

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(12) 繁殖及び催奇形性

① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 毒 19)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1991年[GLP対応]

検体純度：

供試動物：Cri:CD®BR系ラット、1群雌雄各30匹、投与開始時8週齢

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳時までの約19週間、F1世代；離乳時からF2児離乳時までの約24週間（1989年8月21日～1990年6月14日）

投与方法：検体を0、50、250、2500ppm含有した飼料を自由に摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物について、一般状態及び生死を毎日観察した。

体重；交配前期間中は全動物について体重を週1回測定し、交尾の確認された雌については、妊娠0、7、14及び21日並びに哺育0、7、14及び21日に体重を測定した。非妊娠雌及び雄は交配後も体重を週1回測定した。児動物の体重は出産時（生後0日）、生後4、7、14及び21日に測定した。

摂餌量；交配前期間中は全動物について摂餌量を週1回測定し、妊娠雌については、妊娠0、7及び14日に測定した。

交配及び妊娠の確認；雌を同群の雄と1対1で最長3週間同居させて交配を行い、膣栓が確認された場合に交尾成立と判断し、妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び哺育の各期間の観察に基づき次の指標を算出した。

妊娠期間；妊娠0日から出産日までの日数

交尾率（%）＝（交尾確認動物数／同居させた動物数）×100

受胎率（%）＝（妊娠雌動物数／交尾確認雌動物数）×100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

出産率 (%) = (生存児を出産した雌動物数 / 妊娠雌動物数) × 100

出生率 (%) = (生存出産児数 / 出産児数) × 100

4日生存率 (%) = (生後4日生存児数 / 生存出産児数) × 100

離乳率 (%) = (生後21日生存児数 / 生後4日児数調整後生存児数) × 100

性比 = 雄出生児数 / 総出生児数

試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成期間 (10 週)		生死及び一般状態の観察 (毎日) 体重・摂餌量測定; 週 1 回
	交配 (最長 3 週)	雌 1 対雄 1 で同居。交尾は膣栓で確認 (妊娠 0 日)	交尾率を記録
	妊娠 (3 週)		体重測定; 妊娠 0、7、14、21 日 摂餌量測定; 妊娠 0、7、14 日
	出産		妊娠期間、受胎率、出産率を記録 産児の数 (生存及び死亡)、体重、性比を記録
	哺育 (3 週)	生後 4 日に各同腹児数を 8 匹 (可能ならば雄 4 匹、雌 4 匹) に調整	母動物体重測定; 哺育 0、7、14、21 日 同腹児数及び児動物体重記録; 生後 4、7、14、21 日
	離乳	生後 21 日に F ₁ 離乳児から継代用の各群雄 30 匹雌 30 匹を選抜、その他は屠殺 P 世代親動物の屠殺	離乳率を記録 F ₁ 離乳児 (雌雄各 20 匹/群) の肉眼的病理検査 親動物の肉眼的病理検査、病理組織学的検査
F ₁	育成期間 (15 週)		(P 世代に準ずる)
	交配 (最長 3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
F ₂	哺育 (3 週)		(P 世代に準ずる)
	離乳	F ₂ 離乳児の屠殺 F ₁ 世代親動物の屠殺	(P 世代に準ずる)

肉眼的病理検査; P 世代及び F₁ 世代親動物はそれぞれの児動物離乳後に安楽死させ、全動物について肉眼的病理検査を行った。継代用に選抜されなかった F₁ 児動物及び全ての F₂ 児動物は離乳時に安楽死させ、各群雌雄各 20 匹を対象として肉眼的病理検査を行った。また、P 世代及び F₁ 世代の雄親動物については、精巣重量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

病理組織学的検査；P 世代及び F1 世代親動物については、対照群と 2500ppm 投与群の以下の組織及び全動物の肉眼的異常病変部について病理標本を作成し、鏡検した。

