

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

11. 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

11-1. イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験 (資料 12)

試験実施機関:

報告書作成年: 2008年 [GLP 対応]

検体の純度:

試験動物: 純系ビーグル犬 1群雌雄各5匹

試験開始時約6-8ヶ月齢、試験開始時体重 雄9.2-14.7kg、雌9.0-13.0kg

投与期間: 12ヶ月 (2006年11月27日~2007年12月2日)

投与方法: 所定量の検体を少量の基礎飼料と混和してプレミックスを調製し、さらに基礎飼料を追加混入して調製した。これを用時調製で等量の水で混合して3000、10000および30000ppm濃度とし、動物に毎日摂取させた。対照群には基礎飼料を同量の水に混合して同様に摂取させた。調製飼料は35日間の安定性が確認されており、水を混合したペースト状飼料は24時間の安定性が確認されている。飼料は2週間毎に調製し、また水と混合しペースト状にした後2時間以上たった飼料は与えなかった。

用量設定根拠: 同研究所で実施した90日間反復経口毒性試験(資料9)において、0、3000、10000および30000ppm濃度の検体混入飼料を投与したが、毒性影響がみられなかった。30000ppm濃度は検体摂取量として1000mg/kg/日に達するものであると予想されることから、本試験においても同じ用量(0、300、10000および30000ppm)を選択した。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 動物の生死および毒性徴候を毎日観察した。詳細な一般状態の観察を試験開始前および試験開始後は週1回実施した。

3000ppm群雄の1例(動物番号060170)を試験161日目に切迫屠殺した。この動物は試験98日目に体温上昇および摂餌量の低下がみられたため、抗生物質および解熱鎮痛剤を投与した。回復したので投与を再開したが、158日目に同症状が再発したため試験から除外した。剖検において多臓器での血管周囲炎が確認されたことや一般状態の経過から多発性動脈炎/疼痛症候群(Hayesら、1989, Snyderら、1995)と診断した。同疾患は遺伝的要因が強く、また低用量群の単独動物でのみ認められたものであることから、検体投与に起因しない毒性と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

10000ppm 群の雌雄各 1 例に鼻部の皮膚の腫瘍および頭部の皮膚の腫瘍がそれぞれ触知されたが、イボと判断された。

その他に軟便、嘔吐が低頻度で用量依存性がなく散見されたが、偶発的所見と判断された。

以上より、検体投与に関連した臨床症状および死亡は認められなかった。

飼料摂取量： 飼料摂取量を測定し、1 匹 1 日当たりの摂取量 (g) の平均値を計算した。

試験期間を通した平均摂取量を表 1 に示す。

表 1. 摂餌量 (試験 0-364 日)

用量 (ppm)	雄	雌
0	100	95
3000	99	88
10000	99	98
30000	100	96

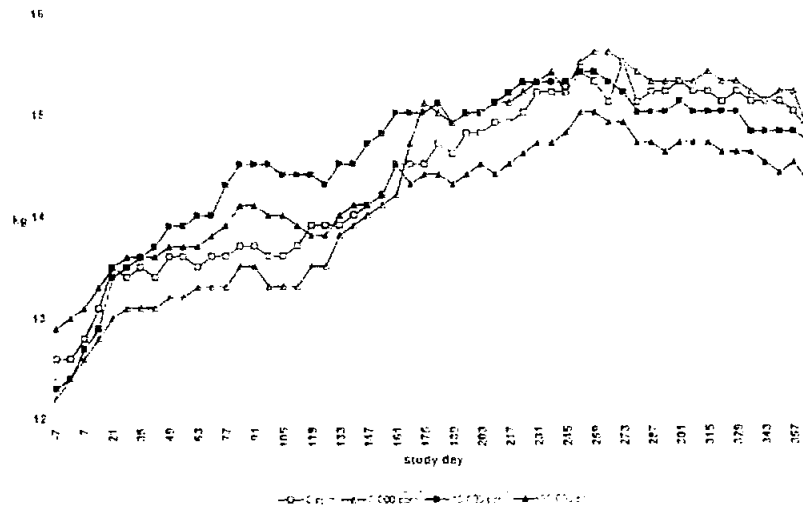
給餌量 (飼料 400g+水 400g) に対する摂取率 (%), 統計検定なし。

雌 3000ppm 群で試験期間中個々の測定日においてしばしば有意な低下がみられたが (Dunnett's (両側) 検定 $p \leq 0.050$)、一時的で体重抑制および用量関連性がなく、試験終了時には対照群と同等であったことから偶発的なものと判断した。従って摂餌量に検体投与の影響は認められなかった。

体重： 試験開始 7 日前、投与開始後は 0 日および毎週測定した。試験開始日 (0 日) との差を体重増加量とした。

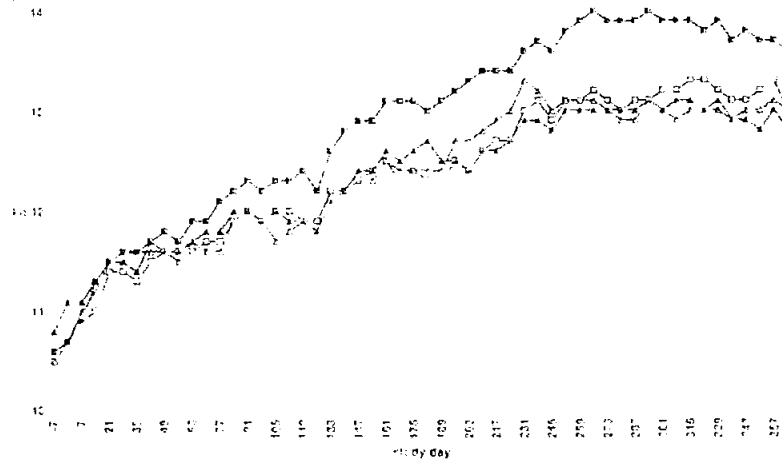
体重の推移を図 1 および 2 に示す。

図 1. 雄



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

図 2. 雌



体重は、雌雄ともに試験期間中、対照群と比して有意な変化は認められなかった (Dunnett's (両側) 検定 $p \leq 0.050$)。

体重増加量は、雌にのみ有意な低下がみられた。30000ppm 群の投与 301 日以降で有意な体重増加抑制 (28-23%抑制) が散見された。しかし、3000ppm 群で投与 105 日目に 25.8%の体重増加抑制 (有意差なし) が認められたことから、30000ppm 群での有意な低下は生物学的変動と考えられた。逆に 10000ppm 群では投与 301 日目に体重増加が有意に亢進し、用量関連性がなかった。これらの変化は検体投与に関連はないと考えられた。

表 2. 体重増加量 (雌)

用量群 (ppm)	0	3000	10000	30000
試験				
105 日	(1.3)	74.2		
301 日	(2.5)		124.1	76.1
315 日	(2.6)			77.1
322 日	(2.6)			77.1
350 日	(2.5)			72.1

Dunnett's (両側) 検定 : 1 ↓ ; $p \leq 0.05$

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合 (%) を示す。

対照群の () 内の数値は増加量 (kg) を示す。空欄は有意差なし。

摂餌効率： 個別の体重および飼料摂取量より計算した。

対照群と比して投与群に検体投与による摂餌効率の変化は認められなかった。

検体摂取量： 体重、飼料摂取量および飼料中検体濃度より 1 日当たりの平均検体摂取量を算出した。

試験期間を通した検体摂取量を表 3 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 3. 検体摂取量(mg/kg/日)

用量群 (ppm)	3000	10000	30000
雄	84	273	848
雌	85	305	936

眼検査： 投与開始前および投与期間終了時に全動物を対象に散瞳薬を点眼し、検眼鏡を用いて検査した。

全ての動物において異常は観察されなかった。

血液学的検査： 投与開始前、投与 3、6 および 12 ヶ月後に絶食下および無麻酔下で前腕橈側皮静脈より採血し、EDTA-K₃を添加した全血について以下の項目を検査した。

赤血球 (RBC)、ヘモグロビン (HGB)、ヘマトクリット (HCT)、
平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、
平均赤血球血色素濃度 (MHCH)、血小板 (PLT)、白血球 (WBC)、白血球百分比、
網状赤血球 (RTC)、

さらにクエン酸添加の血液について、プロトロンビン時間 (HQT) および活性化部分トロンボプラスチン (PTT) を測定した。

対照群と比して統計学的な有意差の認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液学的検査

用量群 (ppm)	雄		
	3000	10000	30000
項目 / 検査時期			
WBC / 12 ヶ月		67 ↓	

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合 (%) を示す。

統計検定：Kruskall-Wallis + Wilcoxon (両側)； $1p \leq 0.05$

白血球の有意低下は用量依存性がなく、偶発的なもので毒性影響ではなかった。
その他に検体投与による有意な変動は認められなかった。

血液生化学的検査： 血液学的検査と同時期に採血した血液の血清を用いて以下の項目を検査した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、ナトリウム (NA)、カリウム (K)、塩素 (CL)、無機リン (INP)、カルシウム (CA)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREA)、グルコース (GLUC)、総ビリルビン (TBIL)、総蛋白 (TPROT)、アルブミン (ALB)、グロブリン (GLOB)、トリグリセリド (TRIG)、コレステロール (CHOL)、マグネシウム (MG)

有意差の認められた項目を表 5 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

表 5. 血液生化学的検査

用量群 (ppm)		雄			雌		
		3000	10000	30000	3000	10000	30000
検査時期	項目/動物数				5	5	5
3ヶ月	CL						98.3 ↓
検査時期	項目/動物数	4	5	5			
6ヶ月	CHOL	81.1 ↓	80.6 ↓	82.9 ↓			
検査時期	項目/動物数	4	5	5			
12ヶ月	GLUC	106.4 ↓					

表中の値は対照群の値を100とした場合の割合(%)を示す。空欄は有意差なし。

統計学的検定: Kruskal-Wallis + Wilcoxon (両側) ↓ ; $p \leq 0.05$

認められた有意な変化は継続性および用量依存性が認められないことから検体投与によるものではなく、偶発的なものと判断した。

尿検査: 投与開始前、投与3、6および12ヶ月後に動物を個別に代謝ケージに入れ、絶食下で一晩蓄尿し、以下の項目を検査した。

量、色調、濁度、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

検体投与に関連した有意な変化は認められなかった (Fisher's 検定; 片側、両側: $p \leq 0.05$ 有意差なし)。

臓器重量: 投与終了後の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、下垂体、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、脾臓、脳、心臓、前立腺、甲状腺 (上皮小体を含む)

絶対重量および対体重比ともに検体投与に関連する有意な重量の増減は認められなかった (Kruskal-Wallis + Wilcoxon 両側; $p \leq 0.05$ 有意差なし)。

肉眼的病理検査: 切迫屠殺動物および投与終了後の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

検体投与によると思われる所見は認められなかった。

病理組織学的検査: 切迫屠殺動物および投与終了時の全生存動物を対象として以下の組織について病理標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。

脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、涙腺、唾液腺 (顎下、耳下)、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、卵巣、卵管、子宮/膈、食道、胃、十二指腸/空腸/回腸、盲腸/結腸/直腸、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

膀胱、リンパ節(腸間膜、腋窩)、骨格筋、坐骨神経、脊髓(頸部、胸部、腰部)、
胸骨(骨髓を含む)、骨髓(大腿骨)、眼(視神経を含む)、前立腺、乳腺(雌)、皮膚、
喉頭、咽頭、鼻腔(レベルⅢ)、その他肉眼的異常部位

主な所見を表 6 に示す。

表 6. 病理組織学的検査

用量群 (ppm)	雄				雌			
	0	3000	10000	30000	0	3000	10000	30000
検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
組織/所見								
精巣/精管変性					/			
グレード 1				1				
グレード 3				1				
精巣上体/無精子症				1				
精巣上体/精子減少症								
グレード 4				1				
肺/肺胞組織球症			2	3	4		1	1

表中の値は発生動物数。空欄は発生なし。

雄の高用量群において、精巣の精管変性、精巣上体の無精子症および精子減少、肺胞組織球症が低頻度で認められた^{申請者注}。

その他、認められた所見はいずれも単発または用量関連性がなく、偶発的で投与に関係のない発生であると考えられた。

以上、ビーグル犬に検体を 30000ppm 濃度まで飼料中に混入して 1 年間投与したが、検体投与に関連する毒性影響が認められなかったことから、本試験における無毒性量は 30000ppm (雄: 848mg/kg/日、雌: 936mg/kg/日) であると判断した。

申請者注

肺胞組織球症について:

肺胞組織球症は雄の中高用量群で増加しているが、雌の対照群にも認められており、検体投与によるものではないと判断した。

また腫瘍性病変は認められなかった。

精管変性、精巣上体の無精子症および精子減少について:

精管変性は 90 日間反復投与試験 (資料 9 および表 7) において同程度の所見が用量非依存的に認められており、無精子症は対照群にも認められる。よって、これらは検体投与による影響ではないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 7. 雄の所見発生率の比較

試験	0		3000		10000		30000	
	13-w	1-y	13-w	1-y	13-w	1-y	13-w	1-y
動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
精巣/精管変性								
グレート 1			1				1	1
グレート 3					1			1
精巣上体								
/無精子症	1				1			1
/精子減少症								
グレート 4								1

13-w : 90 日間反復投与毒性試験 (資料 9 より)、1-y : 1 年間反復投与毒性試験

表中の値は発生数、空欄は該当なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

11-2. ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性試験

(資料 13)

試験実施機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：2008 年

検体の純度：

雄：2006 年 1 月 4 日～2006 年 4 月 25 日

雌：2006 年 1 月 20 日～2006 年 4 月 27 日

雄：2006 年 4 月 26 日～2008 年 1 月 3 日

雌：2006 年 4 月 28 日～2008 年 1 月 21 日

試験動物： Wistar 系ラット [CrI:WI (Han)]

主 群：1 群雌雄各 50 匹、衛星群：1 群雌雄各 10 匹

試験開始時約 42±1 日齢、試験開始時体重 雄 151.5-182.0g、雌 100.6-139.7g

投与期間： 主 群： 24 ヶ月間 (2006 年 1 月 4 日～2008 年 1 月 21 日)

衛生群： 12 ヶ月間 (2006 年 1 月 4 日～2007 年 1 月 22 日)

投与方法： 所定量の検体を少量の飼料と混和してプレミックスを調製し、飼料を追加混入して 0、1500、5000 および 15000ppm 濃度の飼料を調製し、動物に随時摂取させた。本剤は低毒性のため、高用量 (15000ppm) 群での検体摂取量が 1000mg/kg/日となるよう、雄についてのみ試験期間中に用量を増加した (表 1)。調製飼料は 50 日間の安定性が確認されており、この期間内で調製・供給した。

表 1. 用量群 (ppm)

	対照群	低用量群	中用量群	高用量群
雄	0	150	1500	15000 (試験 0～308 日) 20000 (試験 308～336 日) 22500 (試験 336 日～投与終了まで)
雌	0	150	1500	15000

用量設定根拠： 同研究所での 90 日間反復経口投与試験 (資料 8) において 0、1500、5000 および 15000ppm 濃度の検体混入飼料を投与したところ、15000ppm 群においても特異的な毒性はみられなかった。この用量は検体摂取量として 1000mg/kg/日に相当するものであると予想されたことから、本試験での最高用量を 15000ppm とし、以下 1500 および 150ppm 群を設定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率； 動物の生死および毒性徴候を毎日観察した。詳細な一般状態の観察を試験開始前および試験開始後は週1回実施した。

主群の試験期間終了時の生存率は表2のとおりであった。

表2. 主群の生存率(%)

用量(ppm)	0	150	1500	15000*
動物数	50	50	50	50
雄	76	70	78	68
雌	74	66	72	70

*：雄は試験期間中に22500ppmまで増加した(表1参照)。

途中死亡動物の組織病理学的検査では、用量に関連した所見の増加は認められなかった。

一般状態はいずれも検体投与に関連する変化は認められなかった。

摂餌量； 摂餌量を投与開始13週までは毎週測定し、その後は月1回の割合で測定した。ただし雄の高用量群で試験期間中に用量を増加したことから、試験315~385日の間、雄の対照群および高用量群については毎週測定した。また、試験371日に雄の対照群及び高用量群について体重測定をしたことから摂餌量も測定した。測定値および体重より、動物1匹1日当たりの群平均摂餌量(g)を計算した。

試験679日目の雄の150ppm群の摂餌量が、対照群と比して有意な低下(92.6% $p \leq 0.05$; Dunnett's 両側)を示したが、単発の低下で用量関連性がないことより検体投与の影響ではないと判断した。その他に対照群と比して有意な増減はなく、検体投与による摂餌量の変化は認められなかった。

飲水量； 目視により毎日観察した。
飲水量に検体投与に関連した変化はみられなかった。

体重； 試験開始前、動物の無作為化のために測定した。投与開始後13週までは毎週測定し、その後は月1回の割合で測定した。ただし雄の高用量群で試験期間中に用量を増加したことから、試験315~385日の間、雄の対照群および高用量群については毎週測定した。また、試験371日に雄の対照群及び高用量群のみ体重測定をした。試験0日の体重との差を体重増加量とした。

体重の推移を図1および2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 BASF ジャパン株式会社にある。

図 1. 体重推移-雄

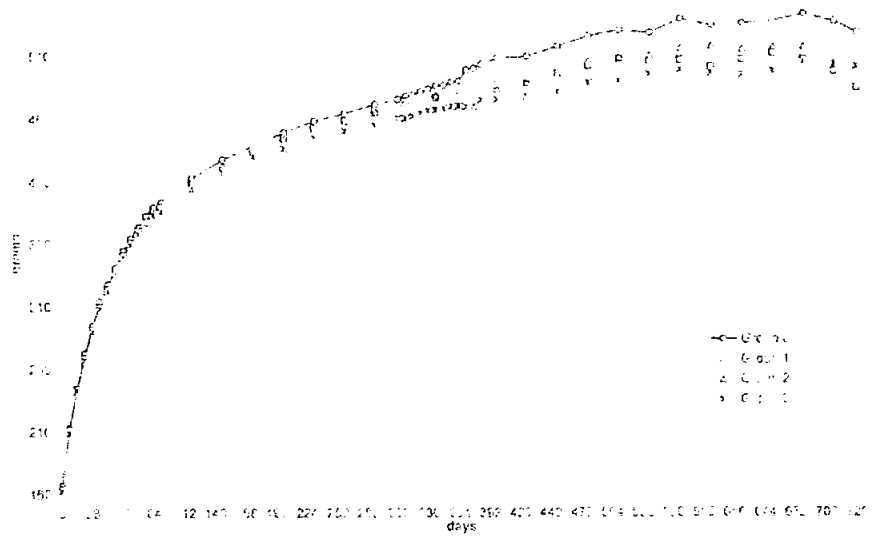
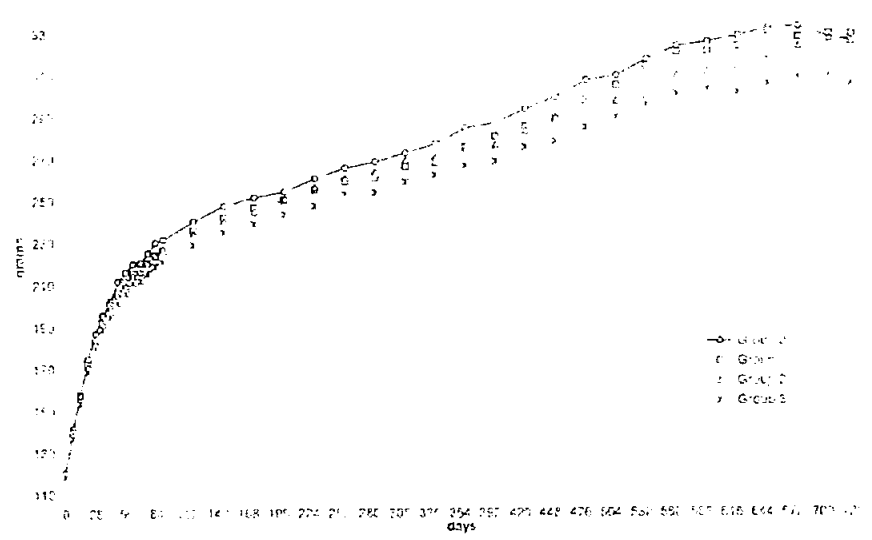


図 2. 体重推移-雌



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 3. 体重および増加量

雄							
体 重				増加量			
測定時期 (日)	用量群 (ppm)			測定時期 (日)	用量群 (ppm)		
	150	1500	15000/ 20000/ 22500		150	1500	15000/ 20000/ 22500
0			97.5 ↓	7			90.3 ↓
357			96.1 ↓				
371-539			92.9~94.5 ↓又は ↓	371-651**			90.1~93.0 ↓
567	93.8 ↓		92.5 ↓				
595-651			92.3~92.8 ↓				
679	93.2 ↓		93.0 ↓				
707	92.5 ↓						
728	91.6 ↓		94.9	728	88.9 ↓		94.2
雌							
体 重				増加量			
測定時期 (日)	用量群 (ppm)			測定時期 (日)	用量群 (ppm)		
	150	1500	15000		150	1500	15000
0			98.1	7			90.3
7~651*			91.8~97.0 ↓又は ↓	28~ 651***			87.5~93.8 ↓又は ↓
728			93.8	728			90.2

統計検定: Dunnett's (両側) ↓ ; $p \leq 0.05$, ↓↓ ; $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

*: 14, 364, 427, 511~595 日を除く。

** : 539, 595 日を除く。

*** : 35, 364, 427, 511~595 日を除く。

高用量群雄の平均体重は、試験 0 日(投与開始直前)に対照群と比して有意に低下(97.5%, $p \leq 0.01$)していたが、これは偶発的なものである。

高用量群雄動物の体重及び体重変化は、試験期間全体を通して対照群より低く投与期間中の 2 年目には統計学的有意差がみられた。しかし、対照群と比較して、低下は 10%未満であり、さらに、試験終了時では体重がわずかに -5.1%、増加量では -5.8%となり、統計学的有意差はなかった。その他には毒性の証拠がなく、これらの比較的軽い変化は、毒性学的に重要ではないと考えられた。

低用量群(150 ppm)の雄動物において、567、679、707 日及び試験終了時の 728 日に最大 -8.4%まで、有意差を伴って体重が低下した。体重変化は、試験終了時に有意差がみられた(-11.2%)。これらの散発的な変動は、明確な用量関連性がなく、偶発的なもので生物学的に重要ではないと考えられた。

高用量群雌の体重及び体重変化は試験期間全体を通して低下し、ほとんどの場合に統計学的有意差がみられた。しかし、対照群に比した体重の低下は 10%以内であり、体重変化は試験全体を通してほぼ約 10%以内であった。対照群と比して最も顕著な体重増加量の低下は 623 日における 12.5%のみであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

体重及び体重増加量の低下は試験終了時までには 10%未満となり、統計学的有意差はみられなかった。高用量群にその他の毒性所見が認められないことから、これらの比較的軽い変化は毒性学的に重要ではないと考えられた。

雌の低用量及び中用量群雌動物の体重及び体重変化には有意差を伴った影響はみられなかった。

摂餌効率： 雄高用量群において試験途中でしばしば飼料中濃度を調整したことにより、技術的な理由から摂餌効率を計算できなかった。

検体摂取量： 体重、飼料摂取量および飼料中の検体濃度より 1 日当たりの平均検体摂取量を算出した。

結果を表 4 に示す。

表 4. 検体摂取量

用量群 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/日)	
	雄	雌
1500	6.9	9.6
5000	69.9	95.0
15000*	870.7	979.3

*：雄は試験期間中に 22500ppm まで増加した(表 1 参照)。

眼科学的検査： 投与開始前に全例について散瞳薬を点眼し、検眼鏡を用いて検査した。12 ヶ月後に衛星群の対照群および高用量群のみを対象に検査を実施した。

検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査： 衛星群の全動物を対象に、試験 3、6 および 12 ヶ月後に、軽麻酔下の動物の眼窩静脈叢から血液を採取した。EDTA-K₃添加の全血について以下の項目を検査した。動物は一晩絶食した。プロトロンビン時間についてはクエン酸を添加した血液を測定に用いた。

赤血球 (RBC)、ヘモグロビン (HGB)、ヘマトクリット (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板 (PLT)、白血球 (WBC)、白血球百分比、網状赤血球 (RETC)、プロトロンビン時間 (HQT)

各検査時期に有意差のみられた項目を表 5 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 5.

