球 (NCE) と PCE の比率についても計算した。

用量設定根拠 :

以上の結果から、80 mg/kg を最高用量とした。

判定基準 : MNPCE の出現頻度が陰性対照と比較して用量依存性を伴う明らかな増加を示した場合、または、再現性のある単独な用量で明らかな増加を示した場合に陽性とした。

試験結果 : すべての検体投与群において、いずれの性および、採取時間においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照のシクロフォスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に陰性対照群と比較して明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は、本試験条件下において骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

小核試験結果

| 化合物 | 投与量 (mg/kg) | 採取 時間 | MNPCE/PCE+MNPCE (%) (平均値) | | | PCE : NCE (平均値) | |
|---------------|----------------|----------|------------------------------|-------|-------|--------------------|------|
| | | | 雄 | 雌 | 合計 | 雄 | 雌 |
| 溶媒対照 (CMC) | 10 (mL/kg) | 24 | 0.00 | 0.06 | 0.03 | 0.68 | 0.69 |
| | | 48 | 0.04 | 0.10 | 0.07 | 0.70 | 0.48 |
| | | 72 | 0.02 | 0.06 | 0.04 | 0.64 | 0.82 |
| 陽性対照 (CP) | 80 | 24 | 1.40* | 1.54* | 1.47* | 0.86 | 0.67 |
| 検体 | 20 | 24 | 0.04 | 0.02 | 0.03 | 0.76 | 0.82 |
| | | 48 | 0.02 | 0.12 | 0.07 | 0.76 | 0.40 |
| | | 72 | 0.02 | 0.06 | 0.04 | 0.61 | 0.60 |
| | 40 | 24 | 0.02 | 0.04 | 0.03 | 0.85 | 0.61 |
| | | 48 | 0.04 | 0.10 | 0.07 | 0.77 | 0.71 |
| | | 72 | 0.04 | 0.06 | 0.05 | 0.67 | 0.67 |
| | 80 | 24 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.93 | 0.89 |
| | | 48 | 0.02 | 0.10 | 0.06 | 0.84 | 0.65 |
| | | 72 | 0.02 | 0.04 | 0.03 | 0.66 | 0.50 |

Turkey's Studentized range test、* : P<0.05

PCE : 多染性赤血球、MNPCE : 小核を有する PCE、NCE : 正染性赤血球

CP : シクロフォスファミド

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－変異原〉

9) 細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)

(資料 No. 毒 A33)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体純度 :

試験方法 : *B. subtilis* の組換修復機構の野生株 (H17, Rec⁺) および欠損株 (M45, Rec⁻) を用い、代謝活性化および非代謝活性化の条件下において、DNA 損傷作用があるか否かを検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。DMSO の溶解限界 (434.8 mg/mL) を最高用量に非代謝活性化系では 21740 µg/ディスクを最高用量に以下公比 2 で 5 用量 (1359, 2718, 5435, 10870, 21740 µg/ディスク)、代謝活性化系では 10870 µg/ディスクから公比 2 で 5 用量 (679.4, 1359, 2718, 5435, 10870 µg/ディスク) を設定した。陰性対照として硫酸カナマイシン、陽性対照として MMC (マイトマイシン C) および Trp-P-1 を用いた。

判定基準 : 2 プレート の平均を求め、H17 株および M45 株に対する生育阻止帯の直径差が 3 mm 以上である場合を陽性とし、2.0 mm 以上 3.0 mm 未満でかつ、用量反応関係が認められたものを擬陽性と判定し、それ以下の場合を陰性とした。

試験結果 : 結果を次頁以降の表に示す。検体は代謝活性化の有無に係わらず両株に生育阻止帯を示したが、いずれの濃度においても、3 mm 以上の阻止帯差は観察されなかった。一方、溶媒対照では、両株に生育阻止帯を示さなかった。また、陰性対照として用いた硫酸カナマイシンでは、両株に生育阻止帯を示したが、3 mm 以上の阻止帯差は観察されなかった。陽性対照として用いた MMC および Trp-P-1 では、両菌株に明らかな生育阻止帯を示し、3 mm 以上の阻止帯差が認められた。

以上の結果より、検体は、本試験条件下で DNA 損傷誘発性を示さないと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-変異原〉