精巣、精巣上部、前立腺、精嚢、凝固腺、下垂体、卵巣、子宮（頸部、子宮角、体部）、膣

結果：概要を次表に示した。

親動物；一般状態観察において、2500ppm 群の F1 世代雄では過剰反応の発現頻度が対照群に比べて有意に減少した。しかし、これは F1 世代の対照群雄における過剰反応の発現頻度が高かったためであり、この変化が検体投与に関連するものであるか否かは不明である。その他の臨床症状は、いずれも検体投与に起因するものではないと考えられた。50ppm 群の F1 世代雌では、対照群に比して脱毛の発現頻度が有意に減少したが、用量相関性がないことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。

試験期間中、検体投与に起因すると考えられる死亡は認められなかった。

体重については、2500ppm 群の F1 世代雄で投与 1 週目から最終屠殺まで、対照群に比して体重が有意に減少した。2500ppm 群の両世代雌では、いくつかの時点で対照群に比して体重が減少した。2500ppm 群ではさらに、両世代の雌雄で交配前期間中の総体重増加量が対照群に比して減少したが、有意差が認められたのは F1 世代の雄のみであった。妊娠中の体重に影響は認められず、哺育期間中には逆に、両世代とも 2500ppm 群の雌の体重増加量は対照群に比して増加した。2500ppm 群の F1 世代雌では妊娠 14 日の体重が対照群に比して減少したが、妊娠中の体重増加量は対照群と差がないことから、検体投与に関連しないと考えられた。その他の群でみられた統計学的に有意な体重または体重増加量の変化は用量相関性がなく、検体投与に関連しないと考えられた。

摂餌量については、2500ppm 群の P 世代雌並びに F1 世代雌雄で対照群に比して有意に減少した。食餌効率には両世代の雌雄ともに検体投与に起因する悪影響が認められなかったことから、2500ppm 群でみられたこれらの摂餌量の低値は主に体重への影響に起因するものと考えられた。

臓器重量については、2500ppm 群の F1 世代雄で、平均最終体重が対照群に比して有意に減少したのに伴い、精巣の体重比重量が増加した。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において、検体投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

交尾率、受胎率または妊娠期間に有意差は認められなかった。

児動物；2500ppm 群の F2 児動物では、児数調整後の平均生存児数が対照群に比して有意に増加した。しかし、F1 世代には同様の変化はみられておらず、生存率の改善を示す変化であることから、検体投与に関連せず、生物学的にも意義のない変化であると考えられた。

2500ppm 群の F1 児動物では体重が対照群に比して減少したが、有意差が認められたのは児数調整後の雌のみであった。2500ppm 群の F2 児動物の体重も哺育期

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

間終了時に対照群に比して軽度減少した。この変化は、検体投与に関連する可能性があるが、平均同腹児数の増加に起因する可能性もある。50及び250ppm群のF2児動物にみられた体重の有意な増加は、用量相関性がないことから検体投与に関連しないと考えられた。

検体投与群の児動物での臨床症状の発現頻度に有意な増加は認められなかった。肉眼的病理検査において、検体投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

以上の結果より、2世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、2500ppm投与群で親動物に体重及び摂取量の低下が認められた。その他、検体投与に関連する可能性がある変化として、2500ppm投与群で親動物に過剰反応の発現頻度低下が、児動物には離乳時体重の減少が認められた。また、繁殖能に対しては何ら影響がみられなかった。

従って、無毒性量は親動物及び児動物に対して250ppm (P:雄14.6mg/kg/日、雌17.6mg/kg/日、F1:雄19.4mg/kg/日、雌22.5mg/kg/日)と判断される。繁殖については最高投与量の2500ppmでも影響がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要

世代		親 : P		児 : F1		親 : F1		児 : F2		
投与量 (ppm)		0	50	250	2500	0	50	250	2500	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	29 ^a	30	30	
死亡	雄	0	0	0	0	2 ^b	0	0	0	
	雌	0	0	0	0	2 ^c	0	1 ^b	1 ^b	
一般状態 ;										
雄 : 過剰反応		5	8	3	3	15	11	8	↓ 5	
雌 (生育期) : 脱毛		4	4	6	4	11	↓ 2	9	5	
親動物	平均体重 (g)	雄	生育7日							↓ 100.3
			生育14日							↓ 159.5
			生育21日							↓ 221.3
			生育28日							↓ 274.8
			生育35日							↓ 327.5
			生育42日							↓ 378.6
			生育49日							↓ 412.5
			生育56日							↓ 441.5
			生育63日							↓ 466.3
			生育70日							↓ 488.2
	生育77日							↓ 506.8		
	生育84日							↓ 523.4		
	生育91日							↓ 535.0		
	生育98日							↓ 547.1		
	生育105日							↓ 560.0		
	雌	生育7日				↓ 219.8				↓ 91.1
		生育91日								↓ 292.7
		生育105日								↓ 302.3
		妊娠7日		↑ 354.9						
		妊娠14日								↓ 367.4

