

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(5) 慢性毒性及び発がん性

(資料 5-1)

ラットを用いた混餌投与による慢性毒性/発がん性併合試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験動物：Fischer 系ラット、開始時 5 週齢、主群一群雌雄各 50 匹、衛星群一群雌雄各 35 匹

主群体重；雄 92-109 g 雌 73-87 g

衛星群体重；雄 92-113 g 雌 71-89 g

投与後 6、12 及び 18 カ月時に衛星群の各群雌雄各 10 匹を、また、投与後 24 カ月時に主群の全動物を計画殺に供した。

試験期間：24 カ月間(1997 年 1 月 20 日～1999 年 2 月 2 日)

投与方法：検体を一群あたり 85 匹の雄動物に 0、10、20、50 及び 100 ppm の濃度で、同雌動物には 0、100、1000 及び 10000 ppm の濃度で、24 カ月間(104 週間)にわたって混餌投与した。検体を混入した飼料は 4 週間に一回調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率； 一般状態及び死亡率を毎日観察した。

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

所見	性別 投与量 (ppm) 検査動物数	所見を有する動物数								
		雄					雌			
		0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
行動	運動量減少	7 ^a	3	↓1	3	2	4	2	9	2
呼吸	緩徐	11	↓3	↓2	↓4	↓3	8	5	10	5
眼球	退色	7	6	↓1	3	2	7	7	10	6
外観	赤色物付着(眼周囲)	1	6	3	5	4	13	13	17	↑25
	脱毛	0	1	1	2	0	6	6	↑18	12

Fisher の直接確率法により統計解析を実施 ↑↓：P<0.05、↑↓：P<0.01

a：発生動物数

一般状態では、10000 ppm 群の雌で眼周囲の赤色物付着の発生頻度が有意に増加した。同変化は剖検所見において赤色眼脂として観察され、本剖検所見では雌の 10000 ppm 群の途中死亡切迫殺動物及び全検索動物ならびに 1000 ppm 群の途中死亡切迫殺動物において対照群に比べ有意に増加したが、104 週間の最終計画殺動物には明らかな異常なく、かつ組織学的検査において眼及び眼球付属腺等に異常は認められなかったため、検体投与との関連性はない偶発性変化であろうと判断した。一般状態の発生頻度におけるその他の有意差はいずれも用量相関性がない偶発性変化あるいは発生頻度の減少した毒性学的に意義のない変化と考えられた。

雌雄ともに死亡率に異常はなかった。

体重変化； 主群及び衛星群の動物の体重を、投与開始時、投与 1 から 13 週までは毎週 1 回、投与 16 から 104 週までは 4 週間に 1 回の頻度で測定した。また、死亡発見時ないしは剖検直前に各動物の最終体重を測定した。

投与期間中の体重変化において有意な増加が 10000 及び 1000 ppm 群の雌に観察されたが、いずれも一時的あるいは散発性の体重変化であることから、これらの変動は検体に起因する変化ではないと判断された。

摂餌量及び食餌効率； 主群の全用量群について、投与 1 から 13 週までは毎週 1 回、16 から 104 週時には 4 週間に 1 回の頻度で、摂餌量を測定した。主群について、1～13 週時の平均食餌効率を算出した。

投与期間中雌雄の各投与群において統計学的に有意な変動が観察されたが、いずれも一時的あるいは散発性の発生であり、投与期間中の平均飼料摂取量には対照群との間に明らかな差はなかったことから、飼料摂取量には検体投与に起因する毒性変化はないと判断された。また、食餌効率にも検体投与の影響はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

検体摂取量： 投与期間中の主群の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	20	50	100	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.334	0.667	1.696	3.43	—	—
	雌	—	—	—	4.19	42.2	427

—：該当群なし

眼検査： 26、52 及び 78 週時には衛星群の高用量群と対照群の雌雄 10 例ずつ、104 週時には主群の高用量群と対照群の生存動物全例について以下の項目を検査した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体、硝子体、眼底

最高用量群雌雄において、いずれの検査時期にも対照群に比較して発生頻度が有意に増減した眼検査所見はなかった。

尿検査： 25、51 及び 77 週時には衛星群の各用量群の雌雄 10 例ずつ、103 週時には主群の各用量群の雌雄 10 例ずつについて以下の項目を検査した。

比重、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、尿量、尿色、尿沈渣

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)						
		雄				雌		
		10	20	50	100	100	1000	10000
pH	77			↓				
	103							↓

Mann-Whitney の U 検定により統計解析を実施 ↓：P<0.05、↓：P<0.01

10000 ppm 群の雌で 103 週時に尿 pH が有意に低下した。尿 pH の低下は 90 日間亜急性経口毒性試験の 10000 及び 2000 ppm 群の雌にも観察されていることから検体投与に関連した変化であろうと判断した。50 ppm 群の雄で 77 週時においても尿 pH が有意に低下したが、投与用量との関連性がないことから偶発性変化であると判断した。

血液学的検査： 血液学的検査は 13、26、52、78 及び 104 週間投与終了後に実施した。13 週間投与終了後には、衛星群の各用量群の雌雄 10 例ずつを選出し、頸静脈より採血した。26、52 及び 78 週間投与終了後には、衛星群の各用量群の雌雄各 10 例、104 週間投与終了後には、主群の各用量群から雌雄各 10 例の動物について血液学的検査を行った。供試動物は採血前に一晩絶食し、麻酔下で開腹して後大静脈より採血し以下の項目について検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、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)、血小板数(PLT)、白血球数(WBC)、白血球百分率

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)						
		雄				雌		
		10	20	50	100	100	1000	10000
MCV	13						↑101	↑102
	26							↑101
	52		↑101	↑101				
	104							↑124
MCH	13							↑102
	26							↑104
	104							↑118
MCHC	13						↓ 98	
	26							↑103

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01
表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

雌の 10000 及び 1000 ppm 群、雄の 50 及び 20 ppm 群の平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)あるいは平均赤血球血色素濃度(MCHC)に有意な変動が観察されたが、いずれの検査時期においても明らかな貧血所見は認められなかったため、毒性学的な意義はないと判断された。

血液生化学的検査：血液生化学的検査は 13、26、52、78 及び 104 週間投与終了後に実施した。13 週間投与終了後には、衛星群の各用量群の雌雄 10 例ずつ選出し、頸静脈より採血した。26、52 及び 78 週間投与終了後には、衛星群の各用量群の雌雄各 10 例、104 週間投与終了後には、主群の各用量群から雌雄各 10 例の動物から採取した血漿を用いて以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ(GGTP)、クレアチンホスホキナーゼ(CPK)、クレアチニン(Creat)、尿素窒素(BUN)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、グロブリン(Glob)、アルブミン/グロブリン比(A/G ratio)、血糖(Gluc)、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)						
		雄			雌			
		10	20	50	100	100	1000	10000
ALP	26				↑109			↓ 85
GGTP	52			↑133				
	78						↑150	
Creat	104				↓ 93			
TP	52							↑106
Glob	52							↑107
	78			↑106				
T. Chol	26							↑111
T. Bil	26					↑108	↑108	
	52							↑114
Na	52						↓ 99	
Cl	52						↓ 98	↓ 98
P	104						↑125	

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 個↓: P<0.05、個↑↓: P<0.01
表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

血液生化学的検査では 10000 ppm 群の雌において、総蛋白(52 週後計画殺)、グロブリン(52 週後計画殺)及び総コレステロール(26 週後計画殺)が対照群に比較して有意に増加した。4 週間の用量設定試験において 50000 ppm 群の雌に総蛋白、グロブリン及び総コレステロールの有意な増加が観察されたことから、検体投与との関連性を示唆していると思われる。さらに 10000 ppm 群の雌にみられた総ビリルビン(52 週後)の有意な増加ならびに塩素(52 週後)の有意な減少と 100 ppm 群の雄にみられたアルカリホスファターゼ(26 週後)の有意な増加はいずれも 1 時期のみの変化であり、他の検査項目には対応する変化は認められなかったことから、検体投与とは関連性のない変化であると判断した。上記以外にも雌雄の各投与群にも統計学的な変動が観察されたがいずれも 1 時期のみの変化、毒性的に意義のない減少性変化あるいは投与用量との対応のない変化であることから検体との関連性のない偶発性変化であると判断した。

臓器重量； 26、52、78 及び 104 週間投与終了後に衛星群あるいは主群の各用量群雌雄 10 例ずつについて、以下の臓器の固定前の重量(絶対重量)を測定し、最終体重に対する対体重比(相対重量)を算出した。

脳、肝臓、腎臓(両側)、心臓、脾臓、甲状腺及び上皮小体(両側)、副腎(両側)、精巢(両側)、卵巣(両側)

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (ppm)						
		雄			雌			
		10	20	50	100	1000	10000	
脳 絶対重量	52		↑103					
	78				↑103		↑102	
	104					↓ 95		
心臓 絶対重量	52						↑106	
肝臓 絶対重量	52						↑115	
	104						↑120	
	相対重量	26						↑105
		52						↑111
腎臓 絶対重量	52						↑109	
	相対重量	26					↑107	
脾臓 絶対重量	104						↑565	
	相対重量	26					↑110	
副腎 絶対重量	78				↑113			
	104			↑124				
	相対重量	78	↑118					
		104			↑133			

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01
 表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

10000 ppm 群の雌において、肝臓の絶対重量が 52 及び 104 週間投与終了後に、相対重量が 26 及び 52 週間投与終了後に対照群と比較して有意に増加した。さらに、腎臓の絶対及び相対重量がそれぞれ 52 及び 26 週間投与後に有意に増加した。肝臓及び腎臓の重量増加については 4 週間用量設定試験の 10000 ppm 以上の投与群の雌雄において組織学的変化を伴う肝及び腎毒性が観察され、亜急性経口毒性試験の 10000 ppm 群の雌においても肝臓及び腎臓の絶対及び相対重量がともに増加したことから、検体投与との関連性が示唆された。一方、10000 ppm 群雌の脳、心臓及び脾臓、100 ppm 群雄の脳及び副腎において絶対あるいは相対重量の増加が観察されたが、他の検査項目には対応する変化はなかったことから、これらの変化は検体投与による影響ではないと考えられた。上記以外にも散在性に統計学的に有意な変動が観察されたが、いずれも用量相関性を欠くことから毒性学的に意味のない偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査： 主群の全動物ならびに 26、52 及び 78 週間投与終了後に血液学的検査に用いられた衛星群の各用量群の雌雄 10 例ずつについて剖検を実施した。

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

検査時期	組織	性別		雄					雌				
		所見	投与量 (ppm)	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000	
78ik	下垂体	(評価数)		(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	
		斑点		0	0	0	0	1	0	↑5	2	3	
104tk	皮膚	(評価数)		(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		脱毛		0	1	1	0	1	3	5	↑12	7	
		肝臓	肝横隔膜結節		3	3	5	3	9	5	12	8	↑12
		甲状腺	腫瘍		3	8	8	4	↑12	4	6	6	3
		眼球	白濁		1	3	3	2	2	4	↓0	0	0
ke/fd	一般	(評価数)		(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		赤色眼脂		2	2	0	2	2	3	4	↑10	↑9	
	子宮	腫瘍		-	-	-	-	-	5	1	↓1	3	
	下垂体	腫瘍		1	1	2	1	↑3	4	4	4	4	
all	一般	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		外陰部被毛汚れ		11	8	5	9	↓3	8	↓2	4	8	
		赤色眼脂		2	3	2	3	3	9	7	14	↑19	
	皮膚	脱毛		0	1	2	0	1	6	7	↑14	9	
	脾臓	腫大		8	7	7	8	5	6	5	12	↑14	
	肺	斑点		6	2	3	1	↓0	2	0	0	1	
	子宮	腫瘍		-	-	-	-	-	16	9	↓6	10	

Fisher の直接確率法により統計解析を実施 ↓: P<0.05、↑: P<0.01

検査時期: 78ik は 78 週間投与終了後途中計画殺動物、104tk は 104 週間投与終了後最終計画殺動物、ke/fd は途中死亡・切迫殺動物、all は全検索動物

剖検所見では、一般状態の項目で述べた赤色眼脂以外に 10000 ppm 群の雌では、104 週後計画殺動物で肝臓の肝横隔膜結節及び全検索動物の脾臓腫大の発生頻度が対照群に比較して有意に増加した。肝臓の肝横隔膜結節は病理組織学的にも肝横隔膜結節であることが確認された。本変化は発生学的な異常に関連した病変であるとされていることから、本病変の発生頻度の増加は検体との関連性のない偶発的なものと考えられた。さらに同群の全検索動物で脾臓腫大の発生頻度増加が観察されたが、各検査時期(各計画殺動物及び途中死亡切迫殺動物)ごとの集計では脾臓腫大の発生頻度の有意な増加はなく、さらに病理組織学的検査ではこれらの脾臓の腫大の原因と考えられる特定の組織学的変化の増加は観察されなかったことから、本変化は検体投与との関連性のない偶発的なものと考えられた。100 ppm 群の雄では、104 週後計画殺動物の甲状腺腫瘍及び死亡・切迫殺例の下垂体腫瘍の発生頻度が有意に増加した。同群で観察された 12 例の甲状腺腫瘍のうち 1 例は上皮小体の過形成であったが、その他はすべて甲状腺の C 細胞腫瘍(腺腫あるいは癌)であった。病理組織学的検査では、甲状腺の C 細胞過形成あるいは C 細胞腫瘍(腺腫あるいは癌)の発生頻度において対照群との間に有意な差は認められなかったことから、甲状腺腫瘍の発生頻度の増加は検体投与とは関連性のない変化であろうと判断した。さらに 100 ppm 群の雄にみられた死亡・切迫殺例の下垂体腫瘍の発生頻度の有意な増加については対照群との差はわずかであり、かつ他の転帰の動物に対する組織学的検査では下垂体腫瘍の増加はなかったことから、本変化は検体投与とは関連性のない偶発性変化であると考えられた。剖検所見の発生頻度におけるその他の統計学的に有意な変動は、用量相関性を欠くか、減少であるかのいずれかであり、毒性学的に意味のない偶発的なものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査； 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。顕微鏡観察はヘマトキシリン・エオジン染色標本で行った。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経(片側)、下垂体、胸腺、甲状腺(両側)、上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾臓、骨及び骨髓(胸骨、片側大腿骨及び椎骨3カ所)、膝関節(片側)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎臓(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、精のう(両側)、凝固腺(両側)、卵巣(両側)、子宮(角部及び頸部)、膺、眼球(両側)、ハーダー腺(両側)、下腿三頭筋(片側)、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部、雌のみ)、肉眼的異常部位

〔非腫瘍性病変〕

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

検査時期	組織	性別 投与量(ppm)	雄					雌			
			0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
26ik	大腿骨 骨髓	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		肉芽腫	0	0	0	0	0	1	2	↑6	5
52ik	脾臓 腎臓	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		外分泌腺細胞萎縮	6	3	2	3	↓1	0	0	0	0
		近位尿細管上皮硝子滴沈着	0	3	2	2	↑9	0	0	0	0
78ik	肝臓 腎臓	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		肝細胞小増殖巣 (好塩基性細胞型)	7	7	5	9	5	10	↓6	10	9
		近位尿細管上皮硝子滴沈着	0	0	0	2	↑7	1	0	0	1
104tk	盲腸 肝臓 小肉芽腫 下垂体	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		リンパ小節リンパ球過形成	0	2	↑6	4	2	1	0	0	0
		肝横隔膜結節	3	3	5	3	9	5	12	8	↑12
		小肉芽腫	2	1	1	2	0	6	11	↑15	12
		ラトケのう遺残	0	2	↑5	2	1	0	0	1	0
ke/fd	心臓 副腎	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)
		心筋線維化	4	5	↑8	4	4	0	0	1	1
		髓質過形成	0	↑3	0	1	0	1	1	0	0
all	肺 心臓 盲腸 腎臓 下垂体 副腎	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		肺胞上皮過形成	2	4	5	1	3	5	2	2	↓0
		心筋線維化	28	37	↑41	39	31	0	2	3	4
		リンパ小節リンパ球過形成	1	4	↑7	5	3	3	2	0	0
		近位尿細管上皮硝子滴沈着	13	9	12	14	↑29	10	10	11	10
		ラトケのう遺残	2	2	↑8	4 ^a	2	0	1	1 ^a	0
		髓質過形成	0	↑5	4	3	2	2	3	1	0

Fisherの直接確率法により統計解析を実施 　↓: P<0.05、↑: P<0.01

検査時期: 26ik、52ik及び78ikはそれぞれ26、52及び78週間投与終了後途中計画殺動物、104tkは104週間投与終了後最終計画殺動物、ke/fdは途中死亡・切迫殺動物、allは全検査動物

a: 検査臓器数は79

病理組織学的検査成績のうち非腫瘍性病変では、100 ppm 群の雄において、52 週及び 78 週後の計画殺動物及び全検索動物で腎臓の近位尿細管上皮硝子滴沈着の発生頻度が有意に増加した。本検体は雄ラットに対して α -2u-グロブリン腎症を引き起こすことが 90 日間の亜急性経口毒性試験においてすでに確認されており、この近位尿細管上皮硝子滴沈着の発生頻度の増加は検体投与に起因する変化である。さらに、100 ppm 群雄の 104 週後の計画殺動物において観察された慢性腎症のうち高度な病変を示した個体が対照群に比べ多数認められたため、中等度あるいは重度の変化を示した個体の集計を各転帰及び全検索動物ごとに実施し、統計検定を実施した。その検定結果を以下に示す。

中等度あるいは重度の慢性腎症の発生頻度

検査時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌			
		0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
104tk	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
	発生動物数	2	4	5	5	↑16	1	1	1	1
ke/fd	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)
	発生動物数	4	1	1	1	4	0	1	2	1
all	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
	発生動物数	6	5	6	6	↑20	1	2	3	2

Fisher の直接確率法により統計解析を実施 ↑: P<0.01

検査時期: 104tk は 104 週間投与終了後最終計画殺動物、ke/fd は途中死亡・切迫殺動物、all は全検索動物
26、52 及び 78 週後の途中計画殺動物には中等度あるいは重度の慢性腎症はなかった。

軽度から重度までの慢性腎症を持つ個体のグレード別の発生頻度では、対照群と投与群間に統計学的に有意な差は認められなかったが、上記の表に示したように中等度あるいは重度の慢性腎症を示した個体の合計の比較では、100 ppm 群雄の 104 週後計画殺動物及び全検索動物の発生頻度が対照群に比べ有意に増加した。一般に雄ラットの血中には α -2u-グロブリンが多量に含まれており、これがある種の薬物と結合し腎臓の尿細管上皮細胞内へ沈着するために顕著な近位尿細管上皮硝子滴沈着を発現し、続いて慢性腎症を主体とする腎障害をもたらすことが知られている。よって、100 ppm 群の雄にみられた慢性腎症の悪化は、本検体の投与に起因する α -2u-グロブリン腎症の発現に伴う変化であろうと推察された。雌には検体投与に関連づけられる慢性腎症の悪化は観察されなかった。

上記以外の非腫瘍性病変の発生頻度における統計学的に有意な変動は、用量相関性を欠くか、発生頻度の減少であるかのいずれかであり、毒性学的に意味のない偶発的なものと考えられた。

[腫瘍性病変]

各群における良性及び悪性腫瘍数、腫瘍総数、担腫瘍動物数を次表に、腫瘍性病変発生頻度を本文末の別表に示す。

腫瘍数及び担腫瘍動物数

所見	性別		雄					雌			
	投与量 (ppm)		0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
	検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80	80
良性腫瘍数	92	95	88	100	91	68	70	81	71		
悪性腫瘍数	17	22	18	23	19	13	14	21	17		
腫瘍総数	109	117	106	123	110	81	84	102	88		
担良性腫瘍動物数	54	49	48	51	50	44	41	46	42		
担悪性腫瘍動物数	14	21	16	20	17	13	13	19	16		
担腫瘍動物数	54	53	50	53	51	46	46	53	47		