検査 時期	性	雄			雌		
	用量 (ppm)	150	1500	15000/ 20000/ 22500	150	1500	15000
	項目/動物数	10	10	10	10	10	10
3ヶ月	HCT	97.4 ↓					

表中の値は対照群の値を 100 とした場合の割合 (%)。空欄は有意差なし。

統計検定 : Kruskal-Wallis + Wilcoxon (両側) ↑ ↓ ; $p \leq 0.05$, ↓ ; $p \leq 0.01$

低用量群に認められたヘマトクリットの僅かな低下は、用量関連性がなく、またその後の検査で低下が見られていないことから検体投与による影響ではなかった。その他、いずれの検査時期においても対照群と比して検体投与に関連した変化および傾向は認められなかった。

血液生化学的検査 : 血液学的検査と同時期に、採血した血液の血清を用いて以下の項目を検査した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、ナトリウム (NA)、カリウム (K)、塩素 (CL)、無機リン (INP)、カルシウム (CA)、尿素 (UREA)、クレアチニン (CREA)、グルコース (GLUC)、総ビリルビン (TBIL)、総蛋白 (TPROT)、アルブミン (ALB)、グロブリン (GLB)、トリグリセリド (TRIG)、コレステロール (CHOL)、マグネシウム (MG)

対照群と比して有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 血液生化学的検査 (衛星群)

検査 時期	性	雄			雌		
	用量 (ppm)	150	1500	15000/ 20000/ 22500	150	1500	15000
	項目/動物数	10	10	10	10	10	10
3ヶ月	K		97 ↓	94 ↓			
	TBIL				119 ↑		
	TRIG					134 ↑	
6ヶ月	ALT						79 ↓
12ヶ月	CL		98 ↓				

表中の値は対照群の値を 100 とした場合の割合 (%)。空欄は有意差なし。

統計検定 : Kruskal-Wallis + Wilcoxon (両側) ↑ ↓ ; $p \leq 0.05$, ↓ ; $p \leq 0.01$

認められた変動は単発での発生で、用量依存性がないことから検体投与による影響ではないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

尿検査： 衛星群の全動物を対象に、試験 3、6 および 12 ヶ月後に、動物を個別に代謝ケージに入れ、絶食および絶水下で一晩尿を採取した。蓄積尿について以下の項目を検査した。

尿量、色調、濁度、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

有意差の認められた変化を表 7 に示す。

表 7. 尿検査

検査時期	項目	用量群 (ppm)	雄			
			0	1500	5000	15000/ 20000/ 22500
		動物数	10	10	10	10
3 ヶ月	潜血	$\leq 1^A$	10	8	8	6↓
		≥ 2	0	2	2	4
	移行性上皮細胞	$\leq 1^A$	10	10	8	5↓
		≥ 2	0	0	2	5
	円柱	$= 0^A$	9	6	7	3↓
		≥ 1	1	4	3	7

^A: 統計検定を実施した。(Fischer 正確検定(片側)、↓: $p \leq 0.05$, ↓↓: $p \leq 0.01$)

3 ヶ月後の検査の高用量群の雄において潜血、尿沈渣での移行性上皮細胞および円柱の有意な増加が認められたが、これらの所見は 6 および 12 ヶ月後の検査では認められなかった。12 ヶ月の屠殺時組織学的病理検査においては膀胱および腎臓に関連する病理所見が認められなかった。従ってこれらの孤立した所見は一過性であり、検体投与によるものではないと考えられた。その他に尿検査での異常は認められなかった。

臓器重量： 投与終了後、衛星群および主群の全生存動物は麻酔下で断頭し、肉眼的病理検査の後以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、脾臓、脳、心臓、

有意差の認められた項目を表 8 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 8. 臓器重量

臓器	性/ 群 (ppm)	雄		
		1500	5000	15000/ 20000/ 22500
衛星群 (12 ヶ月)				
	動物数	10	10	10
最終体重		108.0	110.8	104.7
精巣上体	絶対	121.7 ↑	108.8 ↓	109.0 ↓
	対体重	114.0	98.1	103.4
主群 (24 ヶ月)				
	動物数	35	39	34
最終体重		91.0	94.9	95.5
精巣上体	絶対	102.8	107.4	105.9
	対体重	113.2 ↑	113.7 ↑	110.6 ↓
心臓	対体重	110.0 ↑	106.3 ↑	102.2
腎臓	対体重	114.2 ↑	110.8 ↑	108.1 ↑
肝臓	対体重	107.6	104.8 ↓	107.2 ↓

表中の値は対照群に対する割合 (%)。空欄および矢印のない数値は有意差なし。

統計検定 : Kruskal-Wallis H および Wilcoxon test (両側) ↓ ↓ : $p \leq 0.05$, ↓ ↑ : $p \leq 0.01$

衛生群の雄において精巣上体の絶対重量が有意に増加したが、用量関連性や比重量に影響がなく、さらに関連する病理組織学的所見もないことから偶発的な変化と判断した。

主群の雄において、投与群に精巣上体、心臓、腎臓および肝臓の比重量の増加が認められたが、用量関連性がなく絶対重量には変化がなかった。これらは最終体重の軽度な低下に関連したもので、検体投与による毒性学的影響ではないと判断した。

雌には有意な変動は見られなかった。

肉眼的病理検査 : 主群、衛星群の投与終了後の全生存動物、切迫屠殺および死亡動物について肉眼的病理検査を実施した。

検体投与に関連すると思われる所見の増加は認められなかった。

病理組織学的検査 : 切迫屠殺、死亡動物および全生存動物の以下の臓器を採取し、4%ホルマリン溶液で固定した。対照群および高用量群の全動物を対象として以下の組織について病理標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施し、低および中用量群の動物については肉眼的異常の認められた動物の組織を対象として組織病理学的検査を実施した。

唾液腺(顎下、舌下)、食道、胃(前胃、腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、脳、下垂体、坐骨神経、脊髄(頸部、胸部、腰部)、眼(視神経を含む)、副腎(皮質、髄質)、甲状腺、副甲状腺、気管、肺、咽頭、喉

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

頭、鼻腔(レベルⅢ)、大動脈、心臓、骨髄(大腿骨)、リンパ節(腸間膜、腋窩)、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、卵管、子宮、膣、前立腺、精囊、精巣上体、乳腺(雌)、皮膚、骨格筋、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(膝関節を含む)、眼窩外涙腺、ハーダー腺、その他肉眼的異常部位

主な非腫瘍性病変を表 9 に、全ての腫瘍性病変を表 10 に示した。
全動物の所見の発生率について、対照群と高用量群との統計学的解析をしたが、有意差は認められなかった。(Fisher's 正確検定(片側) $p \leq 0.05$: 有意差なし)

以上、本試験において雄で 22500ppm および雌で 15000ppm 群まで投与したが検体に起因する毒性影響は認められなかった。

従って、本試験における無毒性量は最高用量群の 15000ppm (雄 : 870.7mg/kg/日、雌 : 979.3mg/kg/日) であると判断した。発がん性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

申請者注)

総胆管： 肉眼および組織病理学的検査において、総胆管拡張の高用量群でのわずかな増加傾向が認められた（表 A）。これは加齢に伴う変化であると考えられ、背景データの範囲内であることから、検体投与に起因する毒性ではないと考えられる。総胆管に認められたその他の所見、結石、炎症などには検体投与による影響はなく、血液学的検査等の関連項目に影響がみられなかったことから、毒性影響とは判断しなかった。

表 A

	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500
肉眼所見 全動物	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	総胆管 拡張	7	6	10	11	3	4	4	8
組織 病理学的 所見 全動物	検査動物数	7	6	10	10	3	4	3	8
	総胆管								
	拡張	7	6	10	10	3	4	3	8
	炎症			1	1				
	結石	1		1	3		1		
	過形成、巢性				1				

統計検定：Fisher's 正確検定（片側）

空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。 表中の値は発生動物数。

雄高用量群および雌中間用量群の各 1 匹において組織病理学的検査では標本作成の手法などにより拡張が認められなかった。

総胆管拡張背景データ：雄 6-14/50 例、雌 1-8/50 例（2002-2009 年、7 試験、350 例）

甲状腺 C 細胞： C 細胞腺腫および腺癌の対照群および高用量群との間に統計学的に有意でないが、増加傾向が認められた。過形成の所見を含め表 B に示す。C 細胞の過形成の発生率を比較すると、雄において高用量群は対照群と同等であり、雌では高用量群のほうの発生率が低かった。従って、C 細胞の腫瘍の前癌病変である過形成が対照群と比して高用量群で増加傾向を示していないことから、腫瘍の増加傾向に毒性学的意義はない。

表 B

検査 対象	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
全 動物	甲状腺	動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		所見 / 検査動物数	50	20	11	50	50	19	14	50
		C 細胞びまん性過形成	10	2	5	11	15	5		12
		C 細胞巢性過形成 (複)	11	2	2	11	20	3	4	11
		C 細胞腺腫 B ^{m,f}	4	3	2	8	7	3	3	11
		C 細胞癌 M ^f		1						

B：良性、M：悪性

統計検定（Fisher's 正確検定、片側：対照群と高用量群）を実施した所見に印を付した。（雄の検定には m、雌の検定には f を付した。）空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 9. 主な非腫瘍性病変

表 9-1. 衛星群 (12ヶ月計画殺)

臓器	性	雄				雌			
	用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
	動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
ハタゲ腺	所見/検査動物数	10			10	10	1	1	10
	結石	9			10	6		1	7
	炎症	5			4	6			5
腎臓	所見/検査動物数	10		1	10	10	2	1	10
	髄質鉱質化	1			1	8	1		6
	慢性腎症	8		1	6	7	1	1	4
肝臓	所見/検査動物数	10			10	10	1	1	10
	リンパ球浸潤	9			10	9			7
	脂肪変性	7			8	10			6
	変異細胞巣	5			6	3			3
	明細胞性	1			1				
	好酸性	2			3				
	好塩基性, 虎斑状	3			5	3			1
好塩基性(NOS)					1			2	
下垂体	所見/検査動物数	10	1		10	10	3	2	10
	中間部嚢胞	1			2	1		1	1
	前葉嚢胞	1			1				1
	前葉過形成		1			1	1		2
胸腺	所見/検査動物数	10			10	10	1	1	10
	嚢胞	5			3	5		1	6
	管索過形成	1				4			7

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 9-2. 主群 (死亡・切迫屠殺動物)

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
死亡・切迫屠殺動物	副腎	動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
	副副腎	副副腎	1	1	3	4	1			
		嚢胞変性	2	5	1	1	12	12	12	13
		肥大巣	1	2	2			1	1	1
		皮質過形成	1	1	1	3		4	2	1
	総胆管	所見 / 検査動物数	1			2				1
		拡張	1			2				1
	ハゲ腺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		結石	12	15	11	15	10	14	12	14
		炎症	5	5	3	4	2	3	4	6
	腎臓	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		慢性腎症	9	13	9	15	5	8	11	7
	肝臓	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		リガ球浸潤	10	11	7	10	2	8	4	7
		脂肪変性 単細胞	2	2	1	3		1		1
		肝類洞拡張	2	2	2	4			1	
		胆管過形成	1	3	6	5	6	6	4	4
		変異細胞巣	7	5	5	8	8	8	7	9
		明細胞性	2	2	3	3	3	2		3
		好酸性 好塩基性, 虎斑状 好塩基性, びまん性 好塩基性 (NOS)	6	3	3	5	8	7	6	6
	上皮小体	所見 / 検査動物数	12	15	10	15	12	15	14	13
		過形成 巣 (複)	1							1
	胸腺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		嚢胞	3	2	3	1	9	10	8	8
		びまん性萎縮	10	14	10	13	11	11	11	11
	甲状腺	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	17	13	15
		嚢原性嚢胞		1	1	2	1	1	1	
		C細胞びまん性過形成	1	1	5	5		4		2
		C細胞巣性過形成 (複)			1	3	4	3	4	1
					2					

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 9-3. 主群 (最終屠殺動物)

検査時期	臓器	性 用量群 (ppm)	雄				雌			
			0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
最終屠殺動物	副腎	動物数	38	35	39	34	37	33	36	35
		所見 / 検査動物数	38	2	3	34	37	16	12	35
		副副腎	3		2	4	1	7	2	4
		嚢胞変性	2		3		34	15	12	33
		肥大巣	4			4	1	2	2	4
	総胆管	皮質過形成	9	1		7	2			3
		所見 / 検査動物数	6	6	10	8	3	4	3	7
	ハゲ腺	拡張	6	6	10	8	3	4	3	7
		所見 / 検査動物数	38			34	37			35
		結石	34			31	29			30
		炎症	6			7	9			10
	腎臓	過形成 巣(複)								1
		所見 / 検査動物数	38	4	3	34	37	2	4	35
	肝臓	慢性腎症	34	4	3	30	31	2	3	26
		所見 / 検査動物数	38	20	18	34	37	12	15	35
		リンパ球浸潤	32	8	11	32	26	7	12	28
		脂肪変性 単細胞	18	5	6	21	15	3	5	15
		肝類洞拡張	9	15	9	12		4	3	1
		胆管過形成	20	8	9	16	25	2	8	28
		変異細胞巣	33	16	15	31	36	11	15	32
		明細胞性	13	2	2	18	2			2
		好酸性	23	5	7	29	8	3	2	5
		好塩基性, 虎斑状	31	14	11	26	34	9	14	31
	上皮小体	好塩基性 びまん性	7	1		7	6	2	3	4
		好塩基性 (NOS) ^a	2	2	5	5	2	2	3	2
	胸腺	所見 / 検査動物数	35	1	1	33	36	1	1	34
		過形成 巣(複)	7			10	1			3
		所見 / 検査動物数	36		2	34	37	10	7	35
	甲状腺	嚢胞	14			7	24	6	3	29
		びまん性萎縮	32			33	26			32
		所見 / 検査動物数	36	5	1	34	37	2	1	35
		嚢原性嚢胞	3			6	2			4
C細胞びまん性過形成		9	1		6	15	1		10	
	C細胞巣性過形成(複)	11	2	1	8	16			10	
	濾胞細胞巣過形成(複)	1			3					

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 9-4. 主群 (全動物)

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/20000/22500	0	150	1500	15000
全動物		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	所見 / 検査動物数	50	17	14	50	50	33	26	50
		副副腎	4	1	5	8	3	11	4	7
		嚢胞変性	4	5	4	1	46	27	24	46
		肥大巣	5	2	2	4	1	3	3	5
		皮質過形成	10	2	1	10	2	4	2	4
	総胆管	所見 / 検査動物数	7	6	10	10	3	4	3	8
		拡張	7	6	10	10	3	4	3	8
	ハゲ腺	所見 / 検査動物数	50	15	11	50	50	17	14	50
		結石	46	15	11	46	39	14	12	44
		炎症	12	5	3	10	11	3	4	16
		過形成 巣(複)								1
	腎臓	所見 / 検査動物数	50	19	14	50	50	19	18	50
		慢性腎症	43	17	12	45	36	10	14	33
	肝臓	所見 / 検査動物数	50	35	29	50	50	29	29	50
		リンパ球浸潤	42	19	18	42	28	15	16	35
		脂肪変性 単細胞	20	7	7	24	15	7	6	16
		肝類洞拡張	11	17	11	16		4	4	1
		胆管過形成	21	11	15	21	31	11	12	32
		変異細胞巣	40	21	20	39	44	19	22	41
		明細胞性	15	4	5	21	5	2		5
		好酸性	23	6	8	31	8	4	3	5
	好塩基性, 虎斑状	37	17	14	31	42	16	20	37	
	好塩基性, びまん性	7	1		7	7	3	3	4	
	好塩基性 (NOS) ^a	2	3	5	6	2	3	5	2	
	上皮小体	所見 / 検査動物数	47	16	11	48	48	16	15	47
		過形成 巣(複)	7	1	2	13	3		1	3
	胸腺	所見 / 検査動物数	48	14	13	48	50	27	21	49
		嚢胞	17	2	3	8	33	16	11	37
		びまん性萎縮	42	14	10	46	37	11	11	43
甲状腺	所見 / 検査動物数	50	20	11	50	50	19	14	50	
	鰓原性嚢胞	3	1	1	8	3	1	1	4	
	C細胞びまん性過形成	10	2	5	11	15	5		12	
	C細胞巣性過形成(複)	11	2	2	11	20	3	4	11	
	濾胞細胞巣過形成(複)	1			3					

空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

統計検定: Fisher's 正確検定(片側) † ↓ : 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 10. 腫瘍性病変

表 10-1. 腫瘍性病変 衛星群 (12 ヶ月計画殺) 全動物

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
		動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
12 ヶ月	腸間膜 リンパ節	所見 / 検査動物数	10			10	10	1	1	10
		血管腫 B								1
	下垂体	所見 / 検査動物数	10	1		10	10	3	2	10
		腺腫 B	1	1			4	2	1	1
	子宮	所見 / 検査動物数					10	3	1	10
子宮内膜腺癌 M						1				

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-2. 腫瘍性病変 主群 (死亡・切迫屠殺動物)

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/20000/22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡・切迫屠殺	脂肪組織	所見 / 検査動物数			1				1	
		脂肪腫 B			1					
	副腎皮質	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		皮質腺腫 B								1
		皮質癌 M					1			
	副腎髄質	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		良性褐色細胞腫 B			1	1				
		悪性褐色細胞腫 M	1							
	脳	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		良性顆粒細胞腫 B				1	1	1		1
		悪性顆粒細胞腫 M						1		
		悪性星状膠細胞腫 M								1
		悪性細網症 M				1				1
		転移 M								1
	横隔膜	所見 / 検査動物数					3	2		
		転移 M					3	1		
	大腿骨	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	16	14	14
		転移 M	1							
	腺胃	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	17	14	15
		転移 M						1		
	ハダ腺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		腺癌 M						1		
	心臓	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		肉腫 (NOS) M							1	
	リンパ造血組織	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		悪性リンパ腫 M	1		1	1		1		
		組織球性肉腫 M						1		
腸骨リンパ節	所見 / 検査動物数	2		3	4	5	8	3	3	
	転移 M						1		1	
空腸	所見 / 検査動物数	10	13	10	16	13	16	12	15	
	転移 M					1				
腎臓	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15	
	腺腫 B						1			
	腎芽腫 M		1				1			
喉頭	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	16	13	15	
	転移 M			1						
肝臓	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15	
	肝細胞癌 M			1						
	転移 M	1				3	1			
肺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15	
	転移 M	1			1	1			1	

B: 良性、M: 悪性

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-2. 腫瘍性病変 主群 (死亡・切迫屠殺動物) つづき

検査時期	臓器	性 用量群 (ppm)	雄				雌			
			0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡・切迫屠殺	乳腺	所見 / 検査動物数		1	1		13	16	13	15
		腺腫 B								1
		線維腺腫 B						2	1	2
		腺癌 M					2	1	2	1
		悪性シウワ細胞 M							1	
	下顎腺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		癌 M					1			
		転移 M			2					
	縦隔 リンパ節	所見 / 検査動物数	3			1	1	3	1	1
		転移 M	1				1	1		
	腸間膜 リンパ節	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	16	14	15
		血管腫 B	1				1			1
		転移 M					1			
	腸間膜	所見 / 検査動物数					3	1		
		転移 M					3	1		
	卵巢	所見 / 検査動物数					13	17	14	15
		転移 M					1			
	膵臓	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	17	14	15
		島細胞腺腫 B			2					
		島細胞癌 M							1	1
		転移 M					4	1		1
	上皮 小体	所見 / 検査動物数	12	15	10	15	12	15	14	13
		腺腫 B			1	1				
	腹膜	所見 / 検査動物数					1			
		転移 M					1			
	咽頭	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		転移 M			1					
下垂体	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	13	15	
	前葉腺腫 B	7	12	8	10	10	9	9	9	
	前葉癌 M								1	
前立腺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16					
	腺腫 B			2	1					
	転移 M				1					
腎 リンパ節	所見 / 検査動物数	2	3	1	2	2	1		1	
	転移 M					2				
精囊腺	所見 / 検査動物数	12	15	11	16					
	転移 M				1					
骨格筋	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15	
	悪性シウワ細胞腫 M				1					
	肉腫 (NOS) M	1								

B: 良性、M: 悪性

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-2. 腫瘍性病変 主群（死亡・切迫屠殺動物）つづき

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/20000/22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡・切迫屠殺	皮膚	所見 / 検査動物数	12	15	11	16	13	17	14	15
		角化棘細胞腫 B	1							
		扁平上皮癌 M								1
		悪性基底細胞腫瘍 M			2					
		悪性線維性組織球腫 M	1							
		線維肉腫 M			1					
		血管肉腫 M					1			
	脾臓	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	17	14	15
		血管肉腫 M		1					1	
		転移 M	1					1	1	1
	精巣	所見 / 検査動物数	12	15	11	16				
		ライディット細胞腺腫 B			1					
	胸腺	所見 / 検査動物数	12	14	11	14	13	17	14	14
		良性胸腺腫瘍 B					2	4	1	2
	甲状腺	所見 / 検査動物数	12	15	10	16	13	17	13	15
		C細胞腺腫 B			2	1	2	2	2	3
		濾胞細胞腺腫 B					1	1	1	
		濾胞細胞癌 M								1
	膀胱	所見 / 検査動物数	12	14	10	15	13	17	14	15
		移行上皮乳頭腫 B				1				
		転移 M				1				
	子宮	所見 / 検査動物数					13	17	14	15
		子宮内膜腺腫 B						1		
		子宮内膜腺癌 M					5	3		1
		扁平上皮癌 M							1	
		子宮内膜間質肉腫 M						2	1	
	膣	所見 / 検査動物数					13	17	14	15
転移 M								1		