a : 投与開始後に雄であることが判明したため、1例を除外した。

b : 離乳後1週間以内の死亡。用量相関性がないことから検体投与に関連しないと考えられた。

c : 1例は離乳後1週間以内の死亡。他の1例は妊娠9日に切迫屠殺した。

対照群との有意差の検定 (↑↓ : p<0.05)

Dunnett 検定 : 体重

Fisher 直接確率検定 : 臨床所見の発現頻度

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

世代		親 : P		児 : F1		親 : F1		児 : F2		
投与量 (ppm)		0	50	250	2500	0	50	250	2500	
親動物	体重増加量 (g)	雄	生育0-7日			↓ 39.9				↓ 45.9
			生育7-14日							↓ 59.1
			生育21-28日							↓ 53.5
			生育35-42日				↓ 21.3			
			生育42-49日			↓ 12.0				
			生育63-70日						↓ 21.7	
		生育期間中							↓ 505.6	
		雌	生育0-7日				↓ 15.6			
			生育42-49日			↓ 0.0				
			生育期間中							
			哺育0-21日							↑ 22.9
			生育7-14日							↓ 19.4
	生育14-21日								↓ 24.7	
	摂餌量 (g)	雄	生育21-28日							↓ 25.6
			生育28-35日							↓ 28.5
			生育35-42日							↓ 29.2
			生育42-49日							↓ 28.6
			生育56-63日							↓ 28.3
			生育63-70日							↓ 28.1
		雌	生育70-77日							↓ 28.5
			生育84-91日							↓ 27.9
			生育期間中							↓ 26.6
			生育0-7日				↓ 17.8			
			生育28-35日				↓ 18.4			
生育42-49日						↓ 17.9			↓ 20.1	
生育56-63日				↓ 18.1			↓ 19.4			
生育63-70日				↓ 17.1			↓ 20.4			
生育70-77日							↓ 19.3			
生育77-84日							↓ 19.7			
生育84-91日							↓ 20.0			
生育91-98日							↓ 20.2			
生育期間中				↓ 18.4			↓ 19.4			
妊娠0-7日				↓ 22.4						
妊娠0-14日				↓ 23.3						

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05)

Dunnnett 検定: 体重増加量、摂餌量

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

世代			親 : P				親 : F1				親 : F1				児 : F2																			
投与量 (ppm)			0				50				250				2500				0				50				250				2500			
親動物	食餌効率	雄	生育0-7日						↓0.231								↓0.426																	
			生育42-49日						↓0.062																									
	雌	生育0-7日						↓0.128																										
		生育7-14日						↑0.132												↑0.388														
		妊娠7-14日						↑0.191																										
	検体摂取量 (生育期)		雄	0	2.94	14.6	145	0	3.89	19.4	191	0	4.55	22.5	217	0	3.89	19.4	191	0	4.55	22.5	217											
	雄 : 最終体重 (g)		雌	0	3.54	17.6	173	0	4.55	22.5	217	0	4.55	22.5	217	0	4.55	22.5	217	0	4.55	22.5	217											
	精巣重量	絶対 (g)																																
		体重比 (%)																		↑0.6360														
	肉眼的病理検査			検体投与に起因する異常なし								検体投与に起因する異常なし																						
	病理組織学的検査			検体投与に起因する異常なし								検体投与に起因する異常なし																						
	交尾率 (%)																																	
	受胎率 (%)																																	
	妊娠期間 (日)																																	
出産率 (%)																																		
児動物	平均産児数																																	
	生存児数	生後0日																																
		生後4日 ^d																																
		生後4日 ^e										↑8.0																						
		生後7日										↑8.0																						
		生後14日										↑8.0																						
	生後21日										↑8.0																							
	出生率 (%)																																	
	4日生存率 (%)																																	
	離乳率 (%)																																	
性比																																		

d : 児動物数調整前。

e : 児動物数調整後。

対照群との有意差の検定 (↑↓ : p<0.05)