Fisher の直接確率法

腫瘍性病変では、1000 ppm 群雌の乳腺線維腺腫の発生頻度が 104 週後計画殺動物及び全検索動物で対照群に比較して有意に増加したが、10000 ppm 群には対照群との間に有意な差はなく、また、背景データとの比較から偶発性変化であると判断した。1000 ppm 群雌の子宮内膜ポリープの発生頻度が死亡・切迫殺動物で有意な差がみられたが、毒性学的に意味のない発生頻度の減少であった。

上記以外に雌雄ともいずれの投与群においても発生頻度が統計学的に有意に増減した腫瘍性病変はなく、さらに投与用量に対応した腫瘍発生増加あるいは腫瘍発生の早期化も認められなかった。また、上記の乳腺線維腺腫を含め、本試験で観察されたすべての腫瘍性病変の発生頻度及び種類は試験実施機関における背景データならびに Fischer 系ラットに関する成書の自然発生性腫瘍と同様であった。よって、本検体には雌雄ラットに対して催腫瘍性はないものと考えられた。

1000 ppm 群雌の乳腺線維腺腫の発生率について、下表に示すように本群の発生率 (24 %) は試験実施機関による背景データの発生率の範囲 (10-22 %) に比べやや高値を示したが、その差はわずかであった。また、同系ラットの文献上の背景データとの比較では、本群の発生率は背景データの範囲 (10-49 %) 内であったことから、本群で認められた乳腺線維腺腫の発生頻度の増加は、検体投与とは関連性のない偶発性変化であると判断した。

乳腺線維腺腫の発生頻度及び発生率 (本試験と背景及び文献データの比較)

	本試験 (主群)				背景データ ¹⁾	背景データ ²⁾
	0 ppm	100 ppm	1000 ppm	10000 ppm		
検査例数	50	50	50	50	550	1983
乳腺線維腺腫	4 ^a	11	12	8	86	576
	8 % ^b	22 %	24 %	16 %	10-22 % ^c	10-49 %

a: 発生動物数、b: 発生率、c: 発生率の範囲

1): 最近 6 ヶ年間の試験実施機関におけるラット慢毒発がん性試験 (11 試験) の背景データ

2): 米国 NCI-NTP 背景データ

以上の結果から、本検体を混餌により雌雄ラットへ 104 週間にわたり投与した場合、雄では 100 ppm 群において α -2u-グロブリン腎症、雌では 10000 ppm 群において、尿 pH の低下及び総コレステロール、総蛋白、グロブリンの有意な増加及び肝臓及び腎臓重量の増加が認められた。したがって、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

本試験における無毒性量は雄で 50 ppm(1.696 mg/kg/日)、雌で 1000 ppm(42.2 mg/kg/日)と考えられた。また、雌雄ともいずれの検体投与群においても検体投与による腫瘍性病変の発生頻度の増加ないし発生時期の早期化は認められず、本検体による催腫瘍性はないものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (1/8)

検査時期	組織	性別 投与量 (ppm) 動物数 所見	雄					雌			
			0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
			10	10	10	10	10	10	10	10	10
26週計画殺	甲状腺	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		C細胞癌(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		腺腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(10)	(10)	(10)	(10)
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	-	0	1	0	0
52週計画殺	皮膚	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		脂肪腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		前葉腺腫(良性)	1	0	0	0	0	0	2	1	2
	副腎	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		褐色細胞腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	腹腔	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		悪性中皮腫(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(10)	(10)	(10)	(10)
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	-	1	1	0	0
78週計画殺	皮膚	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		脂肪腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		基底細胞癌(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	精巣	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(-)	(-)	(-)	(-)
		間細胞腫(良性)	2	1	1	1	2	-	-	-	-
	下垂体	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		前葉腺腫(良性)	1	2	2	2	2	2	4	3	2
	甲状腺	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		C細胞腺腫(良性)	1	0	1	1	0	1	1	0	0
	副腎	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		褐色細胞腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性褐色細胞腫(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	(評価数)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
		腺腫(良性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(10)	(10)	(10)	(10)
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	-	1	3	1	0

Fisher の直接確率法 — : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (2/8)

検査時期	組織	性別 投与量 (ppm) 動物数 所見	雄					雌			
			0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
			34	41	41	38	44	38	44	35	38
最終計画殺	全身性腫瘍	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		単核細胞性白血病(悪性)	0	2	3	4	2	2	2	4	4
		組織球性肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		扁平上皮乳頭腫(良性)	3	0	1	2	1	0	0	0	0
		扁平上皮癌(悪性)	0	0	0	0	0	1	1	1	0
		角化棘細胞腫(良性)	1	0	0	5	0	1	0	1	1
		基底細胞癌(悪性)	0	0	2	2	2	0	0	0	1
		毛包上皮腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		皮脂腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		線維腫(良性)	10	8	10	8	7	0	1	0	3
		線維肉腫(悪性)	0	1	0	1	0	0	0	0	0
		脂肪腫(良性)	0	1	2	2	1	0	0	0	0
		平滑筋腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(良性)	0	1	0	1	1	0	0	0	0
		神経鞘腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		腺腫(良性)	0	0	0	0	0	2	2	2	2
		腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		線維腺腫(良性)	1	1	2	1	0	3	10	↑9	6
	脾臓	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		脂肪肉腫(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	胸腺	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		悪性胸腺腫(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
		腺腫(良性)	1	1	2	3	0	0	0	1	1
		腺癌(悪性)	0	0	1	1	1	0	1	0	0
		悪性脊索腫原発巣不明(悪性)	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	心臓	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)
神経鞘腫(悪性)		0	0	1	0	1	0	0	0	0	
空腸	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
	平滑筋肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
盲腸	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
	平滑筋腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	平滑筋肉腫(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
肝臓	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
	肝細胞腺腫(良性)	1	1	0	3	1	0	0	0	0	
	肝細胞癌(悪性)	0	1	0	0	2	0	0	0	0	
	胆管腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	

Fisher の直接確率法 ↑: P<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (3/8)

検査時期	組織	性別		雄					雌			
		投与量 (ppm)	動物数	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
				34	41	41	38	44	38	44	35	38
		所見										
最終計 両殺	膵臓	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		島細胞腺腫(良性)	0	0	1	2	4	0	0	0	0	
	腎臓	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		移行上皮癌(悪性)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		線維肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	精巣	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		間細胞腫(良性)	28	33	31	30	37	-	-	-	-	
	包皮腺	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		扁平上皮癌(悪性)	0	0	0	1	2	-	-	-	-	
		腺癌(悪性)	1	2	0	0	0	-	-	-	-	
	卵巣	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		顆粒膜細胞腫(良性)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		腺腫(良性)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	-	9	8	8	8	
		内膜肉腫(悪性)	-	-	-	-	-	0	1	1	0	
		神経鞘腫(良性)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	
	陰核腺	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		腺癌(悪性)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	
	下垂体	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		前葉腺腫(良性)	9	11	10	14	12	22	22	25	20	
		中間部腺腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	甲状腺	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
		C細胞腺腫(良性)	7	9	9	6	10	8	6	10	8	
		C細胞癌(悪性)	1	4	3	1	4	0	1	2	1	
		ろ胞細胞腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		ろ胞細胞腺癌(悪性)	1	0	0	0	0	0	1	1	0	
	副腎	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)	
皮質腺腫(良性)		0	0	1	2	0	0	0	0	0		
褐色細胞腫(良性)		1	4	1	4	2	1	1	1	2		
悪性褐色細胞腫(悪性)		0	0	0	1	0	0	0	0	0		
神経節神経腫(良性)		0	1	1	0	0	0	0	0	0		
ジンバル腺	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)		
	腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
大脳	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)		
	星状膠細胞腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
延髄	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)		
	星状膠細胞腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
腹腔	(評価数)	(34)	(41)	(41)	(38)	(44)	(38)	(44)	(35)	(38)		
	悪性中皮腫(悪性)	0	1	3	0	1	0	0	0	0		

Fisherの直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果－腫瘍性病変（4／8）

検査時期	組織	性別		雄					雌			
		投与量(ppm)	動物数	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
				16	9	9	12	6	12	6	15	12
		所見										
途中死亡・ 切迫殺	全身性 腫瘍	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		悪性線維性組織球腫(悪性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(リンパ球型) (悪性)	1	0	0	0	0	0	2	0	1	1
		組織球性肉腫(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		単核細胞性白血病(悪性)	6	4	3	4	1	3	2	5	5	
	皮膚	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		角化棘細胞腫(良性)	0	0	0	1	0	1	0	1	0	
		線維腫(良性)	3	2	4	0	1	0	0	1	1	
		脂肪腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		血管肉腫(悪性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		毛包上皮腫(良性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		平滑筋肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	乳腺	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		腺腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		線維腺腫(悪性)	0	0	0	0	0	1	1	3	2	
	脾臓	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		血管腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	胸腺	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		胸腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	骨	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		骨肉腫(悪性)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	
	肺	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		腺腫(良性)	1	0	0	0	1	0	0	1	1	
	肝臓	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		肝細胞腺腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	膵臓	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		島細胞腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	膀胱	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		移行上皮乳頭腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	精巣	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		間細胞腫(良性)	7	5	4	4	4	-	-	-	-	
	包皮腺	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		腺癌(悪性)	1	0	1	0	1	-	-	-	-	
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		平滑筋肉腫(悪性)	-	-	-	-	-	0	0	1	2	
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	-	5	2	↓1	1	
		内膜肉腫(悪性)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	
神経鞘腫(良性)		-	-	-	-	-	1	0	0	0		
悪性神経鞘腫(悪性)		-	-	-	-	-	0	0	0	1		

Fisher の直接確率法 ↓: P<0.05 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (5/8)

検査時期	組織	性別		雄					雌			
		投与量 (ppm)	動物数	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
		所見		16	9	9	12	6	12	6	15	12
途中 死亡 ・ 切迫殺	腔	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		乳頭腫(良性)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	
	陰核腺	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		腺癌(悪性)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	
	下垂体	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(14)	(12)	
		前葉腺腫(良性)	4	5	3	2	3	6	4	6	5	
	甲状腺	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		C細胞腺腫(良性)	5	2	1	1	1	1	0	2	0	
		C細胞癌(悪性)	1	1	1	0	0	1	0	0	0	
		ろ胞細胞腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	副腎	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		褐色細胞腫(良性)	0	1	0	1	0	0	0	1	0	
		悪性褐色細胞腫(悪性)	1	0	0	0	1	0	0	1	0	
	大脳	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		星状膠細胞腫(悪性)	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
		希突起膠細胞腫(悪性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	腹腔	(評価数)	(16)	(9)	(9)	(12)	(6)	(12)	(6)	(15)	(12)	
		悪性中皮腫(悪性)	1	0	0	2	0	0	0	0	0	
		骨肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	

Fisher の直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (6/8)

検査時期	組織	性別		雄					雌				
		投与量(ppm)	動物数	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000	
		所見		80	80	80	80	80	80	80	80	80	
全検査	全身性腫瘍	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		悪性線維性組織球腫(悪性)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(リンパ球型)(悪性)		1	0	0	0	0	2	0	1	1	
		組織球性肉腫(悪性)		0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
		単核細胞性白血病(悪性)		6	6	6	8	3	5	4	9	9	
	皮膚	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		扁平上皮乳頭腫(良性)		3	0	1	2	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(悪性)		0	0	0	0	0	1	1	1	0	
		角化棘細胞腫(良性)		1	0	0	6	0	2	0	2	1	
		基底細胞癌(悪性)		0	0	2	2	2	0	0	0	2	
		毛包上皮腫(良性)		1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		皮脂腺腫(良性)		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		線維腫(良性)		13	10	14	8	8	0	1	1	4	
		線維肉腫(悪性)		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫(良性)		2	1	2	3	1	0	0	0	0	0
		平滑筋腫(良性)		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(悪性)		0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
		血管腫(良性)		0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫(悪性)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	神経鞘腫(良性)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	乳腺	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		腺腫(良性)		0	0	0	0	0	2	2	2	4	
		腺癌(悪性)		0	0	0	0	0	0	0	1	0	
		線維腺腫(良性)		1	1	2	1	0	4	11	↑12	8	
	脾臓	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		脂肪肉腫(悪性)		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(良性)		0	0	0	0	0	0	0	0	1	
胸腺	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
	胸腺腫(良性)		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	悪性胸腺腫(悪性)		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
骨	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
	骨肉腫(悪性)		0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
肺	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
	腺腫(良性)		2	1	2	3	1	1	0	2	2		
	腺癌(悪性)		0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	
	悪性吞素腫原発巣不明(悪性)		0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	
心臓	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
	神経鞘腫(良性)		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	
空腸	(評価数)		(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
	平滑筋肉腫(悪性)		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	

Fisherの直接確率法 ↑: P<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (7/8)

検査時期	組織	性別		雄					雌			
		投与量(ppm)	動物数	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
		所見	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
全検査	盲腸	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		平滑筋腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		肝細胞腺腫(良性)	2	1	0	3	1	0	0	0	0	0
		肝細胞癌(悪性)	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0
		胆管腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	膵臓	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		島細胞腺腫(良性)	0	1	1	2	4	0	0	0	0	0
	腎臓	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		移行上皮癌(悪性)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		線維肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		移行上皮乳頭腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	精巣	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(-)	(-)	(-)	(-)
		間細胞腫(良性)	37	39	36	35	43	-	-	-	-	-
	包皮腺	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(-)	(-)	(-)	(-)
		扁平上皮癌(悪性)	0	0	0	1	2	-	-	-	-	-
		腺癌(悪性)	2	2	1	0	1	-	-	-	-	-
	卵巣	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		顆粒膜細胞腫(良性)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		腺腫(良性)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	
		平滑筋肉腫(悪性)	-	-	-	-	-	0	0	1	2	
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	-	16	15	10	9	
		内膜肉腫(悪性)	-	-	-	-	-	0	2	1	0	
		神経鞘腫(良性)	-	-	-	-	-	1	0	0	1	
		悪性神経鞘腫(悪性)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	
	膺	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		乳頭腫(良性)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	
	陰核腺	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		腺癌(悪性)	-	-	-	-	-	1	1	1	0	
	下垂体	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(79)	(80)	(80)	(80)	(79)	(80)	
		前葉腺腫(良性)	15	18	15	18	17	30	32	35	29	
		中間部腺腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	甲状腺	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
		C細胞腺腫(良性)	13	11	11	8	11	10	7	12	8	
		C細胞癌(悪性)	2	6	4	1	4	1	1	2	1	
		ろ細胞腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		ろ細胞腺癌(悪性)	1	0	0	0	0	1	1	1	0	

Fisher の直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (8/8)

検査時期	組織	性別		雄					雌			
		投与量(ppm)	動物数	0	10	20	50	100	0	100	1000	10000
		所見	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
全検査	副腎	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		皮質腺腫(良性)	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
		褐色細胞腫(良性)	1	6	1	6	2	1	1	2	2	
		悪性褐色細胞腫(悪性)	1	0	0	1	1	0	0	2	0	
		神経節神経腫(良性)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	大脳	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		星状膠細胞腫(悪性)	0	0	0	2	0	0	1	0	0	
		希突起膠細胞腫(悪性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	延髄	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		星状膠細胞腫(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	ジンバル腺	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	腹腔	(評価数)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)
		悪性中皮腫(悪性)	1	2	3	2	1	0	0	0	0	
		骨肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	

Fisher の直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 5-2)

イヌを用いたカプセル投与による慢性毒性試験

試験機関：(財)食品農医薬品安全性評価センター
[GLP 対応]
報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬 1 群雌雄 各 4 匹、開始時約 6 ヶ月齢、
体重：雄 8.9～11.3 kg 雌 5.5～7.9 kg

試験期間：52 週間(1997 年 11 月 19 日～1998 年 11 月 20 日)

投与方法：検体を最近時の各動物の体重に基づいてゼラチンカプセルに充填し、0、10、100
及び 1000 mg/kg の用量で 52 週間、1 日 1 回連日経口投与した。
投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率； 一般状態及び生死を 1 日 2 回毎日観察した。

雌雄ともに、検体投与群と対照群で観察された症状の性状あるいは発現頻度に差はなく、検体投与に関連した死亡及び一般状態の毒性症状は認められなかった。但し、100 及び 1000 mg/kg 群において、投与量に応じて便中に検体と考えられる白色物質の混入が認められた。

体重変化； 投与開始 1 週間前、投与開始前日及び投与開始後は毎週 1 回、さらに剖検日に体重を測定した。

雌雄ともに、投与期間を通じて検体投与群と対照群との間に検体投与に関連した差は認められず、著しい体重の増減を示す例も認められなかった。

摂餌量； 投与開始 1 週間前から解剖日までの毎日、給餌量と残餌量を測定し摂餌量を算出した。

雄において、投与期間を通じて検体投与群と対照群との間に検体投与に関連した差は認められなかった。

雌の 1000 mg/kg 群において、投与 42 週に単発的に有意な低値が認められたが、その他試験期間中を通して対照群と同等であったことから、偶発的な変動と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

血液学的検査； 投与開始前と投与開始後 13、26、39 及び 52 週に全動物を対象に検査を実施した。血液は約 17 時間の絶食後、検体投与前に撓側皮静脈から採血した。抗凝固剤として EDTA-2K を用いて、以下の項目を測定した。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、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)、血小板数 (PLT)、白血球数 (WBC)、白血球百分率、網状赤血球数

雌雄ともに、投与期間中のいずれの検査項目においても検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。

血液凝固能検査； 血液学的検査と同一検査時期に全動物を対象に検査を行った。抗凝固剤としてクエン酸ソーダを用い、遠心分離により得た血漿について、以下の項目を測定した。

プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノーゲン量 (Fib)

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
PT	13				↑112		
Fib	13					↑132	

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 ↑: $P \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率 (%) を表したもの

雄において、投与期間中のいずれの検査項目においても検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。

雌において、投与 13 週の検査で 10 mg/kg 群のプロトロンビン時間及び 100 mg/kg 群のフィブリノーゲン量が有意な高値を示した。しかし、軽度でかつ用量に対応しない変動であり、また、他の週の検査では対照群の値と同等であったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。その他、検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。

血液生化学的検査； 血液学的検査と同一検査時期に全動物を対象に検査を行った。遠心分離により得た血清について、以下の項目を測定した。

総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、血糖 (Gluc)、リン脂質 (PL)、総コレステロール (T. Chol)、中性脂肪 (TG)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Creat)、総ビリルビン (T. Bil)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGTP)、クレアチンキナーゼ (CK)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、血清蛋白分画 (Albumin、 α -1、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

α -2、 β 、 γ 、A/G)

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
TP	26		↓90				
	52		↓91	↓91			
PL	26		↓78				
T. Chol	26		↓74				
	39		↓78				
T. Bil	13	↑200					
CK	13				↑166		
K	13			↓91			
	26			↓88			
	52		↓95	↓93			
血清 Albumin 分画	39		↑114				
	52	↑119	↑119				
血清 α -1 分画	26				↑116		
	39				↑122		
	52				↑141		
血清 β 分画	52		↓79				
A/G	39		↑127				
	52	↑137	↑140				

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 ↓↑: $P \leq 0.05$ ↓↑: $P \leq 0.01$
 表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

雄において、カリウムの低値が 1000 mg/kg 群の投与開始 13、26、52 週及び 100 mg/kg 群の投与開始 52 週の検査で認められたが、その変動は軽微であり、他の諸検査において、何ら異常が認められなかったことから、その原因は不明であるが、毒性学的に重要な意義を持つ変化とは考えられなかった。その他、対照群と統計学的に有意な差が認められた総ビリルビン、総コレステロール、リン脂質、総蛋白質、血清 Albumin 分画、血清 β 分画及び A/G は、いずれも軽微あるいは用量との対応を欠く変動であり、各個体の値にも異常値は認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

雌の 10 mg/kg 群において、クレアチンキナーゼの高値が投与開始 13 週の検査で、血清 α -1 分画の高値が投与開始 26、39 及び 52 週の検査で認められたが、用量に対応しない変化であることから、検体投与による影響とは考えられなかった。

尿検査： 血液学的検査と同一検査時期に全動物を対象に検査を行った。尿は給餌給水の条件下で採尿器を用いて 24 時間採取し、以下の項目を測定した。なお、*印の項目については新鮮尿(排尿後 3 時間以内の尿)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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