B：良性、M：悪性

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-3. 腫瘍性病変 主群 (最終屠殺動物)

検査時期	臓器	性 用量群 (ppm)	雄				雌			
			0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
最終屠殺動物	脂肪組織	動物数	38	35	39	34	37	33	36	35
		所見 / 検査動物数	3	1	1	1		4	1	1
		脂肪腫 B	1	1	1			1		
		脂肪肉腫 M	1							
	副腎皮質	所見 / 検査動物数	38	2	3	34	37	16	12	35
		皮質腺腫 B				1	1	1		
		皮質癌 M							1	
	副腎髄質	所見 / 検査動物数	38	2	3	34	37	13	9	35
		良性褐色細胞腫 B	1	1	1			1		
		悪性褐色細胞腫 M				1				
		転移 M	1							
	脳	所見 / 検査動物数	38	2	1	34	37	5	5	35
		良性顆粒細胞腫 B	4			1	2			1
		悪性顆粒細胞腫 M	1							
		星状膠細胞腫 M	1							
		転移 M	1				1			2
	盲腸	所見 / 検査動物数	38	2		34	37			35
		線維性組織球腫 B	1							
	十二指腸	所見 / 検査動物数	38			34	37			35
		平滑筋腫 B								1
	精巣上体	所見 / 検査動物数	38	3	3	34				
		悪性中皮腫 M	1							
	前胃	所見 / 検査動物数	38	2	1	34	37			35
		転移 M			1					
	腺胃	所見 / 検査動物数	38	1	2	34	37	1	2	35
		肉腫 (NOS) M			1					
	リンパ造血組織	所見 / 検査動物数	38			34	37			35
		悪性リンパ腫 M	1				1			
	腸骨リンパ節	所見 / 検査動物数	14	10	10	7	10	10	9	11
		血管肉腫 M				1				
	空腸	所見 / 検査動物数	48	16	10	50	50	16	12	50
		平滑筋肉腫 M		1						
	腎臓	所見 / 検査動物数	38	4	3	34	37	2	4	35
		腺腫 B							1	
		悪性間葉腫 M						1		
肝臓	所見 / 検査動物数	38	20	18	34	37	12	15	35	
	肝細胞腺腫 B	1			2			2	1	
	肝細胞癌 M	3				2		2	1	
肺	所見 / 検査動物数	38	3	1	34	37	3	1	35	
	転移 M	2					1			
乳腺	所見 / 検査動物数	1	1			37	4	3	35	
	腺腫 B					2		1	2	
	線維腺腫 B					2	1		3	
	腺癌 M					2	1	1	3	
	線維腺腫中腺癌 M						1			

B: 良性、M: 悪性

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-3. 腫瘍性病変 主群 (最終屠殺動物) つづき

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終屠殺動物	腸間膜リンパ節	所見 / 検査動物数	38	4	5	34	37	1	1	35
		血管腫 B	1		1	1		1		
		血管肉腫 M	2	1	2					
	口腔	所見 / 検査動物数	4			1				
		扁平上皮癌 M	1							
	卵巢	所見 / 検査動物数					37	9	3	35
		良性性索間質腫瘍 B					1			2
		悪性性索間質腫瘍 M								1
	脾臓	所見 / 検査動物数	38	1	2	34	37			35
		島細胞腺腫 B	2		1	4				
		腺房細胞腺腫 B		1						
		転移 M								1
	上皮小体	所見 / 検査動物数	35	1	1	33	36	1	1	34
		腺腫 B	1			3	4			3
	腹膜	所見 / 検査動物数						1		
		顆粒細胞腫 B						1		
	下垂体	所見 / 検査動物数	38	12	11	34	37	21	16	35
		中間部腺腫 B	2				1			
		前葉腺腫 B	14	11	8	9	23	18	15	23
		前葉癌 M	1				1			2
	前立腺	所見 / 検査動物数	38	1	3	34				
		腺腫 B	2		1	1				
		肉腫 (NOS) M	1							
	腎リンパ節	所見 / 検査動物数	5	5	7	7	4	5	1	3
		転移 M						1		
	精囊腺	所見 / 検査動物数	38	1	3	34				
		転移 M	1							
	骨格筋	所見 / 検査動物数	37	1		34	37			35
		転移 M		1						
	皮膚	所見 / 検査動物数	38	15	19	34	37	2	1	35
		角化棘細胞腫 B	2	2	1	1				
		良性毛包腫瘍 B			1					
		血管腫 B	1							
		脂肪腫 B					1			
		線維腫 B	1		1					
		良性顆粒細胞腫 B			1					
悪性基底細胞腫瘍 M		1								
繊維肉腫 M				1						
脾臓	所見 / 検査動物数	38	1	1	34	37	1	1	35	
	肉腫 (NOS) M							1		
	血管肉腫 M		1		1					
精巣	所見 / 検査動物数	38	9	4	34					
	ライディヒ細胞腺腫 B	1	4	1	2					

B: 良性、M: 悪性

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-3. 腫瘍性病変 主群（最終屠殺動物）つづき

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終屠殺動物	胸腺	所見 / 検査動物数	36		2	34	37	10	7	35
		良性胸腺腫 B	3		1	2	10	6	4	4
		悪性胸腺腫 M							1	
		嚢腫 M			1					
	甲状腺	所見 / 検査動物数	38	5	1	34	37	2	1	35
		C細胞腺腫 B	4	3		7	5	1	1	8
		濾胞細胞腺腫 B	9	1		1	4			2
		C細胞癌 M		1						2
		濾胞細胞癌 M	1		1		1			1
	子宮	所見 / 検査動物数					37	19	21	35
		子宮内膜腺腫 B					1			
		子宮内膜腺癌 M					9	7	4	8
		子宮内膜間質肉腫 M						1		1
	膣	所見 / 検査動物数					37	2		35
転移 M							1		1	

B: 良性、M: 悪性

統計検定なし。空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-4. 腫瘍性病変 主群 (全動物)

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	脂肪組織	所見 / 検査動物数	3	1	2	1		4	2	1
		脂肪腫 B	1	1	2			1		
		脂肪肉腫 M	1							
		転移 M						1		
	副腎皮質	所見 / 検査動物数	50	17	14	50	50	33	26	50
		皮質腺腫 B ^{m,f}				1	1	1		1
		皮質癌 M ^f					1		1	
	副腎髄質	所見 / 検査動物数	50	17	14	50	50	30	23	50
		良性褐色細胞腫 B ^m	1	1	2	1		1		
		悪性褐色細胞腫 M ^m	1			1				
		転移 M ^m	1							
	脳	所見 / 検査動物数	50	17	12	50	50	22	19	50
		良性顆粒細胞腫 B ^{m,f}	4			2	3	1		2
		悪性顆粒細胞腫 M ^m	1					1		
		星状膠細胞腫 M ^{m,f}	1							1
		悪性細網症 M ^m				1				
	転移 M ^{m,f}	1				1			3	
	盲腸	所見 / 検査動物数	50	17	10	50	50	14	12	50
		線維性組織球腫 B ^m	1							
	横隔膜	所見 / 検査動物数					3	2		
		転移 M					3	1		
	十二指腸	所見 / 検査動物数	50	15	10	50	50	17	13	50
		平滑筋腫 B ^f								1
	精巣上体	所見 / 検査動物数	50	18	14	50				
		悪性中皮腫 M ^m	1							
	大腿骨	所見 / 検査動物数	50	15	11	50	50	16	14	49
		転移 M ^m	1							
	前胃	所見 / 検査動物数	50	17	12	50	50	17	14	50
		転移 M			1					
	腺胃	所見 / 検査動物数	50	16	12	50	50	18	16	50
肉腫 (NOS) M				1						
転移 M							1			
ハダ腺	所見 / 検査動物数	50	15	11	50	50	17	14	50	
	腺癌 M						1			
心臓	所見 / 検査動物数	50	15	11	50	49	17	14	50	
	肉腫 (NOS) M							1		
リンパ造血組織	所見 / 検査動物数	50	15	11	50	50	17	14	50	
	悪性リンパ腫 M ^{m,f}	2		1	1	1	1			
	組織球性肉腫 M						1			
腸骨リンパ節	所見 / 検査動物数	16	10	13	11	15	18	12	14	
	血管肉腫 M				1					
	転移 M					1			1	
空腸	所見 / 検査動物数	48	16	10	50	50	16	12	50	
	平滑筋肉腫 M		1							
	転移 M ^f					1				

B: 良性、M: 悪性、空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

統計検定を実施した所見に印を付した。(雄の検定には m、雌の検定には f を付した)

Fisher's 正確検定 (片側) 1 ↓ ; 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-4. 腫瘍性病変 主群 (全動物) つづき

検査時期	臓器	性 用量群 (ppm)	雄				雌			
			0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
全動物	腎臓	動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		所見 / 検査動物数	50	19	14	50	50	19	18	50
		腺腫 B						1	1	
		悪性間葉腫 M						1		
	喉頭	動物数		1				1		
		所見 / 検査動物数	50	15	10	50	50	16	13	50
		転移 M			1					
		腎芽腫 M								
	肝臓	動物数								
		所見 / 検査動物数	50	35	29	50	50	29	29	50
		肝細胞腺腫 B ^{m,f}	1			2			2	1
		肝細胞癌 M ^{m,f}	3		1		2		2	1
	肺	動物数								
		所見 / 検査動物数	50	18	12	50	50	20	15	50
		転移 M ^{m,f}	3			1	1	1		1
		腎芽腫 M								
	乳腺	動物数								
		所見 / 検査動物数	1	2	1		50	20	16	50
		腺腫 B ^f					2		1	3
		線維腺腫 B ^f					2	3	1	5
		腺癌 M ^f					4	2	3	4
		線維腺腫中腺癌 M						1		
	下顎腺	動物数								
		所見 / 検査動物数	50	15	11	50	50	17	14	50
		癌 M ^f					1			
		転移 M			2					
	縦隔	動物数								
		所見 / 検査動物数	5		2	2	18	6	4	12
	リンパ節	動物数								
		所見 / 検査動物数	1				1	1		
血管腫 B ^{m,f}										
血管肉腫 M ^m										
腸間膜	動物数									
	所見 / 検査動物数	50	19	15	50	50	17	15	50	
	転移 M ^f	2		1	1	1	1		1	
	転移 M ^f	2	1	2						
腸間膜	動物数									
	所見 / 検査動物数					3	1			
口腔	動物数									
	所見 / 検査動物数	4			1				1	
卵巣	動物数									
	所見 / 検査動物数					50	26	17	50	
	扁平上皮癌 M	1								
	良性性索間質腫瘍 B ^f					1			2	
膵臓	動物数									
	所見 / 検査動物数	50	16	12	50	50	17	14	50	
	悪性性索間質腫瘍 M ^f								1	
	島細胞腺腫 B ^m	2		3	4					
上皮小体	動物数									
	所見 / 検査動物数									
	腺腫 B ^{m,f}									
	腺房細胞腺腫 B		1						1	
腹膜	動物数									
	所見 / 検査動物数	47	16	11	48	48	16	15	47	
	島細胞癌 M ^f								1	
	転移 M ^f					4	1		2	
腹膜	動物数									
	所見 / 検査動物数	47	16	11	48	48	16	15	47	
	腺腫 B ^{m,f}	1		1	4	4			3	
	顆粒細胞腫 B						1			
腹膜	動物数									
	所見 / 検査動物数					1	1			
腹膜	動物数									
	所見 / 検査動物数					1	1			
腹膜	動物数									
	所見 / 検査動物数					1	1			

B: 良性、M: 悪性 空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

統計検定を実施した所見に印を付した。(雄の検定には m、雌の検定には f を付した)

Fisher's 正確検定(片側) 1 ↓ ; 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-4. 腫瘍性病変 主群 (全動物) つづき

検査時期	臓器	性 用量群 (ppm)	雄				雌			
			0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
全動物	咽頭	動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		所見 / 検査動物数	48	15	11	48	50	17	14	50
	下垂体	転移 M			1					
		所見 / 検査動物数	50	27	22	50	50	38	29	50
		中間部腺腫 B ^{m,f}	2				1			
		前葉腺腫 B ^{m,f}	21	23	16	19	33	27	24	32
	前立腺	前葉癌 M ^{m,f}	1				1			3
		所見 / 検査動物数	50	16	14	50				
		腺腫 B ^m	2		3	2				
		肉腫 (NOS) M ^m	1							
	腎	転移 M ^m				1				
		所見 / 検査動物数	7	8	8	9	6	6	1	4
	リンパ節	転移 M					2	1		
		所見 / 検査動物数	50	16	14	50				
	精囊腺	転移 M ^m	1			1				
		所見 / 検査動物数	49	16	11	50	50	17	14	50
	骨格筋	悪性シュワン細胞腫 M ^m				1				
		肉腫 (NOS) M ^m	1							
		転移 M		1						
		所見 / 検査動物数	50	30	30	50	50	19	15	50
	皮膚	角化棘細胞腫 B ^m	3	2	1	1				
		良性毛包腫瘍 B			1					
		血管腫 B ^m	1							
		脂肪腫 B ^f					1			
		線維腫 B ^m	1		1					
		良性顆粒細胞腫 B			1					
		扁平上皮癌 M ^f								1
		悪性基底細胞腫 M ^m	1		2					
悪性線維性組織球腫 M ^m		1								
線維肉腫 M				2						
血管肉腫 M ^m					1					
脾臓	所見 / 検査動物数	50	16	11	50	50	18	15	50	
	肉腫 (NOS) M							1		
	血管肉腫 M ^m		2		1			1		
	転移 M ^{m,f}	1					1	1	1	
精巣	所見 / 検査動物数	50	24	15	50					
	ライディット細胞腺腫 B ^m	1	4	2	2					
胸腺	所見 / 検査動物数	48	14	13	48	50	27	21	49	
	良性胸腺腫瘍 B ^{m,f}	3		1	2	12	10	5	6	
	悪性胸腺腫瘍 M							1		
	膵嚢腫 M			1						
甲状腺	所見 / 検査動物数	50	20	11	50	50	19	14	50	
	C細胞腺腫 B ^{m,f}	4	3	2	8	7	3	3	11	
	濾胞細胞腺腫 B ^{m,f}	9	1		1	5	1	1	2	
	C細胞癌 M ^f		1						2	
	濾胞細胞癌 M ^{m,f}	1		1		1			2	

B: 良性、M: 悪性、空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

統計検定を実施した所見に印を付した。(雄の検定には m、雌の検定には f を付した)

Fisher's 正確検定(片側) ↑ ↓ ; 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 10-4. 腫瘍性病変 主群 (全動物) つづき

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	150	1500	15000/ 20000/ 22500	0	150	1500	15000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	膀胱	所見 / 検査動物数	50	14	10	49	50	17	14	50
		移行上皮乳頭腫 B ^m				1				
		転移 M ^m				1				
	子宮	所見 / 検査動物数					50	36	35	50
		子宮内膜腺腫 B ^f					1	1		
		子宮内膜腺癌 M ^f					14	10	4	9
		扁平上皮癌 M							1	
		子宮内膜間質肉腫 M ^f						3	1	1
膣	所見 / 検査動物数					50	19	14	50	
	転移 M ^f						1	1	1	
合計	検査動物数		50	47	43	50	50	47	49	50
	腫瘍数	良性のみ	61	36	37	53	85	59	43	76
		悪性	19	6	12	7	25	22	18	26
	腫瘍総数		80	42	49	60	110	81	61	102
	担腫瘍動物数	良性のみ	27	25	18	34	24	25	21	27
		悪性	16	6	11	7	22	18	17	20
担腫瘍動物総数		43	31	29	41	46	43	38	47	

B: 良性、M: 悪性、空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

統計検定を実施した所見に印を付した。(雄の検定には m、雌の検定には f を付した)

Fisher's 正確検定 (片側) ↓ ; 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 BASF ジャパン株式会社にある。

11-3. マウスを用いた発がん性試験

(資料 14)

試験実施機関：

報告書作成年：2008年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物： C57BL/6 J Rj 系マウス, 1群雌雄各 50匹

投与開始時齢：雌雄 49±1 日齢, 体重；雄 20.4~23.0g, 雌 17.1~19.8g

投与期間： 18ヶ月

雄：2006年9月25日~2008年3月24日

雌：2006年9月26日~2008年3月25日

投与方法： 検体を飼料に混入して 0, 60, 600 および 6000ppm 濃度に調製し、動物に 18ヶ月間、随時摂取させた。投与飼料は1ヶ月に1回調製した。

用量設定根拠： 本検体は、既実施の試験で確認されており、マウスにおける 90日間反復投与毒性試験（資料 10）においても雌雄とも 6000ppm 群において検体投与による毒性が認められなかった。従って、本試験において限界用量である 1000mg/kg/日を満足させる 6000ppm を最高濃度とし、以下 600 および 60ppm を設定した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率： 一般状態および死亡を毎日確認した。詳細な臨床症状を投与開始前および開始後は週に1回観察した。

一般状態に検体投与に関連した異常はみられなかった。

18ヶ月間を通した死亡率を表 1 に示す。死亡に検体投与による影響は認められなかった。

表 1. 死亡率 (%)

投与量 (ppm)	0	60	600	6000
雄	6	16	8	6
雌	8	10	10	6

体重変化： 投与開始前、投与開始から 13 週までは毎週、以降は 4 週間毎に測定し、各測定時点と投与開始日 (0 日) の差を求めた。

雌雄の体重の推移をそれぞれ図 1、2 および 3 に示す。また、有意差のみられた時点の体重および増加量を表 2 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

図 1. 体重変化 (雄)

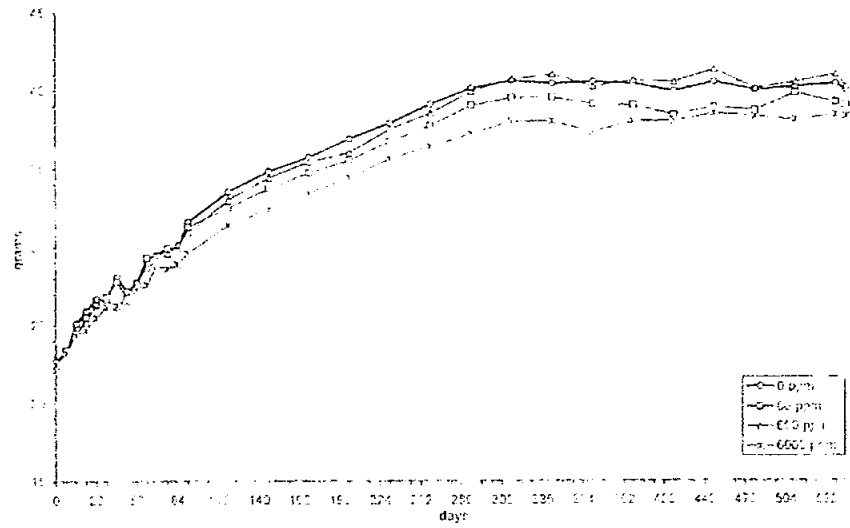


図 2. 体重変化 (本試験の雄(対照・高用量群)および背景データとの比較)

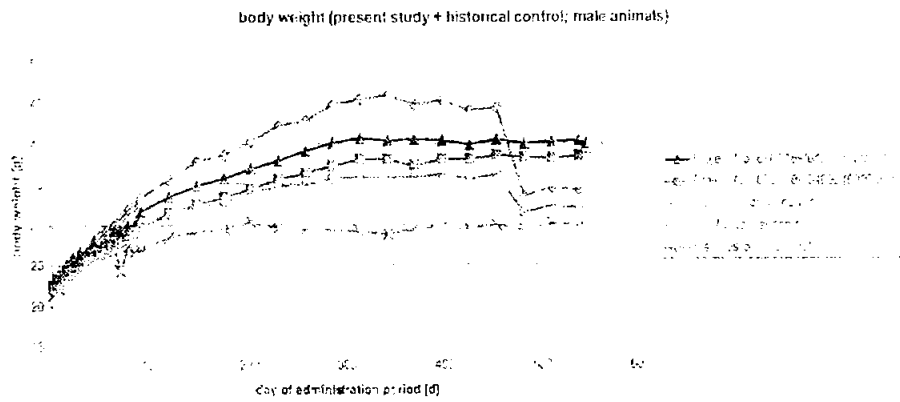
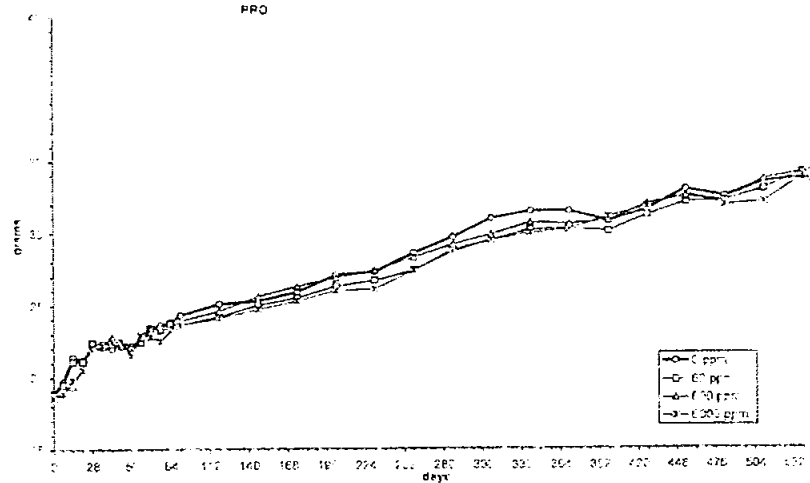


図 3. 体重変化 (雌)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 体重および増加量

雄							
体重				体重増加量			
用量群	60ppm	600ppm	6000ppm	用量群	60ppm	600ppm	6000ppm
測定日				測定日			
7				7	150 ↑		
14	97.6 ↓	97.6 ↓	97.2 ↓	14		79.2 ↓	79.2 ↓
21		97.3 ↓	95.4 ↓	21		83.9 ↓	67.7 ↓
28			95.5 ↓	28			72.5 ↓
42		96.8 ↓	93.6 ↓	42		88.7 ↓	71.7 ↓
49			97.4 ↓				
63			94.2 ↓	63			77.3 ↓
77~399			92.1~97.0 ↓ 又は ↓	77			82.2 ↓
				91~399			79.5~87.6 ↓ 又は ↓
427~539				427~539			
546	97.5	100.5	95.8	546	95.4	101.7	90.8

雌							
体重				体重増加量			
用量群	60ppm	600ppm	6000ppm	用量群	60ppm	600ppm	6000ppm
測定日				測定日			
7		96.4 ↓	95.9 ↓	7		25.0 ↓	37.5 ↓
14		90.7 ↓	92.5 ↓	14		28.0 ↓	48.0 ↓
21		97.2 ↓	96.7 ↓	28	116.1 ↑		
42		103.6 ↑		42		136.7 ↑	130.0 ↑
56			96.8 ↓	63			116.2 ↑
77			95.3 ↓	77			84.8 ↓
84			97.5 ↓				
91	97.1 ↓		97.1 ↓	91	88.9 ↓		
119	96.4 ↓		96.0 ↓	119	87.1 ↓		88.7 ↓
203			95.9 ↓	203~539			
231			95.6 ↓				
259~539							
546	101.5	101.5	100.6	546	104.1	105.5	103.4

