

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

アクリナトリンのイヌを用いた

52週間慢性毒性試験

(資料No.23)

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬(開始時7～8ヶ月齢)、1群雌雄各6匹

開始時平均体重 雄8.5kg、雌7.5kg

投与期間：52週間(1988年4月28日～1989年5月3日)

方法：検体をゼラチンカプセルに封入し0、1、3及び10mg/kg/日の投与レベルで、1年間にわたって毎日強制経口投与した。ゼラチンカプセルは1週間に1回各動物用に秤量し1回分ずつカプセルに封入した。

用量設定の根拠；イヌにおける強制経口投与による90日間亜急性毒性試験(資料No.19)の結果、10mg/kg投与群で軽度な体重増加抑制と、10mg/kg投与群を含めすべての投与群で下痢及び嘔吐がみられたが、他には特記すべき症状は認められなかったので本試験でも1、3及び10mg/kgの3投与群を設定した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

対照群を含む全群で、軟便又は下痢が散発的にみられた。下痢が認められた動物数及び発生頻度消長を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄	症状発現 動物数*	0-50 日	51-100 日	101-150 日	151-200 日	201-250 日	251-300 日	301-364 日
0	雄	0/6	0	0	0	0	0	0	0
	雌	1/6	0	0	0	1	3	0	0
1	雄	5/6	0	1	3	2	1	1	1
	雌	5/6	0	3	2	1	3	3	3
3	雄	2/6	0	1	1	0	1	0	0
	雌	5/6	1	3	3	0	0	1	2
10	雄	4/6	4	1	5	7	1	2	0
	雌	4/6	2	6	4	2	1	1	4

\*分母は供試動物数、分子は症状発現動物数を表す。

表中(期間内)の数値は発現延動物数を示す。

申請者注：この表は申請者が別巻の個体別臨床症状から作成した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

観察された下痢は、検体投与に関連した影響であると考えられる。しかし、試験期間を通し、下痢の発生頻度は低く、極めて軽度であったので動物の一般的健康状態を損なうことはなかった。いずれの群でも死亡例はみられなかった。

体重変化：投与開始前1週、投与開始日、その後は試験終了時まで週1回全ての動物の体重を測定した。下表に対照群と比べ有意差のみられた期間の体重変化の推移を示す。

投与量 mg/kg/日		検査時期(週)			
		1-9	10-13	14-22	
0	雄雌				
1	雄雌				
3	雄雌				
10	雄	↓ 84-85 (5-8)	↓ 82 (9)	↓ 85-86 (10-11)   ↓ 83 (12-13)	↓ 80-87 (14-22)
	雌	↓ 86 (3)			

投与量 mg/kg/日		検査時期(週)			
		23-28	29-42	43-53	
0	雄雌				
1	雄雌				
3	雄雌				
10	雄	↓ 81 (23)	↓ 81-83 (24-27)   ↓ 79 (28)	↓ 80-83 (29-35)	↓ 82-83 (43-46)
	雌				

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値  
空欄は有意差のないことを示す。

Dunnettの検定、↓ : p<0.05, ↓↓ : p<0.01

10mg/kg投与群の雄で、投与開始後5～35週及び43～46週に、また雌では投与開始後3週時に有意な体重増加抑制が見られた。しかし、その他の群の平均体重は雌雄とも対照群と同等であった。

摂餌量：投与開始前1週間及び投与開始後試験終了時まで毎日全動物の摂餌量を測定した。

数匹の動物で散発的な摂餌量の減少が認められたが毒性学的意義はないものと考えられた。

血液学的検査：投与開始前、投与開始後13、26及び52週時に全動物を対象として、1夜絶食後頸静脈から採血し、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度、総白血球数、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

白血球百分率、血小板数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、フィブリノーゲン濃度を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差がみられた項目を下表に示す。()内は実測値

検査時期	性別	雄			雌			*個体別範囲	
	投与群 (mg/kg)	1	3	10	1	3	10	雄	雌
13週	MCH (pg)		↑ 105 (23.9)					21.3- 23.9	
	プロトロン ビン時間 (秒)			↓ 88 (6.1)	↓ 91 (6.3)			6.5- 7.5	6.3- 7.5
	APTT (秒)				↑ 112 (13.7)				11.3- 14.6
	単球比 (%)						↓ 33 (1)		0-6
	単球 (g/l)						↓ 25 (0.1)		0-0.9
26週	赤血球数 (T/l)				↓ 90 (6.87)		↓ 90 (6.83)		6.14- 7.99
	単球比 (%)						↑ 300 (3)		0-6
52週	プロトロン ビン時間 (秒)			↓ 86 (5.9)	↓ 92 (7.1)	↓ 90 (6.9)	↓ 91 (7.0)	6.5- 7.5	6.1- 8.3

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

Mann-Whitneyの検定又はDunnettの検定 ↓ ↑ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

\* : 投与前期間検査時の値および対照群の値の範囲

各検査時期のいくつかの検査項目において、対照群との間に統計学的有意差が認められたが、いずれの検査項目でも変化は明確ではなく、また、各検査時とも投与群の動物の個体別の値は対照群および投与前期間の検査時で認められた値とほぼ同等であり、検体投与に起因する変化ではないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血液を用いてクレアチニン、総蛋白、総ビリルビン、総コレステロール、トリグリセリド、アルカリフォスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、クレアチンキナーゼ、 $\gamma$ -グルタミントランスフェラーゼ(GGT)、アルブミン、 $\alpha$ -1-グロブリン、 $\alpha$ -2-グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、 $\gamma$ -グロブリン、アルブミン/グロブリン比(A/G比)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、グルコース及び尿素窒素を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差がみられた項目を下表に示す。

性 別		雄			雌		
検査時期	投与群(mg/kg)	1	3	10	1	3	10
13週	ナトリウム			↑ 102		↑ 102	↑ 101
	塩素				↑ 102		
	グルコース				↓ 87		
	クレアチニン					↑ 114	
	総蛋白				↓ 97		
	コレステロール				↓ 74		
	ALAT						↑ 135
	A/G比	↑ 131					
	アルブミン比	↑ 110					
	アルブミン	↑ 111					
	$\beta$ -グロブリン				↑ 109		
$\gamma$ -グロブリン	↓ 69		↓ 74				
26週	ALP		↑ 173				
	GGT		↑ 200				
	総ビリルビン				↓ 67		
	トリグリセリド					↓ 56	
	$\gamma$ -グロブリン					↓ 82	
52週	塩素			↑ 102			
	ナトリウム					↑ 101	
	クレアチニン					↑ 117	
	ALP			↑ 151			
	ALAT			↑ 148			
	$\gamma$ -グロブリン比						↓ 76
	$\gamma$ -グロブリン						↓ 75

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

Mann-Whitneyの検定又はDunnettの検定 ↓ ↑ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与期間中、いくつかの検査項目において、対照群との間に散発的な統計学的有意差がみられたが、用量相関性がみられず、変化の程度も軽度であり、同研究所における同一系統の動物の背景データの正常値範囲内にあったことから、検体に起因する変化ではないと考えられた。

申請者注：背景データは入手できなかったが、統計学的有意差は散発的であることから検体投与による影響とは考えられない。

尿 検 査；投与開始前、投与開始後13、26及び52週時に全動物を対象として、尿量、外観、比重、pH、ウロビリノーゲン、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩及び沈渣を検査した。

各群各検査時期のいずれの検査項目においても統計学的に有意な変化はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前、投与開始後13、26及び52週時に全動物について間接検眼鏡を用いて検査した。