DNA 修復試験結果 (表中の数値は2プレートの平均値)

| 薬物 | 濃度 (μg /ディスク) | S9Mix の有無 | 阻止帯 (mm) | | 差 (mm) |
|--------------------|------------------------------|--------------|----------|-------|--------|
| | | | M45 | H17 | |
| 溶媒対照 (DMSO) | — | — | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 検体 | 1359 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 2718 | | 1.15 | 0.00 | 1.15 |
| | 5435 | | 2.05 | 1.90 | 0.15 |
| | 10870 | | 4.45 | 3.80 | 0.65 |
| | 21740 | | 5.10 | 4.85 | 0.25 |
| 陰性対照 (硫酸カナマイシン) | 0.3 | | 2.90 | 2.75 | 0.15 |
| 陽性対照 (MMC) | 0.02 | 15.70 | 5.50 | 10.20 | |
| 溶媒対照 (DMSO) | — | + | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 検体 | 679.4 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 1359 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 2718 | | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| | 5435 | | 2.55 | 2.20 | 0.35 |
| | 10870 | | 2.35 | 1.45 | 0.90 |
| 陰性対照 (硫酸カナマイシン) | 0.3 | | 2.95 | 2.35 | 0.60 |
| 陽性対照 (Trp-P-1) | 20 | 8.60 | 3.85 | 4.75 | |

MMC : マイトマイシン C

⑬ 生体機能影響

アセタムプリドにおける薬理試験

(資料 No. 毒 A34)

試験機関:

報告書作成年:1993年

検体純度 :

1) マウスの中樞神経系に対する作用

① マウスにおける一般状態

試験動物 : Crj:ICR 系マウス、5～6 週齢、体重:雄 27.7～31.9 g、1 群 3 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、1、3、5、10、20、30 および 60 mg/kg を腹腔内投与し、一般症状を Irwin の多元観察法に従って評価した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。

結果 : 0、1、3 および 5 mg/kg 投与群では、マウスに何ら影響を与えなかった。10 mg/kg 投与群では 3 例中 1 例に自発運動量の軽度な低下および発声が認められた。20 mg/kg 投与群では警戒性、自発運動量、身づくろいおよび反応性の軽度～中程度の低下、握力の軽度の低下や異常姿勢、受動態、よろめき歩行および振戦が認められた。30 mg/kg 投与群では警戒性、身づくろい、触覚反応、疼痛反応、正向反射、四肢筋緊張度、耳介反射および同側屈筋反射の軽度の低下、反応性、自発運動量および握力の著しい低下、異常姿勢、振戦および痙攣がみられ、3 例中 1 例が投与 120 分後に死亡した。これらの症状は投与 5 分～60 分後にかけて最も顕著であったが、生存個体においては 120 分以降徐々に回復し、投与 1 日後にはすべての症状は消失した。60 mg/kg 投与群においては全例が反応性、自発運動量の著しい低下、受動態、振戦などの症状を呈して、投与 30 分以内に全例死亡した。

| 用量 (mg/kg, i.p.) | | 0 | 1 | 3 | 5 | 10 | 20 | 30 | 60 |
|------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|-------------|-----|
| 一般症状 | 死亡数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 3/3 |
| | 異常症状 | - | - | - | - | + | + ~ ++ | ++ ~ +++ | +++ |

-; 異常症状なし、+; 軽度、++; 中程度、+++; 重度

② ウサギにおける一般状態

試験動物 : Kbs:ニュージーランド白色種ウサギ、11～13 週齢、体重:雄 2.48～2.84 kg、1 群 3 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、10、30 および 60 mg/kg を耳介静脈より静脈内投与し、一般症状を多元観察法に従って評価した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を耳介静脈より静脈内投与した。

結果 : 0 および 10 mg/kg 投与群では、ウサギに何ら影響を与えなかった。30 mg/kg 投与群では、3 例中 1～2 例に投与 5 分～180 分後にかけて自発運動量、警戒性、四肢筋緊張、腹筋緊張および瞳孔反射の軽度な低下、呼吸数の軽度な増加および痙攣、運動失調、散瞳が認められた。これらの症状は投与 1 日後にはすべて消失した。60 mg/kg 投与群においては自発運動量および筋緊張の著しい低下、痙攣、散瞳、呼吸異常およびチアノーゼなどを呈して、投与 60 分以内に全例死亡した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－生体機能影響〉

| 用量(mg/kg, i.v.) | | 0 | 10 | 30 | 60 |
|-----------------|------|-----|-----|-----|-----|
| 一般症状 | 死亡数 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| | 異常行動 | - | - | + | +++ |