表中の数値は対照群の値を 100 とした場合の割合 (%)

空欄および矢印のない数値は有意差なし

Dunnett (両側) 検定 ↑ ↓ : $p \leq 0.05$, ↑ ↓ : $p \leq 0.01$

雄において、6000ppm 投与群は対照群と比べ、試験 14-399 日で有意な体重低下を示した。体重増加量もほぼ同期間有意な低下を示した。しかしながら、体重低下は最大でも-7.9%で10%未満であり、427 日以降は有意でなくなった。さらに、雄の体重は全投与期間を通してこの系統および供給業者における背景データ(図 2)の最小値より高く、また多くの期間において背景データの平均値より上であった。よって、本試験で認められた体重および体重増加で認められた変動には、毒性的意義はないと考えられる。

雌において、6000ppm 投与群は対照群と比べ、試験 7-231 日(42 日を除く)で有意な体重減少を示した。しかしながら、その変動は最大で-7.5%であり、試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

259 日以降は有意な変動はなくなり、試験終了時には対照群と同等になった。また体重増加量では、有意な低下および増加が認められた。しかしながら、これらの変動には一貫性がなく、試験終了時には対照群との間に有意差はなく、よってこれらの変動に毒性的な意義はないと判断した。

その他、低および中用量群の雌雄にみられた有意な変動は一過性であり、検体投与に関連しないものと判断した。

摂餌量および摂餌効率： 摂餌量は試験開始 13 週までは毎週、以降は 4 週間毎に 7 日間の個別摂餌量を測定し、1 日 1 匹当りの平均摂餌量を算出した。個体別体重および摂餌量より摂餌効率も求めた。

摂餌量において、雌雄ともに試験期間中時折増加および低下の有意な変化が投与群にみられたが、用量関連性や傾向および継続性がなく、検体投与による影響ではなく毒性学的意義はないと判断した。

摂餌効率においても統計学的有意な増加および低下が認められたが、一貫した継続的な変化ではなく、検体投与による影響はないと判断した。(Dunnett's 検定、両側； $p \leq 0.05$)

検体摂取量： 投与期間中の平均検体摂取量を個体別の体重および摂餌量から求めた。

結果は以下の表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量

投与量 (ppm)		60	600	6000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	10.6	104.2	1099
	雌	15.2	154.1	1543

飲水量： 目視にて毎日給水瓶の量を観察した。

検体投与に関連する飲水量の変化は認められなかった。

血液学的検査： 試験 12 ヶ月および 18 ヶ月の試験終了の剖検時に全生存動物から血液を採取して血液塗抹標本を作製した。対照群および高用量群について白血球百分比および血球の形態学的検査を実施した。12 ヶ月時は絶食せずにマウスの尾静脈より血液を採取し、試験終了時では絶食した動物の断頭血を採取した。また、切迫屠殺動物についても標本を作製し検査した。

表 4

検査時期 (月)	用量群 (ppm)	雌	
		0	6000
18	リンパ球 プラスマ変化	3/46	8/47
	骨髓球 (1~2 個/100 血球)	0/46	5/47

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

12 ヶ月および試験終了時（18 ヶ月）において白血球百分比に対照群と高用量群の間に差はみられなかった。

雌において、形態学的検査では試験終了時にリンパ球のプラズマ変化が認められた動物が増加した。しかし、対照群の発生動物において血球 100 あたり 2~6 個のリンパ球に変化がみられたのに対し、6000ppm 群では 1~2 個であったことから、この変化は偶発的で検体投与に関連しないと考えられた。また、血球 100 個あたり 1~2 個の後骨髄球が認められた動物が高用量群で多かった。しかし、試験終了時の雄および 12 ヶ月検査時の対照群の雌雄において後骨髄球 1 個を有する動物が 1 例ずつ認められており、発生動物数の増加は偶発的と考えられた。

その他、途中屠殺動物において白血球および赤血球に認められた種々の形態変化は対照群および投与群に認められ、自然発生的で検体投与によるものではないと判断した。

従って血液学的検査に検体投与による変化は認められなかった。

剖検： 試験終了時の生存動物を麻酔下で断頭して屠殺し、放血して肉眼的病理検査に供した。試験期間中の死亡・切迫屠殺動物についても肉眼的病理検査を実施した。投与に関連した肉眼的異常は認められなかった。

臓器重量： 試験終了時の生存動物について以下の臓器の重量を測定し、対体重比を求めた。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、脾臓、脳、心臓

表 5 に示すように腎臓においてのみ有意な変動がみられた。

表 5. 臓器重量（雄）

用量群 (ppm)	60	600	6000
腎臓 絶対	99.2	96.2	91.2 ↓

表中の値は対照群を 100 とした場合の割合 (%)

Kruskal-Wallis (両側) + Wilcoxon 検定 ↓ ; $p \leq 0.01$

矢印のない数値は有意差なし。

6000ppm 群における腎臓の絶対重量の低下は対体重比の低下を伴っておらず、また関連する病理組織学的所見も認められなかったことから、毒性学的には意義のないものと考えられた。

その他の臓器重量に有意な変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

組織病理学的検査： 肉眼的病理検査を実施した動物について以下の臓器について 4%中性ホルマリン溶液で固定し、切片を作製してヘマトキシリン・エオジン染色し、*しるしを除く臓器について光学顕微鏡で組織病理学的検査を実施した。
全ての肉眼的病変部位、唾液腺(下顎腺、舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃) 十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、胆嚢、膵臓、脳、下垂体 坐骨神経、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、視神経付き両眼、副腎、甲状腺 上皮小体、気管、肺、咽頭、喉頭、鼻(鼻腔)、大動脈、心臓、骨髓(大腿骨) リンパ節(腸間膜及び腋窩リンパ節)、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、卵巣 卵管、子宮、膣、精巣上体、前立腺、精囊(凝固腺付き)、雌の乳腺、皮膚 骨格筋、骨髓を含む胸骨、膝関節を含む大腿骨、眼窩外の涙腺*

認められた主な非腫瘍性病変を表 6 に、認められた全ての腫瘍性病変を表 7 に示した。

非腫瘍性病変の発生は、死亡・切迫屠殺動物では各群の対象動物数が少なく、所見の発生に傾向はみられなかった。最終屠殺動物では様々な所見が発生した。対照群および高用量群の動物の発生率について統計検定を実施したが、いずれの所見も生物学的に均等に分布しており、検体投与による有意な変動は認められなかった。

腫瘍性病変についても全動物での対照群および高用量群との間で発生数は均等であり、自然発生性のものと考えられた。(Fisher's 正確検定、片側； $p \leq 0.05$ 有意差なし)

以上、本検体を 6000ppm 群まで飼料中に混入してマウスに 18 ヶ月間随時摂取させたが、検体投与による悪影響は認められなかった。

従って、本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は雌雄ともに 6000ppm (雄 1099mg/kg/日、雌 1543mg/kg/日) であると判断した。

催腫瘍性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 6. 主な非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終屠殺	検査動物数		47	42	46	47	46	45	45	47
	副腎	所見 / 検査動物数	47			47	46	1		47
		副副腎				4	2			2
		萎縮	34			30				1
		脂肪原性着色	45			38	46	1		47
	骨髓	所見 / 検査動物数	47			47	46			47
		ヘンジデリン沈着	43			46	34			33
	精巣	所見 / 検査動物数	47	1	1	47				
	上体	リンパ球浸潤	17	1		14				
	大腿骨	所見 / 検査動物数	47			47	46			47
		線維骨性病変	4			2	24			30
	胆嚢	所見 / 検査動物数	47			47	46			47
		細胞質好酸性変化/結晶化	10			16	2			4
	ハダ腺	所見 / 検査動物数	47			47	45			47
		リンパ球浸潤	19			20	22			32
	腎臓	所見 / 検査動物数	47	9	16	47	46	9	9	47
		リンパ球浸潤	43	9	15	44	42	9	8	73
		腎乳頭鈣質沈着	4		2	8	2			1
		慢性腎症	38	3	12	34	37	7	7	35
	肝臓	所見 / 検査動物数	47	10	8	47	46	6	5	47
		リンパ球浸潤	40	5	4	42	37	5	2	38
		脂肪変性、巣性(複)	6	2	2	10	9	1		8
		脂肪変性、中心性	4			2				
	肺	所見 / 検査動物数	47	2	2	47	46		2	47
		リンパ球浸潤	9		2	8	16		2	12
		所見 / 検査動物数	47			47	46			47
		リンパ球浸潤	44			45	44			46
	脾臓	所見 / 検査動物数	47			47	46			47
		リンパ球浸潤	11			10	14	1		17
	前立腺	所見 / 検査動物数	47			47				
		リンパ球浸潤	16			13				
	精嚢腺	所見 / 検査動物数	47	38	46	47				
拡張		45	37	46	44					
脾臓	所見 / 検査動物数	47	6	4	47	46	6	6	47	
	ヘンジデリン沈着					36	1	2	41	
	髓外造血	2		3	3	32	5	6	28	
胸骨	所見 / 検査動物数	47			47	46			47	
	線維骨性病変	4			2	24			28	
舌下腺	所見 / 検査動物数	46			47	46			47	
	リンパ球浸潤	9			16	22			25	
精巣	所見 / 検査動物数	47	1	2	47					
	精管変性、巣性	39	1	2	34					

表中の値は所見を有する動物数。

最終屠殺動物については統計検定を実施していない。

空欄は該当なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 6. 主な非腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終屠殺	検査動物数		47	42	46	47	46	45	45	47
	胸腺	所見 / 検査動物数	44			43	43	2	4	46
		嚢胞	9			9	10			14
		びまん性萎縮	29			33	33			32
	膀胱	所見 / 検査動物数	47	2		46	44			46
		リンパ球浸潤	10			10	34			40
	子宮	所見 / 検査動物数					46	34	31	47
嚢胞状拡張、腺						9	14	11	10	
びまん性過形成、腺						31	18	16	30	
全動物	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	6	5	50
		副副腎		1		4	3	1	1	3
		萎縮	35	3	2	32				1
		脂肪原性着色	46	2	3	38	47	4	1	48
	骨髓	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	4	4	50
		ヘムデリン沈着	46	5	3	47	34	1		33
	精巣上体	所見 / 検査動物数	50	9	5	50				
		リンパ球浸潤	18	5	2	14				
	大腿骨	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	5	5	50
		線維骨性病変	5	1		2	24		1	30
	胆嚢	所見 / 検査動物数	50	8	3	49	50	3	1	50
		細胞質好酸性変化/結晶化	10	1	1	17	1		1	4
	ハゲ腺	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	49	5	5	50
		リンパ球浸潤	20	2	1	20	24	3		32
	腎臓	所見 / 検査動物数	50	17	20	50	50	14	14	50
		リンパ球浸潤	45	12	17	45	42	10	10	44
		腎乳頭鉾質沈着	4		2	8	2			1
		慢性腎症	39	8	15	34	38	8	8	37
	肝臓	所見 / 検査動物数	50	18	12	50	50	11	10	50
		リンパ球浸潤	42	9	7	42	38	8	2	39
		脂肪変性、巣性 (複)	6	2	2	10	9	1	1	8
		脂肪変性、中心性	5	2	2	2			2	
	肺	所見 / 検査動物数	50	10	9	50	50	5	7	50
		リンパ球浸潤	9		3	8	17	1	3	12
	下顎腺	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	5	4	50
		リンパ球浸潤	45	7	3	45	46	1	1	46
	膵臓	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	6	3	50
		リンパ球浸潤	11		1	10	14	1		18
	前立腺	所見 / 検査動物数	50	8	4	50				
		リンパ球浸潤	16		1	13				
	精嚢腺	所見 / 検査動物数	50	46	50	50				
拡張		48	41	50	46					

表中の値は所見を有する動物数。空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

全動物のみ対照群と高用量群について統計検定を実施。

Fisher's 正確検定 (片側) † ↓ ; 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 6. 主な非腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	脾臓	所見 / 検査動物数	50	14	8	50	50	11	10	50
		ヘミデリン沈着		1	1		36	2	3	41
		髓外造血	2	4	4	4	34	8	7	31
	胸骨	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	5	5	50
		線維骨性病変	4			2	24	1		28
	舌下腺	所見 / 検査動物数	49	8	4	50	50	5	4	50
		リンパ球浸潤	9	3	2	16	23		1	25
	精巣	所見 / 検査動物数	50	9	6	50				
		精管変性、巣性	41	7	4	35				
	胸腺	所見 / 検査動物数	47	8	3	45	47	6	7	49
		嚢胞	9	1		10	11			15
		びまん性萎縮	32	8	2	34	34	3	2	33
	膀胱	所見 / 検査動物数	50	9	4	49	48	5	2	49
		リンパ球浸潤	11	3	1	10	34	2		42
	子宮	所見 / 検査動物数					50	39	36	50
子宮腺嚢胞状拡張						10	15	11	11	
子宮腺びまん性過形成						32	18	16	30	

表中の値は所見を有する動物数。空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

全動物のみ対照群と高用量群について統計検定を実施。

Fisher's 正確検定 (片側) ↓ ↓ : $p \leq 0.05$ ↓ ↓ : $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 7-1. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
		供試動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
切迫屠殺	切迫屠殺動物数		3	8	4	3	4	5	5	3
	リンパ造血組織	所見 / 検査動物数	3	8	4	3	4	5	5	3
		悪性リンパ腫 M				2	2	2	2	2
		組織球性肉腫 M		1	1				1	
	空腸	所見 / 検査動物数	3	7	4	3	4	5	2	3
		腺腫 B						1		
		血管肉腫 M						1		
	腎臓	所見 / 検査動物数	3	8	4	3	4	5	5	3
		腎肉腫 M	1							
	肺	所見 / 検査動物数	3	8	4	3	4	5	5	3
		気管支・肺胞腺腫 B	1							
		気管支・肺胞癌 M	1							
	下垂体	所見 / 検査動物数	3	8	4	3	4	5	5	3
		前葉腺腫 B		1				1		

B: 良性、M: 悪性、空欄は該当なし。

統計検定は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 7-1. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性		雄				雌			
		用量群 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
		供試動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
最終屠殺	最終屠殺動物数		47	42	46	47	46	45	45	47	
	副腎皮質	所見 / 検査動物数	47			47	46	1		47	
		皮質腺腫 B				1					
	副腎髄質	所見 / 検査動物数	47			47	46			47	
		良性褐色細胞腫 B				1	1				
		悪性褐色細胞腫 M	1				1				
	十二指腸	所見 / 検査動物数	47		1	47	46	1	1	47	
		腺腫 B			1				1		
	前胃	所見 / 検査動物数	47	3	1	47	46		1	47	
		扁平上皮乳頭腫 B		1						1	
	腺胃	所見 / 検査動物数	47		2	47	46	1	4	47	
		腺腫 B	1			1					
	ハゲ腺	所見 / 検査動物数	47			47	45			47	
		腺腫 B				1				1	
	リンパ造血組織	所見 / 検査動物数	47	8	5	47	46	8	9	47	
		悪性リンパ腫 M	4	5	4	5	13	6	9	10	
		繊維球性肉腫 M	2	3	1		1	2		3	
	空腸	所見 / 検査動物数	47	4	2	47	46	2	7	47	
		腺癌 M							1	1	
	肝臓	所見 / 検査動物数	47	10	8	47	46	6	5	47	
		肝細胞腺腫 B	2	2	2			1	1		
		肝細胞癌 M				2	1				
		血管肉腫 M		1					1		
	肺	所見 / 検査動物数	47	2	5	47	46		2	47	
		気管支・肺胞腺腫 B	3	2	2	5					
		気管支・肺胞癌 M			2						
	乳腺	所見 / 検査動物数					46		1	47	
		肉腫 (NOS) M							1		
	卵巣	所見 / 検査動物数					46	16	20	47	
		嚢胞状腺腫 B								1	
		悪性顆粒膜細胞腫 M						1			
	下垂体	所見 / 検査動物数	47	2		46	46	25	22	47	
中間部腺腫 B									1		
前葉腺腫 B			1			26	21	16	23		
甲状腺	所見 / 検査動物数	47			47	46		1	47		
	濾胞細胞腺腫 B					1					
膀胱	所見 / 検査動物数	47	2		46	44			46		
	血管腫 B				1						
子宮	所見 / 検査動物数					46	34	31	47		
	子宮内膜間質肉腫 M						1				

B: 良性、M: 悪性、空欄は該当なし。

統計検定は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 7-1. 腫瘍性病変 (つづき)

検査時期	臓器	性		雄				雌			
		用量群 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
		供試動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
全動物数		50	50	50	50	50	50	50	50		
全動物	副腎皮質	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	6	5	50	
		皮質腺腫 B ^m				1					
	副腎髄質	所見 / 検査動物数	50	7	4	50	50	5	5	50	
		良性褐色細胞腫 B ^{m,f}				1	1				
		悪性褐色細胞腫 M ^{m,f}	1				1				
	十二指腸	所見 / 検査動物数	50	7	5	50	50	6	3	50	
		腺腫 B			1				1		
	前胃	所見 / 検査動物数	50	11	5	50	50	5	6	50	
		扁平上皮乳頭腫 B ^f		1						1	
	腺胃	所見 / 検査動物数	50	8	3	49	50	3	1	50	
		腺腫 B ^m	1			1					
	ハゲ腺	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	49	5	5	50	
		腺腫 B ^{m,f}				1				1	
	リンパ造血組織	所見 / 検査動物数	50	16	9	50	50	13	14	50	
		悪性リンパ腫 M ^{m,f}	4	5	4	7	15	8	11	12	
		組織球性肉腫 M ^{m,f}	2	4	2		1	2	1	3	
	空腸	所見 / 検査動物数	50	11	6	50	50	7	9	50	
		腺腫 B						1			
		腺癌 M ^f							1	1	
		血管肉腫 M						1			
	腎臓	所見 / 検査動物数	50	17	20	50	50	14	14	50	
		腎肉腫 M ^m	1								
	肝臓	所見 / 検査動物数	50	18	12	50	50	11	10	50	
		肝細胞腺腫 B ^m	2	2	2			1	1		
		肝細胞癌 M ^{m,f}				2	1				
		血管肉腫 M		1					1		
	肺	所見 / 検査動物数	50	10	9	50	50	5	7	50	
		気管支・肺腺腫 B ^m	4	2	2	5					
気管支・肺癌 M ^m		1		2							
乳腺	所見 / 検査動物数				1	50	5	4	50		
	肉腫 (NOS) M							1			
卵巣	所見 / 検査動物数					50	21	24	50		
	嚢胞状腺腫 B ^f								1		
	悪性顆粒膜細胞腫 M						1				
下垂体	所見 / 検査動物数	50	10	4	49	50	30	27	50		
	中間部腺腫 B ^f								1		
	前葉腺腫 B ^f		1			26	22	16	23		
甲状腺	所見 / 検査動物数	50	8	4	50	50	5	6	50		
	濾胞細胞腺腫 B ^f					1					
膀胱	所見 / 検査動物数	50	9	4	49	48	5	2	49		
	血管腫 B ^m				1						
子宮	所見 / 検査動物数					50	39	36	50		
	子宮内膜間質肉腫 M						1				

B: 良性、M: 悪性、空欄は該当なし。矢印のない数値は有意差なし。

統計検定を実施した所見に印を付した。(雄の検定には m、雌の検定には f を付した)

Fisher's 正確検定 (片側) ↑ ↓ : 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 7-2. 腫瘍総数および担腫瘍動物数

検査時期	臓器	性	雄				雌			
		用量群 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
		動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
合計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	腫瘍数	良性のみ	7	6	5	10	28	24	18	27
		悪性	9	10	8	9	18	13	15	16
	腫瘍総数		16	16	13	19	46	37	33	43
	担腫瘍動物数	良性のみ	5	4	4	7	17	18	15	17
		悪性	8	10	8	9	17	12	14	16
担腫瘍動物数		13	14	12	16	34	30	29	33	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

12. 繁殖毒性・催奇形性

12-1. ラットを用いた二世世代繁殖毒性試験

(資料 15)

試験実施機関：

報告書作成年：2008年 (GLP 対応)

検体の純度：

試験動物： Wistar 系ラット Crl:WI(Han)、1群雌雄各 25 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間： F0 世代：投与開始から F1 児離乳時 (19 週間：2006 年 7 月 12 日～11 月 23 日)

F1 世代：離乳時から F2 児離乳時 (19 週間：2006 年 11 月 15 日～2007 年 3 月 29 日)

投与方法： 検体を飼料中に混入し、検体摂取量が 0、100、300 及び 1000mg/kg/日となるように摂餌量および体重から割り出して調製した。調製飼料は自由に摂食させた。検体混入飼料は 1～3 週間毎に調製した。飼料中の検体は室温で 50 日間安定性であることが確認されており、均一性および正確性は分析により担保されている。

用量設定根拠： 検体は既実施の他の試験の結果より低毒性であることが確認されていることから、本試験での限界濃度である 1000mg/kg/日を高用量とし、以下 300 および 100mg/kg/日を設定した。

方法及び試験項目： 交配、調整、選抜および観察。検査項目の概要を表 1 にまとめた。

親動物：

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。

体重： 雄は投与開始時および投与期間中は毎週測定した。雌は投与開始時および交配前生育期間(0-10 週)は毎週、妊娠 0、7、14 および 20 日、ならびに哺育 1、4、7、14 および 21 日に測定した。

摂餌量： 雄は試験期間を通して毎週測定した。雌は交配前生育期間は毎週、妊娠期間は 0-7、7-14、14-20 日および哺育期間は 1-4、4-7、7-14 日について測定した。

検体摂取量： 摂餌量および飼料中濃度から個別に計算し、体重 kg あたりの摂取量(mg/kg/日)を求めた。

交配および妊娠の確認： 交配は雌雄 1 対 1 で最大 2 週間同居させた。雌動物の膣垢中の精子の有無により交尾を確認して、同居を終了した。交尾を確認した日を妊娠 0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

日（試験 0 日）とした。妊娠の確認は分娩および解剖時の子宮内の着床痕の有無を調べて確認した。

繁殖性に関する指標； 生育、交配、妊娠および哺育の各期間ならびに剖検時の観察に基づいて以下の指標を算出した。

性周期； 交配前 3 週間雌動物の膣垢を調べ、性周期の平均日数の算出

性成熟； 雄の包皮分離、雌の膣開口日の日齢および体重 (F1 親動物のみ)

交尾成立までの期間； 雌雄同居後、雌の膣垢中に精子が確認されるまでの日数

交尾率 (%)； $(\text{交尾を確認した雄(雌)数} / \text{同居させた雄(雌)数}) \times 100$

受精率 (%)； $(\text{雌を妊娠させた雄数} / \text{同居させた雄数}) \times 100$

精子； 運動性、形態、精子頭部数 (精巢上体尾)、精子頭部数 (精巢)

運動性以外は対照群と高用量群のみ。

妊娠率 (%)； $(\text{妊娠雌数} / \text{交尾を確認した雌数}) \times 100$

生産児指数 (%)； $(\text{分娩時の生産児数} / \text{出産児総数}) \times 100$

出産率 (%)； $(\text{生存児を出産した雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$

妊娠期間； 交尾確認日 (妊娠 0 日) から分娩完了日 (哺育 0 日) までの日数

着床数； 子宮内の着床痕の数

着床後胚損失率 (%)； $[(\text{着床数} - \text{産児数}) / \text{着床数}] \times 100$

病理学的検査； 原始卵胞数および発育卵胞数の数を F1 雌について調べた。

肉眼的検査； 全ての F0 および F1 親動物の外表および内臓について実施。

臓器重量； 全ての F0 および F1 の計画屠殺の親動物は肉眼的病理検査後に以下の臓器重量を測定した。

麻酔動物 (屠殺前)、肝臓、腎臓、副腎、精巢、精巢上体、精巢上体尾、

前立腺、精囊 (凝固腺を含む)、卵巣、子宮、脾臓、脳、下垂体、

甲状腺 (上皮小体付)

児動物については計画殺後、各腹雌雄 1 匹ずつ選抜し、脳、脾臓および胸腺重量を測定した。

病理組織学的検査； 全ての以下の組織を 4% 中性ホルマリン緩衝液またはブアン液で固定した。ブアン液に固定した組織はパラプラストに包埋した。続いてヘマトキシリン-エオジンで染色し、対照群および最高用量群については全例光学顕微鏡で検査した。低および中用量群については影響がみられた動物および受精能の減少が疑われた動物について関連の臓器を検査した。

膣、子宮頸、子宮、卵巣*、卵管、左側精巢*、左側精巢上体*、精囊、

凝固腺、前立腺、下垂体、副腎、肝臓、腎臓、脾臓、脳、

甲状腺 (上皮小体付)、肉眼的病変部位

*：ブアン液による固定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

児動物：

一般状態および死亡： 全ての児動物の一般状態と生死を哺育期間中毎日観察した。死亡児は発見後、速やかに剖検した。

体重： 生後 1、4、7、14 および 21 日個体別に測定し、腹別に雌雄平均値を算出し、生後 1-4、4-7、7-14 および 14-21 日について、雌雄別に増加量を算出した。

産児数： 産児数 = 出産児総数（分娩時における生産児数と死産児数の合計）

性比： 生後 0 および 21 日における生存児（雄+雌）に対する雄の割合（%）

生存率（%）： $(\text{生後 4 日の調整前生存児数} / \text{出生日の生存児数}) \times 100$

哺育率（%）： $(\text{生後 21 日の生存児数} / \text{生後 4 日の調整後生存児数}) \times 100$

肉眼的検査： 全ての F1 および F2 児動物の外表および内臓について実施した。

臓器重量： F1 親動物の選抜しなかった児動物および哺育期間終了時の児動物について、各腹 1 匹ずつ選抜し、脳、胸腺および脾臓の絶対重量を測定し、対体重比を算出した。

結果： 結果の要約を表 2 及び 3 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 1.