投与量 (mg/kg/日)	雄								
	検査時期	投与前		13週		26週		52週	
	検査動物	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	6	1	6	1	6	1	6	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	2	2
	5	6	6	6	6	6	6	6	3*,6
	6	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	7	7	7	7	7	7	7	7
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	1	1	1	1	1	1	1	4
10	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	5	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	3**	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	1	1	1	1	1	1	1	1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/日)	雌								
	検査時期	投与前		13週		26週		52週	
	検査動物	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	1	1	1	1	1	1	1	1
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	1	1	1	1	1	1	1	1
10	1	7	7	7	7	7	7	7	7
	2	1	1	1	1	6	1	1	1
	3	1	1	1	1	1	1	1	1
	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	1
	6	7	7	7	7	7	7	7	7

1: 異常なし 2: 角膜白斑 3: 角膜の混濁斑 4: 硝子体動脈の痕跡

5: 硝子体内の斑点 6: 網膜の色素斑 7: 眼底の低色素症

\*: 皮質 \*\*: 水晶体囊後部

対照群を含めた投与群で、網膜の色素斑、眼底の低色素症等の極軽度の病変が認められたが、これらの変化は試験開始前にもみられ、検体投与による影響とは考えられなかった。

神経学的検査；投与開始前、投与開始後4、13、26及び52週時に全動物を対象にして、脳神経反射、体節反射及び姿勢反射を検査した。

各群各検査時期のいずれの検査項目においても異常はみられなかった。

臓器重量；投与終了時(52週)全動物を約16時間絶食させた後解剖し、副腎、脳、肝、甲状腺(上皮小体を含む)、腎、卵巣及び精巣(精巣上体を含む)の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

以下に対照群と比較して統計学的有意差を示した項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与量(mg/kg)		1		3		10	
検査時期(週)		52					
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌
体重							
精巣	重量	↓ 148					
	対体重比	↑ 152		↑ 144		↑ 148	
甲状腺	対体重比					↑ 122	

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

Mann-Whitneyの検定又はDunnettの検定 ↓ ↑ : p<0.05, ⇕ : p<0.01

雄で精巣重量、体重比及び甲状腺体重比に統計学的に有意な増加がみられたが、いずれも毒性学的に有意な変化ではなく、検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了後(52週)の全動物を対象として、検査をした。

各群の各動物でみられた所見は同研究所で通常みられる自然発生的な疾病に関連したものであり、検体投与に起因するものではなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、重量測定臓器を含め、気管、肺、大動脈、心、胸骨(骨髄を含む)、胸腺、脾、下垂体、リンパ節(下顎および腸間膜)、唾液腺(耳下腺及び顎下腺)、胆嚢、臍、大腿骨、関節、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、眼、膀胱、前立腺、精巣上体、膾、子宮、乳腺(皮膚を含む)、骨格筋及び肉眼的病変部について、病理標本作製し、検鏡した。多発した主な所見を下表に示す。

(数値は出現動物数)

投与量(mg/kg)		0		1		3		10	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
供試動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
肝	慢性炎症	0	3	0	2	1	3	2	0
耳下腺	慢性炎症	2	1	2	3	3	2	3	2
顎下腺	慢性炎症	0	1	1	1	2	2	0	2
下垂体	発育性嚢胞	3	1	1	2	3	3	2	1
リンパ節	ヘモシデリン沈着	2	0	1	0	0	1	1	1
脾	ヘモシデリン沈着	1	0	1	0	0	0	0	1
	うっ血	2	4	0	1	2	1	1	2
胸腺	嚢胞	3	2	2	0	1	2	2	3
甲状腺	発育性嚢胞	3	0	1	2	2	3	1	1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

認められた変化は、いずれも同研究所で通常みられる自然発生的な変化であり、検体投与に起因するものではなかった。

検体の特性から、脳、坐骨神経及び脊髄の検査は、特に注意して行ったが、検体投与に関連した変化はみられなかった。

以上の結果から、アクリナトリンを52週間強制経口投与して行った慢性毒性試験で、最高投与量の10mg/kg/日で雄の体重増加が一時的に抑制されたことから、本剤のNOAELは雄では3mg/kg/日、雌では10mg/kg/日であると判断される。なお、どの投与群でも中等度の下痢が、極僅かな発現頻度で散発的にみられたが、動物の一般的健康状態が損なわれることはなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

⑤ アクリナトリンの犬を用いた  
13週間亜急性毒性試験(補足試験)

(資料No.23-1)

検体の純度：

供試動物：Marshall Farms系ビーグル犬、1群雌6匹

開始時約7ヶ月齢、平均体重 8.3kg

試験期間：13週間(1993年9月15日～1993年12月15日)

試験の目的：同研究所でビーグル犬を用いて0、1、3及び10mg/kg/日の用量でそれぞれ実施した90日間(資料No.19)および52週間(資料No.23)経口毒性試験でみられた下痢発現に関して無毒性量の検討を行うため。

投与方法：検体を乳糖入りゼラチンカプセルに封入し0.1、0.3、0.6、1および3mg/kg/日の用量で13週間にわたり強制経口投与した。

なお対照群には乳糖入りゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

用量設定根拠；1および3mg/kg/日は90日および52週間経口毒性試験の用量であり、新たに追加した3投与群0.1、0.3および0.6mg/kg/日は無毒性量を求めるためである。

試験項目および結果：一般状態および死亡率；水様便又は軟便症状を示す下痢が次表の通り観察された。

用量 (mg/kg/日)	下 痢			
	水 様 便		軟 便	
	発現動物数	動物当り発現 総日数(*平均)	発現動物数	動物当り発現 総日数(*平均)
0	1/6	1 (0.2)	6/6	1から5 (3)
0.1	2/6	2 (0.7)	6/6	2から25 (12)
0.3	2/6	1 (0.3)	6/6	2から20 (10)
0.6	3/6	1 から2 (0.8)	5/6	2から9 (5)
1	0/6	0 (0.0)	6/6	2から32 (12)
3	3/6	1 から4 (1.2)	6/6	5から17 (10)

\*平均：群の全動物で所見がみられた総日数/群の供試動物数(n=6)

統計学的解析：Kruskal - Wallis

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

水 様 便；発現頻度は低く投与群と対照群の動物で同等であった。

軟 便；ほぼ全動物にみられた。0.6mg/kg/日投与群と対照群の動物でほぼ同等の発現頻度を示したことから0.6mg/kg/日の投与レベルまではこの症状は投与に関係したものでないと考えられた。また、0.1及び0.3mg/kg/日投与群と1及び3mg/kg/日投与群の比較ではこの発現頻度は同等であったのでこれら2高投与群の軟便も投与に関係したのではないと考えられた。

軟便は下痢と定義したものの、水様便よりもより軽度な症状に限定されているので水様便に比べ重要性は少ないものと考えられる。また、嘔吐が対照群および0.1mg/kg/日投与群で各1例みられたが、投与に関係したものとは考えられなかった。

創 傷；1および3mg/kg/日投与群に各1例みられたが、この所見は対照群のビーグル犬でも偶発的にみられる極めて低頻度の症状でもあり投与に関係したものと考えられなかった。

なお死亡は認められなかった。

体重変化；群分け前に2回、投与の当日、それ以降毎週2回すべての動物の体重を測定した。

用 量	平均体重(14週目)		平均体重増加量(1~14週)	
	kg	対照群との差(%)	kg	投与1日目の 体重に対する差(%)
0	9.2	—	1.1	+14
0.1	9.1	-1	0.7	+8
0.3	9.3	+1	1.0	+12
0.6	9.1	-1	0.7	+8
1	9.0	-2	0.8	+10
3	8.7 (8.9)	-5 (-3)	0.4 (0.6)	+5 (+7)