-;異常症状なし,+;軽度,+++;重度

③マウスの自発運動量に対する作用

試験動物 : Crj:ICR系マウス、5～6週齢、体重:雄26.7～36.4g、1群9匹

投与方法 : 検体を20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10および20mg/kgを腹腔内投与した。0mg/kg群は20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与直後から60分後までの自発運動量および立ち上がり回数を動物自発運動量測定装置を用いて15分ごとに5分間ずつ測定した。

結果 : 5mg/kg投与群では、投与60分後まで自発運動量および立ち上がり回数に有意な変化は認められなかった。10mg/kg投与群においても、有意差はみられなかったが、投与15分～60分後の自発運動量および立ち上がり回数は減少する傾向にあった。20mg/kg投与群では投与15、30、45および60分の各時間において自発運動量および立ち上がり回数に有意な減少が認められた。

| 用量(mg/kg, i.p.) | 0 | 5 | 10 | 20 |
|-----------------|---|---|----|----|
| 自発運動量 | - | - | ± | + |
| 立ち上がり回数 | - | - | ± | + |

-;変化なし,±;疑作用,+;抑制作用あり

④マウスの睡眠時間に対する作用

試験動物 : Crj:ICR系マウス、5～6週齢、体重:雄26.4～32.0g、1群8匹

投与方法 : 検体を20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10および20mg/kgを腹腔内投与した。0mg/kg群は20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与30分後に50mg/kgのペントバルビタールナトリウムを腹腔内投与して、正向反射の消失から回復までの時間を睡眠時間として測定した。

結果 : 5および10mg/kg投与群では、睡眠時間に有意な変化は認められなかった。20mg/kg投与群では、有意な睡眠時間の延長作用が認められた。

| 用量(mg/kg, i.p.) | 0 | 5 | 10 | 20 |
|-----------------|---|---|----|----|
| 睡眠時間延長作用 | - | - | - | + |

-;なし,+;延長作用あり

⑤マウスの最大電撃痙攣に対する作用

試験動物 : Crj:ICR系マウス、7週齢、体重:雄28.6～34.5g、1群8匹

投与方法 : 検体を20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10および20mg/kgを腹腔内投与した。0mg/kg群は20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与30

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－生体機能影響〉

分後に電気刺激装置を用いて角膜に最大電撃を与え、強直性屈曲痙攣、強直性伸展痙攣および間代性痙攣の有無を観察した。

結 果 : 5~20 mg/kg のいずれの投与群においても、抗痙攣作用は認められなかった。

⑥マウスの鎮痛に対する作用

試験動物 : Crj:ICR 系マウス、5~6 週齢、体重:雄 26.1~31.9 g、1 群 8 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与 30 分後に 1.2%酢酸生理食塩水を腹腔内投与し、酢酸溶液投与 5 分後から 10 分間のライジング回数を測定した。

結 果 : 5~20 mg/kg のいずれの投与群においても、ライジング回数に有意な変化は認められなかったが、20 mg/kg 投与群ではライジング回数の減少傾向がみられた。

⑦ラットの体温に対する作用

試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、7 週齢、体重:雄 262.4~323.2 g、1 群 8 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与直前および腹腔内投与後、30 分、60 分、120 分の直腸温をサーミスタ温度計を用いて測定した。

結 果 : 5~20 mg/kg のいずれの投与群においても、投与 120 分後まで体温に影響を与えなかった。

⑧マウスの筋弛緩作用

試験動物 : Crj:ICR 系マウス、5~6 週齢、体重:雄 29.2~33.7 g、1 群 8 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与 30、60、90、120、150、180 分後に水平にわたした針金に前肢をかけさせ、5 秒以内に後肢を針金にかけられるか否かを観察した。かけられなかった場合を筋弛緩作用陽性であると判定した。

結 果 : 5 および 10 mg/kg 投与群では、筋弛緩作用は認められなかった。20 mg/kg 投与群では、投与 60 分後に筋弛緩作用の傾向がうかがえたが、有意差は認められなかった。

2)呼吸・循環器系に対する作用

①ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

試験動物 : Kbs:ニュージーランド白色種ウサギ、12~15 週齢、体重:雄 2.65~3.17 kg、1 群 3~4 匹

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体—生体機能影響〉

投与方法 : ウサギをウレタンにより麻酔した後、20%DMSO-生理食塩水に懸濁させた検体 1、3 および 10 mg/kg を大腿静脈より静脈内投与した。0 mg/kg 群は20%DMSO-生理食塩水を大腿静脈より静脈内投与した。呼吸、血圧および心拍数に対する作用について、ポリグラフ上に記録した。