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
F0 (P)	生育 (10 週)	雌雄 1 対 1 で交配。交配は陰垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)	体重、摂餌量を週 1 回測定 7 週から発情周期を検査
	交配 (2 週)		交配状況の観察
	妊娠 (3 週)		妊娠 0、7、14、21 日に体重測定、 妊娠 0-7、7-14 日、14-20 日の摂餌量測定
	出産	出産 4 日後に各同腹児数を雌雄各 4 匹に調整 (不可能なら雌雄合計 8 匹)	出産状況の観察
	哺育 (3 週)		新生児数、死産児数、外表異常、性比、 児動物の体重 (哺育 1、4、7、14、21 日) 母動物の体重 (哺育 1、4、7、14、21 日) 摂餌量 (哺育 1-4、4-7、7-14 日)
F1	離乳	継代用に各群より雄 25 匹、雌 25 匹を F0 の各腹からの代表となるよう選抜した。選抜しなかった児動物は屠殺。	F0 雌雄動物の肉眼的病理検査、 臓器重量 母動物の対照群と最高用量群について病理組織学的検査。卵巣の原始卵胞数。 選抜しなかった F1 の肉眼的病理検査、臓器重量 (各腹雌雄各 1)
	生育 (10 週)	(F0 世代に準ずる)	体重、摂餌量を週 1 回測定 性成熟の観察 7 週から発情周期を検査 (F0 世代に準じる)
	交配 (2 週)		(F0 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)		(F0 世代に準ずる)
	出産	(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
哺育 (3 週)	(F0 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 (3 週)	F1 および F2 動物屠殺	F1 雌雄動物は F0 世代に準ずる。 F2 の肉眼的病理検査、臓器重量 (各腹雌雄各 1)
	離乳		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 親動物

世 代			親 : F0				児 : F1			
投与量 (mg/kg/日)			0	100	300	1000	0	100	300	1000
動物数	雄		25	25	25	25	25	25	24	25
	雌		25	25	25	25	25	25	25	25
親動物	一般状態	雄	検体投与に関連した異常なし				検体投与に関連した異常なし			
		雌								
生存率 (%)	雄		100	100	100	100	100	100	96	100
	雌		100	100	100	100	100	100	100	100
体重 ^{D, a} (g)	雄	全試験期間 ¹	406.1	399.0	396.7	400.3	415.1	401.0	399.9	405.4
		生育期間 ²	214.3	214.6	216.2	222.4	217.9	216.0	221.0	218.5
		妊娠期間 ³	311.2	315.2	312.1	317.9	315.2	317.8	320.2	314.9
		哺育期間 ⁴	271.5	264.1	266.1	271.4	268.7	268.5	273.5	265.5
体重増加量 ^D (g)	雄	13-14週	8.7	12.4↑	10.3	9.6				
		全試験期間 ¹	283.0	277.3	274.7	278.6	330.7	319.6	318.6	321.2
		生育期間 ²	109.1	111.4	111.5	116.4	140.6	141.5	145.0	143.1
		妊娠期間 ³	91.7	97.0	92.9	93.7	92.0	100.1	96.1	96.2
摂餌量 ^D (g/動物/日)	雄	12-13週					22.6	22.3	22.7	23.8↑
		全試験期間 ¹	21.7	21.3	21.6	22.3	21.9	21.8	21.8	22.3
		生育期間 ²	16.5	16.7	16.5	16.8	16.2	16.5	16.8	16.5
		妊娠期間 ³	20.7	20.9	20.6	21.2	20.1	20.8	20.9	20.9
検体 摂取量 (mg/kg/日)	雄	全試験期間 ¹	0	94.4	282.6	944.0	0	93.6	280.2	938.7
		生育期間 ²	0	95.5	285.3	951.3	0	96.8	291.3	965.3
		妊娠期間 ³	0	101.2	308.7	1044.9	0	100.8	297.6	1043.0
		哺育期間 ⁵	0	95.8	296.7	1010.9	0	93.7	285.3	954.9
臓器 重量 ^{KN}	雄	肝臓 対体重[%]	2.225		(107)↑	(106)↑	2.239	(103)↑	(106)↑	(107)↑
		腎臓 対体重[%]					0.63	(105)↑	(106)↑	(110)↑
	雌	肝臓 絶対[g]	5.662		(105)↑	(107)↑				
		対体重[%]	2.457	(104)↑	(106)↑	(106)↑	2.468	(109)↑	(106)↑	(107)↑
		子宮 絶対[g]	0.726		(84)↓	(82)↓	0.715		(108)	(80)↓
対体重[%]	0.309				0.309		(106)	(81)↓		
腎臓 対体重[%]	0.728	(107)↑	(105)↑	(106)↑	0.711	(108)↑	(102)	(105)↑		
肉眼的病理検査		雄	検体投与に関連した異常なし				検体投与に関連した異常なし			
		雌								
病理組織学的検査		雄	検体投与に関連した異常なし				検体投与に関連した異常なし			
		雌								
原始卵胞数 ^{Ni}			—	—	—	—	220.1	—	—	207.1
発育卵胞数 ^{Ni}			—	—	—	—	23.9	—	—	23.2
合計 ^{Ni}			—	—	—	—	244.0	—	—	230.2

()内の数値は対照群を100とした場合の割合 (%)を示す。

表中の空欄および矢印のない数値は有意差なし。 — : 該当なし。

^a: それぞれの期間の終了時の体重。

¹: F0世代は0-17週, F1世代は0-15週, ²: 生育0-10週, ³: 妊娠0-20日, ⁴: 哺育1-21日, ⁵: 哺育1-14日

有意差の表示: ↑ ↓; p ≤ 0.05, ↑ ↓; p ≤ 0.01

有意差検定: ^D: Dunnett の検定 (両側), ^{Ni}: Wilcoxon 検定 (片側),

^{KN}: Kruskal-wallis + Wilcoxon 検定 (両側)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. つづき

世 代		親 : F0				親 : F1			
投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
親 動 物 数	雄	25	25	25	25	25	25	24	25
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25
繁殖能力									
雄	交尾率 ^{Fi} (%) ^{Fi}	100	100	100	100	100	100	100	100
	受精率 ^{Fi} (%) ^{Fi}	100	100	100	96	96	100	100	96
	精子頭部数(精巢) ^{Wi, 7}	86	—	—	82	101	—	—	97
	精子頭部数(精巢上体尾) ^{Wi, 7}	434	—	—	421	499	—	—	482
	精子運動率 (%) ^{WB}	84	84	83	84	85	85	87	87
	精子形態								
	正常精子 (%)	92.6	—	—	93.0	93.9	—	—	91.7
	異常精子 (%)	7.4	—	—	7.0	6.1	—	—	8.3
	異常精子 > 11% の個体 ^{*Fi}	2	—	—	0	2	—	—	4
	雌	発情周期 ^D (日)	4.0	4.4	4.0	4.2	4.7	4.4	4.0
交尾成立までの日数 ^D		2.8	2.8	2.8	2.2	3.0	2.6	3.2	2.5
交尾率 (%) ^{Fi}		100	100	100	100	100	100	100	100
妊娠動物数		25	25	25	24	24	25	25	24
妊娠率 (%) ^{Fi}		100	100	100	96	96	100	100	96
出産率 (%) ^{Fi}		100	100	100	96	96	100	100	100
妊娠期間(日) ^D		22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	21.9	21.9
着床数 ^D		11.3	12.1	12.0	11.6	12.3	12.1	12.4	12.4
着床後胚損失率 ^D (%)		9.0	2.8	6.3	8.9	12.9	4.7	4.1	8.7
死産児を有する母数 ^{Fi}		1	0	1	1	2	1	2	0
全胎児死産母数 ^{Fi}		0	0	0	0	1	0	0	0
腹当たり産児数 ^D		10.3	11.7	11.3	11.4	10.7	11.4	11.9	11.3
生産児指数 (%)		100	100	100	100	99	99	99	100

()内の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%) を示す。

表中の空欄および矢印のない数値は有意差なし。 — : 該当なし。

⁷ : x10⁶

* : 異常精子の割合が ≤ 11% の個体は対照群の 90% に相当。

有意差の表示 : ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定 : ^D : Dunnett の検定 (両側), ^{Fi} : Fisher の正確検定 (片側), ^{Wi} : Wilcoxon 検定 (片側),

^{WB} : Wilcoxon 検定 (片側; Bonferoni-Holm 補正)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 3. 児動物

世 代			親 : F0				親 : F1				
投与量 (mg/kg/日)			0	100	300	1000	0	100	300	1000	
生存児を有する腹数			25	25	25	25	23	25	25	24	
児動物	産児数		258	293	283	263	256	286	298	271	
	腹当たり産児数 ^D		10.3	11.7	11.3	11.4	10.7	11.4	11.9	11.3	
	生産児数 ^{F1}		257	293	282	262	253	284	295	271	
	生後 4 日目	生存児数	255	292	278	261	252	283	259	270	
		生存率 (%) ^{F1}	99	100	99	100	100	100	100	100	
	生後 21 日	生存児数	186	193	193	180	173	196	200	181	
		哺育率 (%) ^{F1}	99	98	99	98	99	99	100	99	
	性比 (%) 雄/生存児 x100	哺育 0 日	48.2	47.1	47.5	54.2	49.4	43.7	46.4	48.7	
		哺育 21 日	50.0	47.2	48.7	54.4	46.8	46.4	49.0	49.7	
	体重 ^D (g)	雄	哺育 1 日	6.4	6.2	6.4	6.3	6.4	6.5	6.4	6.4
			4 日*	9.8	9.4	9.8	9.6	10.0	10.1	10.0	9.9
			7 日	15.8	15.2	15.8	15.4	16.5	16.2	16.2	15.9
			14 日	33.1	32.1	32.9	32.0	33.3	32.7	32.4	32.3
			21 日	52.5	50.7	51.4	50.5	51.0	51.0	51.1	49.9
雌		哺育 1 日	6.3	5.9	6.0	6.0	6.1	6.2	6.0	6.0	
		4 日*	9.7	9.1	9.5	9.2	9.7	9.8	9.5	9.5	
		7 日	15.6	14.9	15.3	14.9	15.9	15.7	15.6	15.6	
		14 日	32.6	31.3	32.1	31.0	31.9	31.9	31.4	31.6	
		21 日	51.4	49.2	49.8	48.7↓	49.1	49.6	49.0	48.6	
体重 増加量 ^D (g/動物/日)	雄	哺育 1-4 日	3.4	3.2	3.5	3.3	3.6	3.6	3.6	3.5	
		4-7 日	6.0	5.8	5.9	5.9	6.3	6.0	6.1	6.0	
		7-14 日	17.3	16.9	17.2	16.6	16.8	16.5	16.2	16.4	
		14-21 日	19.4	18.6	18.5	18.5	17.8	18.3	18.7	17.6	
		4-21 日	42.7	41.4	41.6	40.9	41.0	40.8	41.1	40.0	
	雌	哺育 1-4 日	3.5	3.2	3.4	3.2	3.6	3.6	3.5	3.5	
		4-7 日	5.9	5.7	5.8	5.6	6.2	5.8	6.0	5.9	
		7-14 日	17.0	16.4	16.8	16.2	15.9	16.2	15.8	16.1	
		14-21 日	18.8	17.9	17.8↓	17.7↓	17.2	17.7	17.6	17.0	
		4-21 日	41.7	40.1	40.4	39.5↓	39.3	39.7	39.5	39.1	
雄	包皮分離 ^D	日齢	41.9	41.8	41.6	42.6	—	—	—	—	
		体重 (g)	175.5	170.2	168.5	175.0	—	—	—	—	
雌	陰開口日 ^D	日齢	30.4	30.8	30.4	30.6	—	—	—	—	
		体重 (g)	91.7	90.8	91.1	89.7	—	—	—	—	
臓器重量 ^M (脳、胸腺、脾臓)		雄	検体投与に関連した有意な変化は				検体投与に関連した有意な変化は				
		雌	なかった。				なかった。				
肉眼的病理検査		雄	検体投与に関連した異常なし				検体投与に関連した異常なし				
		雌									

()内の数値は対照群を 100 とした場合の割合 (%) を示す。

表中の空欄および矢印のない数値は有意差なし。 — : 該当なし。

* : 調整前体重

有意差の表示 : 1 ↓ : p ≤ 0.05, 1 ↓ ↓ : p ≤ 0.01

有意差検定 : ^D : Dunnett の検定 (両側), ^{F1} : Fisher の正確検定 (片側),

^M : Kruskal-wallis + Wilcoxon 検定 (両側)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

親動物： F1 雄において、300mg/kg/日群の 1 例に非特異的腫瘍が認められ、試験 9 週目に切迫屠殺したが、死亡および一般状態については F0 および F1 雄において検体投与に起因する異常は認められなかった。F0 および F1 雌動物には投与に関連した一般状態の変化および死亡は認められなかった。

摂餌量は、F1 雄において 12-13 週の 1 週間のみ 1000mg/kg/日群に有意な増加がみられたが、継続性がなく偶発的なものであった。F0 および F1 雌には対照群と比して有意な変化はみられなかった。

F0 雄の 13-14 週の 1 週間のみ 100mg/kg/日群で有意な体重増加量がみられたが、用量関連性および継続性がなく偶発的なものであった。F1 雄、F0 および F1 の雌動物には体重および増加量の有意な変化は認められなかった。

F0 および F1 雌雄の繁殖能力の各パラメーターは対照群と 1000mg/kg/日群または全投与群で同等であり、影響はみられなかった。

臓器重量では雌雄の F0 および F1 の投与群に肝臓の絶対または比重量の有意な増加がみられたが、病理組織学的に関連する所見が認められなかったことから、偶発的なものと考えられた (表 2)。

F1 雄、雌の F0 および F1 の投与群に腎比重量の有意な増加がみられたが、絶対重量に有意差はなく、用量関連性がないことおよび病理組織学的に関連する所見が認められなかったことから偶発的なものと考えられた (表 2)。

F0 雌の 300mg/kg/日以上用量群での子宮絶対重量の有意な低下および F1 雌の 1000mg/kg/日群での子宮絶対および比重量の有意な低下が認められたが、これを説明する組織学的所見はみとめられなかった。また、表 4 に示すよう試験機関の背景データの範囲内にあることから、子宮重量の低下は偶発的なものと考えられた。

表 4. 子宮重量データ

用量群 (mg/kg)		0	100	300	1000	背景 平均±SD	範囲 最小-最大
絶対(g)	F0	0.726	0.679	0.608 ↓	0.594 ↓	0.667±0.052	0.583 - 0.798
	F1	0.715	0.640	0.772	0.575 ↓	0.652±0.044	0.555 - 0.704
対体重比 (%)	F0	0.318	0.301	0.268	0.258	0.290±0.027	0.260 - 0.353
	F1	0.309	0.278	0.327	0.249 ↓	0.284±0.018	0.247 - 0.317
統計検定: Kruskal-Wallis H + Wilcoxon (両側) ↓; p<0.05 子宮重量の背景データ (2000~2007 年実施; 試験数 16、動物数 F0:394, F1:396)							

肉眼的および組織学的病理検査では、F0 および F1 とともに、いずれも単発の所見のみが観察されたのみであることから自然発生的なものと考えられた。F1 雌の原始卵胞数、発育卵胞および両者の合計は対照群と 1000mg/kg 群で有意な差はなかった。

児動物： F1 および F2 児動物において出生後の生存率に対照群との差はみられなかった。性比も対照群と同等であった。体重は F1 雌において生後 21 日目に 1000mg/kg 群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

で有意な低下を示し、増加量も 14-21 日間および 4-21 日間に有意に低下した。また 4-21 日間では 300mg/kg/日群も有意に低下した。しかし、この低下は F2 児動物ではみられなかったことから偶発的なものと考えられた。F1 児動物の包皮分離および膣開口日は対照群および投与群ともに同等であり影響は見られなかった。臓器重量においては対照群と比して有意な増減を示した臓器はなく、剖検において検体投与に関連した所見は認められなかった。

以上、検体を 1000mg/kg/日となる濃度まで飼料中に混入して投与した本試験において、親動物に検体投与による毒性影響は認められなかった。また児動物に対しても検体投与による毒性影響は認められなかった。従って本試験条件下における無毒性量は親動物および児動物に対して雌雄ともに 1000mg/kg/日¹⁾であると判断した。また繁殖性に影響はなかった。

¹⁾ 1000mg/kg/日群の実測の検体摂取量は以下のとおりである。

親動物

F0 雄 ; 944.0mg/kg/日

F0 雌 ; 951.3mg/kg/日 (生育期間), 1044.9mg/kg/日 (妊娠期間), 1010.9mg/kg/日 (哺育期間)

F1 雄 ; 938.7mg/kg/日

F1 雌 ; 965.3mg/kg/日 (生育期間), 1043.0mg/kg/日 (妊娠期間), 954.9mg/kg/日 (哺育期間)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

12-2. ラットを用いた催奇形性試験

(資料 16)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年（GLP 対応）

検体の純度：

試験動物： Wistar 系ラット CrI:WI (Han)、1 群妊娠雌 25 匹、投与開始時 11-13 週齢
妊娠 0 日体重 144.6-173.5g

投与期間： 14 日間（2005 年 7 月 4, 5 日～2005 年 7 月 17, 18 日）

投与方法： 検体を 1.0%カルボキシメチルセルロース水溶液 (CMC) に懸濁して、妊娠 6 日～19 日目の 14 日間、0、100、300 及び 1000mg/kg 用量を毎日強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg とした。検体は 1.0%CMC 中 7 日間安定であることが確認されておりその範囲内で調製した。

交尾後、膣垢中に膣栓／精子が確認された日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠： 検体は既実施の他の試験の結果より低毒性であることが確認されていることから、本試験での限界濃度である 1000mg/kg/日を高用量とし、以下 100 および 300mg/kg/日を設定した。

観察・検査項目：

親動物： 一般状態、妊娠状態および生死を毎日確認し、妊娠 0, 1, 3, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 19 および 20 日目に体重を測定し、最終屠殺後に補正体重増加量を算出した。摂餌量は 0 日を除き体重測定と同じ日に測定した。妊娠 20 日目に帝王切開し、未切開子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児、死亡着床（早期および後期吸収、死亡胎児）を検査した。さらに、妊娠率(%)、着床前損失(%)、着床後損失(%)を算出した。

胎児： 帝王切開時に全例の性別、体重および外表異常の観察を行った。生死、胎盤、臍帯、胎膜および羊水を調べた。その後ペントバルビタール皮下注により胎児を屠殺し、各同腹群の 1/2 の胎児について剥皮および内臓を取り除いてエチルアルコールに浸漬し、骨格標本作製した。残りの胎児について Harrison 液に浸漬して内臓異常の有無を検査した。

結果： 概要を表 1 および 2 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 BASF ジャパン株式会社にある。

表 1. 母動物

母動物		0	100	300	1000
投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000
1群当り動物数		25	25	25	25
一般状態		異常は認められなかった			
死亡 ^{F1} (%)		0	0	0	0
妊娠動物数(妊娠率%) ²		24(96)	24(96)	25(100)	24(96)
流産		0	0	0	0
全胚吸収		0	0	1	0
摂餌量 (g/動物/日)	0-6日	16.0	15.7	15.7	15.5
	6-19日	19.9	19.5	19.3	19.6
	0-20日	18.7	18.3	18.2	18.4
体重(g) ^D	0日	157.7	158.6	157.0	157.1
	6日	186.7	188.2	185.7	185.3
	20日	268.6	266.5	262.5	268.9
体重変化(g) ^D	0-6日	29.0	29.6	28.7	28.2
	6-19日	71.0	67.1	65.5	70.8
	0-20日	110.9	107.8	105.5	111.8
未切開子宮重量 ^D		46.3	44.3	41.7	46.7
カーカス		222.3	222.2	220.8	222.2
補正体重増加量(g) ^{1, D}		35.7	34.0	35.1	36.9
剖検所見		両腎盂拡張 1	異常なし	異常なし	異常なし
着床所見					
検査親動物数		24	24	25	24
(腹当たり平均)					
黄体数 ^D		9.3	9.1	8.7	9.4
着床数 ^D		8.7	8.4	7.9	9.0
着床前損失(%) ^{3, D}		6.0	7.7	11.4	4.1
着床後損失(%) ^{4, D}		4.9	4.5	10.1	5.6
生存胎児数 ^D (%)		8.3 (95.1)	8.0 (95.5)	7.6 (93.6)	8.5 (94.4)
総吸収胚数 ^D (%)		0.4 (4.9)	0.4 (4.5)	0.6 (10.1)	0.5 (5.6)
早期吸収胚数 ^D (%)		0.4 (4.9)	0.4 (4.5)	0.6 (10.1)	0.5 (5.6)
後期吸収胚数 ^D (%)		0	0	0	0