統計学的解析：Dunnnettの検定

( )創傷を受けた動物1頭(J50175)を除いた値

14週目に3mg/kg/日投与群の動物の平均体重は対照群に比べやや低値(5%)であったが、この差は1頭(J50175)の動物が尾部に創傷を受けた時期以降体重減少をおこしていることに関係している。また統計学的な有意差もみられず、この低値は検体投与による影響とは考えられない。

摂 餌 量；投与開始前1週間および投与開始後毎日測定した。

投与群と対照群で差は認められなかった。

以上の結果から本剤をゼラチンカプセルに封入してビーグル犬に経口投与して行った13週間亜急性毒性試験でいかなる有害な一般状態もみられなかった。

従って臨床上、NOAELは3mg/kg/日と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

## (12)繁殖毒性及び催奇形性

### ① アクリナトリンのラットを用いた 繁殖試験

(資料No.25)

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley系ラット，投与開始時4週齢 1群雌雄各25匹

投与期間：P世代；投与開始からF<sub>1</sub>児動物離乳時までの約17週間

F<sub>1</sub>世代；離乳時からF<sub>2</sub>児動物離乳時までの約19週間

(1987年11月17日～1988年7月17日)

投与方法：検体を0、5、20及び80ppmを含有する飼料を自由に摂食させた。飼料は毎週調製した。

用量設定の根拠：0、2、6および18mg/kgの濃度で妊娠ラットを用いて行った予備試験(強制経口投与)の結果、2及び6mg/kg投与群の雌親動物で軽度な体重増加抑制がみられた。また18mg/kg投与群の雌親動物の体重増加抑制、死亡例の増加と生存産児率及び体重の減少がみられたことを考慮し、80ppmを最高投与量とする用量を設定した。

検体摂取量：摂餌量及び体重から算出した1日あたりの検体摂取量は以下の通りである。

世代	性別	1日あたり検体摂取量(mg/kg/日)		
		5ppm投与群	20ppm投与群	80ppm投与群
P	雄	0.57	2.2	9.0
	雌	0.66	2.6	10.0
F1	雄	0.67	2.6	9.5
	雌	0.76	3.0	11.0

方法及び試験項目：概要を次の表にまとめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(8週) 交配 (最長3週)	雌雄1対1で交配。交尾は膣垢中の精子の有無で確認(妊娠0日)	体重、摂餌量を週1回測定。 交配状況の観察。
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14、21日目体重測定、摂餌量を週1回測定。
	出産		出産状況の観察。
	哺育(3週)		新生児数、死産児数、外表異常、性別、母動物の出産後1、4、7、14及び21日目体重測定、摂餌量を週1回測定。 哺育1、4、7、14及び21日目に児動物の体重測定。生死を毎日観察。身体及び行動上の発育を検査。途中死亡及び4日目屠殺の新生児について異常の検査。
F <sub>1</sub>	離乳	継代用の各群雌雄各1匹を各腹から無作為に選抜	親動物を屠殺し、肉眼的病理検査。 出産しなかった雌及び同腹児が死亡した雌を屠殺し、着床状況の検査。 対照群及び80ppm投与群の動物及び全群の途中死亡動物について、肉眼的異常部位の病理組織学的検査。
	生育(10週) 交配 (最長3週) 妊娠(3週) 出産 哺育(3週)	P世代に準ずる。	P世代に準ずる。 P世代に準ずる。 P世代に準ずる。 P世代に準ずる。 P世代に準ずる。
F <sub>2</sub>	離乳		親動物及び児動物の肉眼的病理検査。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

一般状態及び死亡率；全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；雌雄1対1で同居させ、翌日膣栓及び精子により交尾を確認した。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、出産及び哺育時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率(\%)} = \frac{\text{交尾した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率(\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{哺育0日の生存率(\%)} = \frac{\text{哺育0日の生存児数}}{\text{総産児数}} \times 100$$

$$\text{哺育4日の生存率(\%)} = \frac{\text{哺育4日の生存児数}}{\text{哺育0日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育21日の生存率(\%)} = \frac{\text{哺育21日の生存児数}}{\text{哺育4日に調整した児数}} \times 100$$

$$\text{性 比} = \frac{\text{雄の生存産児数}}{\text{総生存産児数}} \times 100$$

児動物の発育検査；F<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代の児動物を対象として、耳介の開展、皮膚毛生、門歯の萌出、眼瞼開裂、外耳道の開通、正向反射、断崖回避、自由落下反射の完成するまでの日数を観察した。

肉眼的病理検査；P世代及びF<sub>1</sub>世代の全ての親動物を対象として、生殖器官を含む軟組織を検査した。

哺育4日目に屠殺したF<sub>1</sub>及びF<sub>2</sub>世代の児動物、継代用に選抜されなかったF<sub>1</sub>世代の児動物、離乳時まで生存していたF<sub>2</sub>世代の児動物及び途中死亡した全児動物について検査した。

病理組織学的検査；対照群及び80ppm投与群のP世代及びF<sub>1</sub>世代親動物及び途中死亡した全動物を対象として、膣、卵巣、子宮、精囊、精巣、精巣上体、前立腺、凝固腺、下垂体、及び肉眼的異常が認められた部位の病理標本を作製し、検鏡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