結果 : 1 mg/kg 投与群では、計測したパラメータにほとんど影響を与えなかった。3 および 10 mg/kg 投与群では、血圧の軽度の降下が認められ、軽度で一過性の呼吸数の増加傾向がみられた。心拍数については、1~10 mg/kg のいずれの投与群においても有意な変化は認められなかった。

| 用量(mg/kg, i.v.) | | 1 | 3 | 10 |
|-----------------|-----|-----|-----|-----|
| 死亡数 | | 0/4 | 0/3 | 0/4 |
| 循環パラメータ | 血圧 | - | + | + |
| | 心拍数 | - | - | - |
| | 呼吸 | - | ± | ± |

-;異常なし、±;疑作用、+;軽度な低下作用

3) 自律神経系に対する作用

①モルモットの摘出回腸に対する作用

試験動物 : Std:ハートレー系モルモット、4~6 週齢、体重:雄 284.2~416.7 g、1 収縮薬につき 7 標本

投与方法 : 検体は DMSO に溶解し、最終濃度が 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} g/mL となるように添加した。一晩絶食させたモルモットから得た回腸を使用した。検体自身による収縮および弛緩反応を観察した後、収縮薬として塩化アセチルコリン(最終濃度: 10^{-7} g/mL)、2 リン酸ヒスタミン(10^{-7} g/mL)、塩化バリウム 2 水和物(10^{-4} g/mL)および酒石酸ニコチン(10^{-5} g/mL)を用い、惹起される回腸の収縮反応に対する検体の影響を検討した。

結果 : 検体単独投与において、 10^{-6} および 10^{-5} g/mL ではモルモット摘出回腸に対して何らの作用も示さなかったが、 10^{-4} および 10^{-3} g/mL では一過性の収縮とそれに引き続いて起こる弛緩作用が観察された。各収縮薬に対する弛緩作用については、各収縮薬とも 10^{-6} ~ 10^{-4} g/mL では有意な作用はみられなかった。 10^{-3} g/mL においては、検討した全ての収縮薬に対して有意な収縮抑制作用が認められた。

| 濃度(g/mL) | | 10^{-6} | 10^{-5} | 10^{-4} | 10^{-3} |
|---------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| モルモット 回腸標本 | 直接作用 | - | - | # * | ## * |
| | 10^{-7} g/mL アセチルコリン | - | - | - | + |
| | 10^{-7} g/mL ヒスタミン | - | - | - | + |
| | 10^{-4} g/mL 塩化バリウム | - | - | - | + |
| | 10^{-5} g/mL ニコチン | - | - | - | + |

Scheff, Dunnett の多重比較検定 *: $P < 0.01$

#;一過性の収縮後弛緩(軽度)、##;一過性の収縮後弛緩(中程度)

+:収縮抑制作用

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体—生体機能影響〉

4) 消化器に対する作用

① マウスの小腸輸送能に対する作用

試験動物 : Crj:ICR 系マウス、6 週齢、体重:雄 23.6~29.0 g、1 群 8 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-蒸留水に懸濁させ、10、20 および 40 mg/kg を一晩絶食させたマウスに経口投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-蒸留水を同様に経口投与した。投与 30 分後に 10%アラビアゴムに懸濁した 5%活性炭末液 0.2 mL を経口投与した。30 分後に屠殺し、小腸全長に対する活性炭の移行率を測定した。

結果 : 10 および 20 mg/kg 投与群では、小腸輸送能に対する影響は認められなかった。40 mg/kg 投与群では、有意な小腸輸送能の低下が認められた。

| 用量(mg/kg, p.o.) | 0 | 10 | 20 | 40 |
|-----------------|---|----|----|----|
| 小腸輸送能抑制作用 | - | - | - | + |

-;なし、+;作用あり

5) 血液に対する作用

① 血液凝固に対する作用

試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5~6 週齢、体重:雄 154.9~195.0 g、1 群 8 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与 30 分後にエーテル麻酔下に腹部大動脈からディスポーザル注射筒に約 5 mL 採血した。この血液を 2 mL ずつ 2 本の試験管に分注して 37 °C に保ち、一方の試験管を 10 秒毎に傾けて血液が凝固するかどうかを確かめ、凝固を確認した後に他方の試験管で同様の操作を行い、血液が凝固するまでの時間を測定した。採血開始から 2 本目の試験管内の血液が凝固するまでの時間をもって血液凝固時間とした。