Dunnett 検定 : 食餌効率、最終体重、精巣重量、妊娠期間

Mann-Whitney U 検定 : 胎児数、胎児体重、出生率、4日生存率、離乳率

Fisher 直接確率検定 : 肉眼的病理所見及び病理組織学的所見の発現頻度、交尾率、受胎率

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

世代		親 : P				親 : F1				親 : F2				
投与量 (ppm)		0	50	250	2500	0	50	250	2500	0	50	250	2500	
児動物	体重 (g)	生後0日	雄											
			雌											
		生後4日 ^d	雄						↑ 11.9					
			雌						↑ 11.4					
		生後4日 ^e	雄						↑ 12.0					
			雌				↓ 10.6		↑ 11.4					
		生後7日	雄											
			雌				↓ 17.5		↑ 18.5					
		生後14日	雄											
			雌						↑ 37.9	↑ 37.7				
		生後21日	雄											
			雌				↓ 51.9							

d : 児動物数調整前。

e : 児動物数調整後。

対照群との有意差の検定 (↑↓ : p<0.05)

Mann-Whitney U 検定 : 胎児体重

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

② ラットにおける催奇形性試験

(資料 毒 8-2)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1988年[GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Cri:CD®BR 系妊娠ラット、交配開始時 10 週齢、1 群 25 匹

投与期間：妊娠 7 日から 16 日までの 10 日間

(1987 年 4 月 13 日交尾成立～5 月 15 日最終屠殺)

投与方法：検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、20、75、200 及び 500mg/kg/日の投与レベルで妊娠 7*) 日から 16 日までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

*) 膈栓により交尾を確認した日を妊娠 1 日とした。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物；個体別の臨床症状を妊娠 1～22 日の毎日午前中と妊娠 7～16 日の毎日午後に観察した。体重を妊娠 1 日、7～17 日及び 22 日に、摂餌量を妊娠 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19 及び 22 日に測定した。妊娠 22 日に屠殺して、肉眼的病理検査を行い、肝臓と妊娠子宮の重量を測定した。卵巣の黄体数と子宮の着床数、生存及び死亡胎児数、吸収胚数を記録した。

生存胎児；全生存胎児について、体重を測定し、性別を調べ、外表異常の有無を検査した。各同腹児群の約半数については内臓異常の有無を調べ、頭部をブアン液で固定後に検査した。また、全生存胎児についてアリザリンレッド S 染色骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次表に示した。

母動物；投与開始後 2 日間で 75mg/kg 投与群では有意な体重増加量の低下が認められ、200 及び 500mg/kg 投与群では体重が減少した [申請者注：報告書には平均体重の表がなく、統計解析が実施されていないため表に記載できなかった]。また、200 及び 500mg/kg 投与群では投与期間を通して体重増加量の有意な低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

摂餌量にも同様の影響がみられ、75mg/kg 投与群では投与開始後 2 日間で、200 及び 500mg/kg 投与群では投与開始後 4 日間に有意な減少が認められた。また、200 及び 500mg/kg 投与群では妊娠 7～17 日間の摂餌量にも有意な減少が認められた。その他には、500mg/kg 投与群で肝臓重量の増加が認められたが、検体投与に関連した臨床所見または剖検所見は認められなかった。

75mg/kg 投与群では投与期間中に、20 及び 500mg/kg 投与群では投与終了後期間中に、それぞれ臨床症状のみられた動物数が統計学的に有意に増加した。しかし、200mg/kg 投与群での増加はみられなかったことから、20 及び 75mg/kg 投与群での増加は生物学的に意義がなく、また、いずれも症状発現動物数と投与量との間に用量相関性がなかったことから、検体投与に関連しないと考えられた。