尿量、色調、尿比重、沈渣*、pH*、潜血*、ケトン体*、糖*、蛋白*、ビリルビン*、ウロビリノーゲン*

雌雄ともに、投与期間中のいずれの検査項目においても検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。

眼科学的検査： 投与開始前、投与開始後 26 及び 52 週に全動物の両眼を対象に検査を実施した。検査はハロゲン検眼鏡を用いて、以下の項目を観察した。

前眼部(結膜、強膜、角膜、虹彩)、中間透光体(前眼房、水晶体、硝子体)、眼底

雄の対照群の 1 例に、投与開始 52 週の検査で眼瞼(瞬膜部)の塊が観察され、また、雌の 100 mg/kg 群の 1 例に、投与開始 26 週の検査で結膜及び強膜の充血が観察された。その他、雌雄のいずれの個体においても何ら異常は認められなかった。

臓器重量： 投与期間終了後、全動物を対象に剖検を実施し、以下の臓器重量(絶対重量)を測定した。また、剖検時の体重に基づいて体重比重量(相対重量)を算出した。

脳、下垂体、顎下腺(両側)、甲状腺(上皮小体を含む両側)、胸腺、心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓(両側)、副腎(両側)、脾臓、精巣(両側)、卵巣(両側)、前立腺、子宮

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	検査週	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
肺 相対重量	52					↑123	

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 個：P≤0.05

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

雄において、いずれの測定項目においても検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。

雌において、100 mg/kg 群の肺の相対重量が高値を示したが、軽微及び用量に対応しない変化であり、かつ各個体の値に明らかな異常値が認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。その他、検体投与群と対照群との間に差は認められなかった。

肉眼的病理検査： 投与期間終了後、全動物を対象に剖検を実施した。

雌雄ともに、対照群と比較して検体投与群で明らかに発生数が増減した所見は観察されなかったが、胆嚢の胆汁沈渣が対照群、10、100 及び 1000 mg/kg 群の雄でそれぞれ 0、3、2 及び 2 例に、雌でそれぞれ 1、0、1 及び 0 例に観察された。また、対照群を含む全群で雌雄ともに比較的多数例に下垂体の嚢胞が観察された。これらの変化は、ビーグル犬において自然発生性に観察される所見であることから、検体投与に関連しないものと考えられた。その他、散発的あるいは単発的に観察された所見はいずれも偶発的なものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査： 全動物を対象に、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、眼、涙腺、顎下腺、耳下腺、リンパ節(頸部、腸間膜)、甲状腺、上皮小体、舌、心臓、胸腺、肺及び気管支、気管、食道、大動脈、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵臓、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、膀胱、前立腺、卵巣、子宮、膣、骨格筋(下腿三頭筋)、脊髄、骨及び骨髓(大腿骨及び胸骨)、坐骨神経、皮膚(右下腹部、雌は乳腺を含む)、その他病変部位

雌雄ともに、いずれの組織においても検体投与の影響は認められなかった。すべての組織の所見を次頁以降の表に示す。

以上の結果から、本検体をカプセルにより雌雄ビーグル犬に 52 週間反復投与した場合、検体に関連する毒性学的変化は何ら認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査結果 (1/3)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量(mg/kg/日)	動物数	0	10	100	1000	0	10	100	1000
		所見		4	4	4	4	4	4	4	4
最終計画殺	心臓	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		血管拡張		0	0	0	1	0	0	1	0
	脾臓	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		色素沈着		0	0	0	0	3	1	1	0
		被膜肥厚		2	0	1	0	0	0	0	0
	腸間膜	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	リンパ節	赤血球貪食		1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		脂質蛋白症		0	0	0	0	1	0	0	0
		リンパ球浸潤		0	0	0	0	1	0	1	2
		小肉芽腫		1	1	1	0	2	0	0	1
		血管炎		1	0	0	0	0	0	0	0
		骨化生		0	0	0	0	1	1	1	1
		肺泡/細気管支上皮過形成		0	0	0	2	0	0	0	0
	胃	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		鉍物沈着		1	0	0	0	0	0	0	0
	十二指腸	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		腺腔拡張		0	1	0	1	0	0	0	0
	空腸	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		びらん		0	0	0	0	0	1	0	0
	回腸	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		びらん		0	0	0	0	0	1	0	0
		異所性組織		0	1	0	1	0	0	0	0
	肝臓	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		リンパ球浸潤		0	0	0	0	1	1	0	0
		小肉芽腫		4	4	4	4	4	3	3	4
		胆管増殖		0	0	0	1	0	0	0	0
顎下腺	(評価数)		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	
	リンパ球浸潤		1	0	3	1	1	1	1	1	

Fisherの直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査結果 (2 / 3)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量(mg/kg/日)	動物数	0	10	100	1000	0	10	100	1000
				4	4	4	4	4	4	4	4
		所見									
最終計画殺	耳下腺	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		リンパ球浸潤	2	1	2	2	2	3	2	2	
	腎臓	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	
		尿管好塩基化	0	0	0	0	0	0	1	0	
		空胞変性	1	1	0	1	3	3	2	1	
		鉍物沈着	4	4	3	4	4	4	4	3	
		細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0	
		リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	0	1	1	
		胎児型糸球体遺残	0	0	0	0	0	1	0	0	
	乳腺	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(4)	(4)	(4)	(4)	
		腺管拡張	-	-	-	-	1	0	0	0	
	精巣	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		精細管萎縮	0	1	1	0	-	-	-	-	
		細胞浸潤	0	0	1	0	-	-	-	-	
		瘢痕性線維化	0	1	0	0	-	-	-	-	
		多核巨細胞出現	0	0	0	1	-	-	-	-	
	精巣上体	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		精子無し	0	0	1	0	-	-	-	-	
		細胞浸潤	0	1	0	0	-	-	-	-	
		瘢痕性線維化	0	1	0	0	-	-	-	-	
	前立腺	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		腺腔拡張	0	1	0	1	-	-	-	-	
		リンパ球浸潤	0	0	1	0	-	-	-	-	
	下垂体	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	
		嚢胞	4	4	4	4	4	4	4	4	
	甲状腺	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	
		C細胞複合体	3	4	2	2	4	4	4	4	
リンパ球浸潤		0	1	1	0	0	0	0	0		
上皮小体	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)		
	ケルスタイナー氏嚢胞	1	2	0	1	0	0	0	2		
副腎	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)		
	空胞変性	0	0	0	1	2	1	1	2		
	リンパ球浸潤	0	0	0	0	1	0	0	0		
脳	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)		
	血管周囲細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0		

Fisherの直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査結果 (3/3)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量(mg/kg/日)	動物数	0	10	100	1000	0	10	100	1000
		所見		4	4	4	4	4	4	4	4
最終 計画 殺	脊髄	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		鉱物沈着	0	0	0	0	0	0	2	1	1
	涙腺	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		リンパ球浸潤	1	0	1	1	1	0	0	0	0
		肥大	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	胸骨	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		軟骨基質変性	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 5-3)

マウスを用いた混餌投与による発がん性試験

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験動物：ICR 系マウス、開始時 7 週齢、体重：雄 27～40 g 雌 20～31 g、一群雌雄各 50 匹

試験期間：18 ヶ月(78 週)間(1997 年 8 月 1 日～1999 年 2 月 7 日)

投与方法：検体を 0、300、3000 及び 30000 ppm の濃度で飼料に混入し、18 ヶ月(78 週)間において混餌投与した。検体を混入した飼料は毎週一回調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率； 一般状態及び死亡率を毎日観察した。
雌雄において検体投与に関連する症状はなかった。

体重変化； 投与期間中全動物の体重を毎週測定した。
雌雄ともに体重の異常は見られなかった。

摂餌量及び食餌効率； 全動物の摂餌量を毎週測定し、食餌効率も算出した。
雌雄ともに、摂餌量及び食餌効率に検体投与の影響はなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量(ppm)		300	3000	30000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	37	373	3817
	雌	45	473	4807

血液学的検査； 52 及び 77 週時に、全生存例について動物の尾部静脈血を用い、血液塗抹標本を作製しメイグリュンワルド・ギムザ染色を施した。対照群と高用量群について鏡検し各白血球百分率を計算し、異常細胞がある場合はその形態学的分類を実施した。

雌雄ともに、白血球百分率及び異常細胞の出現に検体投与の影響はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

臓器重量； 78 週投与終了後に最終屠殺した全例について剖検後以下の臓器重量を測定し、最終体重で補正した重量(補正重量)及び最終体重に対する対体重比(相対重量)を算出した。

脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓(両側)、副腎(両側)、脾臓、精巣(両側)、精巣上体(両側)、卵巣(両側)、前立腺、子宮

対照群と比較して、統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	3000	30000	300	3000	30000
肝臓	絶対重量					↑119
	相対重量					↑127
腎臓	相対重量					↑111
心臓	補正重量			↑108	↑107	↑109
	相対重量					↑113
前立腺	補正重量		↓82			
	相対重量		↓82			

Dunnett の多重比較検定により統計解析を実施 ↓: P ≤ 0.05, ↑: P ≤ 0.01
表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

30000 ppm 群の雌雄で肝臓重量が軽度増加し、雌の絶対重量及び相対重量には対照群との間に有意差も認められた。これらの変化は病理組織学的検査における肝臓の小葉中心性肝細胞肥大と一致し検体投与の影響と考えた。その他の変化には病理組織学的変化を伴わないところから、毒性学的に意味のない偶発的变化と考えた。

肉眼的病理検査； すべての動物について剖検した。

下記の所見が最終計画殺動物で対照群に比し増加したが、300 ppm 群の子宮の肥厚を除いて統計学的な有意差は認められなかった。

所見	性別	雌			
	投与量 (ppm)	0	300	3000	30000
	検査動物数	35	37	40	40
胸腺の腫大		4	8	9	11
子宮の肥厚		7	↑16	14	16
脂肪組織の減少		5	6	10	13

Fisher の直接確率法により統計解析を実施 ↑: P < 0.05

上記臓器の病理組織学的検査で検体投与に関連する変化が認められないことから、毒性学的に意味のない偶発的なものと考えた。

病理組織学的検査； 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器を 10 %中性緩衝ホルマリン液で固定した。

脳(大脳、小脳、中脳及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

胸腺、甲状腺及び上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、膝関節、リンパ節（頸部、腸間膜及び腫瘍近傍リンパ節）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺）、食道、胃、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部（鼻腔、副鼻腔、口腔、鼻咽頭、中耳、歯、及びジンバル腺）*、咽頭*及び喉頭*、涙腺、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、卵巣、子宮（頸部を含む）、脛、眼球、ハーダー腺*、骨格筋、舌*、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

これらの臓器の中で星印を付けたものを除き病理組織標本を作成し、以下の組織について鏡検した。

対照群及び高投与群の動物は、試験途中の屠殺あるいは死亡動物ならびに試験終了時の全ての動物について肉眼的異常部位を含む上述の全ての組織。

中間及び低投与群の動物については、試験途中の屠殺あるいは死亡動物について肉眼的異常部位を含む上述の全ての組織。

中間及び低投与群の最終解剖に供した動物については、腎臓、肝臓、肺、腫瘍近傍リンパ節及び肉眼的異常部位。

〔非腫瘍性病変〕

対照群と比較して、発生頻度に統計学的な有意差が認められた項目を次表に示す。

検査時期	組織	性別 投与群 (ppm)	雄				雌				
			0	300	3000	30000	0	300	3000	30000	
途中死亡・ 切迫殺	肝臓	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)	
		小葉中心性肝細胞肥大	0	↑6	4	↑6	1	0	2	2	
	肺	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)	
		肺泡マクロファージ集簇	0	1	1	↑4	2	0	1	1	
最終計 画殺	肝臓	(評価数)	(38)	(29)	(35)	(38)	(35)	(37)	(40)	(40)	
		小葉中心性肝細胞肥大	25	18	19	↑34	0	0	1	↑8	
		門脈周囲性肝細胞空胞化	0	0	0	1	1	0	0	↑7	
		小葉中間性肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	↑5	2	
	肺	(評価数)	(38)	(29)	(35)	(38)	(35)	(37)	(40)	(40)	
		うっ血	0	0	↑4	↑6	6	5	11	8	
	大腿骨	(評価数)	(38)	(0)	(0)	(38)	(35)	(0)	(0)	(40)	
		骨関節症	21	0	0	↑30	10	0	0	15	
	全検索	肝臓	(評価数)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)
			小葉中心性肝細胞肥大	25	24	23	↑40	1	0	3	↑10
門脈周囲性肝細胞空胞化			1	0	0	2	1	1	1	↑7	
小葉中間性肝細胞空胞化			0	0	0	0	0	0	↑5	2	
髄外造血			0	↑6	2	2	8	7	5	4	
白血球増多症			2	4	2	4	0	3	2	↑5	
胸腺		(評価数)	(49)	(20)	(13)	(49)	(50)	(20)	(19)	(50)	
		血管壁フィブリノイド壊死	0	1	0	↑5	3	2	1	4	

肝臓及び肺については、対照群と全投与群を Fisher の直接確率法により統計解析を実施

大腿骨及び胸腺については、対照群と 30000 ppm 群を Fisher の直接確率法により統計解析を実施

↑: 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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査成績のうち非腫瘍性病変では、最終計画殺動物及び全検索動物ともに 30000 ppm 群で有意に増加した所見は、雌雄の肝臓の小葉中心性肝細胞肥大及び雌の肝臓の門脈周囲性肝細胞空胞化であった。30000 ppm 群で観察された肝臓の小葉中心性肝細胞肥大は検体投与の影響と考えられ、次表にその病変の全検索動物における程度別発生頻度を示す。雌の肝臓の門脈周囲性肝細胞空胞化は小葉中心性肝細胞肥大との関連は認められず、また先に実施した 13 週間試験において投与関連の変化として観察されていないことから、検体投与の影響とは考えなかった。

上記以外の非腫瘍性病変の発生頻度における統計学的な変化は用量相関性を欠くか、各検査時期のみで観察されていることから、毒性学的に意味のない偶発的なものと考えた。

所見	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
小葉中心性肝細胞肥大										
軽微	6	↑16	12	2	0	0	1	↑7		
軽度	19	6	9	19	1	0	2	3		
中等度	0	2	2	↑15	0	0	0	0		
重度	0	0	0	4	0	0	0	0		
総頻度	25	24	23	↑40	1	0	3	↑10		

Fisher の直接確率法により統計解析を実施 ↑: P<0.05、↑↑: P<0.01

[腫瘍性病変]

各群における良性及び悪性腫瘍数、腫瘍総数、担腫瘍動物数を次表に、腫瘍性病変発生頻度を本文末の別表に示す。

腫瘍数及び担腫瘍動物数

所見	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
良性腫瘍数	51	33	32	23	16	12	15	16		
悪性腫瘍数	13	19	12	12	12	13	12	14		
腫瘍総数	64	52	44	35	28	25	27	30		
担良性腫瘍動物数	32	23	24	18	14	10	13	14		
担悪性腫瘍動物数	11	16	10	10	12	12	12	11		
担腫瘍動物数	35	32	29	24	22	20	20	24		

Fisher の直接確率法

マウスに検体を投与したところ認められた腫瘍のいずれのタイプにも頻度の増加は観察されなかった。病変は各群の動物について全てかあるいはその大部分(約 95%)の動物について検査し、投与群を通じて少なくとも 2 例の発生がみられた腫瘍のタイプについて統計学的解析を実施した。乳腺癌は 30000 ppm 群の雌で 50 例中 4 例(それらは臨床及び剖検所見で腫瘍として記載されている)に認められたが対照群では 50 例中 0 例であった。しかしこの頻度は対照群に対する片側検定で統計学的有意差はな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

く、投与による影響とは考えられなかった。

さらにこの頻度は下記に示す対照群の背景データを僅かにはずれるところにあるだけであった。

雌マウスの乳腺癌(腺癌及び腺棘細胞癌)の頻度

	本試験				背景データ ²⁾
	0 ppm	300 ppm	3000 ppm	30000 ppm	
検査例数 ¹⁾	50	50	50	50	576
乳腺癌数	0 ^{a)}	2	0	4	15
	0% ^{b)}	4%	0%	8%	0-6.7% ^{c)}

a:発生動物数、b:発生率、c:発生率の範囲

1): 300及び3000 ppm群の検査例数は供試例数とした

2): 試験実施機関における近年(1993年3月から1996年5月の間)の発癌性試験(11試験)の背景データ

以上の結果から、本検体を混餌により雌雄マウスに18ヶ月間にわたり投与した場合、雌雄ともに検体に関連する変化として、30000 ppm群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大を伴う重量増加が認められたが、30000 ppm群におけるこの変化は適応性変化であることから、無毒性量は雌雄ともに30000 ppm(雄:3817 mg/kg/日、雌:4807 mg/kg/日)と考えられた。また、本検体による催腫瘍性はないものと判断した。

(申請者註)

本試験報告書では、30000 ppm群における肝臓の小葉中心性肝細胞肥大を伴う重量増加は、適応性変化であると考えられることから、無毒性量は雌雄ともに30000 ppm(雄:3817 mg/kg/日、雌:4807 mg/kg/日)と考察しているが、申請者としてはこの変化の回復性を確認していないことから、本用量は影響量と考え、無毒性量は雌雄ともに3000 ppm(雄:373 mg/kg/日、雌:473 mg/kg/日)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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (1/7)

検査時期	組織	性別 投与量 (ppm) 動物数 所見	雄				雌			
			0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
途中死亡・切迫殺	全身	(評価数)	(2)	(3)	(3)	(3)	(5)	(5)	(4)	(6)
		多型性リンパ腫(悪性)	1	1	0	0	2	1	1	3
		リンパ芽球性/リンパ球性リンパ腫(悪性)	1	0	1	1	2	3	0	2
		形質細胞腫(悪性)	0	1	0	1	1	0	0	0
		悪性リンパ腫(分類不能)(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0
		骨髄性白血病(悪性)	0	2	1	0	0	1	0	1
		組織球性肉腫(悪性)	0	1	0	1	0	0	3	0
	肺	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		気管支-肺胞腺腫(良性)	1	1	2	1	4	0	2	0
		気管支-肺胞癌(悪性)	0	0	3	2	1	0	1	0
	脾臓	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		血管肉腫(悪性)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝臓	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		肝細胞腺腫(良性)	3	2	4	1	0	0	0	0
		肝細胞癌(悪性)	0	2	0	0	0	0	0	0
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(15)	(13)	(10)	(10)
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	1	2	1	1
		内膜間質細胞肉腫(悪性)	-	-	-	-	0	0	0	1
	甲状腺	(評価数)	(12)	(21)	(14)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		組織消失	0	0	1	0	0	0	0	0
		ろ胞細胞腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0
	結腸	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		腺癌(悪性)	0	1	1	0	0	0	0	0
	直腸	(評価数)	(11)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		組織消失	1	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨格筋	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)
		血管肉腫(悪性)	0	2	0	0	0	0	0	0
	皮下	(評価数)	(1)	(5)	(2)	(1)	(0)	(1)	(4)	(0)
		横紋筋肉腫(悪性)	0	1	0	0	0	0	1	0

Fisher の直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (2/7)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量(ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
		動物数		12	21	15	12	15	13	10	10
途 中 死 亡 ・ 切 迫 殺	所見										
	乳腺	(評価数)	(12)	(21)	(15)	(12)	(15)	(13)	(10)	(10)	
		腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	2	
	ハーダー腺	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	
		腺腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	冬眠腺	(評価数)	(2)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	
		冬眠腺腫(良性)	2	0	1	0	0	0	0	0	
	頭部	(評価数)	(0)	(1)	(0)	(1)	(1)	(2)	(0)	(0)	
		未分化肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	骨	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	
		骨肉腫(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0	