結果 : 5~20 mg/kg のいずれの投与群においても、全血凝固能に影響を与えなかった。

② 溶血性試験

試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、5~6 週齢、体重:雄 174.1~207.5 g、1 群 8 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与 30 分後にエーテル麻酔下に腹部大動脈から採血した。このヘパリン加血液の血漿について分光光度計を用いて 540 nm の吸光度を測定した。

結果 : 5~20 mg/kg のいずれの投与群においても、溶血作用は認められなかった。

6) 泌尿器に対する作用

① ラットの尿及び電解質代謝に対する作用

試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、6~7 週齢、体重:雄 213.9~272.9 g、1 群雄 8 匹

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－生体機能影響〉

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与後、直ちに生理食塩水を 25 mL/kg 経口投与した後 6 時間までの尿を採尿した。尿量を測定後、Na、K、Cl アナライザーにより Na⁺、K⁺ および Cl⁻ を定量した。

結果 : 5 および 10 mg/kg 投与群では、尿量および尿中 Na⁺、K⁺ および Cl⁻ 濃度に影響を与えなかった。20 mg/kg 投与群では、尿量の有意な減少、尿中 Na⁺ および Cl⁻ 濃度の有意な低下が認められた。

| 用量 (mg/kg, i.p.) | 0 | 5 | 10 | 20 |
|---------------------|---|---|----|----|
| 尿量 | - | - | - | + |
| 尿中 Na ⁺ | - | - | - | + |
| 尿中 K ⁺ | - | - | - | - |
| 尿中 Cl ⁻ | - | - | - | + |

-; なし +; 低下作用あり

7) 酵素に対する作用

① ラットの血漿コリンエステラーゼ活性に対する作用

試験動物 : Crj:CD(SD)系ラット、6 週齢、体重:雄 201.9~239.6 g、1 群 6 匹

投与方法 : 検体を 20%DMSO-生理食塩水に懸濁させ、5、10 および 20 mg/kg を腹腔内投与した。0 mg/kg 群は 20%DMSO-生理食塩水を腹腔内投与した。投与 30 分後にエーテル麻酔下に腹部大動脈から採血した。このヘパリン加血液の血漿を用いてチオコリンエステルを基質として自動化学分析装置を用いてコリンエステラーゼ活性を測定した。

結果 : 5~20 mg/kg のいずれの投与群においても、ラットの血漿コリンエステラーゼ活性に影響を与えなかった。

以上の結果を総括表に要約する。

以上、検体は、自律神経に対する作用として血圧降下、散瞳および胃腸管運動抑制等、骨格筋に対する作用として筋弛緩作用、中枢神経に対する作用として振戦および自発運動量減少等、その他の作用として抗利尿作用を示した。これらの作用は主として神経系、特に自律神経節および神経筋接合部に対する遮断作用によると考えられ、その作用発現用量は、腹腔内投与においては 10 mg/kg、静脈内投与においては 3 mg/kg、経口投与においては 40 mg/kg、*in vitro* 試験においては 10⁻⁴ g/mL であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－生体機能影響〉

生体機能影響試験の総括表

| 試験項目 (試験動物) | 投与経路 (溶媒) | 投与量 (mg/kg) | 動物数 /群 | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果の概要 |
|-------------------------------------|---------------------------------|--|-----------|----------------|-----------------|--|
| 中枢神経系 一般症状 [Irwin 法] (マウス) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 1 3 5 10 20 30 60 | 雄 3 | 10 | 5 | 自発運動、警戒性、反応性、身づくろい、握力、反射および筋緊張の低下、異常姿勢、受動態、よろめき歩行、振戦、痙攣、死亡 (≥30 mg/kg) |
| 中枢神経系 一般症状 (ウサギ) | 耳静脈内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 10 30 60 | 雄 3 | 30 | 10 | 自発運動、警戒性、筋緊張および瞳孔反射の低下、呼吸数の増加および異常、痙攣、運動失調、散瞳、チアノーゼ、死亡 (≥60 mg/kg) |
| 中枢神経系 自発運動量 (マウス) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 9 | 10 | 5 | 自発運動量の減少 (≥10 mg/kg) |
| 中枢神経系 睡眠時間 (マウス) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | 20 | 10 | 睡眠時間延長 (≥20 mg/kg) |
| 中枢神経系 最大電撃 痙攣 (マウス) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | >20 | 20 | 影響なし |
| 中枢神経系 鎮痛作用 (マウス) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | 20 | 10 | 鎮痛作用 (≥20 mg/kg) |
| 中枢神経系 体温 (ラット) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | >20 | 20 | 影響なし |
| 中枢神経系 筋弛緩作用 (マウス) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | 20 | 10 | 筋弛緩作用 (≥20 mg/kg) |
| 呼吸・ 循環器系 呼吸・循環器 (ウサギ) | 大腿 静脈内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 1 3 10 | 雄 3~4 | 3 | 1 | 呼吸数増加、血圧低下 (≥3 mg/kg) |