1: 補正体重増加量=妊娠20日の最終体重-未切開子宮の重量-妊娠6日目の体重

2: 妊娠動物数/受精動物数 x100

3: (黄体数-着床数)/黄体数 x100

4: (着床数-生存胎児数)/着床数 x100 (個体別データより算出しているため群平均に誤差あり)

有意差の表示: † | ; p≤0.05, † † | ; p≤0.01

有意差検定: ^D: Dunnettの検定(両側), ^{F1}: Fisherの正確検定(片側)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 胎児

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000	
検査腹数	24	24	24	24	
生存胎児数	8.3	8.0	7.6	8.5	
性比 (雄/雌)	52.3/47.7	47.9/52.1	58.5/41.5	54.1/45.9	
生存胎児重量 (g) ^D	雌雄	3.7	3.6	3.8	3.7
	雄	3.8	3.7	3.9	3.7
	雌	3.6	3.6	3.7	3.6
生存胎児胎盤重量 (g) ^D	雌雄	0.44	0.44	0.45	0.44
	雄	0.44	0.45	0.47	0.45
	雌	0.43	0.43	0.44	0.43
検査胎児数 (腹数)	199 (24)	192 (24)	183 (24)	205 (24)	
全奇形					
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	2 (1)	1 (1)	2 (2)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.5	1.0	0.4	0.8	
全変異					
胎児数 (腹数 ^{F1})	112 (24)	105 (24)	102 (24)	115 (24)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	56.0	55.3	55.2	55.7	
外表異常					
検査胎児数 (腹数)	199 (24)	192 (24)	183 (24)	205 (24)	
外表奇形					
奇形胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	1 (1)	0	1 (1)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.5	0.5	0	0.4	
腹壁破裂					
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	0	0	0.4	
肛門閉鎖					
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.5	0	0	0	
下顎小顎症					
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	0.5	0	0	
糸状尾					
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.5	0	0	0	
外表変異					
変異胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	0	0	0	
内臓異常					
検査胎児数 (腹数)	93 (24)	91 (24)	87 (24)	98 (24)	
内臓奇形					
奇形胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
腹当たりの奇形胎児率 (% ^{N1})	0	0	0	0.8	
内臓逆位					
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	0	0	0.8	
内臓変異					
変異胎児数 (腹数 ^{F1})	9 (7)	6 (5)	9 (7)	9 (8)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	9.2	7.6	9.4	8.7	
腎盂拡張					
胎児数 (腹数 ^{F1})	9 (7)	6 (5)	9 (7)	9 (8)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	9.2	7.6	9.4	8.7	
尿管拡張					
胎児数 (腹数 ^{F1})	6 (4)	4 (4)	6 (4)	6 (5)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	6.0	5.2	6.3	6.0	

有意差の表示: ↑ ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定: ^D: Dunnett の検定 (両側), ^{F1}: Fisher の正確検定 (片側), ^{N1}: Wilcoxon 検定 (片側)
矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 胎児 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000	
検査胎児数 (腹数)	106 (24)	101 (24)	96 (24)	107 (24)	
骨格異常					
骨格奇形					
奇形胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	2 (1)	1 (1)	0 (0)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.8	2.1	0.7	0.0	
複数骨格奇形	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.8	1.0	0	0
小下顎	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	1.0	0	0
上腕骨の短小	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	0	0.7	0
尺骨湾曲	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	0	0.7	0
骨格変異					
変異胎児数 (腹数 ^{F1})	103 (24)	99 (24)	93 (24)	106 (24)	
腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	96.4	97.9	97.3	98.6	
上後頭骨孔	胎児数 (腹数 ^{F1})	39 (19)	35 (18)	33 (20)	30 (17)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	36.3	34.2	36.1	29.0
蝶形骨底部骨化不全	胎児数 (腹数 ^{F1})	14 (10)	3 (3)	4 (4)	6 (5)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	13.1	3.5	4.1	6.0
頭頂骨骨化不全 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1})	15 (8)	12 (8)	12 (7)	26 (13)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	14.8	11.3	13.3	24.9
頭頂間骨骨化不全 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1})	25 (14)	11 (7)	19 (10)	29 (13)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	23.2	10.4	18.4	27.7
上後頭骨骨化不全 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1})	12 (8)	8 (8)	13 (9)	14 (7)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	11.0	8.1	12.0	12.6
頭蓋骨骨化不全 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	3 (2)	0 (0)	11 (8 ↑)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0	3.1	0	9.4 ↑
鼻骨骨化不全 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	1.0	0	1.4	0
前頭骨骨化不全 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	1.0	0.8	0	0
舌骨骨化不全 軟骨あり	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	0.8	0	0	0.8
蝶形骨底部孔	胎児数 (腹数 ^{F1})	2 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	1.7	0	1.0	0
基底後頭骨孔	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{N1})	1.0	0	0	0

有意差の表示 : ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定 : ^{F1} : Fisher の正確検定 (片側), ^{N1} : Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 胎児 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000
検査胎児数 (腹数)	106(24)	101(24)	96(24)	107(24)
骨格変異				
胸椎体骨化不全 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	2 (2)	5 (3)	3 (3)	4 (4)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	1.7	4.9	6.3	3.4
亜鈴型胸椎体 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	16 (12)	15 (9)	22 (12)	22 (15)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	14.2	14.4	25.1	20.4
亜鈴型胸椎体 椎体の亜鈴型軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	4 (4)	3 (2)	4 (3)	2 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	3.3	3.1	5.0	1.7
胸椎体二分型骨化 椎体の亜鈴型軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	1 (1)	4 (4)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	0	0.8	3.8	0.7
胸椎過剰				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	2 (2)	2 (2)	6 (4)	2 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	2.1	1.9	5.7	1.9
胸椎体片側骨化 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	0	0	0.7	0
腰椎椎弓骨化不全 軟骨あり				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	1.0	1.9	1.0	0.8
腰椎体片側骨化 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	0	0	0	1.0
亜鈴型腰椎椎体骨化、椎体の亜鈴型軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	5 (5)	3 (3)	3 (3)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	4.4	2.7	3.6	0
腰椎体二分型骨化 椎体の亜鈴型軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	0.8	0	0	0
仙椎の変形				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	3 (2)	5 (5)	2 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	3.1	4.4	1.7	0
仙椎椎弓骨化不全 軟骨あり				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	2 (2)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	1.7	0	0.7	2.4
胸骨分節未骨化 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	7 (6)	4 (3)	6 (5)	7 (7)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	6.6	3.8	5.3	6.2
胸骨分節骨化不全 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	75 (23)	72 (24)	62 (23)	71 (23)
腹当たり平均発生率 (% ^{Ni})	69.9	71.7	66.5	65.5

有意差の表示: ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定: ^{Fi}: Fisher の正確検定 (片側), ^{Ni}: Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 胎児 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000
検査胎児数 (腹数)	106 (24)	101 (24)	96 (24)	107 (24)
骨格変異				
胸骨分節変形 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	40 (21)	43 (21)	42 (19)	57 (23)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	38.8	42.3	43.0	53.11
胸骨分節片側性骨化 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	2 (2)	0 (0)	3 (3)	2 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	1.9	0	3.3	1.9
胸骨分節二分型骨化 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	0.8	0	0	0
過剰肋骨 (14 番目) 軟骨あり				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	3 (3)	7 (6)	11 (7)	4 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	3.1	6.7	11.0	4.0
過剰肋骨 (第 14 番目) 軟骨なし				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	62 (21)	71 (22)	54 (20)	54 (22)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	58.5	68.3	54.2	49.7
頸肋骨、軟骨あり				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	0	0	0.7	0
頸肋骨、軟骨なし				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	9 (9)	6 (4)	6 (2)	9 (9)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	9.0	6.5	4.7	8.1
波状肋骨				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	4 (4)	5 (5)	8 (6)	9 (8)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	4.3	4.9	7.6	8.8
三角筋粗面変形				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	4 (3)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	0	0	1.0	3.81
中手骨骨化不全 軟骨あり				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	0	0	0.7	0
未分類異常 ⁵				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	31 (18)	27 (17)	32 (18)	35 (17)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	29.0	27.1	31.5	31.7
二分型剣状突起				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	31 (18)	27 (17)	32 (18)	35 (17)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	29.0	27.1	31.5	31.7
肋骨軟骨分岐				
胎児数 (腹数 ^{Fi})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	0	0	0	0.8

⁵: 骨格構造に影響しない軟骨の所見

有意差の表示: ↓; p ≤ 0.05, † ↓; p ≤ 0.01

有意差検定: ^{Fi}: Fisher の正確検定 (片側), ^{Wi}: Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

母動物： 体重、補正体重増加量、摂餌量および一般状態について、いずれの投与群も対照群と同等であり、検体投与の影響は認められなかった。

屠殺時の子宮重量は高用量群まで対照群と同等であり、検体投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、異常所見は対照群のみに自然発生的に認められ、検体投与の影響は認められなかった。

繁殖データでは、黄体数、着床数、着床前後胚損失、早期/後期吸収胚および生存胎児数において、投与群は対照群と同等であり、検体投与による影響は認められなかった。

胎児： 子宮から摘出した胎児の性比、体重および胎盤重量において投与群は対照群と同等であった。

外表検査において、奇形として肛門閉鎖、下顎小顎症および糸状尾は対照群および低用量群のみに単発でみられ、高用量群のみにみられた腹壁破裂も腹当たりの平均発生率は 0.4% であり、自然発生的なものと判断した。外表の総奇形発生率も投与群と対照群とで同等であった。変異および未分類異常はいずれの群にも認められなかった。

内臓検査において、高用量群に 1 例のみ、内臓逆位の奇形が認められた。腹当たりの発生率は 0.8% であり、自然発生的なものと判断した。内臓変異として腎盂拡張および尿管拡張が認められたが、投与群と対照群の発生胎児数および腹数はいずれも同等であり、自然発生的なものと判断した。全内臓変異の発生率は対照群および全投与群で同等であり、変異の発生への検体投与の影響はないと判断した。

骨格検査において、単発的な奇形が認められたが、いずれの奇形も高用量群に認められなかったことより自然発生的なものであった。総奇形数においても投与の影響はみられなかった。

変異については様々な所見が認められ、腹当たりの平均発生率は 0、100、300 および 1000mg/kg/群でそれぞれ 96.4、97.9、97.3 および 98.6% であり、認められた変異のほとんどは投与と関連のない自然発生的な変化で、背景データと同頻度であった。いくつかの統計学的有意差の認められた項目を表 3 に背景データとともに示した。これらの変化は妊娠 20 日目の胎児にしばしば認められる骨化のプロセスの変動性を示しているが、ある種の臓器親和性を示す特有のパターンはなく、様々な骨格部分に散在していた。高用量の胸骨分節の変形のみが背景をやや上回っているが、これは僅かな骨化プロセスの遅延であり、軟骨構造に変化がないことから、生後十分に回復する一時的な現象と考えられた。また、本試験においてはいくつかの同様な骨格変異が対照群にも高頻度で認められており（表 4）、背景データを上回るものもあった。全骨格変異は全投与群ともにその腹数および

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

胎児数は対照群と同等であった。従って胸骨分節変形の発生率の背景データを僅かに上回る増加は偶発的なものと考えられた。

表 3. 統計学的に有意に増加した骨格変異 (腹当たり平均発生率%)

所見	用量群 (mg/kg/日)				背景データ 平均%(範囲)
	0	100	300	1000	
頭蓋骨骨化不全、 未変化軟骨	0.0	3.1	0.0	9.4 †	4.5 (0.0~11.0)
胸骨分節変形、 未変化軟骨	38.8	42.3	43.0	53.1 †	26.6 (7.7~52.1)
胸椎体二分型骨化 椎体の垂鈴型軟骨	0.0	0.8	3.8 †	0.7	0.9 (0.0~3.2)
三角筋粗面変形	0.0	0.0	1.0	3.8 †	0.3 (0.0~6.8)

有意差の表示: † ↓ ; p<0.05, † ↓ ↓ ; p<0.01

有意差検定: Wilcoxon 検定 (片側)

背景データ: 2001-2005 年, 23 試験, 検査生存胎児数 2454 匹, 腹数 527 腹

表 4. 発生頻度の高かった対照群 (腹当たり平均発生率%)

所見	用量群 (mg/kg/日)				背景データ 平均%(範囲)
	0	100	300	1000	
上後頭骨 孔	36.3	34.2	36.1	29.0	32.0 (8.6~60.5)
蝶形骨底部 骨化不全	13.1	3.5	4.1	6.0	6.2 (0.0~14.7)
蝶形骨底部 孔	1.7	0.0	1.0	0.0	n. d.
腰椎のダンベル型骨化 軟骨未変化	4.4	2.7	3.6	0.0	0.5 (0.0~3.5)
胸骨分節の未骨化 未変化軟骨	6.6	3.8	5.3	6.2	9.4 (1.7~39.0)
頸肋、軟骨なし	9.0	6.5	4.7	8.1	5.7 (0.7~14.7)

背景データ: 2001-2005 年, 23 試験, 検査生存胎児数 2454 匹, 腹数 527 腹

n. d.: 発生なし

その他に骨格構造に影響しない未分類とした所見は、総軟骨所見の背景値 (平均; 39.1%、範囲 13.8~73.0%) の範囲内であり投与との関連性は認められなかった。

以上、本試験において、母動物には 1000mg/kg/日までを妊娠期間中投与しても検体投与による毒性影響は認められなかった。胎盤重量および胎児体重に検体に関連した差は認められず、外表、内臓および骨格所見の数および種類について投与に関連した毒性影響は認められなかった。

従って、本試験条件下における母動物および胎児の無毒性量はいずれも 1000mg/kg/日と判断した。催奇形性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

12-3. ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 17)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年（GLP 対応）

検体の純度：

試験動物： ヒマラヤ種 (CrI:CHBB[HM]) ウサギ 1群妊娠雌 25匹、投与開始時 18-21週齢
妊娠0日体重 2270-3042g

投与期間： 23日間 (2006年11月19, 21, 26, 28日～2006年12月11, 13, 18, 20日)

投与方法： 検体を 1.0%カルボキシメチルセルロース水溶液(CMC)に懸濁して調製し、妊娠 6日～28日目の 23日間、0、100、300及び1000mg/kg用量を毎日強制経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。検体は1.0%CMC中7日間安定であることが確認されており、投与液は7日間以内で調製した。
人工授精させた日を妊娠0日とした。

用量設定根拠： 検体は既実施の他の試験の結果より低毒性であることが確認されていることから、ガイドラインで要求されている限界濃度である1000mg/kg/日を高用量とし、以下、300および100mg/kg/日を設定した。

観察・検査項目：

親動物： 妊娠0～29日間、一般状態、妊娠状態および生死を毎日確認し、摂餌量も毎日測定した。体重は妊娠0, 2, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19, 21, 23, 25, 28および29日目に測定した。妊娠29日にペントバルビタールにより屠殺し、帝王切開で胎児を摘出した。未切開の子宮重量、黄体数、生存胎児、死亡着床（早期および後期吸収、死亡胎児）を検査した。さらに妊娠(受胎)率(%）、着床前損失(%）および着床後損失(%）を算出した。

生存胎児： 剖検時に体重および外表異常の観察を行った。胎児の生死ならびに胎盤、臍帯、胎膜および羊水の状態を観察し、個別に胎盤重量を測定した。胸部および腹部を切開し、in situで臓器を肉眼的に検査した。
各群同腹の1/2の胎児について断頭した頭部をBOUIN液で固定しWilsonの方法で検査した。無頭の胎児を含む全胎児をエチルアルコールに浸漬し、1-5日後に短期間取り出して頭部の横断切片を作製し、2/3について脳の詳細な検査をおこなった。検査後、胎児を再びエチルアルコールに戻して固定し、KimmelおよびTrammellの改良法で骨格を染色して骨格検査に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結果： 概要を表 1 および 2 に示した。

表 1. 母動物

母動物		0	100	300	1000
投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000
1 群当り動物数		25	25	25	25
一般状態		検体投与に関連した変化は認められなかった。			
妊娠動物数		25	24	25	25
妊娠率 (%) ^{2, D}		100	96	100	100
死亡 ^{F_i} (%)		0	1*	0	0
流産		0	1*	0	0
摂餌量 (g/動物/日) ^D	0-6 日	116.1	118.2	127.0	115.8
	6-28 日	75.7	78.5	75.3	81.3
	0-29 日	83.9	86.7	85.8	88.5
体重 (g) ^D	0 日	2708	2695	2700	2691
	6 日	2755	2735	2760	2738
	29 日	2858	2845	2861	2926
体重変化 (g) ^D	0-6 日	47.2	40.3	59.8	47.7
	6-28 日	89.9	97.0	85.5	161.2
	0-29 日	150.4	152.1	160.7	235.2 ↓
未切開子宮重量 (g) ^D		323.6	281.2	307.7	314.5
カーカス (g)		2534.5	2563.5	2552.9	2611.3
補正体重増加量 (g) ^{1, D}		-220.4	-168.1	-206.8	-127.0 ↑
生存胎児を有する腹数		25	23	25	25
全胚吸収腹数		0	0	0	0
剖検所見		異常なし	胆嚢出血+空胃+ 流産所見：1 例	胸腔内漿液充満+ 肝変色 1 例、 空胃：1 例	子宮角欠損 (片 側)：2 例
着床所見					
検査親動物数		25	23	25	25
黄体数 ^D		8.7	7.8	8.2	8.0
着床数 ^D		7.7	6.7	7.6	6.6
着床前損失 (%) ^{3, D}		12.5	15.6	7.9	17.7
着床後損失 (%) ^{4, D}		10.9	14.9	11.2	5.6
総吸収胚数 ^D (%)		0.8 (10.9)	1.0 (14.9)	0.8 (11.2)	0.3 (5.6)
早期吸収胚数 ^D (%)		0.7 (8.9)	0.8 (12.9)	0.5 (6.6)	0.3 (4.9)
後期吸収胚数 ^D (%)		0.2 (2.0)	0.2 (2.1)	0.4 (4.6)	0.0 (0.7)

*： 流産した母動物 (No. 45) の切迫屠殺。

¹： 補正体重増加量 = 妊娠 29 日の最終体重 - 未切開子宮の重量 - 妊娠 6 日目の体重

²： 妊娠動物数 / 受精動物数 x 100

³： (黄体数 - 着床数) / 黄体数 x 100

⁴： (着床数 - 生存胎児数) / 着床数 x 100

有意差の表示： ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定：^D：Dunnett の検定 (両側), ^{F_i}：Fisher の正確検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 胎児

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000	
検査腹数	25	23	25	25	
生存胎児数 ^D (%)	6.9 (89.1)	5.7 (85.1)	6.7 (88.8)	6.3 (94.4)	
性比 (雄/雌)	45.3/54.7	51.5/48.5	58.9/41.1	50.0/50.0	
生存胎児重量 (g) ^D	雌雄	34.8	36.1	32.5	36.5
	雄	35.2	35.3	32.5	36.1
	雌	34.5	35.9	32.2	36.7
生存胎児胎盤重量 (g) ^D	雌雄	4.2	4.5	4.1	4.6
	雄	4.3	4.5	4.1	4.7
	雌	4.1	4.3	4.1	4.6
外表異常					
検査胎児数 (腹数)	172 (25)	130 (23)	168 (25)	158 (25)	
外表奇形					
奇形胎児数 (腹数 ^{F1})	2 (2)	2 (1)	2 (2)	2 (2)	
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.9	1.2	1.2	1.5	
髄膜脳瘤	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0.8	0
小口吻	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	1.2	0	0
髄膜瘤	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.4	0	0	0
複数の外表奇形を有する胎児	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.6	0	0.4	0.8
口蓋裂	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	0.7
外表変異					
変異胎児数 (腹数 ^{F1})	3 (3)	7 (5)	9 (6)	4 (3)	
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	1.7	4.3	5.4	2.7	
肢-過屈曲	胎児数 (腹数 ^{F1})	3 (3)	7 (5)	9 (6)	4 (3)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	1.7	4.3	5.4	2.7
未分類所見					
未分類所見を有する胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.7	0	0.8	0	
羊水過多	胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0.8	0
羊水の変色	胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.7	0	0	0

有意差の表示: ↓ : p ≤ 0.05, ↑ ↓ : p ≤ 0.01

有意差検定: ^D: Dunnett の検定 (両側), ^{F1}: Fisher の正確検定 (片側), ^{W1}: Wilcoxon 検定 (片側)
 矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000
検査胎児数 (腹数)	172 (25)	130 (23)	168 (25)	158 (25)
内臓異常				
内臓奇形				
奇形胎児数 (腹数 ^{F1})	2 (2)	4 (4)	6 (5)	6 (6)
腹当たりの奇形胎児率 (% ^{W1})	1.1	2.6	3.8	4.1
複数の内臓奇形を有する胎児				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.6	0	0.4	0.8
奇形大脳				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0.8	0
鎖骨下動脈欠損 (右)				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	0.8
心臓： 筋性心室中隔欠損				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	3 (3)	1 (1)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.6	2.0	0.6	1.3
胆嚢欠損				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	1 (1)	3 (2)	2 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0.6	2.0	1.1
内臓変異				
変異胎児数 (腹数 ^{F1})	10 (9)	10 (6)	25 (12)	13 (7)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	5.7	6.5	15.2	7.6
脳室拡張				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	0.8
頸動脈洞枝位置異常				
胎児数 (腹数 ^{F1})	2 (2)	3 (2)	2 (2)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	1.5	1.6	1.2	0
心臓：心室肥大				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.4	0	0	0
肺葉欠損 (左：内側下葉)				
胎児数 (腹数 ^{F1})	7 (7)	7 (4)	23 (10)	12 (6)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	3.8	4.9	14.0	6.8
未分類所見				
未分類所見を有する胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	6 (5)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	1.0	0	0	4.3
膀胱周囲血塊				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	4 (4)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	1	0	0	2.8
卵巣出血				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	1.4