着床所見のいずれについても検体投与の影響はみられなかった。

75 及び 200mg/kg 投与群では生存雌胎児数に有意な増加がみられたが、用量相関性がなかったことから、検体投与に関連しないと考えられた。

生存胎児；500mg/kg 投与群で胎児体重の減少、200 及び 500mg/kg 投与群で骨格変異を有する胎児数の増加が認められた。体重への影響は雌の胎児体重についてのみ統計学的に有意であった。また、500mg/kg 投与群では発育遅延による骨格変異の発現率にも有意な増加が認められた。しかし、検体投与に起因した異常の発生は認められなかった。

20 及び 75mg/kg 投与群では雄胎児体重に有意な増加がみられたが、用量相関性がなかったことから、検体投与に関連しないと考えられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量は 20mg/kg/日、胎児動物における無毒性量は 75mg/kg/日であった。また、最高投与量の 500mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		対照	20	75	200	500	
1群当りの動物数		25	25	25	25	25	
母動物	妊娠動物数	24	23	23	23	24	
	死亡数	0	0	0	0	0	
	全胚吸収	0	0	0	0	0	
	一般状態の変化	妊娠 7-16 日 ^a	1	↑7	↑6	4	↑13
		妊娠 17-22 日 ^b	1	↑6	3	5	↑6
	体重増加量 (g)	妊娠 7-9 日	7.9	6.9	↓2.5	↓-5.1	↓-5.3
		妊娠 7-17 日	54.8	52.7	50.0	↓43.7	↓45.0
		妊娠 7-22 日	77.3	78.0	↑87.3	83.9	80.3
	摂餌量 (g)	妊娠 1-7 日	21.7	22.2	↑24.0	22.8	22.9
		妊娠 7-9 日	22.6	22.1	↓19.9	↓14.3	↓13.0
		妊娠 9-11 日	22.4	22.5	22.7	↓19.9	↓18.6
		妊娠 7-17 日	23.4	23.9	23.8	↓21.0	↓20.9
		妊娠 17-22 日	25.6	26.8	↑28.1	26.1	27.5
	肉眼的病理所見		検体投与に起因する異常なし				
	肝臓重量	絶対 (g)	15.8	16.0	16.4	16.4	↑17.8
		対体重比 (%)	5.0	5.0	5.1	5.2	↑5.6
	着床所見	検査母動物数		24	23	23	23
平均黄体数		16.5	16.7	17.3	17.0	17.0	
平均着床数		14.6	13.7	14.9	15.1	14.7	
平均生存胎児数		雄	7.3	5.9	6.3	6.6	7.1
		雌	6.5	7.3	↑8.0	↑7.2	6.6
		合計	13.8	13.2	14.3	13.8	13.8
死亡胎児数		0	0	0	0	0	
平均吸収胚数		早期	0.9	0.5	0.6	1.3	1.0
	後期	0	0	0	0	0	
胎児	性比 ^c		53	45	44	48	51
	生存胎児体重 (g) ^d	雄	5.21	↑5.38	↑5.46	5.27	5.11
		雌	5.06	5.06	5.20	5.04	↓4.85
	矮小胎児数		0	1	1	2	0