Fisher の直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (9/7)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)	動物数	0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
				38	29	35	38	35	37	40	40
		所見									
最終計画殺	全身	(評価数)	(2)	(3)	(0)	(1)	(4)	(3)	(6)	(3)	
		多型性リンパ腫(悪性)	1	3	0	0	2	1	3	1	
		リンパ芽球性/リンパ球性リンパ腫(悪性)	0	0	0	0	0	2	3	1	
		骨髄性白血病(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	
		組織球性肉腫(悪性)	1	0	0	0	2	0	0	1	
	鼻腔	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	
		腺癌(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肺	(評価数)	(38)	(29)	(35)	(38)	(35)	(37)	(40)	(40)	
		気管支-肺泡腺腫(良性)	17	11	10	7	3	7	5	5	
		気管支-肺泡癌(悪性)	4	3	0	0	0	0	0	0	
	脾臓	(評価数)	(38)	(7)	(5)	(38)	(35)	(12)	(5)	(40)	
		血管肉腫(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肝臓	(評価数)	(38)	(29)	(35)	(38)	(35)	(37)	(40)	(40)	
		肝細胞腺腫(良性)	17	11	11	9	1	1	1	3	
		肝細胞癌(悪性)	2	1	2	2	0	0	0	0	
		肝芽細胞腫(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		胆管癌(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		血管腫(良性)	1	0	0	0	0	0	1	0	
		血管肉腫(悪性)	1	0	0	1	0	0	0	0	
	胆のう	(評価数)	(37)	(0)	(0)	(37)	(35)	(2)	(2)	(40)	
		組織消失	1	0	0	1	0	0	0	0	
		乳頭腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	1	
		腺癌(悪性)	1	0	0	0	0	0	0	0	
	膵臓	(評価数)	(38)	(0)	(0)	(38)	(35)	(0)	(0)	(40)	
		島細胞腺腫(良性)	1	0	0	0	0	0	0	0	
	精巣	(評価数)	(38)	(4)	(4)	(38)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		間細胞腺腫(良性)	1	0	0	1	-	-	-	-	
		精巣網-腺腫(良性)	1	0	0	0	-	-	-	-	
	卵巣	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(35)	(34)	(39)	(40)	
		顆粒膜細胞腫(良性)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(35)	(30)	(34)	(40)	
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	0	1	1	1	
		平滑筋腫(良性)	-	-	-	-	0	0	1	2	
平滑筋肉腫(悪性)		-	-	-	-	1	0	0	0		
横紋筋腫(良性)		-	-	-	-	0	1	0	0		

Fisherの直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果―腫瘍性病変 (4/7)

検査時期	組織	性別		雄				雌				
		所見	投与量 (ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
			動物数		38	29	35	38	35	37	40	40
最終計画殺	子宮頸管	(評価数)	(-)	()	()	(-)	(35)	(1)	(3)	(39)		
		組織消失	-	-	-	-	0	0	0	1		
		線維腫(良性)	-	-	-	-	0	0	0	1		
		ポリープ(良性)	-	-	-	-	0	0	0	1		
	上皮小体	(評価数)	(35)	(0)	(1)	(35)	(31)	(0)	(0)	(35)		
		組織消失	3	0	0	3	4	0	0	5		
		腺腫(良性)	0	0	0	0	1	0	0	0		
	甲状腺	(評価数)	(38)	(0)	(0)	(38)	(35)	(0)	(0)	(40)		
		C細胞癌(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0		
	副腎	(評価数)	(38)	(2)	(1)	(38)	(35)	(1)	(2)	(40)		
		皮質腺腫-A細胞(良性)	0	0	0	0	1	0	1	1		
		皮質腺腫-B細胞(良性)	1	2	1	0	0	0	0	0		
		褐色細胞腫(良性)	2	0	0	0	0	0	0	0		
	下垂体	(評価数)	(38)	(0)	(0)	(38)	(35)	(1)	(1)	(39)		
		組織消失	0	0	0	0	0	0	0	1		
		腺腫-後葉(良性)	0	0	0	0	3	0	1	0		
	結腸	(評価数)	(38)	(0)	(0)	(38)	(35)	(1)	(0)	(40)		
		腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0		
	皮膚	(評価数)	(2)	(0)	(2)	(3)	(0)	(0)	(0)	(0)		
		扁平上皮細胞乳頭腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0		
	皮下	(評価数)	(5)	(0)	(2)	(2)	(3)	(0)	(0)	(0)		
		線維腫(良性)	0	0	1	0	0	0	0	0		
		腺腫肉腫(悪性)	1	0	1	0	0	0	0	0		
	乳腺	(評価数)	(38)	(0)	(0)	(38)	(35)	(2)	(1)	(40)		
		線維腫(良性)	0	0	0	0	0	0	1	0		
		腺癌(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	2		
		腺棘細胞癌(悪性)	0	0	0	0	0	1	0	0		
ハーダー腺	(評価数)	(2)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)			
	腺腫(良性)	1	0	0	0	1	0	0	0			
冬眠腺	(評価数)	(3)	(5)	(2)	(2)	(1)	(1)	(0)	(0)			
	冬眠腺腫(良性)	3	5	2	2	0	0	0	0			

Fisherの直接確率法 — : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (5/7)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量(ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
		動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
所見											
全検査	全身	(評価数)	(4)	(6)	(3)	(4)	(9)	(8)	(10)	(9)	
		多型性リンパ腫(悪性)	2	4	0	0	4	2	4	4	
		リンパ芽球性/リンパ球性リンパ腫(悪性)	1	0	1	1	2	5	3	3	
		形質細胞腫(悪性)	0	1	0	1	1	0	0	0	
		悪性リンパ腫(分類不能)(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		骨髄性白血病(悪性)	0	2	1	1	0	1	0	1	
		組織球性肉腫(悪性)	1	1	0	1	2	0	3	1	
	鼻腔	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	
		腺癌(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肺	(評価数)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	
		気管支—肺胞腺腫(良性)	18	12	12	8	7	7	7	5	
		気管支—肺胞癌(悪性)	4	3	3	2	1	0	1	0	
	脾臓	(評価数)	(50)	(28)	(20)	(50)	(50)	(25)	(15)	(50)	
		血管肉腫(悪性)	0	0	0	1	1	0	0	0	
	肝臓	(評価数)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	
		肝細胞腺腫(良性)	20	13	15	10	1	1	1	3	
		肝細胞癌(悪性)	2	3	2	2	0	0	0	0	
		肝芽細胞腫(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		胆管癌(悪性)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		血管腫(良性)	1	0	0	0	0	0	1	0	
	胆のう	(評価数)	(47)	(19)	(14)	(49)	(49)	(12)	(10)	(50)	
		組織消失	3	2	1	1	1	1	0	0	
		乳頭腫(良性)	0	0	0	0	0	0	0	1	
		腺癌(悪性)	1	0	0	0	0	0	0	0	
		(評価数)	(50)	(21)	(14)	(50)	(50)	(15)	(12)	(50)	
		組織消失	0	0	1	0	0	0	0	0	
	精巣	(評価数)	(50)	(25)	(19)	(50)	(-)	(-)	(-)	(-)	
		間細胞腺腫(良性)	1	0	0	1	-	-	-	-	
		精巣網—腺腫(良性)	1	0	0	0	-	-	-	-	
	卵巣	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(50)	(47)	(49)	(50)	
		顆粒膜細胞腫(良性)	-	-	-	-	1	0	0	0	

Fisher の直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (6/7)

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000
		動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
所見											
全検査	子宮	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(50)	(43)	(44)	(50)	
		内膜ポリープ(良性)	-	-	-	-	1	3	2	2	
		内膜間質細胞肉腫(悪性)	-	-	-	-	0	0	0	1	
		平滑筋腫(良性)	-	-	-	-	0	0	1	2	
		平滑筋肉腫(悪性)	-	-	-	-	1	0	0	0	
		横紋筋腫(良性)	-	-	-	-	0	1	0	0	
	子宮頸管	(評価数)	(-)	(-)	(-)	(-)	(50)	(12)	(12)	(49)	
		組織消失	-	-	-	-	0	2	1	1	
		線維腫(良性)	-	-	-	-	0	0	0	1	
		ポリープ(良性)	-	-	-	-	0	0	0	1	
	上皮小体	(評価数)	(45)	(20)	(11)	(46)	(46)	(12)	(7)	(44)	
		組織消失	5	1	5	4	4	1	3	6	
		腺腫(良性)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	甲状腺	(評価数)	(50)	(21)	(14)	(50)	(50)	(13)	(10)	(50)	
		組織消失	0	0	1	0	0	0	0	0	
		ろ胞細胞腺腫(良性)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		C細胞癌(悪性)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	副腎	(評価数)	(50)	(22)	(16)	(50)	(50)	(14)	(12)	(50)	
		組織消失	0	1	0	0	0	0	0	0	
		皮質腺腫—A細胞(良性)	0	0	0	0	1	0	1	1	
		皮質腺腫—B細胞(良性)	1	2	1	0	0	0	0	0	
		褐色細胞腫(良性)	2	0	0	0	0	0	0	0	
	下垂体	(評価数)	(50)	(19)	(15)	(50)	(50)	(14)	(11)	(49)	
		組織消失	0	2	0	0	0	0	0	1	
腺腫—後葉(良性)		0	0	0	0	3	0	1	0		
結腸	(評価数)	(50)	(21)	(15)	(50)	(50)	(14)	(10)	(50)		
	腺癌(悪性)	0	1	1	0	0	1	0	0		
直腸	(評価数)	(49)	(21)	(15)	(50)	(50)	(13)	(10)	(49)		
	組織消失	1	0	0	0	0	0	0	1		
	腺癌(悪性)	0	0	1	0	0	0	0	0		
骨格筋	(評価数)	(50)	(21)	(15)	(50)	(50)	(13)	(10)	(50)		
	血管肉腫(悪性)	0	2	0	0	0	0	0	0		
皮膚	(評価数)	(5)	(3)	(2)	(6)	(2)	(0)	(2)	(1)		
	扁平上皮細胞乳頭腫(良性)	0	0	0	1	0	0	0	0		

Fisherの直接確率法 - : 検査対象外

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

別表 病理組織学的検査結果—腫瘍性病変 (7/7)

検査時期	組織	性別		雄				雌				
		投与量 (ppm)		0	300	3000	30000	0	300	3000	30000	
		動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	
所見												
全検査	皮下	(評価数)		(6)	(5)	(4)	(3)	(3)	(1)	(4)	(0)	
		線維腫(良性)		0	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫(悪性)		1	0	1	0	0	0	0	0	0
		横紋筋肉腫(悪性)		0	1	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	(評価数)		(50)	(21)	(15)	(50)	(50)	(15)	(11)	(50)	
		線維腫(良性)		0	0	0	0	0	0	1	0	
		腺癌(悪性)		0	0	0	0	0	1	0	4	
		腺棘細胞癌(悪性)		0	0	0	0	0	1	0	0	
	ハーダー腺	(評価数)		(2)	(0)	(0)	(1)	(1)	(0)	(0)	(0)	
		腺腫(良性)		1	0	0	1	1	0	0	0	
	冬眠腺	(評価数)		(5)	(5)	(3)	(2)	(1)	(1)	(0)	(0)	
		冬眠腺腫(良性)		5	5	3	2	0	0	0	0	
	頭部	(評価数)		(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(2)	(0)	(0)	
		未分化肉腫(悪性)		0	0	0	0	0	1	0	0	
	骨	(評価数)		(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(2)	(0)	(2)	
		骨肉腫(悪性)		0	0	0	0	0	1	0	0	

Fisher の直接確率法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(6) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1) 繁殖性に及ぼす影響

(資料 6-1)

ラットを用いた繁殖試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験動物 : SD 系ラット、投与開始時 5 週齢、体重：雄 130～149 g 雌 108～125 g、一群雌雄各 24 匹

投与期間 : F0 世代 ; 投与開始から F1 児離乳までの 19 週間

F1 世代 ; 離乳から F2 児離乳までの 19 週間

F2 世代 ; 離乳後 4 日間

(1997 年 11 月 18 日～1998 年 7 月 22 日)

投与方法 : 検体を 0、100、1000 及び 20000 ppm の濃度で基礎飼料に混合して、2 世代にわたって動物に投与した。

投与量設定根拠；

方法及び試験項目： 概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡率； 個々の動物について、毎日ケージの外から観察した。また、体重を測定する際に、個々の動物を手にとって詳細に観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

交配及び妊娠の確認； 発情前期または発情期の状態にある雌を夕刻に同じ群の雄のケージに移し、1対1で一晩同居させた。翌朝、膣栓の有無及び膣垢中の精子の有無を調べ、いずれかが認められた場合に交尾が行なわれたものと判断して、その日を妊娠0日とした。交配期間の限度を3週間とした。

妊娠の確認は、分娩の有無及び剖検時の子宮内の着床痕の有無によって行なった。

繁殖に関する指標； F1親動物の性成熟を、雄については包皮分離、雌については膣開口を指標として、それぞれ生後35日及び28日から完了日まで毎日観察した。また、F0及びF1親動物の繁殖期間中における観察結果に基づき、次の指標を算出した。

正常性周期率(%) = (正常性周期を示す雌数 / 交配に用いた雌数) × 100

雄の交尾率(%) = (交尾を認めた雄の数 / 交配に用いた雄の数) × 100

雌の交尾率(%) = (交尾を認めた雌の数 / 交配に用いた雌の数) × 100

妊娠率(%) = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) × 100

出産率(%) = (正常出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

哺育0日の生存率(%) = (哺育0日の生存児数 / 産児数) × 100

哺育4日の生存率(%) = (哺育4日の生存児数 / 哺育0日の生存児数) × 100

哺育21日の生存率(%) = (哺育21日の生存児数 / 哺育4日に選抜した児数) × 100

雄動物については、剖検時に精巣上体尾部から精子を採取して、数、運動性及び形態を調べた。

精子運動性(%) = (自動性を示す精子数 / 検査精子数) × 100

正常形態精子数(%) = (正常形態精子数 / 検査精子数(200)) × 100

臓器重量； すべてのF0及びF1親動物の脳、下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、及び卵巣と子宮、または精巣、精巣上体、精嚢及び前立腺の重量を測定した。

また、F1及びF2離乳児のうち、各腹の雌雄それぞれ1匹の脳、胸腺及び脾臓の重量を測定した。

病理学的検査； すべてのF0及びF1親動物、哺育4日に選抜されなかった哺育児、F1親動物に選抜されなかったF1離乳児及びすべてのF2離乳児を、屠殺時に剖検した。

対照群と高用量(20000 ppm)群のすべての親動物について、下垂体と生殖器官(卵巣、子宮、膣または精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺)の病理組織学的検査を実施した。低用量(100 ppm)群と中間用量(1000 ppm)群においては、交尾または妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組について同様の検査を実施した。ただし、下垂体については、高用量群の雄に所見が認められたため、低用量群と中間用量群のすべての雄親動物についても病理組織学的検査を実施した。そのほかに、重量増加が認められた肝臓、腎臓及び副腎(雌のみ)の病理組織学的検査を実施した。

表 1. 方法及び試験項目の概要

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
F0	育成(10週)		動物の一般状態を毎日観察。 体重及び摂餌量を週1回測定。
	交配(3週)	雌雄1対1で一晩同居させた。 膣栓または膣垢中の精子の有無により交尾を確認。交尾確認日を妊娠0日とした。	交配前の1週間と交配開始後交尾が確認されるまでの期間中雌の膣垢観察を継続することにより、性周期を観察。
	妊娠(3週)		体重(妊娠0、7、14及び20日)及び摂餌量(妊娠0-7、7-14及び14-20日)を測定。
	出産	出産確認日を哺育0日とした。	出産児、生存児及び死産児の性と数を記録。哺育児の一般状態を毎日観察。
	哺育(3週)	哺育4日に各腹の哺育児数が8匹となるように雌雄別に無作為に選抜し(原則として雌雄同数)、残りを屠殺した。	母動物の体重(哺育0、7、14及び21日)及び摂餌量(哺育0-7、7-14及び14-21日)を測定。 生存児数を哺育0、4、7、14及び21日に記録。 哺育児体重を、哺育0、4、7、14及び21日に測定。 哺育4日児の剖検。
F0/ F1	離乳	F1親動物として、各群雌雄それぞれ24匹を選抜。 選抜されなかった離乳児を25日齢で屠殺。 哺育児の離乳後、すべての親動物を屠殺。	離乳児の剖検及び各腹雌雄1匹ずつの臓器重量の測定。 すべての親動物の剖検、子宮の着床痕数の記録、精子検査及び臓器重量の測定。 対照群と高用量群の親動物及び児動物が得られなかった親動物についての病理組織学的検査(下垂体及び生殖器官)。
F1	育成(10週)	雄については包皮分離、雌については膣開口を、それぞれ35日及び28日齢から完了日まで、毎日観察。	(F0世代に準ずる)
	交配(3週)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	妊娠(3週)	(F0世代に準ずる)	(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)	(F0世代に準ずる)
F1/F 2	離乳	すべての離乳児を25日齢で屠殺。 哺育児の離乳後、すべての親動物を屠殺。	(F0/F1世代に準ずる)

結果： 結果の概要を、表2にまとめた。

親動物に対する一般毒性的影響：

雄では、検体投与の影響は1000及び20000 ppm群で認められた。

雄の投与群における体重、体重増加量及び摂餌量には検体投与に関連した変化は認められなかった。20000 ppm群の摂餌量がF0雄の投与第1週に限り対照群と比較して有意に高かったが、F0雄の投与第2週以降とF1雄の試験期間中の値は対照群とほぼ同じであったことから、偶発的な変動と考えられた。

剖検所見として、腎臓の退色が20000 ppm群のF0及びF1雄に、腫大が20000 ppm群のF1雄にそれぞれ高頻度で観察された。これらの所見は1000 ppm群のF1雄にも観察されたがそれぞれ1例ずつであり統計学的有意差は認められなかった。

臓器重量に関しては、肝臓の重量増加が20000 ppm群のF0及びF1雄の体重比に、腎臓の重量増加が1000 ppm群のF0及びF1雄の体重比と20000 ppm群のF0及びF1雄の絶対重量と体重比に、精巣及び精巣上体の重量増加が20000 ppm群のF1雄の絶対重量と体重比に認められた。20000 ppm群のF1雄で下垂体の絶対重量が対照群と比較して有意に低かったが、体重がやや低かったことによりもたらされた変動であると考えられた。

病理組織学的検査では、1000及び20000 ppm群のF0及びF1雄で、腎臓における近位尿細管硝子滴変性増加及び尿細管好塩基性化の出現頻度が統計学的に有意に高かった。また、これらの投与群では尿細管腔内顆粒状円柱充満も観察され、20000 ppm群のF0及びF1雄ではその出現頻度が対照群の値を有意に上回った。20000 ppm群のF0及びF1雄では、さらに下垂体の好塩基性細胞水腫性変性増加が観察された。しかし、重量に変化がみられた肝臓、精巣及び精巣上体には、いずれの投与群においても病理組織学的な変化は認められなかった。

腎臓の近位尿細管硝子滴変性増加は、雄ラットに特異的な α -2u-グロブリンが検体と結合して近位尿細管に沈着することによって引き起こされたものと推察され、腎臓の退色と腫大、重量の増加、尿細管好塩基性化及び尿細管腔内顆粒状円柱充満はそれに伴う変化であると考えられた。100 ppm群においてもF0雄1匹とF1雄2匹に腎臓の近位尿細管硝子滴変性増加が認められたが、器質的障害を意味するより重篤な尿細管好塩基性化や尿細管腔内顆粒状円柱充満のような変化は認められなかったことから、毒性学的な変化を示唆するものではないと考えられた。雄ラットでは、 α -2u-グロブリンの血中濃度の上昇はLHとFSHの血中濃度の上昇、テストステロンの精巣内濃度と血中濃度の上昇、さらに精巣の重量増加を誘発することが知られている(Pradip K. Ghosh, Neuroendocrinology, 53:7, 1991)。したがって、本試験の20000 ppm群の雄に認められた下垂体の好塩基性細胞水腫性変性増加と精巣及び精巣上体の重量増加(絶対重量と体重比)は、 α 2u-グロブリンに関連した変化であると考えられた。

雌では、検体投与の影響は20000 ppm群でのみ認められた。

20000 ppm群では、体重増加促進がF1雌に、摂餌量の増加がF0及びF1雌にそれぞれみられた。100 ppm群ではF1雌の体重と体重増加量が投与第9週に、1000 ppm群ではF1雌の摂餌量が投与第6週にそれぞれ対照群と比較して有意に高かったが、いずれも1週のみの変化であったことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