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体－生体機能影響〉

生体機能影響試験の総括表 つづき

| 試験項目 (試験動物) | 投与経路 (溶媒) | 投与量 (mg/kg) | 動物数 /群 | 作用量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 結果の概要 |
|--------------------------------|---------------------------|---|--------------|------------------------------|------------------------------|---|
| 自律神経系 摘出回腸 (モルモット) | マグヌス法 (DMSO) | 1×10^{-6} 1×10^{-3} (g/mL) | 7 標本/ 収縮薬 | 1×10^{-4} (g/mL) | 1×10^{-5} (g/mL) | 一過性の収縮後、弛緩 ($\geq 1 \times 10^{-4}$ g/mL) |
| 消化器系 小腸輸送能 (マウス) | 経口 (20%DMSO 蒸留水) | 0 10 20 40 | 雄 8 | 40 | 20 | 小腸輸送能抑制作用 (≥ 40 mg/kg) |
| 血液 凝固性 (ラット) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | >20 | 20 | 影響なし |
| 血液 溶血性 (ラット) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | >20 | 20 | 影響なし |
| 泌尿器系 尿・尿電解質 (ラット) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 8 | 20 | 10 | 尿量減少、尿中 Na^+ 、 Cl^- 減少(≥ 20 mg/kg) |
| 酵素 コリンエステ ラーゼ活性 (ラット) | 腹腔内 (20%DMSO 生理食塩水) | 0 5 10 20 | 雄 6 | >20 | 20 | 影響なし |

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-その他>

⑨ その他

1) 解毒および治療

(1) マウスにおける解毒[治療効果]試験

(資料 No. 毒 A35)

試験機関:

報告書作成年: 1994 年

検体純度 :

試験動物 : Crj:ICR 系マウス、6~11 週齢、体重: 雄 25.7~43.3 g

投与方法 : 検体を 1%ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油/生理食塩水に懸濁し、150 mg/kg を経口投与した。

投与量設定根拠:

試験方法 : 検体を経口投与した直後に解毒剤として塩酸ドキサプラム(5、10 mg/kg、静脈内投与)、ジモルホラミン(3、10 mg/kg、静脈内投与)、ジアゼパム(0.1、0.3、1 mg/kg、静脈内投与)、メチル硫酸ネオスチグミン(0.2 mg/kg、皮下投与)、グルタチオン(10、30 mg/kg、静脈内投与)、グリチルリチン(2、6 mg/kg、静脈内投与)及びL-メチオニン(20、50 mg/kg、静脈内投与)を1回投与した。なお、試験動物は投与前日の夕方から絶食させた。

観 察 : 一般状態、生死について投与後 1 日目まで観察した。

試験結果 : 結果を以下の表に示す。

| 解毒剤 | 投与量(mg/kg) | 死亡数/試験数(%) |
|------------------|------------|----------------|
| 溶媒対照 | - | 39/ 48 (81.3) |
| 塩酸ドキサプラム | 5 i.v. | 2/ 2 (100) |
| | 10 i.v. | 10/ 13 (76.9) |
| ジモルホラミン | 3 i.v. | 7/ 7 (100) |
| | 10 i.v. | 17/ 18 (94.4) |
| ジアゼパム | 0.1 i.v. | 4/ 5 (80.0) |
| | 0.3 i.v. | 4/ 5 (80.0) |
| | 1 i.v. | 6/ 10 (60.0) |
| メチル硫酸 ネオスチグミン | 0.2 s.c. | 10/ 10 (100) |
| グルタチオン | 10 i.v. | 9/ 18 ↓(50.0) |
| | 30 i.v. | 5/ 17 ↓↓(29.4) |
| グリチルリチン | 2 i.v. | 5/ 19 ↓↓(26.3) |
| | 6 i.v. | 5/ 19 ↓↓(26.3) |
| L-メチオニン | 20 i.v. | 7/ 19 ↓↓(36.8) |
| | 50 i.v. | 2/ 16 ↓↓(12.5) |