結果：

世 代		親：P				児：F <sub>1</sub>				親：F <sub>1</sub>		児：F <sub>2</sub>	
投与量(ppm)		0	5	20	80	0	5	20	80	0	5	20	80
動物数	雄	25	25	25	25	19	21	20	19	17	22	18	20
	雌	25	25	25	25	19	21	20	19	17	22	18	20
一般状態		別記参照											
死亡率	雄	2/25	1/25	0/25	0/25	3/19	2/21	1/21	0/19	0/25	0/25	0/25	0/25
	雌	0/25	0/25	0/25	0/25	2/17	0/22	1/18	2/20	0/25	0/25	0/25	0/25
a) 体重 (g)	生育期間	雄 1日目	89	89	89	89	46	47	44	47	89	89	89
		8日目	136(46)	135(46)	134(46)	↓125(↓36)	82(32)	81(33)	74(29)	73(↓25)	136(46)	135(46)	134(46)
		15日目	185(49)	187(52)	180(46)	↓169(↓44)	128(47)	128(47)	117(42)	116(43)	185(49)	187(52)	180(46)
		22日目	242(55)	242(55)	233(53)	↓221(52)	187(59)	186(58)	171(54)	171(55)	242(55)	242(55)	233(53)
		29日目	286(45)	289(47)	281(48)	274(↑52)	247(60)	246(59)	225(55)	227(↓56)	286(45)	289(47)	281(48)
	99日目	513	506	498	504	530	526	500	519	513	506	498	504
	生育期間	雌 1日目	100	100	99	99	46	45	42	42	100	100	99
		8日目	133(34)	132(32)	132(33)	↓126(↓27)	77(30)	72(28)	↓68(25)	↓68(24)	133(34)	132(32)	132(33)
		15日目	155(21)	155(23)	155(22)	147(21)	113(36)	106(34)	↓101(33)	↓101(33)	155(21)	155(23)	155(22)
		22日目	175(20)	176(20)	175(21)	167(20)	146(32)	137(31)	↓131(30)	134(32)	175(20)	176(20)	175(21)
29日目		194(19)	193(17)	191(15)	184(18)	170(24)	162(24)	↓155(24)	158(24)	194(19)	193(17)	191(15)	
57日目	236	237	235	228	240	228	223	228	236	237	235	228	
78日目	—	—	—	—	268	260	254	260	—	—	—	—	
妊娠期間	0日目	242	239	235	233	273	270	258	258	242	239	235	
	21日目	396	390	377	375	426	412	404	405	396	390	377	
哺育期間	1日目	297	286	279	282	316	318	297	302	297	286	279	
	4日目	305(8)	295(9)	↓286(7)	↓281(0)	—	—	—	—	305(8)	295(9)	↓286(7)	
	7日目	305(2)	300(5)	293(7)	290(7)	325(9)	318(1)	301(8)	307(5)	305(2)	300(5)	293(7)	
	21日目	310	306	304	305	335	328	307	325	310	306	304	
b) 摂餌量 (g)		雄	26.0	26.7	25.4	24.9	28.1	29.7	26.3	25.0	26.0	26.7	25.4
(生育期平均)		雌	21.0	22.1	21.1	19.3	25.6	25.6	24.4	21.9	21.0	22.1	21.1
肉眼的病理検査		投与に関連する所見なし											
病理組織学的検査		投与に関連する所見なし											
繁殖能	交尾率	22/22(100)	23/24(96)	23/25(92)	21/25(84)	15/17(88)	19/22(86)	15/18(83)	20/20(100)	22/22(100)	23/24(96)	23/25(92)	21/25(84)
	妊娠率	21/22(95)	23/23(100)	23/23(100)	21/21(100)	15/15(100)	19/19(100)	13/15(87)	18/20(90)	21/22(95)	23/23(100)	23/23(100)	21/21(100)
	出産率	20/21(95)	23/23(100)	23/23(100)	21/21(100)	13/15(87)	18/19(95)	11/13(85)	16/18(89)	20/21(95)	23/23(100)	23/23(100)	21/21(100)
	妊娠期間(日)	21.3	21.4	21.2	21.4	21.5	21.8	21.5	21.6	21.3	21.4	21.2	21.4
児動物	着床数	13.9	14.8	15.0	14.1	15.2	13.1	14.5	14.1	13.9	14.8	15.0	14.1
	生存産児数	13.1	13.4	13.9	12.3	14.8	12.1	14.2	13.6	13.1	13.4	13.9	12.3
	死産児数	0.2	0.3	0.4	0.3	0.2	0.7	0.3	0.3	0.2	0.3	0.4	0.3
	性比(雄の%)	52	50	48	51	49	54	49	41	52	50	48	51
	1日目体重(g)	6.0	6.1	5.7	6.2	5.8	6.0	5.7	5.9	6.0	6.1	5.7	6.2
	21日目体重(g)	40.3	42.2	39.2	41.4	35.7	37.1	34.3	36.6	40.3	42.2	39.2	41.4
	4日目生存率	92.0	95.5	84.7	95.0	72.0	66.4	78.8	86.2	92.0	95.5	84.7	95.0
	21日目生存率	87.2	84.4	76.0	89.3	67.4	59.2	58.2	70.9	87.2	84.4	76.0	89.3
発育検査		投与に関連する身体・行動異常の所見なし											
肉眼的病理検査		投与に関連する所見なし											
病理組織学的検査		投与に関連する所見なし											

a) ( )は体重増加量を示す。

b) 摂餌量(g/動物/比)、別記参照

—は「検査せず」を意味する

Dunnnettの検定、但し体重増加量についてはANOVA + Dunnnett検定、↑↓ : p<0.05 ↓ : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

一般状態；P世代の親動物で一過性の皮膚病変が認められた。

皮膚病変の発現動物数及び推移を下表に示す。

投与量 (ppm)	雌雄	症状発現動物数	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日
0	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	雄	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	雄	10	0	0	0	0	0	0	0	2	4
	雌	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	雄	21	0	0	0	0	0	0	9	13	14
	雌	15	0	0	0	0	0	0	5	7	8

投与量 (ppm)	雌雄	10日	11-20日	21-30日	31-40日	41-50日	51-60日	61-70日
0	雄	0	0	0	0	0	0	0
	雌	0	0	1	1	1	0	0
5	雄	0	0	1	0	0	0	0
	雌	0	0	2	0	0	0	0
20	雄	7	9	11	4	1	1	1
	雌	0	2	3	0	0	0	0
80	雄	18	20	22	13	7	4	1
	雌	8	11	13	8	1	1	0

表中(期間内)の数値は発現延動物数を示す。

P世代の親動物の20ppm投与群(雄10/25、雌3/25)及び80ppm投与群(雄21/25、雌15/25)に一過性の皮膚病変が認められた。これらの病変は投与1週間後から2、5週間後に現れ、約6週間後すなわち交配期間前にはほとんどの動物で消失した。

F<sub>1</sub>世代の児動物、F<sub>1</sub>世代の親動物又はF<sub>2</sub>世代の児動物のいずれにもこれらの皮膚病変は認められなかった。

申請者注：試験機関は皮膚病変について、6週間後にはほとんどの動物で消失すること、F<sub>1</sub>世代では認められなかったこと、その上これらの皮膚病変は30ppmの投与レベルでラットを用いた90日間毒性試験では認められず、90ppm投与レベルでラットを用いた104週間慢性毒性・発がん性試験では低頻度に認められたが群間に差異はなく、一般毒性作用を評価するにはこれらの試験の方が二世世代試験よりも適当と考えられる。

体 重：平均体重では、P世代の80ppm投与群の雄雌で生育期間の初期に統計学的に有意な体重増加抑制が認められ、哺育期間中の20ppmと80ppm投与群の雌で統計学的に有意な体重増加抑制が4日目に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

またF<sub>1</sub>世代では20および80ppm投与群の雌で生育期間の初期に有意な体重増加抑制が認められた。

しかしながら、体重増加量についてはP世代、F<sub>1</sub>世代とも20ppm投与群では対照群に比して有意な抑制は認められなかった。

摂 餌 量：摂餌量について、対照群と比較して統計学的有意差がみられた投与量、時期を下表に示す。

		投与量(ppm)	雄			雌		
			5	20	80	5	20	80
P	生育期間	1-8日目						↓ 89
		8-15			↓ 87			
		15-22			↓ 88			
		22-29						
		29-36						
		36-43						
		43-50				↑ 123		
	妊娠期間	0-7日目	/					
		7-14						
	14-21	↓ 90				↓ 90	↓ 90	
期 哺 間 育	0-7日目	/			↑ 114			
	7-14							
	14-21							
F <sub>1</sub>	生育期間	1-8日目						↓ 77
		8-15			↓ 72			↓ 79
		15-22						
		22-29		↓ 87	↓ 87			
		29-36			↓ 91			
		36-43						
		43-50						

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

統計学的方法：Dunnnettの検定，(↑ ↓ : p<0.05, ↓ : p<0.01)

上記のように80ppm投与群でP及びF<sub>1</sub>世代の雌雄に摂餌量の減少が認められた。しかしkg体重当たりの摂餌量で計算したところ、80ppm投与群を含みすべての投与群で有意差はみられなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

親動物：親動物の交配能力及び繁殖能力では各世代、各交配で一定した変化はみられず検体による影響はないと考えられる。肉眼的病理検査及び病理組織学的検査では検体投与に起因する変化は認められなかった。