臓器重量に関しては、20000 ppm群で肝臓の重量増加がF0及びF1雌の絶対重量と体重比に、副腎の重量増加がF0及びF1雌の絶対重量とF0雌の体重比に、腎臓の重量増加がF0及びF1雌の絶対重量とF0雌の体重比にそれぞれ認められた。また、この投与群のF1雌では卵巣の絶対重量が対照群と比較して有意に高かったが、体重が有意に高かったことによる変動であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

病理組織学的検査では、重量に変化のみられた臓器を含め検体投与に関連するような変化は認められなかった。

親動物の繁殖能力に対する影響；

いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

1000 及び 20000 ppm 群の F0 雄では精巣上体精子の正常形態精子率が対照群の値より有意に高かったが、この変化に毒性学的意義はないと判断した。

児動物に対する影響；

いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。(申請者註：予備試験で観察された腎臓ののう胞の発生頻度増加に関して、本試験の全投与群において対照群と同等の発生頻度であり、増加は認められなかった。)

以上の結果から、本検体を混餌により雌雄ラットへ2世代にわたり投与した場合、1000 ppm 以上の投与群の雄親動物で腎臓の近位尿細管硝子滴変性を伴った腎毒性がみられ、さらに 20000 ppm 群の雄親動物で下垂体の好塩基性細胞水腫性変化の増加、精巣、精巣上体及び肝臓の重量増加がみられた。雌親動物では 20000 ppm 群で肝臓、副腎及び腎臓の重量増加がみられた。一方、親動物の繁殖能力と児動物に対する毒性学的変化は何らみられなかった。したがって、本試験における無毒性量は、親動物に対する一般毒性的影響に関して、雄で 100 ppm (F0: 6.38 mg/kg/日、F1: 7.46 mg/kg/日) 及び雌で 1000 ppm (F0: 72.1 mg/kg/日、F1: 77.5 mg/kg/日) の用量であり、また、親動物の繁殖能力と児動物に対しては、20000 ppm (F0: 雄 1320 mg/kg/日、雌 1469 mg/kg/日、F1: 雄 1531 mg/kg/日、雌 1637 mg/kg/日) の用量であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2. 結果の概要

世代		親：F0				親：F1				
投与量 (ppm)		0	100	1000	20000	0	100	1000	20000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親	一般状態	検体投与に関連した異常はみられなかった。				検体投与に関連した異常はみられなかった。				
	死亡	雄 雌	1/24 1/24	0/24 0/24	0/24 0/24	0/24 0/24	0/24 0/24	0/24 0/24	0/24 0/24	
動物	体重	雄(試験期間中)	419	426	417	416	535	531	523	513
	増加量	雌(育成期間中)	164	171	169	172	216	233 ^a	228	237 [*]
	(g)	雌(妊娠期間中)	134	137	130	139	135	134	135	146
		雌(哺育期間中)	13	10	7	14	11	3	9	7
		雌(試験期間中)	192	201	199	203	252	265	260	278 [*]
	摂餌量	雄(試験期間中)	18.4	18.5	18.6	19.3 ^{ab}	12.6	12.3	12.4	13.4
	(g)		~24.0	~24.3	~24.0	~24.9	~27.5	~27.8	~26.9	~27.2
		雌(育成期間中)	14.5	14.4	14.8	15.0 ^{ab}	11.2	11.4	11.4 ^c	11.9 ^{abc}
			~16.6	~16.9	~17.2	~17.7	~17.3	~18.2	~18.1	~19.5
		雌(妊娠期間中)	18.5	18.9	18.6	19.6	20.2	19.8	19.1	21.2 [*]
	雌(哺育期間中)	~23.8	~24.2	~24.3	~25.1	~24.3	~24.4	~24.7	~26.8	
		34.9	35.8	35.7	37.2	34.0	35.1	35.2	36.6 [*]	
		~63.9	~66.1	~65.7	~68.8	~65.2	~68.2	~69.3	~70.9	
	検体摂取量 (mg/kg/day)	雄 (育成期間中の平均)	0	6.38	63.6	1320	0	7.46	73.3	1531
		雌	0	7.07	72.1	1469	0	7.75	77.5	1637
	性成熟	雄の包皮分離達成 (日齢)	-	-	-	-	41.3	41.4	40.7	40.8
		雌の膈開口完了	-	-	-	-	31.3	31.4	31.6	31.1
	交尾率 (%)	雄	100.0	100.0	100.0	95.8	100.0	100.0	95.8	95.8
		雌	100.0	100.0	100.0	95.8	100.0	100.0	95.8	95.8
	妊娠率 (%)		100.0	100.0	100.0	91.3	91.7	100.0	82.6	95.7
	出産率 (%)		95.8	100.0	100.0	100.0	95.5	100.0	100.0	100.0
	妊娠期間 (日)		22.2	22.3	22.3	22.2	22.3	22.3	22.3	22.5
	着床数		15.4	15.6	14.4	15.6	13.7	14.2	15.1	15.5
	出産児数		14.2	14.6	13.3	14.8	13.2	13.4	14.5	14.0
	精子検査	精子数 (x10 ⁶)	192	195	197	199	204	204	200	228
		運動率 (%)	77.3	79.6	77.6	77.9	70.5	73.1	69.7	69.8
		正常形態精子率 (%)	98.4	98.9	99.0 ^{cd}	99.2 ^{cd}	99.4	99.3	99.2	99.5

Dunnett 検定/Scheffe 検定あるいは Fisher の直接確率法の統計解析 *、**及び***: p<0.05、p<0.01 及び p<0.001

a: 投与第 9 週の体重と体重増加量の値が対照群の値と比較して有意に高かったが、1 週のみの変化であった。

b: 投与第 1 週の値が対照群の値と比較して有意に高かったが、投与第 2 週以降の値は対照群とほぼ同じであった。

c: 投与第 9 週の値が対照群の値と比較して有意に高かったが、1 週のみの変化であった。

d: 1000 及び 20000 ppm 群の F0 雄の値が対照群の値と比較して有意に高かったが、この変化に毒性的意義はないと判断した。

-: 未実施

表 2. 結果の概要(続き)

世代		親：F0				親：F1				親：F1				児：F2						
投与量 (ppm)		0		100		1000		20000		0		100		1000		20000				
動物数		雄		24		24		24		24		24		24		24				
		雌		24		24		24		24		24		24		24				
剖検所見	雄	腎臓：退色腫大		0		0		0		16***		0		0		1		14***		
	雌			0		0		0		0		0		0		1		9**		
				検体投与に関連した異常はみられなかった。								検体投与に関連した異常はみられなかった。								
臓器	絶対重量 (mg)																			
	雄	下垂体	12.4		12.2		12.4		11.4		12.5		11.7		12.7		11.4*		11.4*	
		腎臓	1639		1675		1766		1972***		1665		1710		1790		2141***		2141***	
		精巣	1695		1729		1711		1759		1756		1722		1736		1903**		1903**	
		精巣上体	671		649		661		684		694		683		684		736*		736*	
	雌	肝臓	12313		12892		13029		14042*		11436		12080		12658		13922***		13922***	
		副腎	33.6		37.0		36.1		40.6***		35.6		38.9		37.9		40.9**		40.9**	
		腎臓	1069		1114		1121		1214***		1104		1140		1131		1217***		1217***	
		卵巣	54.6		55.5		56.2		57.2		52.9		55.4		58.6		60.8*†		60.8*†	
	雌雄のその他の臓器		検体投与の影響はみられなかった。								検体投与の影響はみられなかった。									
動重量	体重比 (体重 %)																			
	雄	肝臓	2.29		2.95		2.91		3.17**		3.02		3.04		3.03		3.23**		3.23**	
		腎臓	0.294		0.297		0.318*		0.355***		0.275		0.284		0.302**		0.367***		0.367***	
		精巣	0.306		0.309		0.310		0.318		0.292		0.288		0.294		0.328**		0.328**	
		精巣上体	0.1209		0.1158		0.1194		0.1233		0.1150		0.1142		0.1159		0.1267**		0.1267**	
	雌	肝臓	3.98		4.06		4.13		4.39*		3.58		3.63		3.89		4.03**		4.03**	
		副腎	.01091		.01164		.01151		.01277**		.01115		.01179		.01165		.01197		.01197	
		腎臓	0.347		0.351		0.356		0.380**		0.347		0.344		0.348		0.363		0.363	
		雌雄のその他の臓器		検体投与の影響はみられなかった。								検体投与の影響はみられなかった。								
	病理組織学的検査	雄	腎臓																	
		近位尿細管硝子滴変性増加		0		1		23***		24***		0		2		24***		24***		
		尿細管好塩基性化		0		0		9***		19***		0		0		12***		21***		
		尿細管腔内顆粒状円柱充満		0		0		2		7**		0		0		3		13***		
		下垂体																		
		好塩基性細胞水腫性変性増加		0		0		0		2		0		0		0		6**		
雌		検体投与に関連した異常はみられなかった。								検体投与に関連した異常はみられなかった。										

Dunnnett 検定/Scheffe 検定あるいは Fisher の直接確率法の統計解析 *、**及び***：p<0.05、p<0.01 及び p<0.001
 e：20000 ppm 群の F1 雄でみられた下垂体の絶対重量の低値は、体重がやや低かったことによる変動であると考えられた。
 f：20000 ppm 群の F1 雌でみられた卵巣の絶対重量の高値は、体重が高かったことによる変動であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2. 結果の概要(続き)

世代		親：F0				親：F1				
投与量(ppm)		0	100	1000	20000	0	100	1000	20000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
児	一般状態	検体投与に関連した異常はみられなかった。				検体投与に関連した異常はみられなかった。				
	性比	0.521	0.486	0.472	0.521	0.486	0.517	0.489	0.529	
	生存率(%)	哺育 0日	98.1	98.3	99.5	99.3	97.6	98.6	99.7	99.1
		哺育 4日	98.0	98.6	100.0	98.2	93.9	98.1	98.4	91.1
哺育 21日		100.0	100.0	100.0	100.0	99.3	100.0	99.3	97.6	
動物	体重(g) 雄	哺育 0日	6.5	6.5	6.8	6.6	6.6	6.8	6.6	7.0
		哺育 4日	10.7	10.7	10.9	10.4	10.9	11.3	10.7	11.0
		哺育 7日	17.5	17.8	17.6	17.3	17.3	17.7	17.0	17.1
		哺育 14日	37.1	37.6	37.6	37.3	35.4	36.5	35.6	35.6
		哺育 21日	60.9	61.7	61.3	61.2	60.6	61.2	61.0	60.0
	雌	哺育 0日	6.2	6.2	6.5	6.2	6.2	6.4	6.2	6.6
		哺育 4日	10.1	10.1	10.5	9.8	10.5	10.7	10.1	10.4
		哺育 7日	16.5	16.9	17.2	16.4	16.7	17.1	16.0	16.0
		哺育 14日	35.4	36.2	36.8	35.9	34.9	35.2	33.6	34.1
		哺育 21日	57.9	58.7	59.2	58.0	58.0	59.1	57.1	56.7
剖検所見		検体投与に関連した異常はみられなかった。				検体投与に関連した異常はみられなかった。				
臓器重量		検体投与の影響はみられなかった。				検体投与の影響はみられなかった。				

Dunnett 検定/Scheffe 検定あるいは Fisher の直接確率法の統計解析 *、**及び***：p<0.05、p<0.01 及び p<0.001
 親の体重、体重増加量、摂餌量、着床数、精子数、産児数、臓器重量、及び児動物の体重と臓器重量については、多重比較検定を行なった。
 親動物の臨床所見の出現頻度、交尾率、妊娠率、出産率、剖検所見及び病理組織学的所見の出現頻度、ならびに児動物の性比については、Fisher の直接確率計算法により検定を行なった。
 親動物の性成熟に関係する指標、妊娠期間、精子の運動率と正常形態率ならびに児動物の生存率、臨床所見の出現頻度及び剖検所見の出現頻度については、Mann-Whitney の U 検定法により検定を行なった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 催奇形性

(資料 6-2)

ラットにおける催奇形性試験

試験機関：コーヴァンス ラボラトリーズ社
ドイツ [GLP 対応]
報告書作成年：1997 年

検体の純度：

試験動物：SD 系妊娠ラット、8～12 週齢、一群各 25 匹

試験期間：試験期間 20 日間(1996 年 10 月 29 日～1996 年 12 月 5 日)

投与方法：検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁し、0、40、200 及び 1000 mg/kg の用量で妊娠 6 日目から 15 日目まで 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、腔スミア中に精子が観察された日あるいは膣栓が認められた日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、16 及び 20 日目に体重及び摂餌量を測定した。

妊娠 20 日目に炭酸ガスの吸入により安楽死させた後解剖し、子宮の状態、黄体数、着床数、早期あるいは後期胚吸収の数及び位置、生存あるいは死亡胎児の数及び位置を検査した。

生存胎児：性別、体重及び外表異常の観察を行った。

各同腹児群の約半数の胎児については、Wilson と Barrow の変法を用いて内臓を検査し、残りの胎児は内臓を除去した後、アリザリン染色法を用いて骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果：結果の概要を表 1 に示す。

母動物に関して検体投与に起因する変化は認められなかった。

胚・胎児動物に関して検体投与に起因する変化は認められなかったが、次の所見が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

観察された。

胎児の骨格検査において、中手骨の骨化不全を有する腹数が、200 mg/kg 群で有意に増加したが、本変異は発生段階のラット胎児では通常みられるものであり、また、投与量との関連もないことから、検体投与によるものではないと考えられた。

以上の結果から、本検体を妊娠ラットの器官形成期間中に投与したときの母動物及び胚・胎児における無毒性量は最高用量の 1000 mg/kg/日であった。また、催奇形性も最高用量の 1000 mg/kg/日で認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表1 結果の概要 (1/2)

投与量 (mg/kg/日)		溶媒対照	40	200	1000
1群当り動物数		25	25	25	25
	妊娠数 (妊娠率 %)	22 (88.0)	25 (100)	22 (88.0)	24 (96.0)
	死亡数	0	0	0	0
	流産数	0	0	0	0
	一般状態及び剖検	著変なし	著変なし	著変なし	著変なし
	摂餌量 ^a	著変なし	著変なし	著変なし	著変なし
親動物	妊娠0日 ^a	217.7	223.4	219.7	221.5
	妊娠6日 ^a	252.9	257.4	251.9	252.6
	妊娠16日 ^a	306.5	311.9	308.1	306.2
	妊娠20日 ^a	366.0	372.4	369.8	367.8
	増体量(妊娠6~16日 ^a)	53.6	54.5	56.2	53.6
	増体量(妊娠0~20日 ^a)	148.3	149.1	150.1	146.3
	検査母動物数	22	25	22	24
	着床所見				
	黄体総数 (1腹平均 ^b)	378 (17.2)	441 (17.6)	392 (17.8)	409 (17.0)
	着床総数 (1腹平均 ^b)	323 (14.7)	385 (15.4)	323 (14.7)	341 (14.2)
	生存胎児総数 (1腹平均 ^b)	308 (14.0)	354 (14.2)	312 (14.2)	327 (13.6)
	生存胎児率: 平均 ^b ± SD (%)	95.5 ± 7.8	91.4 ± 18.4	95.8 ± 7.7	96.2 ± 5.9
	平均着床前胚死亡率: 平均 ^b ± SD (%)	14.0 ± 15.4	12.8 ± 11.1	17.3 ± 18.0	15.9 ± 13.6
平均着床後胚死亡率: 平均 ^b ± SD (%)	4.5 ± 7.8	8.6 ± 18.4	4.2 ± 7.7	3.8 ± 5.9	
胎児動物	体重: 平均 ^a ± SD (g)	3.7 ± 0.2	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.2	3.7 ± 0.3
	性別胎児数 (雄/雌)	139/169	189/165	159/153	165/162
	性比: 雄胎児数/総胎児数 ^b (%)	46.3 ± 16.3	51.5 ± 15.2	49.5 ± 16.8	48.2 ± 17.0
	外表検査				
	評価胎児数 (腹数)	308 (22)	354 (25)	312 (22)	327 (24)
	奇形: 奇形を有する胎児数/評価数 ^c	0/308	0/354	0/312	0/327
	変異: 変異を有する胎児数/評価数 ^c	0/308	0/354	0/312	0/327
	内臓検査				
	評価胎児数 (腹数)	151 (22)	170 (25)	150 (22)	158 (24)
	奇形: 奇形を有する胎児数/評価数 ^c	1/151	0/170	1/150	0/158
	奇形を有する腹数/評価数 ^d	1/22	0/25	1/22	0/24
	大動脈弁閉鎖 (腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈弁閉鎖 (腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨盤腎 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
変異: 変異を有する胎児数/評価数 ^c	11/151	15/170	4/150	22/158	
変異を有する腹数/評価数 ^d	9/22	9/25	4/22	13/24	
側脳室軽度拡張 (腹数)	3 (3)	2 (2)	1 (1)	2 (2)	
胸腺軽度変形 (腹数)	2 (2)	1 (1)	0 (0)	4 (3)	
腎形成不全 片側性 (腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
腎盂拡張 両側性 (腹数)	2 (2)	4 (3)	1 (1)	3 (3)	
腎盂拡張 片側性 (腹数)	4 (4)	8 (6)	2 (2)	13 (8)	

^a: Dunnett の t 検定

^b: Dunnett の t 検定、Kruskal-Wallis 検定あるいは Wilcoxon の順位和検定

^c: Fisher の直接確率法

^d: Wilcoxon の順位和検定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表1 結果の概要 (2/2) : 骨格異常の変異は主なものを示した

投与量 (mg/kg/日)		溶媒対照	40	200	1000
胎 児 骨 格 動 検 査	評価胎児数 (腹数)	157 (22)	181 (25)	162 (22)	169 (24)
	奇形: 奇形を有する胎児数/評価数 ^c	0/157	0/184	0/162	0/169
	変異: 変異を有する胎児数/評価数 ^c	157/157	184/184	162/162	169/169
	変異を有する腹数/評価数 ^d	22/22	25/25	22/22	24/24
	鼻骨骨化不全 (腹数)	9 (6)	8 (7)	12 (4)	15 (5)
	前頭骨骨化不全 (腹数)	36 (18)	33 (18)	42 (15)	38 (18)
	頭頂骨骨化不全 (腹数)	19 (10)	26 (13)	35 (16)	25 (13)
	頭頂間骨骨化不全 (腹数)	139 (21)	153 (25)	137 (22)	144 (24)
	後頭骨骨化不全 (腹数)	138 (22)	166 (25)	116 (20)	136 (23)
	頬骨骨化不全 (腹数)	21 (11)	35 (15)	29 (15)	35 (15)
	第1-4 胸骨分節骨化不全 (腹数)	55 (19)	84 (23)	46 (20)	41 (16)
	第1-4 胸骨分節非対称骨化 (腹数)	4 (4)	2 (2)	8 (8)	7 (5)
	第5-6 胸骨分節未骨化 (腹数)	59 (17)	85 (22)	63 (19)	60 (17)
	第5-6 胸骨分節骨化不全 (腹数)	135 (22)	149 (24)	141 (22)	143 (24)
	第5-6 胸骨分節非対称骨化 (腹数)	1 (1)	1 (1)	3 (3)	7 (6)
	胸椎椎体骨化不全 (腹数)	40 (16)	42 (17)	34 (15)	37 (18)
	仙椎椎弓骨化不全 (腹数)	15 (5)	25 (9)	6 (3)	27 (9)
恥骨骨化不全 (腹数)	3 (3)	6 (6)	13 (8)	14 (8)	
中手骨骨化不全 (腹数)	0 (0)	0 (0)	8 (5*)	1 (1)	
中手骨未骨化 (腹数)	38 (11)	42 (17)	26 (11)	37 (11)	

^c: Fisher の直接確率法 ^d: Wilcoxon の順位和検定

*: P<0.05 (Fisher の直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 6 3)

ウサギにおける催奇形性試験

試験機関：コーヴァンス ラボラトリーズ社
ドイツ [GLP 対応]
報告書作成年：1998 年

検体の純度：

試験動物：New Zealand White 妊娠ウサギ、14～17 週齢、一群 18～21 匹

試験期間：試験期間 28 日間(1996 年 12 月 10 日～1997 年 1 月 27 日)