a: 脱毛、鼻、眼、口周囲等の汚れ、下痢、嗜眠、衰弱、ただれのいずれかの所見がみられた動物数を示す。

b: 脱毛がみられた動物数を示す。

c: 申請者が各群の全雄胎児数と全生存胎児数から、(全雄胎児数/全生存胎児数) × 100 として算出した。

d: 矮小胎児のデータは除外した。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

Dunnett 検定: 体重増加量、摂餌量、肝臓重量

Mann-Whitney U 検定: 黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数、胎児体重

Fisher 直接確率検定: 死亡率、妊娠率、臨床所見の発現頻度、全胚吸収の母動物数

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		対照	20	75	200	500
外表 検査	検査胎児 (腹) 数	330 (24)	304 (23)	329 (23)	318 (23)	330 (24)
	外表異常胎児 (腹) 数	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	鎖肛	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	痕跡尾	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	外表異常胎児率 (各腹%)	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0
	外表変異胎児 (腹) 数	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	3 (1)
	皮下水腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1)
	皮下出血	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	外表変異胎児率 (各腹%)	0.0	0.3	0.0	0.0	0.8
胎児 動物 内臓 検査	検査胎児 (腹) 数	171 ^d (24)	159 (23)	171 (23)	166 ^d (23)	171 (24)
	内臓異常胎児 (腹) 数	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
	右大動脈弓	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	腎乳頭欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	腹壁破裂	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	内臓異常胎児率 (各腹%)	0.5	0.0	0.5	0.5	1.1
	頭部異常胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	水頭	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	小眼球	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	頭部異常胎児率 (各腹%)	0.0	0.0	0.5	0.0	0.5
	内臓変異胎児 (腹) 数	52 (20)	43 (19)	46 (17)	62 (21)	42 (19)
	総動脈幹	2 (2)	1 (1)	0 (0)	2 (1)	0 (0)
	総肺動脈幹	3 (2)	0 (0)	3 (2)	1 (1)	3 (3)
	過剰血管	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	腎盂拡張	3 (1)	1 (1)	0 (0)	3 (2)	0 (0)
	腎乳頭の小型化 (サイズ1°)	3 (2)	3 (3)	1 (1)	5 (4)	2 (2)
	腎乳頭の小型化 (サイズ2°)	18 (11)	8 (6)	5 (5)	14 (6)	8 (7)
尿管拡張	48 (18)	42 (19)	44 (17)	57 (19)	39 (17)	
内臓変異胎児率 (各腹%)	30.7	27.6	27.4	37.1	26.5	
骨格 検査	検査胎児 (腹) 数	330 (24)	304 (23)	329 (23)	318 (23)	330 (24)
	骨格異常胎児 (腹) 数	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	小顎	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	鼓室輪癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	椎骨無発生	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格異常胎児率 (各腹%)	0.3	0.3	0.0	0.0	0.0	

d: 1例は頭部を検査しなかった。

e: 腎乳頭について、ない場合は0、小型化は小さいものから1~3に分類された。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

Mann-Whitney U 検定: 外表、内臓及び骨格異常または変異がみられた胎児率 (各腹%)

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		対照	20	75	200	500
胎 児 動 物 骨 格 検 査	骨格変異胎児 (腹) 数	9 (6)	11 (7)	7 (6)	31 (12)	157 (20)
	椎骨欠損	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	椎骨過剰	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (5)	110 (16)
	肋骨肥大	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	3 (2)
	痕跡状頸肋	3 (3)	2 (2)	1 (1)	2 (2)	5 (4)
	痕跡状腰肋	4 (4)	8 (4)	4 (3)	18 (8)	34 (17)
	肋骨肥厚	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	1 (1)
	胸骨分節異常配列	2 (1)	2 (2)	0 (0)	4 (3)	3 (3)
	腸骨片側の尾側移動	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	14 (7)
	骨格変異胎児率 (各腹%)	2.7	3.3	2.2	↑9.6	↑50.1
	発育遅延による骨格変異胎児 (腹) 数	61 (18)	34 (16)	57 (21)	55 (18)	158 (24)
	前頭骨不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	頭頂間骨不完全骨化	37 (16)	16 (10)	26 (14)	28 (14)	59 (19)
	上顎骨不完全骨化	10 (7)	3 (3)	8 (5)	2 (2)	7 (5)
	頭頂骨不完全骨化	11 (6)	4 (4)	9 (4)	7 (5)	15 (9)
	側頭鱗不完全骨化	10 (5)	1 (1)	6 (4)	2 (2)	7 (4)
	上後頭骨不完全骨化	17 (8)	9 (6)	14 (7)	9 (5)	36 (15)
	頬骨不完全骨化	11 (6)	3 (3)	10 (5)	5 (4)	15 (7)
	椎骨二分	7 (4)	1 (1)	6 (5)	14 (7)	40 (13)
	椎骨亜鈴型	6 (5)	2 (2)	6 (5)	14 (9)	71 (23)
	椎骨不完全骨化	4 (3)	4 (3)	8 (5)	1 (1)	31 (14)
	椎骨未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (2)
	肋骨不完全骨化	5 (3)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
	13肋骨痕跡状	6 (6)	2 (1)	4 (4)	1 (1)	1 (1)
	波状肋骨	6 (3)	2 (2)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
	胸骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	7 (5)
	胸骨分節未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	舌骨未骨化	3 (2)	6 (5)	8 (5)	4 (3)	8 (6)
	坐骨不完全骨化	0 (0)	0 (0)	5 (3)	1 (1)	7 (5)
	恥骨不完全骨化	0 (0)	0 (0)	6 (2)	0 (0)	9 (6)
	大腿骨不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	発育遅延による骨格変異胎児率 (各腹%)	18.4	10.9	17.7	17.0	↑50.9