有意差の表示： ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定： ^{F1} : Fisher の正確検定 (片側), ^{W1} : Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 胎児 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000
検査胎児数 (腹数)	172 (25)	130 (23)	168 (25)	158 (25)
骨格異常				
骨格奇形				
奇形胎児数 (腹数 ^{F1})	4 (4)	3 (2)	3 (3)	7 (6)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	2.2	2.0	1.7	5.4
複数の奇形胎児				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.6	0	0.4	0.8
頭蓋骨重度奇形				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	2 (1)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.4	1.2	0.8	0
頸椎変形				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.6	0	0	1.3
頸椎の重度奇形				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	1.0
腰椎変形				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.7	0.7	0	0.4
腰椎欠損				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	1.1
肋骨癒合 ; 軟骨変化あり				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0	0.8
肩峰破壊				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0.4	0
骨格変異				
変異胎児数 (腹数 ^{F1})	96 (24)	64 (20)	107 (24)	95 (24)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	56.1	48.2	64.2	60.4
過剰骨化部位 ; BETW: 鼻骨 & 前頭骨				
胎児数 (腹数 ^{F1})	6 (5)	1 (1)	7 (5)	1 (1)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	3.0	0.6	4.0	0.6
頭頂骨孔				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	4 (4)	3 (3)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.4	0	2.5	1.7
舌骨骨化不全 ; 軟骨あり				
胎児数 (腹数 ^{F1})	13 (9)	13 (9)	27 (14)	11 (7)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	7.6	8.9	16.4	7.1
頭頂骨化不全 ; 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{F1})	1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0.4	0	1.1	0
頭骸骨の分割				
胎児数 (腹数 ^{F1})	7 (5)	4 (2)	2 (2)	6 (6)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	4.0	2.8	1.2	4.4
頭頂骨および頭頂間 骨の弱い骨架橋				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0.7	0	0
頸椎体骨化不全 ; 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{F1})	2 (2)	4 (4)	6 (5)	3 (2)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	1.0	2.7	3.4	2.7
頸椎未骨化 ; 未変化軟骨				
胎児数 (腹数 ^{F1})	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腹当たり平均発生率 (% ^{W1})	0	0	0.6	0

有意差の表示 : 1 ↓ ; p ≤ 0.05, † ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定 : ^{F1} : Fisher の正確検定 (片側), ^{W1} : Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000
検査胎児数 (腹数)	172 (25)	130 (23)	168 (25)	158 (25)
頸椎体亜鈴型骨化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	1 (1) 0.9	0 (0) 0	0 (0) 0
頸椎体亜鈴型骨化 ; 椎体の亜鈴型軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	1 (1) 0.9	0 (0) 0	0 (0) 0
頸椎体片側性骨化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0.6	0 (0) 0	0 (0) 0	0 (0) 0
頸椎体片側性骨化 ; 椎体の亜鈴型軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	0 (0) 0	1 (1) 0.6	0 (0) 0
過剰胸椎	胎児数 (腹数 ^{F1}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0.6	0 (0) 0	0 (0) 0	1 (1) 1.0
胸椎の亜鈴型骨化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	0 (0) 0	2 (2) 1.0	0 (0) 0
過剰腰椎	胎児数 (腹数 ^{F1}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0.7	0 (0) 0	0 (0) 0	0 (0) 0
腰椎弓骨化不全 ; 軟骨あり	胎児数 (腹数 ^{F1}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0.6	0 (0) 0	0 (0) 0	0 (0) 0
仙椎変形	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	0 (0) 0	0 (0) 0	1 (1) 0.7
仙椎弓骨化不全 ; 軟骨あり	胎児数 (腹数 ^{F1}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0.7	0 (0) 0	0 (0) 0	0 (0) 0
胸骨分節未骨化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 33 (13) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 19.3	21 (11) 13.0	35 (15) 20.5	30 (14) 17.8
胸骨分節未骨化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 35 (17) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 21.1	17 (12) 16.9	34 (18) 22.3	28 (17) 17.8
胸椎分節癒合 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 12 (10) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 6.6	12 (7) 7.8	7 (7) 3.8	7 (7) 4.1
胸椎分節変形 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 4 (3) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 2.2	5 (4) 3.1	11 (8) 6.3	7 (6) 5.1
胸椎分節片側性骨 化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	0 (0) 0	2 (2) 1.1	0 (0) 0
過剰胸椎分節骨化 ; 未変化軟骨	胎児数 (腹数 ^{F1}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 0	0 (0) 0	2 (1) 1.3	0 (0) 0
13 番目過剰肋骨 ; 軟骨あり	胎児数 (腹数 ^{F1}) 2 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{W1}) 1.1	2 (2) 1.6	3 (2) 1.7	10 (6) 7.0

有意差の表示 : ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ; p ≤ 0.01

有意差検定 : ^{F1} : Fisher の正確検定 (片側), ^{W1} : Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000
検査胎児数 (腹数)	172 (25)	130 (23)	168 (25)	158 (25)
13 番目過剰肋骨 ; 軟骨なし	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 5 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 2.4	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 3 (3) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 2.4	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 9 (6) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 5.5	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 11 (4) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 6.9
頸肋骨 ; 軟骨なし	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.4	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
距骨骨化不全 ; 軟骨 あり	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 2 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 1.0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
距骨未骨化 ; 軟骨あ り	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
恥骨骨化不全 ; 軟骨 あり	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
未分類異常 ⁵				
胎児数 (腹数 ^{Fi}) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi})	55 (18) 31.1	27 (12) 17.5	49 (19) 29.0	43 (15) 26.4
胸骨に接続されない 肋骨の軟骨部位	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 53 (16) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 29.9	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 26 (12) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 16.9	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 45 (18) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 26.7	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 43 (15) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 26.4
助軟骨分割	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 2 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 1.0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
剣状突起分割	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.7	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
瘤状助軟骨	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 2 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 1.2	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.7
助軟骨部置換	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 3 (3) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 1.81	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
助軟骨分岐	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 3 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 1.8	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
助軟骨部癒着	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 1 (1) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0.6	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0
胸骨 ; 過剰軟骨部位	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 2 (2) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 1.3	胎児数 (腹数 ^{Fi}) 0 (0) 腹当たり平均発生率 (% ^{Wi}) 0

⁵ : 骨格構造に影響しない軟骨の所見

有意差の表示 : ↓ ; p ≤ 0.05, ↑ ↓ ; p ≤ 0.01

有意差検定 : ^{Fi} : Fisher の正確検定 (片側) , ^{Wi} : Wilcoxon 検定 (片側)

矢印のない数値は有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

母動物： 死亡、臨床症状および摂餌量において、いずれの群においても検体投与による悪影響は認められなかった。

体重はいずれの測定時期においても、投与群は対照群に比して有意な変動は示さなかった。体重変化は高用量群において 0-29 日で有意に増加し、6-28 日でも増加傾向を示した。補正体重増加量について、高用量群は対照群と比して減少が有意に少なかったが、未切開子宮重量およびカーカスにおいては対照群と比して統計学的な有意差はなかった。高用量群は全体的に体重増加量が他群と比して高かったが、体重は背景データ（第 29 日；平均 2853g、範囲 2237-3501g、531 匹、2000-2008 年）の範囲内であり、検体投与による悪影響ではないと考えられた。子宮重量には統計学的に有意な変動はなく、検体投与の影響は認められなかった。剖検所見では、認められた所見はいずれも孤立した発生で検体投与によるものではないと判断された。

繁殖に関するパラメーターに有意な変動や傾向は認められなかった。

胎児： 出生時の生存胎児数、性比、体重および胎盤重量はいずれも対照群と同等で、統計学的に有意な変動はなかった。

外表異常： 外表奇形の概要、発生率および背景データを以下の表に示す。

		群 (mg/kg/日)				背景データ (範囲)
		0	100	300	1000	
腹 胎児	N	25	23	25	25	2949
	N	172	130	168	158	465
胎児の発現頻度	N (%)	2 (1.2%)	2 (1.5%)	2 (1.2%)	2 (1.3%)	0.3% (0.0-4.1%)
腹の発現頻度 ^{fi}	N (%)	2 (8.0%)	1 (4.3%)	2 (8.0%)	2 (8.0%)	1.5% (0.0-20.0%)
腹当たり発現胎児 ^{wi}	平均%	0.9	1.2	1.2	1.5	0.5% (0.0-6.7%)
背景データ 平均値 [範囲] 2000 年 1 月~2008 年 5 月]						

N = 検査動物数、% = 百分率、

有意差検定 Fi : Fisher の正確検定 (片側), Wi : Wilcoxon 検定 (片側) 有意差なし。

対照群を含む全ての群の胎児および腹の全奇形発現頻度は背景対照データの平均値と比して高かったが、対照群の発生率を考慮すると検体に関連したものではないと判断した。

外表変異として足の屈曲が全群に認められたが、用量関連性がなく背景データの範囲内（胎児；0.0-5.3%、腹；0.0-4.0%、腹当たり；0.0-6.7）で検体投与に関連しないと判断した。

また、分類できなかった所見はいずれも高用量群には発生せず、投与に関連のない所見であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

内臓異常： 種々の内臓奇形が対照群を含む全ての試験群に個別に認められたが、対照群と試験群との間に有意差はなかった。

内臓異常として種々の変異が対照群を含み認められたが、群間に有意差はなく発生頻度は同等で背景データからの逸脱はなかった。

分類できなかった総異常所見は、1000mg/kg/日群で腹当たりの発生頻度が4.3%と有意に高かったが、背景対照データの範囲内(0.0-9.4%)であり偶発的なものと考えられた。

骨格異常： 対照群を含む全ての試験群の個別の胎児に骨格奇形が認められた。

胎児の個体別骨格奇形を以下に示した。統計学的に有意な奇形の発生はなかった。

試験群 (mg/kg/日)	母動物 No	胎児 No., 性	奇形
0	07	07 雌	変形頸椎
	10	06 雄	変形腰椎
	18	05 雌*	重度奇形頭蓋骨
	20	06 雌	複数奇形 重度奇形の頭蓋骨、頸椎、胸椎、胸骨および肋骨
100	33	02 雌*	重度奇形頭蓋骨
		04 雌*	重度奇形頭蓋骨
	47	04 雄	変形腰椎
300	51	02 雌*	重度奇形頭蓋骨
	68	02 雌*	肩峰破壊：左
	66	07 雄	複数奇形 骨格全体
1000	77	02 雄	変形頸椎
	83	03 雄	融合肋骨：右
	84	05 雄	重度奇形頸椎
	87	02 雄	腰椎欠損
		07 雄	変形腰椎
	94	07 雌	腰椎欠損
	95	04 雄	複数奇形 重度 頭蓋、頸椎、両肢のみ正常。 肋骨、脊柱、胸骨痕跡、部分的癒合および変形。

*：関連の外表奇形／内臓奇形あり

骨格変異として、対照群を含む試験群に種々の変異が認められ、300 および 1000mg/kg 群においていくつかの骨格変異に統計学的有意差が認められた。しかし、投与との明瞭な関連性が認められず、背景データと同等であったことより、生物学的関連性はないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

腹当たりの平均発生率(%)

所見	群 (mg/kg/日)				HCD
	0	100	300	1000	平均%(範囲)
舌骨の骨化不全 (軟骨あり)	7.6	8.9	16.4	7.1	7.3 (0.0~17.8)
胸椎分節変形 (未変化軟骨)	2.2	3.1	6.3	5.1	6.3 (0.0~15.8)
過剰 13 肋骨 (軟骨あり)	1.1	1.6	1.7	7.0	2.8 (0.0~10.4)

HCD = 背景対照データ

Wilcoxon 検定 (片側) 1 : $p \leq 0.05$

分類できない骨格異常として助軟骨部位置換の有意な変動が認められたが、用量関連性がなく、骨構造に影響を与えないもので投与との関連性はなかった。その他検体投与による変化はみられなかった。

以上より、本試験において、母動物に毒性影響は認められず、胎児においても体重および生存率などの毒性は認められなかった。外表、内臓および骨格に対照群を含み種々の奇形および変異が認められたが、いずれも孤立しており、対照群と比して有意な増加を示さない、または有意な増加であっても背景対照データと同等であるなど、検体に起因する生物学的に有意な増加ではなかった。

従って、本試験条件下における母動物および児動物の無毒性量 (NOEL) は 1000mg/kg/日であった。またガイドラインの限界濃度である 1000mg/kg/日まで投与しても、催奇形性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

13. 変異原性

13-1. 細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 18)

試験実施機関：

報告書作成年：2006年（GLP 対応）

検体の純度：

方 法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(TA100、TA98、TA1535、TA1537 株)、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)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。

検体は DMSO に溶解し、標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに 0、20、100、500、2500 および 5000 μg /プレートで試験を実施した。試験は 3 連とした。1 回目の試験（標準プレート法）において 2500 および 5000 μg /プレートに弱い抗菌性が時折見られた程度であったことから 2 回目の試験（プレインキュベーション法）においても同じ濃度設定とした。

陽性対照として S-9mix 存在下には、2-アミノアントラセン(2-AA)を、S-9mix 非存在下には、N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)を用いた。

結 果： 標準プレート法およびプレインキュベーション法ともに S-9mix の存在下および非存在下においていずれの菌株においても復帰コロニー数の増加はみられなかった。検体の沈殿は 100 μg /プレート以上の濃度で認められた。また、2500~5000 μg /プレートで弱い細菌への毒性（復帰変異コロニー数の減少、タイターの減少）が時折認められた。陽性対照は明瞭な増加を示した。以上より、検体は復帰変異原性を有しないと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

細菌を用いた復帰突然変異試験結果

1) 標準プレート法

薬物	濃度 (μg /プレート)	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	109	16	30	30	9
検体	20	-	112	16	29	26	8
	100	-	108p	18p	27p	23p	9p
	500	-	113p	15p	29p	27p	8p
	2500	-	102p	13p	29p	22p	6p
	5000	-	104p	14p	23p	20p	3p
陽性対照 MNNG	5.0	-	1062	908			
AAC	100	-					373
NOPD	10	-				781	
4-NQO	5.0	-			593		
対照 (DMSO)		+	112	16	32	30	9
検体	20	+	115	17	31	27	10
	100	+	106p	15p	32p	32p	10p
	500	+	110p	14p	30p	25p	8p
	2500	+	117p	13p	31p	24p	7p
	5000	+	113p	6p	29p	22p	4p
陽性対照 2-AA	2.5	+	788	113		873	152
	60				242		

表中の数値は3プレートの平均値、空欄は該当なし

p: 沈殿

2-アミノアントラセン (2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン (NOPD)

9-アミノアクリジン (AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド (4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2) プレインキュベーション法

薬物	濃度 (µg/プレート)	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA 100	TA 1535	WP2 uvrA	TA 98	TA 1537
対照 (DMSO)		-	124	17	35	27	8
検体	20	-	106	14	34	19	9
	100	-	102p	15p	33p	25p	7p
	500	-	105p	15p	40p	24p	6p
	2500	-	103p	13p	34p	23p	4p
	5000	-	96p	12p	33p	23p	6p
陽性対照 MNNG	5.0	-	848	869			
AAC	100	-					377
NOPD	10	-				724	
4-NQO	5.0	-			531		
対照 (DMSO)		+	131	16	37	34	9
検体	20	+	104	13	36	32	8
	100	+	104p	12p	37p	26p	10p
	500	+	105p	16p	35p	25p	7p
	2500	+	99p	13p	34p	26p	4p
	5000	+	102p	15p	31p	20p	4p
陽性対照 2-AA	2.5 60	+	1196	104	229	831	126

表中の数値は3プレートの平均値、空欄は該当なし

p: 沈殿

2-アミノアントラセン(2-AA)

N-メチル N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)

4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)

9-アミノアクリジン(AAC)

4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

13-2. チャイニーズハムスターV79 細胞における *in vitro* 染色体異常試験 (資料 19)

試験実施機関：

報告書作成年：2005年 (GLP 対応)

検体の純度：

試験方法： チャイニーズハムスターV79 細胞のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシルトランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 染色体誘発性を調べた。代謝活性化系(S-9mix)の存在下及び非存在下で独立した2試験を実施し、構造的染色体異常について、スライド当たり100個の分裂中期プレートを評価した。試験の設計を以下に示す。

標本作製 までの 時間(hr)	暴露 時間 (hr)	実験	濃度 (μg/ml)						
			S9mix 非存在下						
18	4	I	3.1	6.3	12.5	25.0	50.0	100.0 p	
18	18	II	6.3	12.5	25.0	50.0 p	100.0 p	200.0 p	
28	18	II			25.0	50.0 p	100.0 p	200.0 p	
			S9mix 存在下						
18	4	I	3.1	6.3	12.5	25.0	50.0	100.0 p	
28	4	II	6.3	12.5	25.0	50.0 p	100.0 p	200.0 p	

p：析出の生成

陽性対照区として S-9mix 存在下ではエチルメタンスルホネート(EMS)を、S-9mix 非存在下ではシクロホスファミド(CP)を用い、陰性(溶媒)対照区として S-9mix の有無によらず0.5%エタノールを用いた。

細胞を4または18時間処理後、生理食塩液で洗浄し、完全培地と交換して処理開始15.5および25.5時間後にコルセミドを添加して、細胞分裂を停止させた。その2.5時間後に低張溶液(0.4%KCl)で37°C20分間処理し、メタノールおよび氷酢酸混合物(3:1)で細胞を固定した。実験ごと各群2枚のスライドを作成しギムザ染色した。

用量設定根拠： 検体をエタノールに溶解または懸濁して11.1~1425.0 μg/ml (5mM)の8濃度を調製し、S-9mix存在下で4時間、S-9mix非存在下で4および24時間暴露させたところ、4時間処理ではS-9mixの有無によらず22.3 μg/ml以上で析出し、S-9mix非存在下での24時間処理では11.1 μg/ml以上で析出が生じた。明らかな細胞毒性はみられなかったことから、実験Iには明らかに検体の析出がみられる濃度として

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

100 μ g/mL を最高濃度とした。実験Ⅱについては実験Ⅰの結果をもとに200 μ g/mL を最高濃度とした。

結 果： 実験ⅠおよびⅡの結果を次頁以降の表に示す。

細胞毒性は最高濃度までみられなかった。個々の試験において、実験ⅡのS-9mix 存在下を除き、生物学的に意味のある構造的染色体異常を有する細胞数の増加はいずれもみられなかった。実験ⅡにおいてS-9mix存在下で4時間暴露、28時間後標本作製のギャップを除く染色体異常を有する細胞数が溶媒対照群と比して有意な増加（2.0個； $p < 0.05$ ）を示したが、背景データの範囲（0.0～4.0個）の範囲内であり、生物学的に意義はないと判断した。溶媒対照群は背景データ範囲内であり、陽性対照は明瞭に増加した。

以上、本試験条件下において染色体異常誘発性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

実験 I

薬物	濃度 (μ g/mL)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	総観察細胞数	S-9 Mix の有無	倍数体細胞 (%)	細胞数対照比 (%)	分裂指数対照比 (%)	染色体異常を有する細胞の割合 (%)			染色体異常																		
									含ギャップ	除ギャップ	交換	ギャップ			染色分体型				染色体型					その他						
												g	ig	切断	切断片	欠失	交換	切断	断片	欠失	交換	断片	欠失	交換	ma	cd				
																											g	ig	切断	断片
陰性対照						2.7	n.t.	100	2.0	1.5	0.5	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
溶媒対照 EtOH	0.5%v/v					2.7	100	100	3.5	3.0	0.0	0	1	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
陽性対照 EMS	400	4	18	200	-	2.8	n.t.	88	13.0	12.0↑	1.0	2	0	13	2	0	2	0	2	9	4	0	0	0	0	0	0	0	0	
検体	25.0					2.4	90	77	2.5	1.5	0.5	2	2	1	1	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	50.0					2.9	107	89	1.5	0.0	0.0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100.0 p					2.4	105	104	1.0	1.0	0.0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
陰性対照						4.0	n.t.	100	0.5	0.5	0.0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
溶媒対照 EtOH	0.5%v/v					3.7	100	100	1.5	1.5	0.0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照 CP	1.0	4	18	200	+	3.7	n.t.	118	8.5	8.0↑	3.0	1	0	8	0	0	7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	25.0					2.2	130	82	1.0	0.0	0.0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50.0					3.3	95	91	0.0	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
検体	100.0 p					3.1	95	94	0.5	0.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

EtOH: エタノール, EMS: エチルメタンスルホネート, CP: シクロホスファミド

n.t.: 試験せず, p: 析出の生成, ↑: 対応する対照値より統計学的に有意 (Fisherの正確検定; p<0.05)

g: ギャップ, ig: 染色分体型ギャップ, ma: 複数の異常(>4), cd: 細粉化

表中の数値は2連の平均

実験 II

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	総観察細胞数	S-9 Mixの 有無	倍数体細胞 (%)	細胞数対照比 (%)	分裂指数対照比 (%)	染色体異常を有する細胞の割合 (%)			染色体異常													
									含 ギヤップ	除 ギヤップ	交 換	ギヤップ			染色分体型			染色体型			その他				
												g	ig	cd	切断	断片	交換	欠失	断片	交換	欠失	断片	ma	cd	
陰性対照						2.8	n.t.	100	0.5	0.0	0.0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
溶媒対照 EtOH	0.5%v/v					2.0	100	100	1.5	0.5	0.0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
陽性対照 EMS	300	18	18	200	—	1.3	n.t.	88	13.0	12.5	3.0	2	0	14	1	0	6	1	0	6	1	0	0	0	0
検体	25.0					1.6	113	73	1.0	1.0	0.5	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	50.0 p					1.3	110	66	1.0	1.0	0.0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	100.0 p					2.8	133	60	2.5	2.0	0.0	1	0	2	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	200.0 p					2.0	118	85	1.0	0.5	0.0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
陰性対照						1.9	n.t.	100	1.0	0.5	0.0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒対照 EtOH	0.5%v/v					1.6	100	100	1.0	1.0	0.0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照 EMS	300	18	28	200	—	2.7	n.t.	92	13.0	13.0	5.0	0	0	15	2	0	11	1	4	0	0	0	0	0	0
検体	25.0					2.7	83	80	1.5	0.5	0.0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50.0 p					1.0	96	100	2.0	1.5	0.0	1	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

EtOH: エタノール, EMS: エチルメタンサルホネート

n.t.: 試験せず, p: 析出の生成, ↑: 対応する対照値より統計学的に有意 (Fisherの正確検定; p<0.05)

g: ギヤップ, ig: 染色分体型ギヤップ, ma: 複数の異常(>4), cd: 細粉化

表中の数値は2連の平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

実験 II

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	総観察細胞数	S-9 Mix の有無	倍数体細胞 (%)	細胞数対照比 (%)	分裂指数対照比 (%)	染色体異常を有する細胞の割合 (%)			染色体異常													
									含 ギヤップ	除 ギヤップ	交換	ギヤップ			染色分体型			染色体型				その他			
												g	ig	交換	切断	断片	欠失	交換	切断	断片	欠失	交換	ma	cd	
陰性対照						2.7	n. t.	100	5.0	4.0	0.0	2	0	1	0	0	0	3	5	0	0	0	0	0	0
溶媒対照 EtOH	0.5%v/v					1.7	100	100	0.5	0.0	0.0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照 CP	1.4	4	28	200	+	2.5	n. t.	116	9.0	9.0	2.0	0	0	3	5	0	2	3	2	0	2	1	0	0	0
検体	12.5					2.0	105	74	2.0	1.5	0.0	1	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	25.0					2.0	95	71	1.0	1.0	0.5	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	50.0 p					1.6	76	65	2.5	2.0	0.0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0