投与方法：検体を 1 % Tween 80 水溶液に懸濁し、0、40、200 及び 1000 mg/kg の用量で妊娠 6 日目から 18 日目まで 13 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、腔スミア中に精子が観察された日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、19、24 及び 28 日目に体重及び摂餌量を測定した。

妊娠 28 日目にペントバルビタールナトリウムの静脈内投与により安楽死させた後解剖し、子宮の状態、黄体数、着床数、早期あるいは後期胚吸収の数及び位置、生存あるいは死亡胎児の数及び位置を検査した。

生存胎児：性別、体重及び外表異常の観察を行った。

すべての生存胎児を対象として、顕微解剖法で内臓を検査した。その後内臓を除去し、アリザリン染色法を用いて骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。約半数の胎児の頭部については、ブアン液で固定した後、ウイルソン法の変法を用いて内部の異常を調べた。

結果：結果の概要を表 1 に示す。

母動物に関して検体投与に起因する変化は認められなかったが、次の所見が観察された。

母動物の死亡あるいは安楽死が対照群を含む全試験群で認められたが、死因は誤投与あるいは偶発的(肺炎、下痢等)なものであり、検体投与に起因しないものと考えられた。

流産した個体が 1000 mg/kg 群で 3 例(流産率:17.6 %、妊娠 20、21 及び 28 日目)に認められたが、対照群においても 1 例(流産率:5.3 %、妊娠 23 日目)に認められて

おり、また、投与に関連した一般状態、体重及び摂餌量の変化がなく、着床後胚死亡率にも影響が認められず、さらに背景データ(1984年以降の流産率：0～16.7%)よりやや高いが、ほぼ正常範囲であることから、検体投与に関連するとは考えられなかった。

200 mg/kg 群の全期間を通じた摂餌量に有意な低値が認められたが、各期間毎の摂餌量において有意差は認められず、また、1000 mg/kg 群においても有意差が認められていないことから検体投与との関連性はないものと考えられた。

40 及び 200 mg/kg 群の着床前胚死亡率に有意な低値が認められ、200 mg/kg 群の着床数に有意な高値が認められたが、これらは対照群における着床前胚死亡率が比較的高かったことと着床数が少なかったことによるものと考えられた(1984年以降の背景データは、平均着床前胚死亡率：12.7～62.7%、平均着床数：3.9～9.9)。

胚・胎児動物に関して検体投与に起因する変化は認められなかったが、次の所見が観察された。

対照群の着床数が少ないことに関連して、40 及び 200 mg/kg 群の生存胎児数あるいは胎児体重は対照群に比較してそれぞれ高値あるいは低値をしめした。しかし、40 及び 200 mg/kg 群の生存胎児数あるいは胎児体重は、それぞれ背景データの範囲にあり(1984年以降の背景データは、生存胎児数：3.4～9.0、胎児体重：32.1～43.8g)、検体投与との関連性はないものと考えられた。

胎児の外表・内臓及び骨格検査において、奇形を有する腹数が 200 mg/kg 群の外表・内臓検査で 5/17(29.4%)及び骨格検査で 5/17(29.4%)と有意に増加したが、出現頻度に用量との関連性は認められず、また、ほぼ背景データ(外表・内臓の奇形を有する腹数率：0.0～26.7%(1988年以降)、骨格の奇形を有する腹数率：0.0～50.0%(1984年以降))の範囲にあり、さらに観察された奇形の型は本系統で時々出現することが知られていることから、本試験の対照群で奇形胎児が 1 例も認められないものの、観察された奇形はいずれも偶発的なものと考えられた。また、骨格検査において、40 及び 200 mg/kg 群で一部の変異を有する腹数の頻度に有意差が認められたが、1000 mg/kg 群において有意差は認められず、さらに背景データ(1988年以降)の範囲もしくは近似していることから、これらの変異における出現頻度の増加は検体投与との関連性はないものと考えられた。次頁に有意差の認められた各変異及びそれらの背景データを表にまとめた。

以上の結果から、本検体を妊娠ウサギの器官形成期間中に投与したときの母動物及び胚・胎児における無毒性量は最高用量の 1000 mg/kg/日であった。また、催奇形性も最高用量の 1000 mg/kg/日で認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

骨格検査における各変異を有する腹数の背景データ

骨格変異	本 試 験				背景 データ：% (1988-95)
	溶媒対照	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg	
(評価腹数)	12	13	17	12	—
649) #過剰肋骨	4 (33.3)	9 (69.2)	15* (88.2)	10 (83.3)	95.0 80.0-100.0
830) 恥骨骨化不全	2 (16.7)	8* (61.5)	12* (70.6)	6 (50.0)	48.6 15.1-84.6
853) 前肢指骨骨化不全	5 (41.7)	7 (53.8)	15* (88.2)	9 (75.0)	34.2 14.3-60.0
854) 前肢指骨未骨化	7 (58.3)	11 (84.6)	16* (94.1)	11 (91.7)	65.0 0.0-86.7
859) 中手骨未骨化	1 (8.3)	4 (30.8)	11* (64.7)	3 (25.0)	25.7 0.0-56.3
863) 後肢指骨未骨化	3 (25.0)	4 (30.8)	12* (70.6)	4 (33.3)	24.4 0.0-40.0
872) 距骨骨化不全	3 (25.0)	7 (53.8)	16* (94.1)	4 (33.3)	40.6 6.7-80.0

*: P<0.05

#: コーヴァンス ラボラトリーズ GmbH(ドイツ)の骨格変異に対するキー番号

本試験における各変異の数値は、変異を有する腹数及び()内にパーセントを示す。

背景データの数値はパーセントで、上段は平均値、下段は範囲を示す。

本試験における変異の発生頻度について、すべて正常範囲もしくは正常範囲に極めて近いと判断した。これらの変異のほとんどが骨化不全もしくは未骨化で、胎児の大きさ、重量に依存し(本試験の200 mg/kgでは胎児数が多く、平均体重が軽い)、極めて短時間に変化するものであること、従ってその頻度は広い範囲を示す。また、これらの変異および発生頻度は本系統のウサギでは異常ではなく、さらに本試験では用量との関係は認められなかった。

表 1 結果の概要 (1/2)

投与量 (mg/kg/日)		溶媒対照	40	200	1000	
1群当り動物数		21	19	20	18	
親動物	妊娠数 (妊娠率 %)	19 (90.5)	16 (84.2)	17 (85.0)	17 (94.4)	
	死亡数 ^a : 含切迫屠殺 (妊娠動物数)	6(5)	2(2)	3(0)	2(2)	
	流産数 (流産を確認した日: 妊娠日数)	1(23)	0	0	3(20, 21, 28)	
	死産: 生存胎児なし	1	1	0	0	
	一般状態及び剖検	著変なし	著変なし	著変なし	著変なし	
	体重 (g)	妊娠 0 日 ^b	3423.0	3323.7	3296.8	3333.2
		妊娠 6 日 ^b	3753.9	3689.3	3570.0	3605.4
		妊娠 19 日 ^b	4081.7	4051.1	3872.6	3888.8
		妊娠 28 日 ^b	4243.5	4264.9	4110.3	4132.9
		増体量 (妊娠 6~19 日 ^b)	327.8	361.8	302.6	283.4
		増体量 (妊娠 0~28 日 ^b)	820.6	941.2	813.5	799.7
	妊娠各期間の摂餌量		著変なし	著変なし	著変なし	著変なし
	妊娠 6~19 日の摂餌量 ^b (g/動物/日)		210.3	220.8	187.2	196.7
	妊娠 0~28 日の摂餌量 ^b (g/動物/日)		216.6	235.5	187.4*	196.3
	着床所見	検査母動物数	12	13	17	12
黄体総数 (1腹平均 ^c)		130 (10.8)	133 (10.2)	210 (12.4)	145 (12.1)	
着床総数 (1腹平均 ^c)		65 (5.4)	100 (7.7)	163 (9.6*)	81 (6.8)	
生存胎児総数 (1腹平均 ^c)		51 (4.3)	83 (6.4)	142 (8.4*)	73 (6.1)	
生存胎児率: 平均 ^c ±SD (%)		78.7 ±28.9	82.8 ±13.7	86.6 ±22.1	88.4 ±16.0	
平均着床前胚死亡率: 平均 ^c ±SD (%)		51.0 ±28.0	24.1*±20.2	21.1*±14.6	42.2 ±22.5	
平均着床後胚死亡率: 平均 ^c ±SD (%)		21.3 ±28.9	17.2 ±13.7	13.4 ±22.1	11.7 ±16.0	
体重: 平均 ^b ±SD (g)		46.6 ± 8.2	40.7 ± 4.8	36.4 ± 3.5	41.3 ± 7.2	
性別胎児数 (雄/雌)		29/22	39/44	70/72	37/36	
性比: 雄胎児数/総胎児数 ^c (%)		63.6 ±32.3	50.2 ±21.9	51.0 ±21.9	48.2 ±32.5	
胎児動物	外表・内臓検査	評価胎児数 (腹数)	51 (12)	83 (13)	142 (17)	73 (12)
	奇形: 奇形を有する胎児数/評価数 ^d	0/51	1/83	6/142	1/73	
	奇形を有する腹数/評価数 ^e	0/12	1/13	5*/17	1/12	
	小眼球症 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	脊髄無形成 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	関節拘縮症 (腹数)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	
	回転異常後肢 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	無尾 (腹数)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	
	短尾/痕跡尾 (腹数)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	
	糸状尾 (腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	
	臍帯ヘルニア (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	奇形腎/位置異常腎 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	変異: 変異を有する胎児数/評価数 ^d	4/51	5/83	8/142	9/73	
	変異を有する腹数/評価数 ^e	3/12	5/13	6/17	6/12	
	側脳室軽度拡張 (腹数)	1 (3)	2 (2)	3 (3)	8 (6)	
網膜皺襞 (腹数)	0 (0)	2 (2)	3 (2)	1 (1)		
尾軽度短縮 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)		
尾先端部軽度屈曲 (腹数)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)		

^a死亡原因: 誤投与(対照群 2例, 40 mg/kg 群 1例, 200 mg/kg 群 1例, 1000 mg/kg 群 1例)。肺炎(対照群 1例, 40 mg/kg 群 1例)。下痢(対照群 2例, 200 mg/kg 群 1例)。運動障害(対照群 1例)。腹膜炎(200 mg/kg 群 1例)。直接的な原因は不明(1000 mg/kg 群 1例)

^b: Dunnett の t 検定 ^c: Dunnett の t 検定, Kruskal-Wallis 検定あるいは Wilcoxon の順位和検定

^d: Fisher の直接確率法 ^e: Wilcoxon の順位和検定

*、#: P<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表1 結果の概要 (2/2) : 骨格異常の変異は主なものを示した

投与量 (mg/kg/日)		溶媒対照	40	200	1000
胎 児 動 物 骨 格 検 査	評価胎児数 (腹数)	51 (12)	83 (13)	142 (17)	73 (12)
	奇形: 奇形を有する胎児数/評価数 ^d	0/51	5/83	7/142	2/73
	奇形を有する腹数/評価数 ^e	0/12	3/13	5 [#] /17	2/12
	脊柱側弯 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸骨分節欠損 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	肋骨欠損 (腹数)	0 (0)	3 (2)	4 (2)	0 (0)
	胸部肋骨間の過剰肋骨 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	分岐肋骨 (腹数)	0 (0)	1 (1)	3 (3)	1 (1)
	肋骨近位部癒合 (腹数)	0 (0)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
	変形肋骨 (腹数)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	癒合肋骨 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	椎弓への肋骨異常結合 (腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	奇形胸椎椎弓 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸椎椎体と椎弓の未癒合 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸椎欠損 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	半胸椎 (腹数)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)
	腰椎欠損 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	半腰椎 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	仙椎欠損 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	尾椎欠損 (腹数)	0 (0)	1 (1)	4 (3)	1 (1)
	奇形椎骨 (腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸椎椎体癒合 (腹数)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	胸椎椎体欠損 (腹数)	0 (0)	3 (2)	1 (1)	0 (0)
	胸椎椎弓癒合 (腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	過剰胸椎椎弓 (腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	胸椎椎弓欠損 (腹数)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	変異: 変異を有する胎児数/評価数 ^d	51/51	82/83	142/142	73/73
	変異を有する腹数/評価数 ^e	12/12	13/13	17/17	12/12
	前頭骨骨化不全 (腹数)	4 (2)	8 (3)	12 (3)	0 (0)
	第1-4 胸骨分節骨化不全 (腹数)	10 (3)	8 (5)	10 (7)	9 (5)
	第1-4 胸骨分節非対称骨化 (腹数)	8 (5)	9 (6)	15 (6)	6 (4)
	第5-6 胸骨分節未骨化 (腹数)	23 (7)	44 (11)	80 (15)	44 (11)
	第5-6 胸骨分節骨化不全 (腹数)	30 (9)	57 (13)	86 (15)	31 (11)
過剰肋骨 (腹数)	8 (4)	25 (9)	54 (15*)	20 (10)	
肥厚肋骨 (腹数)	9 (5)	23 (7)	25 (11)	12 (5)	
頸椎椎体骨化不全 (腹数)	0 (0)	8 (3)	5 (4)	2 (1)	
尾椎不整列 (腹数)	2 (1)	3 (3)	7 (6)	0 (0)	
第2仙椎への骨盤帯の付着 両側 (腹数)	5 (4)	7 (5)	11 (6)	6 (4)	
恥骨骨化不全 (腹数)	4 (2)	12 (8*)	23 (12*)	9 (6)	
前肢指骨骨化不全 (腹数)	8 (5)	22 (7)	39 (15*)	26 (9)	
前肢指骨未骨化 (腹数)	31 (7)	44 (11)	81 (16*)	47 (11)	
中手骨未骨化 (腹数)	3 (1)	10 (4)	22 (11*)	6 (3)	
後肢指骨骨化不全 (腹数)	0 (0)	2 (2)	8 (5)	7 (3)	
後肢指骨未骨化 (腹数)	6 (3)	14 (4)	26 (12*)	18 (4)	
距骨骨化不全 (腹数)	7 (3)	22 (7)	55 (16*)	12 (4)	
距骨未骨化 (腹数)	5 (3)	12 (6)	16 (7)	11 (3)	

^d: Fisher の直接確率法 ^e: Wilcoxon の順位和検定

*, #: P<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(7) 変異原性

1) 遺伝子突然変異原性

(資料 7-1)

細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) 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、予備(用量設定)試験の結果、1000 µg/プレート以上の用量で検体の析出が認められたが、いずれの試験菌株に対しても抗菌性が認められないことから 5000 µg/プレートを最高用量とした。

試験濃度は 156~5000 µg/プレートの範囲で 6 用量とし、各用量 2 枚のプレートをを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート) においても、いずれの菌株で復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム及び 9-アミノアクリジン塩酸塩では S-9 Mix の非存在下で、2-アミノアントラセンでは S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	95	6	16	12	8
	検体	200	70	5	15	18	3
		500	70	7	15	15	4
		1000	63 #	7 #	15 #	15 #	3 #
		2000	71 #	2 #	18 #	16 #	1 #
		5000	57 #	8 #	15 #	18 #	3 #
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	9-AA ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/plate	599	622	341	641	851
+	対照	DMSO	76	7	30	30	10
	検体	200	69	7	19	23	16
		500	75	4	16	22	12
		1000	68 #	8 #	17 #	23 #	4 #
		2000	78 #	5 #	12 #	16 #	2 #
		5000	72 #	4 #	17 #	18 #	2 #
	陽性 対照	名称	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/plate	975	379	768	378	116

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	105	9	14	26	9
	検体	156	85	7	19	30	6
		313	71	6	14	20	6
		625	74 #	6 #	17 #	17 #	4 #
		1250	80 #	5 #	12 #	23 #	3 #
		2500	79 #	7 #	13 #	22 #	4 #
		5000	90 #	9 #	12 #	22 #	6 #
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	9-AA ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	80
コロニー数/plate		611	559	288	720	749	
+	対照	DMSO	90	11	22	27	10
	検体	156	83	9	22	33	8
		313	74	6	23	34	9
		625	76 #	6 #	18 #	25 #	8 #
		1250	76 #	5 #	21 #	32 #	4 #
		2500	85 #	3 #	15 #	23 #	3 #
		5000	80 #	9 #	16 #	19 #	7 #
	陽性 対照	名称	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}	2-AA ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	1	2	10	0.5	2
コロニー数/plate		1069	368	649	448	113	

: 検体の析出が認められた

^{a)} : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

^{b)} : アジ化ナトリウム

^{c)} : 9-アミノアクリジン塩酸塩

^{d)} : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) DNA損傷誘発性

(資料 7-2)

細菌を用いたDNA修復試験

試験機関：(財)残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成年：1994 年

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株(H17)及び欠損株(M45)を用い、S-9 Mix の非存在及び存在下によってDNAの損傷の誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。最大溶解濃度の 50 mg/ml を用いて、最高用量を 1000 µg/disk とし、以下 500、200、100、50 及び 20 µg/disk の計 6 用量を設定し、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

検体は代謝非活性化法において、全ての用量で M45 菌株に 1~5 mm の生育阻止帯を、H17 菌株に 1~2 mm の生育阻止帯をそれぞれ誘起した。代謝活性化法において、最高用量である 1000 µg/disk で M45 菌株に 1 mm の生育阻止帯を誘起したが、H17 菌株には全く生育阻止帯を誘起しなかった。両菌株の生育阻止帯の差は、代謝活性化の有無にかかわらず 4 mm 以下であった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (S-9 Mix 非存在下) 及び 3-アミノ-1,4-ジメチル-5H-ピリド[4,3-b]インドール(S-9 Mix 存在下)では両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた。また、陰性対照のカナマイシン(S-9 Mix 非存在下)では両菌株に同程度の生育阻止帯が認められた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下でDNA損傷の誘発性を有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株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

DNA修復試験成績

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	S-9 Mix(-)			S-9 Mix(+)			
		阻止帯(mm)		差 (mm)	阻止帯(mm)		差 (mm)	
		M45	H17		M45	H17		
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	0	
検体	20	2	1	1	0	0	0	
		1	0	1	0	0	0	
	50	3	1	2	0	0	0	
		3	1	2	0	0	0	
	100	3	1	2	0	0	0	
		3	1	2	0	0	0	
	200	4	1	3	0	0	0	
		3	1	2	0	0	0	
	500	4	1	3	0	0	0	
		3	1	2	0	0	0	
	1000	5	2	3	1	0	1	
		5	1	4	0	0	0	
	陰性対照 (カナマイシン)	0.2	10	8	2			
			9	7	2			
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.01	22	2	20				
		22	2	20				
陽性対照 (Trp-P-1)*	5				10	0	10	
					10	1	9	

*Trp-P-1: 3-アミノ-1,4-ジメチル-5H-ピリド[4,3-b]インドール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

3) 染色体異常誘発性

(資料 7-3)

チャイニーズ・ハムスターの肺由来線維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

試験機関：(株)新日本科学
[GLP 対応]
報告書作成年：1996 年

検体の純度：

試験方法：チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺由来線維芽細胞株である CHL/IU 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で、染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

用量設定のために実施した細胞分裂抑制試験の結果より、本試験は、直接法の 24 時間処理試験及び代謝活性化法において 5、10、20 及び 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、直接法の 48 時間処理試験において 2.5、5、10 及び 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の各 4 用量を設定し、各用量 2 枚のシャーレーを用いた。観察は各標本 100 個の染色体分裂中期像について行い、構造異常細胞の 20 %出現率(D_{20} 値)を算出した。

試験結果：結果を次頁に示した。

直接法において、構造異常(ギャップを含む：TAG)あるいは数的異常を有する細胞数は、24 時間処理試験の検体 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 5 %あるいは 4 %、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 10.5 %あるいは 9.5 %とそれぞれ用量依存的に有意な増加が認められ、また、48 時間処理試験でも検体 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 11 %あるいは 6 %、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 17.5 %あるいは 14.5 %とそれぞれ用量依存的に有意な増加が認められた。なお、 D_{20} 値は、24 時間処理試験で 39.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、48 時間処理試験で 11.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