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01)

Mann-Whitney U 検定: 外表、内臓及び骨格異常または変異がみられた胎児率 (各腹%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

③ ウサギにおける催奇形性試験

(資料 毒 8-3)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1987年[GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Hra:(NZW)SPF 系妊娠ウサギ、1 群雌 20 匹、投与開始時 26 週齢

投与期間：妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間

(1987 年 8 月 2 日投与開始～1987 年 8 月 28 日最終屠殺)

投与方法：検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、30、100、300 及び 500mg/kg/日の投与レベルで妊娠 7*) 日から 19 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

*) 人工授精日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；臨床症状を妊娠 0～29 日の毎日午前中と妊娠 7～19 日（投与期間中）の毎日午後
に観察した。体重は妊娠 0 日、7～20 日及び 29 日に、摂餌量は妊娠 0～29 日の間
毎日測定した。妊娠 29 日に屠殺して、肉眼による病理学的検査を行い、肝臓と妊
娠子宮の重量を測定した。卵巣の黄体数と子宮内の着床数、生存及び死亡胎児数、
吸収胚数を記録した。

生存胎児；全胎児について、体重を測定し、外表異常の有無を検査した。全生存胎児は内
臓異常の有無を調べ、内部生殖器官から性別を判定し、未固定の脳を検査した。
また、全生存胎児についてアリザリンレッド S 染色骨格標本作製し、骨格異常
の有無を検査した。

結 果：概要を次頁の表に示した。

母動物；試験中、500mg/kg 投与群の雌 2 匹が死亡したが、いずれも検体投与に関連はない
と判定された。その他の雌はすべて、計画屠殺時まで生存した。300 及び 500mg/kg
投与群では、妊娠 7 日～10 日に対照群と比較して統計学的に有意な用量相関性の
極度の体重減少がみられた。300 及び 500mg/kg 投与群でみられた体重の減少は回
復がみられ、妊娠 16 日～20 日の体重増加量には対照群と比べ明らかな差異はな
かった。300 及び 500mg/kg 投与群の摂餌量は、投与期間を通じ、対照群と比べ有

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

意に低かった。投与期間終了後では、300 及び 500mg/kg 投与群の体重増加量及び摂餌量は、対照群と比べて高値であった。しかし、妊娠 29 日でも、300 及び 500mg/kg 投与群の雌の平均体重は、依然として対照群と比べ有意ではないがわずかに少なかった。30 及び 100mg/kg 投与群の体重及び摂餌量は対照群と有意差はなかった。

臨床所見の発生頻度については、対照群と投与群の間で有意差は全くみられなかった。剖検では、検体投与に関連すると考えられる病変は全く認められず、投与群の肝臓重量は対照群と有意差がなかった。

対照群と比較して、投与群の妊娠率、流早産数、全胚吸収のみられた雌数に有意差はみられなかった。

生存胎児；300 及び 500mg/kg 投与群では、吸収胚数が増加すると同時に、平均生存胎児数が減少した。30 及び 100mg/kg 投与群での平均生存胎児数並びに吸収胚数は、対照群と同等であった。投与群の平均胎児体重は、対照群と有意差がなかった。対照群と比較して、いずれの投与群においても胎児異常または変異に生物学的意義のある差はみられなかった。

300 及び 500mg/kg 投与群では、生存雌胎児数が対照群と比較して有意に減少したが、対照群の雌胎児数が多かったためであり、胎児の生存に性の影響はないと考えられた。

500mg/kg 投与群で骨格変異を有する胎児の有意な増加がみられた。これは 13 肋骨の発現頻度が高かったためであるが、13 肋骨及び痕跡状 13 肋骨はウサギに高頻度にみられる所見であり、この増加は生物学的に有意であるとは考えられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は 100mg/kg/日であった。また、最高投与量の 500mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要