胎児動物：生存率、体重、発育および病理所見において検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果より、2世代にわたりアクリナトリンを混餌投与した場合、最高投与群80ppmのP及びF<sub>1</sub>世代の親動物で軽度で一時的な体重増加の抑制及び摂餌量の減少が認められたが繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

従って、繁殖性についての最大無作用量は80ppm(P世代：雄9.0mg/kg/日、雌10.0mg/kg/日、F<sub>1</sub>世代：雄9.5mg/kg/日、雌11.0mg/kg/日)であり、親動物に対する最大無作用量は20ppm(P世代：雄2.2mg/kg/日、雌2.6mg/kg/日、F<sub>1</sub>世代：雄2.6mg/kg/日、雌3.0mg/kg/日)である。

申請者注：親動物に対するNOAELは20ppm(P世代：雄2.2mg/kg/日、雌2.6mg/kg/日、F<sub>1</sub>世代：雄2.6mg/kg/日、雌3.0mg/kg/日)、児動物に対するNOAELは80ppm(F<sub>1</sub>世代：雄9.5mg/kg/日、雌11.0mg/kg/日)であると考ええる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

②アクリナトリンのラットを用いた

催奇形性試験

(資料 No.26)

検体の純度：

供試動物：Sprague-Dawley系妊娠ラット(12～13週齢)、1群25匹

投与期間：31日間(1987年6月3日～7月3日)

方法：妊娠6日目から15日目までの10日間、検体をコーン油に溶解し0、2、6及び18mg/kgの投与レベルで毎日1回経口投与した。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。交配のため雌雄2対1で同居させ、臍垢中に精子が認められた日を妊娠0日とした。

用量設定の根拠；投与量設定のため0、10、20、40及び60mg/kgの投与レベルで妊娠6日目から16日目までの11日間毎日強制経口投与する予備試験の結果、40mg/kg以上の投与群で顕著な体重の減少及び死亡率の増加がみられ、10及び20mg/kgの投与群で一時的な体重の減少がみられたので本試験の最高投与量を18mg/kgとした。

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、5、9、15及び20日目に体重を測定した。妊娠20日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

胎児動物；性別、体重及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の1/2の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

結果の概要を次頁に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

結果：

投与群(mg/kg/日)		0	2	6	18		
1群当り動物数		25	25	25	25		
親動物	一般状態	立毛	0	0	1	11*** h)	
		難呼吸	0	0	0	1	
		鼻分泌物	0	0	0	3	
		膈分泌物	0	0	0	1	
		肛門分泌物	0	0	0	1	
		下痢	0	0	0	1	
	嘔吐	0	0	0	1		
	妊娠動物数(%)	22(88)	24(96)	24(96)	25(100)		
	死亡数 (中間屠殺を含む)	0	0	0	3		
	体重変化(g)	妊娠 0日	268	262	263	266	
妊娠 5日		287	284	283	285		
妊娠 9日		296	293	280***	270***		
妊娠 15日		329	321	310***	293***		
妊娠 20日		388	382	377	353***		
流産動物数	0	1	0	0			
着床所見	妊娠動物数	22	24	24	25		
	黄体数	17.0	17.1	17.1	17.7		
	着床数	14.5	14.2	15.2	15.1		
	検査動物数	22	23	24	22		
	生存胎児数	13.9	14.1	14.9	13.2		
	生存胎児率 <sup>a)</sup>	95.3	95.6	96.0	87.3*** h)		
	死亡・吸収胎児率 <sup>a)</sup>	4.7	4.4	4.0	12.7*** h)		
胎動物	体重(g)	3.19	3.31	3.16	2.91*		
	性比(雄/雌)	1.0	1.0	1.0	0.9		
	外表検査	検査胎児数	305	325	357	290	
		異常 発現胎児数	0	0	眼球突出 1例	浮腫 1例	
	h) 骨格検査	検査胎児数	157	170	183	150	
		変異	5,6胸骨分節率 <sup>b)</sup>	97.5	95.9	97.8	96.7
			14肋骨、1対肋骨率 <sup>c)</sup>	0.6	0.0	0.5	0.0
			4 中手骨率 <sup>b)</sup>	65.6	46.5	63.4	81.3
		軽度な奇形	胸骨分節率 <sup>d)</sup>	24.2	10.6	28.4	41.3**
		頭骨率 <sup>d)</sup>	0.0	0.0	0.0	4.0*	
中足骨率 <sup>d)</sup>		3.2	1.2	1.6	14.0**		
発現胎児率(%)	35.0	18.2	38.3	48.7			
奇形	発現胎児数	0	右後肢伸長 1 肋骨縫合線 融合 1	0	頭頂間骨の位置異常 1		
h) 内臓検査	検査胎児数	147	155	174	137		
	軽度な奇形	腎盂拡張率 <sup>e)</sup>	1.4	0.6	1.7	2.9	
		尿管拡張率 <sup>e)</sup>	0	0.6	1.1	0.0	
		腎盂、尿管拡張率 <sup>e)</sup>	1.4	2.6	4.0	0.7	
	発現胎児率(%)	2.7	3.9	6.9	3.6		
	奇形	発現胎児数	0	0	1 <sup>f)</sup>	2 <sup>g)</sup>	
発現胎児率(%)		0.0	0.0	0.6	1.5		

a) 着床数に対する割合(%)

b) 未化骨又は不完全化胎児率(%)を示す。

c) 完全又は不完全化骨胎児率(%)を示す。

d) 化骨遅延胎児率(%)を示す。

e) 発現胎児率(%)を示す。

f) 脳室拡張/右大脳半球位置異常/片側無眼球症/片側眼球突出/口蓋欠如/舌突出奇形を有する胎児1例

g) 脳室拡張を有する胎児1例及び両側小眼球症を有する胎児1例

統計学的方法：studentのt検定、但しh)はカイ二乗検定

\* : p<0.05、\*\* : p<0.01、\*\*\* : p<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

親動物：6mg/kg以上の投与群において、妊娠9日目及び15日目に体重増加の抑制又は減少がみられ、18mg/kg投与群では立毛等の症状が高頻度にみられ3匹の死亡がみられた。さらに妊娠20日目の体重も低く、生存胎児率の減少及び死亡・吸収胎児率の増加が認められた。

胎児動物：18mg/kg投与群において、体重の減少が認められた。2及び6mg/kg投与群における胎児の骨格および内臓異常の発現頻度は対照群と同等であった。

18mg/kg投与群では骨格の軽度な奇形の発現頻度に増加が認められたがこれらの軽度な奇形は本質的に化骨遅延によるものである。

以上の結果より、アクリナトリンを妊娠ラットに投与した時の母体におけるNOAELは2mg/kg/日であった。また、胚及び胎児に対するNOAELは6mg/kg/日であり、最大投与量の18mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

申請者注：本試験においては投与期間が出産前日までとする最新のガイドラインに比して短かったが、ラットの催奇形性にとって最も重要な時期に投与されており、離乳期まで継続して投与された繁殖毒性試験（資料番号 25）において P2 世代が正常に生育し、正常に P3 世代が得られていることより、出産前日までの投与によっても特に重要な催奇形性の障害はないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

③アクリナトリンのウサギを用いた  
催奇形性試験

(資料 No.27)

検体の純度：

供試動物：New-Zealand白色種妊娠ウサギ(17～19週齢)、1群16匹、  
試験開始時体重約4kg

投与期間：38日間(1987年5月12日～6月18日)