代謝活性化法において、構造異常(ギャップを含む：TAG)あるいは数的異常を有する細胞数は、S-9 Mix 無添加試験の検体 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 11 %あるいは 5.5 %と有意な増加が認められ、また、S-9 Mix 添加試験でも検体 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 5.5 %あるいは 7.5 %、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 15.5 %あるいは 11 %、40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で 26.5 %あるいは 17.5 %とそれぞれ用量依存的に有意な増加が認められた。なお、 D_{20} 値は、S-9 Mix 無添加試験で 79.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、S-9 Mix 添加試験で 29.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

一方、直接法の陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC) あるいは代謝活性化法の陽性対照として用いたベンゾ(a)ピレン(B(a)P)では、顕著な染色体異常が観察された。

以上の結果から、検体は本試験条件下で、代謝活性化系の有無にかかわらず CHL/IU 細胞において染色体異常誘発性を有するものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

染色体異常試験結果 (直接法の場合)

薬物	処理時間 (h)	処理濃度 (µg/ml)	観察細胞数	倍數性細胞		染色体構造異常細胞の出現數と出現頻度 (%)										判定
				出現數及び出現頻度 (%)	判定	ギャップ		染色分体型		染色体型		その他		合計		
						gap	ctb	cte	csb	cse	o	TA	TAG			
無処置 対照	24	—	200	1 (0.5)	—	0 (0)	2 (1)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	3 (1.5)	—
	48	—	200	1 (0.5)	—	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	—
陰性対照 (DMSO)	24	5.5	200	0 (0)	—	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	2 (1)	—
	48	5.5	200	1 (0.5)	—	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	2 (1)	—
検体	24	5	200	2 (1)	—	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	3 (1.5)	—
		10	200	8* (4)	+	3 (1.5)	3 (1.5)	4 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (3.5)	10* (5)	+
		20	200	19* (9.5)	+	3 (1.5)	6 (3)	11 (5.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	18 (9)	21* (10.5)	+	
	48	40**	0	0	— (—)	判定せず	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	判定せず
		2.5	200	4 (2)	—	3 (1.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	5 (2.5)	—
		5	200	12* (6)	+	1 (0.5)	5 (2.5)	3 (1.5)	1 (0.5)	3 (1.5)	9 (4.5)	21 (10.5)	22* (11)	+		
陽性対照 (MMC)	24	0.05	200	0 (0)	—	8 (4)	40 (20)	39 (19.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	62 (31)	68* (34)	+	
	48	0.05	200	0 (0)	—	11 (5.5)	48 (24)	66 (33)	1 (0.5)	2 (1)	3 (1.5)	92 (46)	102* (51)	+		

備考：ギャップ(gap)には染色分体型と染色分型の両方を含める。TAGにはギャップを含む総異常細胞數、TAにはギャップを除いた総異常細胞數、()内に頻度%を表示する。
ctb；染色分体切斷、cte；染色分体交換、csb；染色分体切斷、cse；染色体交換、o；断片化(細粉化は除く)、MMC；マイトマイシンC、DMSO；ジメチルスルホキシド

*；陰性対照群と比較して有意差のあるもの(p<0.05)

**；細胞毒性のため分裂中期像が観察されなかった用量

染色体異常試験結果 (代謝活性化法の場合)

薬物	S-9 Mixの有無	処理濃度 (µg/ml)	観察細胞数	倍数性細胞		染色体構造異常細胞の出現数と出現頻度 (%)										判定	
				出現数及び出現頻度 (%)	判定	ギャップ	染色分体型			染色体型			その他		合計		
							ctb	cte	csb	cse	o	TA	TAG				
無処置 対照	-	-	200	0 (0)	-	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	-
	+	-	200	0 (0)	-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	-
陰性対照 (DMSO)	-	5.5	200	1 (0.5)	-	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	3 (1.5)	-
	+	5.5	200	2 (1)	-	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	-
検体	-	5	200	2 (1)	-	2 (1)	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	4 (2)	-
		10	200	2 (1)	-	1 (0.5)	1 (0.5)	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.5)	4 (2)	-
		20	200	6 (3)	-	2 (1)	3 (1.5)	4 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (3.5)	9 (4.5)	-
		40	200	11* (5.5)	+	3 (1.5)	7 (3.5)	12 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	19 (9.5)	22* (11)	+
陽性対照 (B(a)P)	+	5	200	4 (2)	-	2 (1)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	3 (1.5)	5 (2.5)	-
		10	200	15* (7.5)	+	1 (0.5)	4 (2)	5 (2.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	10 (5)	11* (5.5)	+	
		20	200	22* (11)	+	5 (2.5)	11 (5.5)	15 (7.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	26 (13)	31* (15.5)	+	
		40	200	35* (17.5)	+	7 (3.5)	16 (8)	32 (16)	0 (0)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	46 (23)	53* (26.5)	+	
陽性対照 (B(a)P)	+	20	200	0 (0)	-	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	2 (1)	-
		20	200	0 (0)	-	6 (3)	46 (23)	69 (34.5)	0 (0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	90 (45)	95* (47.5)	+	

S-9 Mixの用量(最終濃度5%)、検体処理時間(6時間)、検体処理後の培養時間(18時間)
備考: ギャップ(gap)には染色分体型と染色分体型の両方を含める。TAGにはギャップを除いた総異常細胞数、()内に頻度%を表示する。
ctb: 染色分体切断、cte: 染色分体交換、csb: 染色体切断、cse: 染色体交換、o: 断片化(細粉化は除く)、B(a)P: ベンゾ(a)ピレン、DMSO: ジメチルスルホキシド
*: 陰性対照群と比較して有意差のあるもの(p<0.05)

(資料 7-4)

マウスにおける *in vivo* 染色体異常試験(小核試験)

試験機関：(株)新日本科学

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体の純度：

試験動物：ICR系雄マウス、8週齢、体重33.0～36.7 g、一群各6匹

試験方法：検体は0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、0、500、1000及び2000 mg/kgの用量で単回経口投与した。投与後48時間に全てのマウスから大腿骨を摘出して、牛胎児血清を用いて骨髓細胞を採取し、常法により骨髓標本を作製した。観察は1000個の多染性赤血球数について小核を有する多染性赤血球数を計数し、染色体異常誘発性を検定した。また、骨髓細胞の増殖抑制の指標として、1000個の全赤血球(多染性赤血球数+正染性赤血球)を観察し多染性赤血球数の割合を求めた。

予備試験において、250～2000 mg/kgの範囲で4用量を単回経口投与し、投与後24、48及び72時間に骨髓を採取し、用量及び骨髓採取時期の設定を行った。その結果、小核を有する多染性赤血球数の出現頻度は用量及び骨髓採取時期にかかわらず異常は認められなかったが、2000 mg/kg投与群の投与後48時間において一過性の骨髓細胞の増殖抑制が認められたことから、本試験の最高用量は2000 mg/kgとし、以下2で除した1000及び500 mg/kgの用量を設定し、骨髓採取時期は投与後48時間とした。

試験結果：結果を次頁に示した。

全ての検体投与群の小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、0.10～0.15%であり、溶媒対照群との間に有意な差は認められなかった。2000 mg/kg投与群における全赤血球に対する多染性赤血球の割合は27.53%であり、溶媒対照群の51.03%との間に有意な差が認められた。なお、一般状態の異常は全例で認められなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC(2 mg/kg)では、小核を有する多染性赤血球が顕著に観察された。

以上の結果、検体投与による小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、骨髓細胞に対する増殖抑制が認められる用量においても溶媒対照群と同程度であることから、本試験条件下で、検体はマウス赤芽球に対する染色体異常誘発性を有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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

小核試験成績

用量(mg/kg)	動物数(匹)	PCE (%) ^a		MNPCE (%) ^b		
		平均±標準偏差	最小値-最大値	総数 ^c	平均±標準偏差	最小値-最大値
溶媒対照 ^d	6	51.03±3.86	45.3-56.8	6	0.10±0.09	0.0-0.2
500	6	47.08±4.44	41.1-52.3	6	0.10±0.06	0.0-0.2
1000	6	47.02±3.11	43.3-51.1	6	0.10±0.09	0.0-0.2
2000	6	27.53±2.88*	23.3-31.2	9	0.15±0.05	0.1-0.2
陽性対照 ^e	6	31.25±2.43*	28.3-35.2	263	4.38±0.95 [#]	2.7-5.3

^a: PCE (%) = 多染性赤血球数/全赤血球数(多染性赤血球数+正染性赤血球数)×100

^b: MNPCE (%) = 小核を有する多染性赤血球数/多染性赤血球数×100

^c: 観察された小核を有する多染性赤血球数の群内総数

^d: 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液

^e: マイトマイシンC (2 mg/kg)

*: Dunnettの検定で溶媒対照群と有意差あり(P<0.05)

[#]: Kastenbaum and Bowmanの検定で溶媒対照群と有意差あり(P<0.05)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(8) 生体の機能に及ぼす影響

(資料 8-1)

Irwin 法を用いた一般状態観察

試験機関:ハンティンドン ライフ サイエンス社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年:1997 年

検体の純度:

供試動物 : ICR 系雄マウス、約 6 週齢、体重:18~20 g、一群 4 匹合計 20 匹

方 法 : マウスに 0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0、78.1、312.5、1250 及び 5000 mg/kg(投与液量 10 ml/kg)で経口投与した。投与後 15、30、60、120、180、300 分及び 24 時間に、一般状態を観察し、体温(直腸温)を測定した。また、投与後 7 日目まで、毎日死亡率及び肉眼的毒性徴候を観察した。投与後 7 日目にマウスを頸椎脱臼により屠殺した。

結 果 : いずれの用量においても、一般状態に対する影響は認められなかった。

312.5 mg/kg 投与群では、投与 60 及び 300 分後にわずかではあるが統計学的に有意な直腸温度の低下が認められた。1250 mg/kg 投与群では、投与 30、60 及び 300 分後に、また、最高用量の 5000 mg/kg では、投与 15、30、60 及び 300 分後に、統計学的に有意な直腸温度の低下が認められた。

312.5、1250 及び 5000 mg/kg 群では、投与 24 時間後に、統計学的に有意な直腸温度の上昇が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 8-2)

循環器および呼吸器系に及ぼす影響

試験機関: ハンティンドン ライフ サイエンス社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年: 1997 年

検体の純度:

供試動物 : Wistar 系ラット、約 6 週齢、体重: 雄 215、221 g 雌 222、252 g、雌雄各 2 匹合計 4 匹

方 法 : ベントバルビタール麻酔下で、10 %ソルトール注射用水液に溶解させた検体を 0、1、10 及び 100 mg/kg の用量で投与液量 2 ml/kg を静脈内投与した。血圧、心拍数、呼吸の速さ、呼吸の深さ及び心電図 (ECG) について投与後 1、2、5、10、15、20、25 及び 29 分後に測定した。投与間隔は 30 分とした。

結 果 : 1 及び 10 mg/kg の用量では、軽度で一貫性のない、短時間の動脈血圧の増加が認められたが、心拍数および呼吸器系パラメータには明確で、用量に関連した影響は認められなかった。

最高用量 (100 mg/kg) では、雌雄ラットの反応に顕著で明瞭な差が認められた。雌ではこの用量は明らかに致死的であり、急速な呼吸停止を誘発し、その後短時間のうちに循環器系の急激な衰弱および低酸素症を示す心電図の変化が認められた。しかし雄の 1 例で心拍数の減少を伴う顕著な血圧反応が認められた。雄では、呼吸器系パラメータに明瞭な影響は認められなかった。

(資料 8-3)

自律神経系に対する影響

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス社

英国 [GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：

供試動物：雌ネコ、約 12～25 ヶ月、体重：2.50～3.25kg、合計 3 匹

方法：約 17 時間絶食させ 5 %ハロタン/酸素により麻酔したネコに、0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0 及び 2000 mg/kg の用量で十二指腸内に投与した。適当な長さの綿糸で左瞬膜の外側周縁部を等張 32oz Harvard ストレインゲージに接続した。左上頸部交感神経節前神経幹の下に双極電極を取り付けた。Grass “SIU”隔離ユニットを接続した Grass S88 刺激装置を用い、2.5 分ごとに 10 秒間 (50 Hz、パルス幅 1 ms) 神経を刺激し、瞬膜を 4 回収縮させた。

両側の頸動脈を頸の基部まで露出させ、電極および神経をできるだけ妨害しないようにクランプで閉塞できるようにアレンジした。クランプによる固定は、血圧が増加して安定状態に達するまで、または最高 30 秒間のいずれか短い時間にわたって行った。

ノルアドレナリン (0.5 ml あたり 1 μ g/kg) を橈側皮静脈に静脈内投与し、0.9 % (w/v) 生理食塩水約 1 ml で洗浄した。

瞬膜の電氣的刺激、両側頸動脈の閉塞およびノルアドレナリンの静脈内投与の 3 つの手順を 20 分間で行い、この手順を 3 回繰り返した。

結果：神経節前刺激瞬膜の反応、両側頸動脈閉塞およびノルアドレナリンの静脈内投与に対する血圧および心拍数の反応に、投与に関連した影響は認められず、本剤の 2000 mg/kg では麻酔ネコの自律神経系機能に対する悪影響はないと判断した。

(資料 8-4)

摘出回腸における誘発収縮に及ぼす影響

試験機関:ハンティンドン ライフ サイエンス社

英国 [GLP 対応]

報告書作成年:1997年

検体の純度:

供試動物 :Dunkin-Hartley系雄モルモット、約8週齢、体重:250~300g

方法 :モルモットを頸椎脱臼により屠殺し、回腸を摘出してTyrode溶液に入れた。長さ約2cmの回腸切片を採り、Tyrode溶液を入れた10ml容の組織浴槽(32℃、95%O₂+5%CO₂)中に懸垂させ、綿糸で回腸を等張性収縮測定用のLinseis L6514増幅器/レコーダー付きHarvard等張トランスデューサーに接続した。

約20分間の平衡時間後、それぞれアセチルコリン、ヒスタミン、5-HT及び塩化バリウムを処理し、再現性のある最大下収縮を測定した。ついで8分間のサイクルで、0.9%(w/v)生理食塩水、0.1%(w/v)ソルトールおよび各濃度(0.005、0.05、0.5、5、50及び500µg/ml)の検体単独及びこれらの作動薬の最大下収縮性に対する影響を試験した。必要に応じて、適当な拮抗薬も加えた。

各作業に異なる回腸切片を用いた。検体は各作動薬を処理した組織切片3点について試験した。なお検体は0.1%ソルトールを用いて所定の溶液を調製した。

結果 :浴槽中最終濃度500µg/mlでは、アセチルコリンおよび5-HT誘導収縮の顕著で、有意な阻害を示したが、それ以下の濃度ではこれらの作動薬に対する有意な影響を示さなかった。

浴槽中最終濃度500µg/mlまでの全濃度でヒスタミンおよびバリウム誘導収縮に対して統計学的に有意な変化を示さなかった。

さらに、これらの試験濃度では摘出回腸の基礎緊張に対して影響を示さなかった。

対照物質のアトロピン(10ng/ml)、ピリラミン(10ng/ml)、シクロヘプラジン(20ng/ml)では、アセチルコリン、ヒスタミンおよび5-HT誘導収縮に対して顕著で、統計学的に高度に有意な阻害が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 8-5)

小腸輸送能に及ぼす影響(炭末輸送試験)

試験機関:ハンティンドン ライフ サイエンス社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年:1997年

検体の純度:

供試動物 : ICR 系雄マウス、約 6 週齢、体重:20~25 g、一群 10 匹合計 50 匹

方 法 : 一夜絶食したマウスに 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液で調製した検体 200、1000 及び 5000 mg/kg、陽性対照物質として硫酸モルヒネ 10 mg/kg を経口投与した(投与液量 10 ml/kg)。投与 45 分後 5%(w/v)炭末懸濁液 0.25 ml を経口投与した。炭末投与 30 分後、頸部脱臼によりマウスを屠殺し全消化管を摘出した。炭末が胃幽門括約筋から盲腸間までの移動距離を測定し、全小腸に対する移動率を算出した。

結 果 : 200、1000 及び 5000 mg/kg の用量ではすべて、担体投与群に比べて小腸における炭末移動距離に有意な影響は認められなかった。

硫酸モルヒネは 10 mg/kg の用量で、顕著で、統計学的に有意な小腸輸送能の低下を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 8-6)

骨格筋に及ぼす影響(傾斜板試験)

試験機関:ハンディンドン ライフ サイエンス社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年:1997年

検体の純度:

供試動物 : ICR 系雄マウス、約 6 週齢、体重:21~27 g、一群 5 匹合計 30 匹

方 法 : 約 18 時間絶食させたマウスに 0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0、200、1000 及び 5000 mg/kg の用量で、また、陽性対照物質としてメフェネシンを 400 及び 600 mg/kg の用量でそれぞれ 10 ml/kg の一定容量に調整して経口投与した。投与 0.5、1、2 及び 4 時間後にそれぞれマウスをキャンパス上に傾斜面の下降方向に向けて置いた。マウスがキャンパスをつかめなかった場合、あるいは後足の爪 1 本でキャンパスにつかまっている場合に筋弛緩作用が陽性であると判定した。

結 果 : 200、1000 及び 5000 mg/kg の用量で経口投与しても、傾斜板試験でマウスの筋緊張に有意な影響は認められなかった。

メフェネシンを 600 mg/kg の用量で経口投与すると、投与 0.5 及び 1 時間後に、統計学的に有意な筋弛緩作用の上昇が認められた。

メフェネシンは 400 mg/kg の用量でマウスの 60 %に弛緩作用を示したが、期待した統計学的有意差レベルには達しなかった。

(資料 8-7)

血液凝固に及ぼす影響

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年：1997 年

検体の純度：

供試動物：Wistar 系雄ラット、体重：150～180 g、一群 20 匹合計 100 匹

方 法：投与前夜絶食したラットに、0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0、200、1000 及び 5000 mg/kg の用量で、また、ワルファリンナトリウム(1 日目は 0.5、2-4 日目は 0.25 mg/kg)を、それぞれ 10 ml/kg の一定容量に調整して経口投与した。投与 60 分後、各群 10 匹から尾静脈穿刺により採血し、Dale および Laidlaw の方法にしたがって全血凝固時間を測定した。

別の 10 匹からは、イソフルラン浅麻酔下で心臓穿刺により採血した。血液試料を 3.8 %クエン酸ナトリウムと混合し(血液：クエン酸ナトリウム、9：1)、約 2000 rpm で 5 分間遠心分離した。Quick, A. J. の改良法、および Proctor, R. R. および Rapaport, S. I. の方法を用い、上清の血漿についてプロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結 果：5000 mg/kg の用量では、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の統計学的有意な軽度の増加が認められたが、この変化には生物学的意義はないと考えられた。プロトロンビン時間(PT)および全血漿凝固時間に、統計学的有意な影響は認められなかった。

200 及び 1000 mg/kg の用量では、測定した凝固パラメータに統計学的有意な変化は認められなかった。

並行してワルファリンナトリウムを負荷用量 0.5 mg/kg で経口投与し、その後 3 日間は毎日 0.25 mg/kg の用量で経口投与したところ、測定した凝固パラメータに顕著で、統計学的に有意な増加が認められた。

(資料 8-8)

尿及び電解質排泄に及ぼす影響

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス社

英国 [GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体の純度：

供試動物：Wistar 系雄ラット、約 8 週齢、体重：195～234 g、一群 8 匹合計 40 匹

方 法：投与前一夜絶食および投与前 2 時間絶水したラットに、0.5 %カルボキシメチルセルローズ水溶液に懸濁した検体 200、1000 及び 5000 mg/kg、陽性対照物質としてフルセミド 20 mg/kg を経口投与した(投与液量 25 ml/kg)。その後 24 時間尿を採取し 1、2、3、4、5 及び 24 時間の時点の尿量を記録した。5 時間の時点の尿サンプルについて、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- および総蛋白含量の分析を行った。