EtOH: エタノール, EMS: エチルメタンサルホネート, CP: シクロホスファミド

n. t.: 試験せず, p: 析出の生成, †: 対応する対照値より統計学的に有意 (Fisherの正確検定: $p < 0.05$)

g: ギヤップ, ig: 染色分体型ギヤップ, ma: 複数の異常 (>4), cd: 細粉化

表中の数値は2連の平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

13-3. マウスの骨髓細胞を用いた小核試験

(資料 20)

試験実施機関：

報告書作成年：2005 年 (GLP 対応)

検体の純度：

試験動物： CrI:NMRI 系マウス、1 群雄各 5 匹

試験開始時週齢 5-8 週齢、体重 29g (平均値)

試験期間： 投与後 48 時間

試験方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁して用時調製し、20mL/kg の容量で、500、1000 および 2000 mg/kg の用量を単回強制経口投与した。陰性対照群には 0.5%CMC を、また陽性対照には染色体異常誘発物質であるシクロホスファミド (CP : 20mg/kg, 経口) および異数性誘発物質であるビンクリスチン (VC : 0.15mg/kg, 腹腔内) を投与した。

投与 24 および 48 時間後に動物を屠殺して、大腿骨の骨髓を採取し、スライドグラス上に固定後、エオジン&メチレンブルー (メイグリユンワルド変法) およびギムザにより染色し、骨髓標本を作製した。試験群の設定は以下のとおりである。

薬 物	用量 (mg/kg)	動物数	
		24 時間後屠殺	48 時間後屠殺
陰性対照 0.5%CMC	—	5	5
陽性対照 シクロホスファミド (CP)	20	5	—
陽性対照 ビンクリスチン (VC)	0.15	5	—
検 体	500	5	—
	1000	5	—
	2000	5	5

—: 設定なし

各標本について、動物当たり 2000 個以上の多染性赤血球を観察し小核の有無を確認した。小核を有する正染性細胞も記録した。また多染性赤血球の小核の大きさを細胞直径の 1/4 より大きい小さいかを記録した。

用量設定根拠： 予備試験として雌雄マウスを用いた急性経口毒性を実施した。2000mg/kg 用量を単回経口投与したところ、全例が生存し、毒性徴候を示さなかった。本試験には雄動物のみを用い、最高用量には 2000mg/kg を選択し、以下 1000 および 500mg/kg を設定した。投与容量を 10mL/kg とする場合の投与液の濃度では良好な懸濁液が得られないことから 20mL/kg とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

投与液の濃度確認では 72-102%であった。しかし、最高用量群の 2000mg/kg 群の投与液濃度は 102%であったことから、本試験において限界濃度が投与されたと判断された。投与液は用時調製し、96 時間の安定性および均一性は担保されている。

結 果： 次表に結果を示す。

検体投与群の動物にはいずれも毒性徴候はみられなかった。

いずれの検体投与群とも、対照群と比して小核を有する多染性赤血球及び小核を有する正染性血球数の有意な増加はみられなかった。また、多染性赤血球と正染性赤血球の比も対照群と比して異常はみられなかった。多染性赤血球と正染性赤血球の比率から、造血性への毒性影響はなかったと判断された。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加がみられた。CP 陽性対照群では、小さな小核のみが増加し、紡錘体毒性を有する VC 陽性対照群では大きな小核も有意に増加した。陽性対照および陰性対照は背景データの範囲内であった。

以上の結果より、本試験条件下では、検体の小核誘発性は陰性と判断される。

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	PCE	NCE	MN/PCE			MN/NCE (%)
							(%)	d<D/4	d≥D/4	
24	陰性対照 (0.5%CMC)	—	雄	5	10000	3573	2.2	2.2	0.0	0.8
	陽性対照 (CP)	20		5	10000	3854	15.6 ↑	15.6 ↑	0.0	2.9
	陽性対照 (VC)	0.15		5	10000	5723	66.8 ↑	53.4 ↑	13.4 ↑	0.0
	検体	500		5	10000	4144	1.6	1.6	0.0	0.5
		1000		5	10000	4217	2.2	2.1	0.1	0.0
2000		5	10000	3505	1.3	1.3	0.0	0.6		
48	陰性対照 (0.5%CMC)	—	雄	5	10000	3719	2.7	2.7	0.0	0.5
	検体	2000		5	10000	3142	1.8	1.8	0.0	0.6

PCE : 多染性赤血球 (5 例の合計), NCE : 正染性赤血球 (5 例の合計), % : 該赤血球 1000 個中の数,

MN/PCE : PCE1000 個あたりの小核を有する PCE, MN/NCE : NCE1000 個あたりの小核を有する NCE,

Wilcoxon (片側) 検定 : ↑ ; 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 BASF ジャパン株式会社にある。

陽性および陰性対照背景データ

投与経路	陰性対照(水溶液)			陽性対照(シロキスファミド [®])			陽性対照(ヒンクリスチン)		
	経口			経口			腹腔内		
PCE1000 個あたりの 小核を有する PCE	d<D/4	d≥D/4	合計	d<D/4	d≥D/4	合計	d<D/4	d≥D/4	合計
平均値	1.4	0.0	1.4	14.6	0.1	14.7	57.4	13.1	70.3
最小値	0.6	0.0	0.6	8.7	0.0	8.9	21.9	3.8	26.0
最大値	2.4	0.2	2.6	22.6	0.9	22.8	101.9	36.4	113.7
SD	0.5	0.1	0.5	3.5	0.2	3.5	14.7	5.4	17.5
試験数	41			34			90.0		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

13-4. チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)を用いた

in vitro 遺伝子突然変異試験 (HPRT 遺伝子突然変異試験)

(資料 21)

試験実施機関：

報告書作成年：2007 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験方法：

チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ(HPRT)遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を、Aroclor で誘導したラット肝臓の S-9mix の存在下及び非存在下で、2 回の独立した試験を実施した。検体の水溶解度が低いため、溶媒には DMSO を用いた。

HAT 培地で前処理し、自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を播種し(1×10⁶個/フラスコ)、20~24 時間培養した。血清を含まない新しい培地と交換し、代謝活性化系(S-9mix)非存在下及び存在下で検体に 4 時間暴露させた。細胞を HBSS 液で数回洗浄した後、10%FCS を含む培地を添加して再び培養した。65~72 時間後に 1 回目の継代を行い、6~8 日の発現期間の後に選択培地に移し換え、2 回目の継代を行った。突然変異発現時間終了後、細胞を選択培地(TG 培地)の入った 6 本のフラスコに再播種(4 回目)し(3×10⁵個/フラスコ)6~8 日間培養して突然変異コロニーを形成させた。各試験群のコロニーをメタノールで固定し、ギムザ染色して計数した。これと平行し、1 回目の継代時(CE1)および発現期間終了時(CE2)のコロニー形成率を測定した。試験は全試験群ともに 2 連で実施した。

用量設定試験： 3000 µg/mL(約 10 mM)を 4 時間の暴露期間での最高濃度とし、S9 mix の存在下及び非存在下の両方を試験した。S-9mix は 2 種類(補助成分との比率が 1:9 及び 3:7)を試験した。その結果、検体濃度によらず S-9mix 非存在下および存在下ともに細胞毒性は認められなかった。検体の沈殿は S-9mix 非存在下で 500 µg/mL 以上で、存在下(1:9)では 100 µg/mL 以上で認められた。S-9mix(3:7)存在下では、S-9mix の沈殿により確認できなかった。浸透圧および pH に影響はみられなかった。

以上の結果から以下のとおり実験 1 の濃度を設定し、実験 2 には実験 1 の結果を加味して設定した。

- ・ 実験 1： S9 mix 非存在下および存在下((S9 画分:補助成分 = 1:9)ともに
0; 31.3, 62.5, 125.0, 250.0, 500.0, 1000.0 µg/mL
- ・ 実験 2： S9 mix 非存在下および存在下((S9 画分:補助成分 = 1:9)ともに
0; 25.0, 50.0, 100.0, 200.0, 300.0 µg/mL

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

陽性対照として、S-9mix 非存在下にはエチルメタンスルフォネート (EMS) 300 μ g/mL を、および S-9mix 存在下ではメチルコラントレン (MCA) 10 μ g/mL 濃度を用い、陰性対照として溶媒対照 (DMSO) を設けた。

許容基準

- ・ 陰性/賦形剤対照の絶対コロニー形成率 (S9 mix 存在下及び非存在下) は 50%未満であってはならない。
- ・ 陰性/賦形剤対照のバックグラウンド突然変異出現頻度は、当研究所の過去の陰性対照データ (10^6 のコロニー形成可能細胞当たり 0~15 個) の範囲内にある。
- ・ 両陽性対照は、S9 mix 存在下及び非存在下ともに、突然変異体頻度の有意な増加を誘発する。
- ・ 毒性のある濃度まで、もしくは培養条件下での溶解性の限界を超える範囲を含む、少なくとも 4 用量を試験する。溶解し、明らかに毒性のない物質は、5 mg/mL 又は 10 mM より高濃度では試験しない。

陽性の判定基準

- ・ 併設陰性/賦形剤対照値及び過去の当研究所の陰性対照データの範囲をともに上回る補正突然変異出現頻度の増加。
- ・ 突然変異出現頻度に再現性が認められること。
- ・ 突然変異出現頻度の統計学的に有意な増加及び用量反応関連性が認められること。

陰性の判定基準

- ・ 用量群の補正突然変異出現頻度が、併設陰性/賦形剤対照を統計学的に有意に上回って増加せず、過去の当研究所の陰性対照データの範囲内にある。

結 果： 結果を表 1 および 2 に示した。

本検体は独立した 2 回の試験において、S-9mix の有無にかかわらず、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。一方、陽性対照として用いた EMS 及び MCA 処理群では突然変異頻度が明らかに増加し、溶媒対照群における絶対コロニー形成率は 50%以上で、突然変異頻度は試験実施機関の背景データ (10^6 のコロニー形成可能細胞当たり 0~15 個) を満たした。浸透圧および pH に影響はなく、細胞形態の異常は認められなかった。

以上の結果より、本検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。従って、本実験条件下において、検体は CHO 細胞を用いた *in vitro* HPRT 遺伝子突然変異試験において突然変異誘発性を有さないと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 1. 実験 1

試験区/用量	S-9 Mix	沈殿 の有無	細胞毒性 CE1 (%)		細胞毒性 CE2 (%)		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)		
			絶対	相対	絶対	相対	無補正	補正 ^a	
溶媒対照 (DMSO) 1% (v/v)	-	N	86.5	100.0	83.9	100.0	1.95	2.37	
検体 (μ g/mL)		31.3	-	86.2	99.7	79.1	94.3	2.78	3.53
		62.5	-	90.8	105.0	70.7	84.3	4.17	6.05
		125.0	+	81.2	93.9	74.7	89.0	0.56	0.66
		250.0	+	66.8	77.2	58.9	72.0	1.11	2.05
		500.0	+	70.4	81.4	72.0	85.8	2.22	3.14
		1000.0	+	73.5	85.0	76.1	90.7	0.56	0.74
陽性対照 (EMS) 300.0 μ g/mL		N	75.7	87.5	65.9	78.5	108.33	166.88	
溶媒対照 (DMSO) 1% (v/v)	+	N	68.7	100.0	89.7	100.0	2.78	3.21	
検体 (μ g/mL)		31.3	-	67.8	98.7	79.8	89.0	1.12	1.35
		62.5	-	68.5	99.7	78.5	87.5	1.67	2.12
		125.0	+	69.4	101.0	80.7	90.0	1.67	1.98
		250.0	+	66.4	96.7	80.2	89.4	0.00	0.00
		500.0	+	66.4	96.7	81.7	91.1	2.50	2.75
		1000.0	+	73.7	107.3	63.9	71.2	1.67	2.59
陽性対照 (MCA) 10 μ g/mL		N	62.4	90.8	70.7	78.8	90.56	129.29	

表中の数値は 2 連の平均値。 N: 沈殿は確認しなかった。

CE1: 検体処理後 20-24 時間培養後のコロニー形成率

CE2: 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率

^a = CE2 を基に補正

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. 実験 2

試験区/用量	S-9 Mix	沈殿 の有無	細胞毒性 CE1 (%)		細胞毒性 CE2 (%)		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)		
			絶対	相対	絶対	相対	無補正	補正 ^a	
溶媒対照 (DMSO) 1% (v/v)	-	N	85.8	100.0	81.2	100.0	1.11	1.38	
検体 (μ g/mL)		25	-	80.9	94.3	82.6	101.7	0.28	0.36
		50	-	86.5	100.8	74.6	91.9	0.00	0.00
		100	+	68.2	79.5	81.1	99.9	0.56	0.70
		200	+	73.9	86.1	86.2	106.2	0.00	0.00
		300	+	58.0	67.6	89.8	110.6	1.67	1.89
陽性対照 (EMS) 300.0 μ g/mL		N	77.3	90.1	79.8	98.3	79.45	100.20	
溶媒対照 (DMSO) 1% (v/v)	+	N	79.4	100.0	84.8	100.0	3.06	3.62	
検体 (μ g/mL)		25	-	55.3	69.6	80.3	94.7	1.12	1.34
		50	-	51.9	65.4	72.3	85.3	0.00	0.00
		100	+	60.2	75.8	77.9	91.9	0.28	0.37
		200	+	43.0	54.2	76.4	90.1	2.50	3.19
		300	+	55.4	69.8	78.8	92.9	0.00	0.00
陽性対照 (MCA) 10 μ g/mL		N	73.4	92.4	75.9	89.5	62.50	82.32	

表中の数値は 2 連の平均値。 N: 沈殿は確認しなかった。

CE1: 検体処理後 20-24 時間培養後のコロニー形成率

CE2: 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率

^a = CE2 を基に補正

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

13-5. ラットの骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 22)

試験実施機関：

報告書作成年： 2005 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物： Wistar 系ラット CrI: WI (Han)、1 群雄 5 匹

試験開始時週齢 5-8 週齢、体重 205g (平均値)

試験方法：

検体は 0.5% カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、500、1000 および 2000mg/kg の 3 用量で 1 群 5 匹の雄ラットに単回経口投与した。陰性対照群は媒体のみを同様に投与し、陽性対照としてシクロホスファミド 30mg/kg を単回投与した。投与容量は陰性対照および試験群は 20 mL/kg、陽性対象は 10mL/kg 体重とした。

最高用量の 2000 mg/kg 群及び溶媒対照群では、投与後 20 及び 44 時間後に動物を屠殺し、2 本の大腿骨から骨髄を調製した。1000 および 500 mg/kg 群ならびに陽性対照群については、屠殺までの間隔 20 時間のみを試験した。屠殺の約 2~3 時間前に、動物に 3.3 mg/kg 体重のコルセミドを腹腔内投与し、細胞分裂を分裂中期で停止させた。骨髄の採取及びギムザ染色後、動物あたり 100 個の分裂中期像を分析した。

用量設定根拠： 雌ラットを用いて、OECD ガイドラインの限界用量である 2000mg/kg における単回急性経口毒性を実施したところ、毒性徴候も示さず、全動物が生存した。この用量は雄ラットにとっても毒性徴候を示さない耐容であることが予想されることから、本試験には 2000mg/kg の用量を最高用量に選択し、以下 1000 および 500 mg/kg を設定した。

結果：

結果を表に示した。

検体投与動物、溶媒および陽性対照動物について、いずれも毒性兆候は認められなかった。

20 および 44 時間後の両屠殺時において、構造異常を示した分裂中期像の増加は認められなかった。一方、シクロホスファミドを投与した陽性対照群では異常分裂中期像の数の有意な増加を示した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において、雄ラットの骨髄細胞において染色体異常を誘発し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BASF ジャパン株式会社にある。

薬剤	用量 (mg/kg)	供試 動物 数	暴露 時間 (hr)	分裂 指数	中期 分裂 細胞数	染色体異常を有する細胞出現頻度 (%)								
						Gapを 含む	Gapを 除く	染色体構造異常			数的染色体異常			
								交換	多発性	細粉化	異数性	倍数性	核内倍数性	
溶媒対照 (DMSO)	(0.5%)	5	20	8.2	500	0.8	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0
	500	5		9.3	500	0.6	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0
	1000	5		8.0	500	1.0	0.4	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0
	2000	5		9.8	500	0.8	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
陽性対照 (GP)	30	5	44	2.3	500	16.4↑	15.6↑	5.2↑	3.0↑	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	(0.5%)	5		7.0	500	0.4	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
溶媒対照 (DMSO)	2000	5	44	6.4	500	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	検体	5												

動物あたり100個、すなわち1群あたり500個の中期分裂細胞を調べた。

N: データなし, GP: シクロホスファミド

Wilcoxon 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 BASF ジャパン株式会社にある。

13-6. ラット肝細胞を用いた *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 23)

試験実施機関：

報告書作成年： 2005 年 [GLP 対応]

検体の純度：

試験動物： Wistar 系ラット Hanlbm WIST、1 群雄 4 匹

試験開始時週齢 6-10 週齢、体重 207.5g (平均値)

試験方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液で調製し、0、1000 および 2000mg/kg の用量を、単回強制経口投与した。動物は投与前 16 時間～一晩絶食させた。投与 2 および 16 時間後に、コラゲナーゼを添加した Hanks' 平衡塩溶液 (pH 7.4, 37°C) で肝灌流により屠殺し、肝細胞を採取した。肝細胞を HBSS で洗浄し、ステンレスメッシュで濾過して単細胞懸濁液を得た。細胞の生存率および細胞数を測定した。

Williams 培地 E (WME : pH7.6) に洗浄した肝細胞を移し、6 ウェル中にカバースリップを入れた培養皿に肝細胞を懸濁した培地 (2.0×10^5 生存細胞/mL) を添加した。37°C、1.5 時間の接着期間後に培地を捨てて PBS で洗浄し、FSC1%入り WME 中 ^3H -チミジンを加えて 4 時間標識後、洗浄した。培地を 1% (v/v) クエン酸 Na 低張液に置換後、メタノール：酢酸 (3+1v/v) で固定した。細胞の付着したカバースリップを載せたスライドガラスをオートラジオグラフ処理した。動物当たり 2 枚のスライドについてスライドあたり 50 個の細胞を観察し、核上銀粒子数 (NG) 及び細胞質粒子数 (CG) を計数した。これらの値から正味核上銀粒子数 (NNG : NG-CG) および修復細胞 (正味核上銀粒子数が 5 個以上) の割合を算出した。群当たり 3 匹を評価した。

陰性対照として溶媒対照群 (0.5%CMC 水溶液) および陽性対照群 (2 時間暴露 ; N,N'-dimethylhydrazinedihydrochloride (DMH)、16 時間暴露 ; 2-acetylaminofluorene (2-AAF)) についても同時に試験した。

用量設定根拠： 予備試験として、雌雄各 2 匹のラットに 100、500 及び 2000mg/kg 用量 (溶媒 0.5%CMC) を強制経口投与したところ、2000mg/kg においても死亡がなく、自発運動量の減少、被毛の乱れ、無関心が認められたのみであった。この結果より OECD ガイドラインの最高用量 (2000mg/kg) まで投与可能であると、本試験の高用量を 2000mg/kg とし、低用量を 1000mg/kg とした。毒性に性差がなかったことより、本試験では雄のみを用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

結果： 結果を表 1 および 2 に示した。

表 1. 肝細胞の生存率および細胞数

投与	投与量 (mg/kg)	期間 (h)	評価 動物数	個別 生存率 (%)	個別単離 細胞数 (x10 ⁶)
溶媒対照 (CMC)	0.5%	2	3	72	544
				74	440
				70	674
検体	1000		3	71	241
	2000			71	215
				73	166
陽性対照 (DMH)	40		3	82	342
				77	530
				77	252
溶媒対照 (CMC)	0.5%	16	3	77	443
				70	411
				70	348
溶媒対照 (CMC)	0.5%		3	73	646
				77	626
				84	630
検体	1000		3	74	135
	2000			73	77
				76	48
陽性対照 (2-AAF)	100	3	72	355	
			73	348	
			74	237	
陽性対照 (2-AAF)	100	3	79	344	
			83	320	
			79	508	

CMC： カルボキシメチルセルロース

DMH： N, N' -dimethylhydrazinedihydrochloride

2-AAF： 2-acetylaminofluorene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

表 2. UDS 試験結果

投与後時間	試験群	用量 (mg/kg)	NG 数 平均 ¹⁾ ±SD	CG 数 平均 ¹⁾ ±SD	NNG 数 平均 ¹⁾ ±SD	修復中細胞の 平均核粒子	%修復中 細胞
2h	溶媒対照 (CMC)	0.5%	15.30±2.44	19.05±2.89	-3.75±0.56	8.36±3.16	3.0
	検体	1000	11.87±2.25	16.62±4.40	-4.75±2.15	6.33±1.53	1.0
		2000	13.17±2.52	18.02±2.02	-4.85±0.64	2.11±3.66	1.0
	陽性対照 (DMH)	40	25.73±0.25	19.38±1.91	6.35±1.98	11.72±1.00	59.3
16h	溶媒対照 (CMC)	0.5%	19.18±1.02	25.53±1.10	-6.35±0.27	1.67±2.89	0.3
	検体	1000	19.02±2.46	28.70±4.16	-9.69±2.76	10.50±14.08	1.0
		2000	15.03±1.71	21.18±2.22	-6.16±1.18	3.33±2.89	0.7
	陽性対照 (2-AAF)	100	36.08±4.90	31.36±2.93	4.72±2.82	10.53±0.77	53.0

NG = 核上銀粒子数, CG = 細胞質粒子数, NNG = 正味核上銀粒子数 (NG-CG),
¹⁾ = 3 匹の平均, SD = 標準偏差,

DMH: N, N'-dimethylhydrazinedihydrochloride, 2-AAF: 2-acetylaminofluorene

表 3. 背景データ (1999-2004 年; 49 試験)

試験群	正味粒子 (NNG)		投与後時間	動物数
	範囲	平均値		
溶媒対照*	-14.28~-3.25	-6.713±2.3	2 又は 16 時間	292
陽性対照 (DMH)	3.13~39.12	14.21±7.66	2 時間	146
陽性対照 (2-AAF)	2.91~35.87	15.94±7.47	16 時間	145

*溶媒: 脱イオン水、ゴマ油、コーン油、PEG400、CMC(0.5-1.0%)

DMH: N, N'-dimethylhydrazinedihydrochloride, 2-AAF: 2-acetylaminofluorene

検体の動物への毒性は、投与動物に自発運動量の減少および被毛の乱れがみられたのみであり、いずれの投与期間および用量でも単離した肝細胞数および生存率に影響を与えなかった。

溶媒対照と比して、検体投与群の核上銀粒子および正味の核上銀粒子は明確に増加せず、肝 UDS の誘発性を示さなかった。従って検体投与群の正味の核上銀粒子は一貫して陰性であった。また修復中細胞の割合は増加しなかった。

一方、陽性対照では正味の核上銀粒子および修復中細胞の割合の明確な増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下で本検体はラットに対し、肝細胞不定期 DNA 合成の誘発性は陰性であると結論された。