方法：妊娠6日目から18日目までの13日間、検体をコーン油に懸濁し0、15、45及び  
135mg/kgの投与レベルで毎日1回経口投与した。なお、対照群にはコーン油を  
同様に投与した。人工授精を行った日を妊娠0日とした。

用量設定の根拠；投与量設定のため0、50及び150mg/kgの投与レベルで妊娠6日目か  
ら18日目までの13日間、毎日強制経口投与した予備試験の結果、50mg/kg以上の  
投与群の動物に食欲不振と死亡例(病理組織学的には検体投与との関連はない)が  
みられ50mg/kg投与群で軽度の体重減少がみられたので本試験の最高投与量を  
135mg/kgとする3投与群を設けた。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、5、12、18、24及び28日目に体  
重を測定した。

妊娠28日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査し  
た。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。また、全生存胎児について、  
内臓異常及び骨格異常の有無を検査した。

結果の概要を次頁に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

結果：

投与群(mg/kg/日)		0	15	45	135	
1群当り動物数		16	16	16	16	
親動物	妊娠動物数	16	15	15	16	
	一般状態 <sup>a)</sup>	3 (10)	4 (27)	6 (40)	10* (63)	
	死亡数(率)	2 (12.5)	1 (6.7)	1 (6.7)	0 (0)	
	体重変化(kg)	妊娠 0日	3.99	4.10	4.04	4.03
		妊娠 5日	4.05	4.13	4.12	4.15
		妊娠 12日	4.14	4.16	3.94	*3.87
		妊娠 18日	4.17	4.22	4.08	3.95
		妊娠 24日	4.32	4.34	4.21	4.09
		妊娠 28日	4.31	4.44	4.26	4.17
	流産動物数	0	1	2	0	
	早産動物数	1	1	0	0	
	着床所見	検査動物数	16	15	15	16
		黄体数	9.8	11.0	9.9	10.1
		着床数	8.9	10.2	8.7	9.3
検査動物数		13	12	12	16	
生存胎児数		8.0	9.7	8.3	8.1	
生存胎児率 <sup>b)</sup>		95.4	93.5	96.2	*87.2	
死亡・吸収胎児率 <sup>b)</sup>		4.6	6.5	3.8	*12.8	
胎児動物	体重(g)	35.9	34.8	38.0	35.2	
	性比(雄/雌)	1.2	0.9	1.3	1.1	
	検査胎児数	104	116	100	129	
	外表異常胎児数	腹壁裂 1例	0	0	0	
	e) 骨格変異	第5/6胸骨分節未化骨又は化骨不全率(%)	38.5	43.1	31.0	29.5
		第13肋骨又は1対肋骨完全又は不完全化骨率(%)	66.3	86.3	84.0	83.7
	検査軽度な奇形	第4胸骨分節まで1本以上の不完全化骨(%)	2.9	6.0	5.0	*10.9
		第7胸骨文節存在率(%)	0.0	1.7	3.0	2.3
		頭骨1又は2本不完全化骨率(%)	9.6	7.8	4.0	8.5
		踵骨の不完全化骨又は未化骨(%)	5.8	6.9	0.0	1.6
内臓検査	恥骨の不完全化骨又は未化骨(%)	3.8	5.2	7.0	5.4	
	奇形胎児数 <sup>c)</sup>	1	0	0	0	
検査	軽度な奇形胎児数 <sup>d)</sup>	2	1	2	1	

a) 観察により「摂餌量の減少又は食欲不振」の症状を示した動物数及び発現動物率(%)

b) 着床数に対する割合(%)

c) 腹壁裂及び横隔膜欠失(%)

d) 肺付属葉欠失

Studentのt検定、但しb)、e)はカイ二乗検定 \* : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

親動物；45及び135mg/kg投与群で、妊娠5-12日目に軽度で一時的な体重減少がみられた。

一般状態の観察において、135mg/kg投与群で摂餌量の減少又は食欲不振の症状を示す動物が増加した。

胎児動物；135mg/kg投与群における生存胎児率の減少及び死亡・吸収胎児率の増加がみられた。

外表、骨格、内臓の検査では、変異、軽度な奇形、奇形のいずれにおいても対照群と比較し胎児の発現頻度に差はなく、投与に関連する異常はみられなかった。

申請者注：135mg/kg投与群では骨格の軽度な奇形の発現頻度に増加が認められたが、これは本質的に化骨遅延によるものと考えられる。

以上の結果より、アクリナトリンを妊娠ウサギに投与したときに親動物では、135mg/kg投与群で一時的な体重減少および摂餌量の減少又は食欲不振の症状がみられ、45mg/kg投与群で統計学的有意ではないが、一時的な体重減少がみられた。したがって、親動物のNOAELは15mg/kgであった。また胚・胎児におけるNOAELは、135mg/kg投与群で生存胎児率の減少、死亡・吸収胎児率の増加がみられたことから、45mg/kg/日であり、最高投与量の135mg/kg/日でも胎児に対して、催奇形性を及ぼさないと判断された。

申請者注：本試験においては投与期間が出産前日までとする最新のガイドラインに比して短かったが、ウサギの催奇形性にとって最も重要な時期に投与されており、動物種は異なるが、離乳期まで継続して投与された繁殖毒性試験（資料番号25）においてP2世代が正常に生育し、正常にP3世代が得られていることより、出産前日までの投与によっても特に重要な催奇形性の障害はないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

### (13)変異原性

#### ①遺伝子突然変異原性

##### 1)アクリナトリンの細菌を用いた

##### 復帰変異性試験

(資料No.28)

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, TA98株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP 2 uvrA株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9)の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体をDMSOに溶解し、5000  $\mu$ g/plateを最高濃度とし、以下2500、1750、1000、500、100  $\mu$ g/plateの濃度で、3連制とし2回実施した。

用量設定の根拠；投与量設定のため、細胞毒性試験を行い、最高濃度の5,000  $\mu$ g/plateでTA98株に対して、中等度な細胞毒性が認められたが、他の供試菌株には毒性がみられなかったため、本試験の最高濃度は、代謝活性化系の存在下及び非存在下とも5,000  $\mu$ g/plateとした。

試験結果：結果の概要を次頁に示した。

検体は代謝活性化を含め、濃度限界である5,000  $\mu$ g/plateの濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた、ナトリウムアジド( $\text{NaN}_3$ )、2-ニトロフルオレン(2NF)、N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、9-アミノ-アクリジン(9AA)、2-アンスラミン(2AM)及びベンゾ(a)ピレン(BaPy)は各試験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、アクリナトリンは代謝活性化を含む本試験条件下で、復帰変異誘発性を有さないものと判断される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu$ g /plate)	S-9 Mix の有無	復帰変異 コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP 2uvrA	TA1535	TA 100	TA1537	TA1538	TA 98
対照 (DMSO)		—	14	12	109	8	35	28
アクリナリン	100	—	17	15	94	8	36	28
	500	—	16	15	105	14	37	26
	1000	—	21	18	103	8	31	25
	2500	—	18	14	105	12	32	21
	5000	—	14	17	96	7	40	28
対照(DMSO)		+	15	8	117	10	30	30
アクリナリン	100	+	20	14	104	10	30	29
	500	+	18	12	98	9	28	33
	1000	+	18	18	107	9	33	25
	2500	+	18	15	121	8	37	29
	5000	+	19	13	102	12	30	43
陽性 対照	S9mixを 必要とし ないもの	薬物	MNNG	NaN <sub>3</sub>	NaN <sub>3</sub>	9AA	2NF	2NF
		$\mu$ g/plate	5	1	1	50	0.5	0.5
		コロニー数 /plate	500	347	521	304	333	185
	S9mixを 必要とす るもの	薬物	BaPy	2AM	2AM	2AM	2AM	2AM
		$\mu$ g/plate	100	2	1	2	1	1
		コロニー数 /plate	28	156	1893	441	1542	4554