結 果：200、1000 及び 5000 mg/kg の用量で経口投与しても、尿量または尿中電解質および蛋白の排泄に有意な影響は認められなかった。

フルセミドを 20 mg/kg の用量で経口投与すると、投与後 24 時間の測定期間中の尿量に顕著で、統計学的に有意な増加が認められた。この尿量の増加は、顕著で統計学的に有意な尿中電解質排泄の増加を伴っていた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
Irwin (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 78.1 312.5 1250 5000	♂4匹	312.5	78.1	全用量で一般行動に対する影響は認められなかった。ただし312.5 mg/kg以上の投与群で、投与後5時間までに体温低下が認められ、投与後24時間では逆に体温上昇が認められた。
循環器/呼吸器 (ラット)	静脈内 (10 %ソルト-ル)	0 1 10 100	♂♀各2匹	100	10	100 mg/kgは雌には致死的で急速な呼吸停止を誘発した。同雄では心拍数の減少を伴う顕著な血圧反応が認められたが、呼吸器系パラメータには明瞭な影響はなかった。
自律神経系 (ネコ)	十二指腸内 (0.5 %CMC)	0 2000	♀3匹	-	2000	神経節前刺激瞬膜の反応、向側頸動脈閉塞およびノアドレリンの静脈内投与に対する血圧および心拍数の反応に、投与に関連した影響は認められなかった。
摘出回腸 (モルモット)	in vitro	0 * 0.005 0.05 0.5 5 50 500	-	500**	50**	浴槽中最終濃度 500 µg/mlではアセチルコリンおよび5-HT誘導収縮の阻害を示したが、ヒスタミンおよび塩化バリウム誘導収縮に対して有意な変化を示さなかった。また他の濃度では影響は認められなかった。
炭末輸送 (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 200 1000 5000	♂10匹	-	5000	全用量で小腸における炭末移動距離に影響は認められなかった。
骨格筋 (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 200 1000 5000	♂5匹	-	5000	全用量で傾斜板試験でマウスの筋緊張に影響は認められなかった。
血液凝固 (ラット)	経口 (0.5 %CMC)	0 200 1000 5000	♂20匹	-	5000	全用量でトロンボプラスチン時間、プロトロン時間、全血凝固時間に剤による影響はないと考えられた。
尿/電解質排泄 (ラット)	経口 (0.5 %CMC)	0 200 1000 5000	♂8匹	-	5000	全用量で尿量または尿中電解質および蛋白の排泄に影響は認められなかった。

* : 最終槽濃度 µg/ml

CMC : カルボキシメチルセルロース水溶液

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

2. 原体混在物及び代謝物

(1) 急性毒性

(資料 9 1)

のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体の純度：

供試動物：Fischer 系ラット、6 週齢、体重：雄 90～100 g 雌 83～87 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を 1% Tween 80 水溶液に懸濁して経口投与した(投与容量 20 ml/kg)。動物は投与前日の夕方から絶食させた。

観察・検査項目：毒性症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	投与後 1 時間から発現 投与後 1 日目に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	<5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000

毒性症状として、雌雄ともに自発運動の低下が投与後 1 時間目から認められたが、投与後 1 日目には消失した。

体重推移及び剖検において、検体の影響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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 9-2)

のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：セーフファーム ラボラトリーズ社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年：1999 年

検体の純度：

供試動物：ICR 系マウス、6～8 週齢、体重：雄 21～27 g 雌 20～22 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を落花生油に懸濁して経口投与した(投与容量 0.1 ml/10 g)。動物は投与前に 3～4 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物の肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	異常は認められなかった
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000

一般状態、体重推移及び剖検においても検体の影響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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 9-3)

のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：セーフファーム ラボラトリーズ社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年：1999 年

検体の純度：

供試動物：ICR 系マウス、6～8 週齢、体重：雄 23～28 g 雌 20～22 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を落花生油に懸濁して経口投与した(投与容量 0.1 ml/10 g)。動物は投与前に 3～4 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物の肉眼的病理検査を実施した。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	投与後 2 時間から発現 投与後 1 日目に消失
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	<5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000

中毒症状としては、背弯姿勢が観察され、雌の 1 例で眼瞼下垂も観察された。
体重推移及び剖検において、検体の影響は認められなかった。

(資料 9-4)

のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：セーフファーム ラボラトリーズ社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年：1999 年

検体の純度：

供試動物：ICR 系マウス、6～8 週齢、体重：雄 23～25 g 雌 20～22 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を落花生油に懸濁して経口投与した(投与容量 0.1 ml/10 g)。動物は投与前に 3～4 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物の肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	異常は認められなかった
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000

一般状態、体重推移及び剖検においても検体の影響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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(資料 9-5)

のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：セーフファーム ラボラトリーズ社

英国 [GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

供試動物：ICR 系マウス、6～8 週齢、体重：雄 24～26 g 雌 21～22 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を落花生油に懸濁して経口投与した(投与容量 0.1 ml/10 g)。動物は投与前に 3～4 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物の肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間 (雄のみ症状発現)	投与後 1 日目から発現 投与後 2 日目に消失
毒性徴候の認められなかつ た最高投与量(mg/kg)	<5000
死亡例の認められなかつ た最高投与量(mg/kg)	5000

中毒症状としては、雄の 2 例に背弯姿勢が投与後 1 日目のみに観察された。
体重推移及び剖検において、検体の影響は認められなかった。

(資料 9-6)

のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：セーフファーム ラボラトリーズ社
英国 [GLP 対応]
報告書作成年：1999 年

検体の純度：

供試動物：ICR 系マウス、6～8 週齢、体重：雄 23～28 g 雌 22～25 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を蒸留水に懸濁して経口投与した(投与容量 0.1 ml/10 g)。動物は投与前に 3～4 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物の肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	異常は認められなかった
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	5000

一般状態、体重推移及び剖検においても検体の影響は認められなかった。

(2) 変異原性

(資料 9-7)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ピー・エム・エル
[GLP 対応]
報告書作成年：1996 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames の方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、予備 (用量設定) 試験の結果、いずれの試験菌株に対しても抗菌性が認められなかった 5000 µg/プレート を最高用量とした。

試験濃度は 313~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート) で、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine-2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	144	20	34	26	17
	検体	1.2	127	14	24	23	16
		4.9	116	19	24	23	12
		20	132	16	21	27	15
		78	125	22	32	26	17
		313	140	21	27	28	18
		1250	130	23	25	25	13
		5000	150	21	26	22	11
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		739	351	167	550	1068	
+	対照	DMSO	123	19	30	36	17
	検体	1.2	109	16	26	34	18
		4.9	122	12	30	42	15
		20	136	20	30	29	17
		78	130	16	28	36	17
		313	126	15	33	37	17
		1250	128	18	30	34	15
		5000	127	19	26	38	20
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		1309	196	334	252	94	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	124	12	20	28	11
	検体	313	131	14	24	31	14
		625	124	14	22	38	14
		1250	120	14	22	33	15
		2500	138	13	21	33	12
		5000	126	9	22	36	11
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
$\mu\text{g}/\text{plate}$		0.01	0.5	0.01	0.1	1.0	
コロニー数/plate		850	388	211	623	1260	
+	対照	DMSO	137	16	26	37	10
	検体	313	130	9	31	42	16
		625	136	15	20	41	14
		1250	132	14	29	41	17
		2500	131	11	28	43	14
		5000	123	15	20	42	12
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
$\mu\text{g}/\text{plate}$		5.0	2.0	10.0	5.0	5.0	
コロニー数/plate		1062	177	411	258	97	

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(6-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine-2HCl ^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene

(資料 9-8)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ピー・エム・エル

[G.P 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames の方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、予備(用量設定)試験の結果、5000 µg/プレートの用量で検体の沈殿が認められ、TA1537 株に対してのみ生育阻害が認められたが、その他の菌株では抗菌性が認められないことから 5000 µg/プレートを最高用量とした。

TA1537 株を除く各菌株の試験濃度は、313~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量、TA1537 株の試験濃度は 156~5000 µg/プレートの範囲で 6 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-	対照	DMSO	154	10	13	26	9
	検体	1.2	127	10	24	28	11
		4.9	153	13	14	24	8
		20	117	13	14	21	8
		78	144	8	24	23	9
		313	147	11	17	21	13
		1250	141	15	18	22	9
		5000	133 #	10 #	18 #	26 #	6 #*
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		587	394	173	602	1933	
	対照	DMSO	148	10	25	37	22
	検体	1.2	153	12	26	38	24
		4.9	162	15	27	31	19
		20	155	11	28	35	14
		78	156	11	20	37	21
		313	146	11	25	45	15
		1250	145	11	26	39	18
		5000	148 #	8 #	24 #	34 #	14 #*
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		969	343	510	266	80	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー/プレート					
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-	対照	DMSO	127	10	15	19	9
	検体	156					12
		313	128	10	17	22	11
		625	118	11	22	22	12
		1250	131	9	19	23	11
		2500	129	11	18	14	13
		5000	114 #	12 #	18 #	15 #	8 #*
		陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}
	$\mu\text{g}/\text{plate}$		0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/plate		621	381	180	624	2070
+	対照	DMSO	125	13	22	26	15
	検体	156					25
		313	129	13	27	31	20
		625	138	16	24	36	25
		1250	139	10	29	30	20
		2500	141	7	26	30	23
		5000	136 #	7 #	30 #	28 #	16 #*
		陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}
	$\mu\text{g}/\text{plate}$		5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/plate		1025	357	605	254	102

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine \cdot 2HCl ^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene
#: プレート上に被験物質の沈殿を認める * : 生育阻害を認める

(資料 9-9)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ビー・エム・エル

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames の方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、予備(用量設定)試験の結果、5000 µg/プレートの用量で、TA100、TA1535 及び TA1537 株に対して生育阻害が認められ、その他の菌株では抗菌性が認められないことから 5000 µg/プレートを最高用量とした。

TA98 及び大腸菌の試験濃度は、313~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量、TA100、TA1535 及び TA1537 株の試験濃度は 156~5000 µg/プレートの範囲で 6 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine-2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 (µg/plate)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	121	13	20	23	11
	検体	1.2	134	16	27	23	16
		4.9	125	7	25	17	16
		20	146	15	24	18	17
		78	138	11	23	18	16
		313	137	9	22	24	14
		1250	145	7	27	16	14
		5000	116 *	9 *	28	12	10 *
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		µg/plate	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		597	401	143	685	2072	
+	対照	DMSO	156	12	26	32	21
	検体	1.2	152	12	24	37	22
		4.9	156	15	21	34	20
		20	161	12	24	25	15
		78	137	12	26	34	16
		313	155	11	20	35	17
		1250	127	15	32	36	14
		5000	100 *	7 *	20	27	11 *
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		µg/plate	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		966	322	517	294	82	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 (µg/plate)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	123	18	27	27	12
	検体	156	137	15			12
		313	134	12	30	27	14
		625	150	10	32	26	12
		1250	135	13	25	25	11
		2500	111	10	24	17	9
		5000	89 *	8 *	23	20	10 *
		陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}
	µg/plate		0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/plate		612	431	177	646	1976
+	対照	DMSO	163	8	32	38	21
	検体	156	155	14			22
		313	165	12	24	39	19
		625	149	10	30	32	15
		1250	167	14	28	34	18
		2500	133	13	28	34	17
		5000	93 *	11 *	25	22	10 *
		陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}
	µg/plate		5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/plate		997	345	556	273	94

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl
^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene
 *: 生育阻害を認める

(資料 9-10)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ビー・エム・エル

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames の方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、予備 (用量設定) 試験の結果、いずれの試験菌株に対しても抗菌性が認められなかった 5000 µg/プレート を最高用量とした。

試験濃度は 313~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino] acridine·2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	138	14	23	21	15
	検体	1.2	146	13	25	22	14
		4.9	137	15	20	23	16
		20	149	10	18	17	18
		78	159	13	19	18	13
		313	145	16	18	16	13
		1250	138	12	25	18	19
		5000	125	9	22	21	21
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/plate	643	420	151	647	2042	
+	対照	DMSO	136	14	21	28	12
	検体	1.2	144	20	27	26	14
		4.9	127	11	20	29	13
		20	153	9	21	40	13
		78	136	13	29	33	15
		313	158	14	26	29	19
		1250	138	9	26	32	15
		5000	139	11	23	29	12
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/plate	936	307	420	237	73	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	141	15	25	18	10
	検体	313	130	13	23	32	14
		625	143	15	25	24	17
		1250	145	11	24	24	18
		2500	129	13	26	20	16
		5000	128	9	21	17	17
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
	$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0	
	コロニー数/plate	543	404	143	659	1975	
+	対照	DMSO	155	12	21	30	18
	検体	313	141	13	19	30	21
		625	157	10	28	27	21
		1250	147	9	26	34	21
		2500	158	5	28	30	22
		5000	161	14	25	35	19
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
	$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0	
	コロニー数/plate	990	344	442	260	92	

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl ^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene

(資料 9-11)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ピー・エム・エル

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames の方法で変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、予備 (用量設定) 試験の結果、いずれの試験菌株に対しても抗菌性が認められなかった 5000 µg/プレート を最高用量とした。

試験濃度は 313~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量とし、各用量 2 枚のプレートをを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有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株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-	対照	DMSO	142	12	22	33	9
	検体	1.2	129	15	25	26	5
		4.9	133	17	22	27	6
		20	143	15	20	22	11
		78	138	16	24	27	11
		313	158	14	16	30	9
		1250	165	11	22	30	7
		5000	142	12	20	31	7
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		624	426	159	630	2012	
+	対照	DMSO	161	11	31	43	20
	検体	1.2	147	15	22	28	17
		4.9	155	16	24	39	17
		20	144	16	20	29	20
		78	149	11	19	42	21
		313	166	9	19	43	16
		1250	156	17	18	31	19
		5000	156	9	26	39	25
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		982	343	482	263	86	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー/プレート					
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-	対照	DMSO	126	12	24	21	11
	検体	313	145	13	26	15	13
		625	133	14	19	21	15
		1250	150	14	21	22	10
		2500	136	12	21	21	13
		5000	148	10	19	20	9
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
$\mu\text{g}/\text{plate}$		0.01	0.5	0.01	0.1	1.0	
コロニー数/plate		690	429	180	558	2091	
+	対照	DMSO	152	11	33	30	20
	検体	313	148	9	26	34	16
		625	127	12	25	20	23
		1250	159	9	20	30	14
		2500	135	14	26	29	18
		5000	122	16	26	29	22
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
$\mu\text{g}/\text{plate}$		5.0	2.0	10.0	5.0	5.0	
コロニー数/plate		1013	309	574	251	92	

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine-2HCl ^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene

(資料 9-12)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ビー・エム・エル

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100, TA1535, TA98, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames の方法で変異原性を検定した。

検体は注射用水に溶解し、予備(用量設定)試験の結果、5000 µg/プレートの用量で検体の沈殿が代謝活性化の場合に認められた。また、この用量で代謝活性化しない場合の TA98 と TA1537 株及び代謝活性化した場合のサルモネラ菌 4 株に対して生育阻害が認められ、その他の菌株では抗菌性が認められないことから 5000 µg/プレートを最高用量とした。

代謝活性化しない場合の TA98 と TA1537 株及び代謝活性化した場合のサルモネラ菌 4 株の試験濃度は、156~5000 µg/プレートの範囲で 6 用量、その他の菌株の試験濃度は 313~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 (µg/plate)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <u>uvrA</u>	TA98	TA1537
-	対照	注射用水	155	12	27	18	7
	検体	1.2	142	14	19	28	7
		4.9	141	14	27	23	10
		20	149	11	20	25	10
		78	130	11	25	20	6
		313	139	11	23	29	5
		1250	148	16	23	20	7
		5000	164	19	24	28 *	11 *
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		µg/plate	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		809	420	198	635	3091	
+	対照	注射用水	157	15	32	30	14
	検体	1.2	167	14	29	39	11
		4.9	165	13	30	42	15
		20	151	15	32	42	9
		78	160	13	27	29	12
		313	159	11	27	25	7
		1250	154	14	20	31	10
		5000	174 #*	13 #*	28 #	37 #*	7 #*
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		µg/plate	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		985	203	376	256	99	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 (µg/plate)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <u>uvrA</u>	TA98	TA1537
-	対照	注射用水	131	15	22	31	9
	検体	156				22	10
		313	118	12	19	26	8
		625	129	13	23	30	5
		1250	130	13	22	25	6
		2500	157	16	22	29	5
		5000	152	11	23	34 *	7 *
		陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}
	µg/plate		0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/plate		810	337	205	663	1518
+	対照	注射用水	155	12	22	31	10
	検体	156	154	12		42	7
		313	147	12	21	26	8
		625	136	10	17	29	7
		1250	170	11	21	26	7
		2500	157	10	20	30	6
		5000	175 #*	13 #*	15 #	33 #*	4 #*
		陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}
	µg/plate		5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/plate		889	152	398	231	85

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine-2HCl ^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene
#: プレート上に被験物質の沈殿を認める * : 生育阻害を認める

(資料 9-13)

の細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：(株)ビー・エム・エル

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) 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、予備 (用量設定) 試験の結果、いずれの試験菌株に対しても抗菌性が認められなかった 5000 µg/プレート を最高用量とした。なお、5000 µg/プレートの用量で検体の沈殿が認められた。

試験濃度は 313～5000 µg/プレートの範囲で 5 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて試験を行った。

試験結果：結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株にも復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、sodium azide 及び 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine・2HCl では S-9 Mix の非存在下で、benzo[a]pyrene 及び 2-aminoanthracene では S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験(用量設定試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-	対照	DMSO	100	11	19	17	13
	検体	1.2	100	11	19	16	13
		4.9	112	11	13	13	16
		20	97	11	20	14	19
		78	97	12	18	13	13
		313	111	12	15	16	9
		1250	106	8	24	16	8
		5000	85 #	17 #	24 #	18 #	13 #
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		531	390	177	510	1128	
+	対照	DMSO	102	6	30	26	24
	検体	1.2	113	6	25	29	14
		4.9	120	11	22	30	19
		20	103	11	20	29	17
		78	104	8	22	25	17
		313	108	9	25	28	18
		1250	124	8	24	26	20
		5000	115 #	10 #	15 #	25 #	27 #
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		786	260	628	184	75	

第2回目試験(本試験)

(表中の数値は2プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/プレート					
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-	対照	DMSO	118	15	32	30	12
	検体	313	121	11	31	30	10
		625	118	12	30	38	11
		1250	120	18	26	29	11
		2500	122 #	13 #	27 #	33 #	6 #
		5000	128 #	12 #	19 #	29 #	7 #
	陽性 対照	名称	AF-2 ^{a)}	NaN ₃ ^{b)}	AF-2 ^{a)}	AF-2 ^{a)}	ICR-191 ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
コロニー数/plate		593	421	179	558	1042	
+	対照	DMSO	131	10	29	39	21
	検体	313	131	8	35	38	21
		625	135	7	42	40	20
		1250	136	8	33	47	19
		2500	134 #	11 #	31 #	39 #	17 #
		5000	129 #	8 #	33 #	33 #	13 #
	陽性 対照	名称	B[a]P ^{d)}	2AA ^{e)}	2AA ^{e)}	B[a]P ^{d)}	B[a]P ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
コロニー数/plate		806	260	581	222	73	

^{a)}: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide ^{b)}: sodium azide ^{c)}: 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine \cdot 2HCl ^{d)}: benzo[a]pyrene ^{e)}: 2-aminoanthracene
 #: プレート上に被験物質の沈殿を認める * : 生育阻害を認める

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

(参考資料)

のラットにおける急性経口毒性試験

文献^{a)} (1967年)

化学名：

の毒性：ラットにおける急性経口毒性 LD_{50} 3250 mg/kg

以上より、申請者は の急性毒性は弱いと考える。

a)引用文献：

William E. Rinehart, et al., Range-finding Toxicity Data for 43 Compounds. Industrial Hygiene Foundation of America, Chemical and Toxicological Series, Bulletin 6, 1-11, 1967.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

3. 製剤

(資料 1-5)

ラットにおける急性経口毒性試験

試験機関：セーフファーム ラボラトリーズ社
英国 [GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体の純度：5.7 %フロアブル剤

組成；ベンゾピシクロン	5.7 %
水、界面活性剤 等	94.3 %

供試動物：SD 系ラット、8~12 週齢、体重：雄 204~226 g 雌 202~217 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間：14 日間観察

投与方法：検体を原液のまま経口投与した(投与容量 0.476 ml/100 g)。動物は投与前に一晩絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日日(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	異常は認められなかった
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

一般状態、体重推移及び剖検においても検体の影響は認められなかった。