χ^2 test ↓: P<0.05、↓↓: P<0.001

検体を 150 mg/kg 経口投与後にグルタチオン(10、30 mg/kg)、グリチルリチン(2、6 mg/kg)及びL-メチオニン(20、50 mg/kg)を各1回静脈内投与することにより、死亡時間の延長はみられなかったが、検体による死亡率の有意な低下が認められた。また、中毒症状の強さを示すスコアも有意に低下し、症状の軽減も認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-その他〉

以上の結果から、上記の実験条件において、検体のマウスにおける急性毒性作用に対して、薬物中毒に適用のあるグルタチオン及び L-メチオニン、抗アレルギー作用、抗炎症作用ならびに薬物中毒解毒作用のあるグリチルリチンは有効な解毒作用を示した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-その他〉

(2) マウスにおける解毒[治療効果]試験(追加試験)

(資料 No. 毒 A36)

試験機関:

報告書作成年:1996年

検体純度 :

試験動物 : Crj:ICR系マウス、6~8週齢、体重:雄 28.2~36.9g

投与方法 : 検体を0.5%CMCに懸濁し、100、120、140、160及び180mg/kgを経口投与した。

試験方法 : 検体を経口投与した直後に解毒剤としてグルタチオンあるいはグリチルリチンを1回尾静脈より投与した。グルタチオンは、生理食塩水に希釈して、30及び100mg/kgを、グリチルリチンは生理食塩水に希釈あるいは原液のままを、6及び20mg/kgで投与した。なお、試験動物は投与前3~4時間絶食させた。

観 察 : 一般状態、生死について投与後14日目まで観察した。

試験結果 : 結果を下表に示す。

| 解毒剤の種類 (投与量) | 検体投与量(mg/kg) | | | | | LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界 |
|-----------------------|--------------|--------------|----------------|----------------|--------------|-------------------------------------|
| | 100 | 120 | 140 | 160 | 180 | |
| 生理食塩水 | 5/15 (33) | 9/15 (60) | 13/15 (87) | 15/15 (100) | 5/5 (100) | 111 99 - 119 |
| グルタチオン (30 mg/kg) | 4/15 (27) | 4/15 (27) | ↓8/15 (53) | ↓11/15 (73) | - | ↑135 117 - 167 |
| グルタチオン (100 mg/kg) | 3/15 (20) | 4/15 (27) | ↓↓5/15 (33) | 13/15 (87) | - | ↑137 124 - 159 |
| グリチルリチン (6 mg/kg) | 3/15 (20) | 6/15 (40) | ↓↓5/15 (33) | 13/14 (93) | - | ↑132 119 - 150 |
| グリチルリチン (20 mg/kg) | 2/15 (13) | 5/15 (33) | ↓↓6/15 (40) | ↓↓8/15 (53) | 5/5 (100) | ↑153 133 - 391 |

表中の分数は死亡動物数/使用動物数、括弧内に発生率(%)

χ^2 test ↓: P<0.05、↓↓: P<0.01

平行線検定法 ↑: P<0.05

グルタチオンの30及び100mg/kg投与群及びグリチルリチンの6及び20mg/kg投与群で死亡率の低下が認められ、またLD₅₀値についても両解毒剤投与により有意な改善が認められた。解毒剤として用いられたこれらの薬剤は、一般の薬物中毒に適応されており、肝での薬物代謝の促進を介することにより、検体の中毒症状の軽減を引き起こした可能性が考えられた。

しかし、検体の低投与量(100及び120mg/kg)においては、いずれも解毒剤でも明白な効果は得られず、LD₅₀値の改善も最高で1.38倍(グリチルリチン20mg/kg)程度と決して大きいものではなかった。

以上の結果から、グルタチオン及びグリチルリチンの投与は、検体による急性の死亡を有意に低下させたが、LD₅₀値の改善では最高でも1.38倍程度であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-その他〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-その他〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-その他〉

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

〈原体-その他〉