MNNG : N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

NaN<sub>3</sub> : ナトリウムアジド、2NF : 2-ニトロフルオレン

9AA : 9-アミノ-アクリジン、2AM : 2-アンスラミン

BaPy : ベンゾ(a)ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

2) アクリナトリンのチャイニーズハムスターV79細胞を用いた

*in vitro*遺伝子突然変異試験

(資料No.29)

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺線維芽培養細胞(V79)を用い、薬物代謝酵素系(S9mix)の存在下及び非存在下でHPRT遺伝子突然変異を検定した。検体をDMSOに溶解し、3、10、30、100および300  $\mu$ g/mlの濃度で、検定を2回実施した。生存細胞数の確認は6プレート、突然変異細胞の選択は10プレートを用いた。各検定で少なくとも1濃度で、陰性対照又は溶媒対照と比較して突然変異発現頻度が3倍以上増加した場合、検体の突然変異誘発性は陽性であるとした。

用量設定の根拠；濃度設定のために実施した細胞毒性試験の結果から、最高濃度(溶解限界)の300  $\mu$ g/mlでも細胞毒性がみられなかったため、本試験の最高濃度は300  $\mu$ g/mlとした。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

検体処理した群の生存細胞数は対照群と比較して差がみられなかった。突然変異の発現頻度は、S9mix非存在下では2回目に行った試験において、3及び10  $\mu$ g/mlの濃度で陰性対照及び溶媒対照の3倍以上の値を示したが、これらには再現性がなく、用量に関連した影響がみられなかったことから試験の変動性に起因するものと考えられた。その他の突然変異の発現頻度は陰性対照及び溶媒対照における発現頻度の3倍以内であった。

一方、陽性対照として用いたN-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)及びベンゾ(a)ピレン(BaPy)は突然変異の顕著な増加がみられた。

以上の結果から、アクリナトリンは代謝活性化系の有無にかかわらず本試験条件下で、チャイニーズハムスター V79細胞におけるHPRT遺伝子突然変異を誘発しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu$ g/ml)	S 9mix の有無	ACE(%) <sup>a)</sup>		平均突然変異発現頻度 <sup>b)</sup> ( $10^{-6}$ )	
			1回目	2回目	1回目	2回目
陰性対照		—	55	58	21.5	1.4
溶媒対照 (DMSO)		—	55	65	12.1	3.1
アクリナトリン	3	—	56	61	5.7	38.0
	10	—	61	59	14.8	27.0
	30	—	58	62	34.8	— <sup>c)</sup>
	100	—	73	61	31.4	4.6
	300	—	53	58	26.7	5.2
陽性対照 (MNNG)	3	—	15	30	1140.0	817.8
陰性対照		+	62	81	12.3	19.6
溶媒対照 (DMSO)		+	64	73	11.5	5.2
アクリナトリン	3	+	73	65	15.2	3.7
	10	+	73	60	16.4	5.0
	30	+	80	60	12.8	2.7
	100	+	61	73	19.6	25.9
	300	+	76	53	14.2	9.4
陽性対照 (BaPy)	5	+	44	78	62.7	90.1

a) : 平均クローン率/plate

b) : 平均突然変異発現頻度=plate当り平均TGrクローン数/生存細胞数

c) : 細菌汚染のため測定できず

MNNG : N - メチル - N - ニトロ - N - ニトロソグアニジン

BaPy : ベンゾ(a)ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

## ②染色体異常誘発性

### 1) アクリナトリンのチャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験

(資料No.30)

#### 検体の純度：

試験方法：継代培養したチャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO細胞)を用い、代謝活性化および非代謝活性化によって染色体異常誘発性を検定した。検体処理時間はS-9mixの存在下及び非存在下において4時間とし、標本作製時間を18時間とした。

検体濃度30、100及び300  $\mu$  Mで、S9mixの存在下及び非存在下で2回実施した。100個の中期分裂像を観察し、染色体の異常をギャップ、切断、染色体交換、染色分体交換及びその他に分類し計測した。

用量設定の根拠；予備試験としてS9mixの存在下及び非存在下でアクリナトリン10,30,100,300,1000及び3000  $\mu$  Mの濃度を用い細胞毒性を検討した結果、300  $\mu$  M以上の濃度で培地中に沈殿が認められ、S9mixの非存在下の300  $\mu$  Mで細胞の形態学的変化が認められたことから、本試験にはS9mixの存在下、非存在下にかかわらず30,100及び300  $\mu$  Mの3濃度を用いた。

#### 試験結果：次頁の表に示す。

検体処理群では、直接法及び代謝活性化法とも、300  $\mu$  Mまでの濃度で、染色体異常細胞頻度に有意な増加は認められなかったが、代謝活性化法では300  $\mu$  Mで染色分体型切断及び交換の頻度に僅かではあるが、有意な増加が認められた。一方、陽性対照として用いたメチルメタンсульフォネート(MMS)及びシクロフオスファミド(CPA)では、著明な染色体異常細胞頻度の増加が認められた。

以上の結果、アクリナトリンは直接法では本試験条件下で、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO細胞)において染色体異常を誘発しないが、代謝活性化法では、溶解限度である300  $\mu$  Mで弱いながら染色体異常を誘発すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

系 の 有 無	代 謝 活 性 化	試 験 回 数	薬 物 及 び 濃 度 ( $\mu$ M)	観 察 細 胞 数 ( <small>培養数</small> )	ギャップ	染色体異常数				染色体異常 総数 <sup>b)</sup> (ギャップを除く)	染色体異常 を有する細 胞数	
						染色体型		染色体分体型				複合型 染色体異常
						切断	交換 <sup>a)</sup>	切断	交換 <sup>a)</sup>			
直 接 法	1	陰性対照		100	0	0	0	0	0	0	0	
		溶媒対照 (DMSO)		100	4	1	0	0	2	0	3	2
		30		100	3	1	1	1	0	0	3	3
		アクリナリン 100		100	2	0	0	1	1	0	2	2
		300		100	3	0	0	0	0	0	0	0
	MMS 540		100	7	1	4*	18***	60***	10**	83***	58	
	2	陰性対照		100	4	0	0	0	0	0	0	0
		溶媒対照 (DMSO)		100	3	0	0	0	0	0	0	0
		30		100	1	1	0	0	0	0	1	1
		アクリナリン 100		100	4	0	0	1	1	0	2	2
300			100	2	0	0	1	0	0	1	1	
MMS 540		100	4	1	1	23***	52***	5*	77***	46		
代 謝 活 性 化 法	1	陰性対照		100	2	0	0	2	0	0	2	2
		溶媒対照 (DMSO)		100	3	0	0	0	0	0	0	0
		30		100	6	0	0	2	1	0	3	3
		アクリナリン 100		100	4	0	0	2	1	0	3	3
		300		65	5	0	1	8***	5**	0	14***	11
	CPA 130		50	8	1	2*	9***	32***	1	44***	27	
	2	陰性対照		100	0	0	0	1	0	0	1	1
		溶媒対照 (DMSO)		100	2	0	0	0	1	0	1	1
		30		100	3	0	0	2	0	0	2	2
		アクリナリン 100		100	3	0	1	0	2	0	3	3
300			100	3	0	0	4*	2	0	6*	5	
CPA 130		100	5	2	3	15***	67***	12***	87***	60		

a)染色体(染色分体)内及び間交換を含む。 b)複合型染色体異常を含まず。

カイ二乗検定、 \* :  $p \leq 0.05$ 、 \*\* :  $p \leq 0.01$ 、 \*\*\* :  $p \leq 0.001$

MMS : メチルメタンサルフォネート、 CPA : シクロフオスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

## 2)アクリナトリンのチャイニーズハムスターを用いた

*in vivo* 染色体異常誘発試験

(資料No.31)

検体の純度：

供試動物：チャイニーズハムスター、

(9～11週齢),体重 雄28.6～36.4g 雌21.7～32.6g, 1群雌雄各5匹

試験方法：検体をコーン油に懸濁し、0、50、100及び200mg/kgの投与レベルで強制的に単回経口投与した。なお、対照群にコーン油を同様に投与した。投与6、24及び48時間後に動物を屠殺した。陽性対照としてシクロフォスファミドを用い、80mg/kgの投与レベルで1回腹腔内投与し、24時間後に屠殺した。各動物の屠殺の2時間前にコルヒチンを3mg/kgの投与レベルで腹腔内投与して細胞分裂を停止させた後、大腿骨を摘出して骨髓細胞を採取し、染色して染色体異常頻度を検査した。良好な正常核型を持つ中期分裂像を各動物について50個観察した。ギャップは真の染色体の切断を示すものではないと考えられるため、染色体異常に含めなかった。染色体異常は200 mg/kg投与群で実施し、50および100 mg/kgは必要な場合のために保管した。

用量設定の根拠；投与量設定のための予備試験が被験物質を750、500、250および240mg/kgの用量で行った。最低薬量の240mg/kgでも動物に刺激作用がみられたため、動物に対する最大耐量を200mg/kgであると決定し、これを最高投与量とした。

試験結果：骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

検体投与群では、染色体異常数及び異常を有する細胞数に有意な増加が認められなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロフォスファミド(CPA)では、著明な染色体異常頻度の増加が認められた。

以上の結果より、アクリナトリンはチャイニーズハムスター骨髓細胞の*in vivo*染色体異常誘発試験において陰性であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

屠殺時間	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 細胞数	染色体異常数						総染色体 異常数	細胞当り 異常数	染色体 異常を 有する 細胞数	倍数体 細胞数	判定
				ギャップ	染色分体型		染色体型		複合型 染色体 異常					
					切断	交換	切断	交換						
6	溶媒 (コーン油)		500	3	0	0	0	0	0	0	0	0	7	
	アクリナトリン	200	500	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	陰性
24	溶媒 (コーン油)		450	4	1	0	0	0	0	1	0.002	1	1	
	アクリナトリン	200	500	5	1	0	0	0	0	1	0.002	1	0	陰性
	陽性対照(CPA)	80	508	12	36	28	8	0	8	72***	0.142	39***	6	陽性
48	溶媒 (コーン油)		450	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	アクリナトリン	200	500	6	2	0	0	0	0	2	0.004	2	0	陰性

CPA：シクロフォスファミド

カイ二乗検定、\*\*\*：p<0.001

50 および 100mg/kg の染色体異常は計数しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

③アクリナトリンのマウスを用いた小核試験

(資料No.33)

検体の純度：

供試動物：Crl:Swiss(CD-1)系マウス(6週齢)，体重 雄 $28.3 \pm 1.0g$ ，雌 $24.7 \pm 1.1g$ ，  
1群雌雄各5匹

試験方法：検体をコーン油に懸濁し、2,000mg/kgの投与レベルで単回強制経口投与した。

なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。投与24、48及び72時間後に屠殺し、大腿骨を摘出して骨髓細胞を採取し、スライドグラス上に広げ、ギムザ染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群シクロfosファミド(CPA)は24時間後に屠殺した。

各標本について1,000個の多染性赤血球について調べ、小核を有する割合を計数した。また、多染性赤血球数/正染色性赤血球数比を算出し骨髓細胞に対する検体の毒性として評価した。

用量設定の根拠；マウス急性毒性LD50>5000mg/kgであることから限度用量として2000 mg/kgの用量が選択された。

試験結果：下表に示す。

投与後時間	薬物	投与量(mg/kg)	小核を有する多染性赤血球数	多染性赤血球/正染色性赤血球
24	溶媒(コーン油)		1.6	1.4
	アクリナトリン	2,000	1.8	1.3
	陽性対照(CPA)	50	44.8***	0.7
48	溶媒(コーン油)		1.6	1.2
	アクリナトリン	2,000	1.8	0.9
72	溶媒(コーン油)		0.9	1.1
	アクリナトリン	2,000	1.0	1.2

Studentのt検定 \*\*\* p < 0.001

CPA：シクロfosファミド



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

検体投与群では、小核を有する多染性赤血球数に有意な増加が認められなかった。一方、陽性対照として用いたシクロフォスファミドでは、小核を有する多染性赤血球数に有意な増加が認められた。また、多染性赤血球数/正染色性赤血球数比が有意に減少したことから、骨髄細胞に対する毒性がみられた。

以上の結果から、アクリナトリンはマウスの骨髄細胞の生体内小核試験において陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

#### ④DNA損傷誘発性

アクリナトリンの細菌を用いたDNA修復試験

(資料No.32)

検体の純度：

試験方法：大腸菌 *Escherichia coli* の組み換え修復機構保持株(pol A<sup>+</sup>)と欠損株(pol A<sup>-</sup>)を用い、代謝活性化及び非活性化法によってDNAの損傷の誘発性を検定した。37°C、暗黒下で24時間培養後、生育阻止帯の径を測定した。

用量設定の根拠；検体を溶解するためDMSOを用い、溶解限度である5000 µg/プレートを最高濃度とした。代謝活性化の有無に関わらず、50、100、500、1000、5000 µg/プレートの濃度とした。濃度毎にプレート2枚を用い、2回試験を行った。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

代謝活性化の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	阻止帯の径(mm)		差 (mm)	
			pol A <sup>+</sup>	pol A <sup>-</sup>		
無	対照(DMSO)		0	0	0	
			0	0	0	
	アクリナトリン	50	0	0	0	
			0	0	0	
			100	0	0	0
			0	0	0	
			500	0	0	0
			0	0	0	
			1000	0	0	0
			0	0	0	
5000	0	0	0			
0	0	0				
陽性対照(CP)	30	11	12	1		
		15	15	0		
陽性対照(MMS)	13	29	43	14		
		32	48	16		
有	対照(DMSO)		0	0	0	
			0	0	0	
	アクリナトリン	50	0	0	0	
			0	0	0	
			100	0	0	0
			0	0	0	
			500	0	0	0
			0	0	0	
			1000	0	0	0
			0	0	0	
5000	0	0	0			
0	0	0				
陽性対照(DMN)	100	9	13	4		
		8	13	5		

CP : クロラムフェニコール、MMS : メチルメタンサルフォネート  
DMN: ジメチルニトロソアミン、表中の数値はプレート2枚の平均値を示す。

検体処理群では、代謝活性化を含め、溶解限界である $5,000 \mu\text{g}/\text{プレート}$ においても両株に生育阻止を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたメチルメタンサルフォネート(直接法)及びジメチルニトロソアミン(代謝活性化)では、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、アクリナトリンはDNA損傷の誘発性を有しないと判断される。