投与量 (mg/kg/日)		対照	30	100	300	500	
1群当りの動物数		20	20	20	20	20	
母動物	妊娠動物数	20	17	20	17	19	
	流産数	2	0	0	0	1	
	早産数	1	0	2	1	0	
	死亡数	0	0	0	0	2 ^a	
	全胚吸収	1	0	1	2	0	
	一般状態		検体投与に起因する異常なし				
	体重 (g)	妊娠 9 日	4082.9	4108.1	4079.9	3984.1	↓ 3851.8
		妊娠 10 日	4069.0	4120.7	4075.4	3977.9	↓ 3826.2
		妊娠 11 日	4085.3	4116.7	4079.9	3956.9	↓ 3807.6
		妊娠 12 日	4111.6	4153.8	4108.6	3962.1	↓ 3804.7
		妊娠 13 日	4130.3	4175.6	4114.3	3978.5	↓ 3814.3
		妊娠 14 日	4181.5	4214.0	4152.3	↓ 3975.0	↓ 3822.6
		妊娠 15 日	4175.9	4227.2	4160.1	3982.8	↓ 3849.4
		妊娠 16 日	4182.9	4252.5	4188.9	3991.9	↓ 3830.4
妊娠 17 日		4169.7	4244.2	4199.5	3970.0	↓ 3813.3	
妊娠 18 日		4163.4	4238.3	4197.6	3971.9	↓ 3809.4	
妊娠 19 日		4155.5	4223.6	4207.4	3966.1	↓ 3826.4	
妊娠 20 日	4142.0	4224.0	4221.1	3954.2	↓ 3820.0		
妊娠 24 日	4225.6	4318.0	4276.3	4053.8	↓ 3967.0		
体重増加量 (g)	妊娠 7-10 日	-21.7	-19.1	-13.6	↓ -116.8	↓ -255.4	
	妊娠 10-13 日	61.2	54.9	38.9	↓ 0.7	↓ -11.9	
	妊娠 7-20 日	51.4	84.2	132.1	↓ -140.5	↓ -261.6	
	妊娠 20-29 日	127.8	139.7	68.4	199.8	↑ 273.8	
摂餌量 (g)	妊娠 7-10 日	149.0	150.3	142.9	↓ 93.5	↓ 42.6	
	妊娠 10-13 日	144.1	147.2	131.4	↓ 69.7	↓ 35.0	
	妊娠 13-16 日	141.7	144.7	129.7	↓ 72.5	↓ 54.4	
	妊娠 16-20 日	127.5	137.0	141.1	↓ 78.7	↓ 74.5	
	妊娠 7-20 日	139.6	144.2	136.7	↓ 78.6	↓ 53.4	
	妊娠 24-29 日	100.1	111.7	96.7	130.8	↑ 147.8	
	妊娠 20-29 日	114.7	124.6	115.6	134.2	↑ 146.7	
肉眼的病理所見		検体投与に起因する異常なし					
肝臓重量	絶対 (g)	114.4	123.9	124.9	126.4	126.4	
	対体重比 (%)	3.0	3.1	3.2	3.3	3.4	

a: 1例は妊娠 25 日に死亡し、剖検の結果、大きな胃毛球が腸管を塞いでいるのがみられた。他の 1例は妊娠 29 日に死亡した。死因は不明であったが、最終投与後 9 日間生存していたことから検体投与に関連しないと考えられた。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05)

Dunnnett 検定: 体重、体重増加量、摂餌量、肝臓重量

Fisher 直接確率検定: 死亡率、妊娠率、臨床所見の発現頻度、全胚吸収の母動物数

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

		投与量 (mg/kg/日)	対照	30	100	300	500	
母動物	着床所見	検査母動物数	16	17	17	14	16	
		平均黄体数	10.4	10.5	10.1	10.9	9.9	
		平均着床数	8.6	7.9	8.6	7.7	7.9	
		平均生存胎児数	雄	3.3	3.3	3.8	3.6	3.9
			雌	4.8	3.9	4.6	↓3.0	↓3.0
			合計	8.1	7.4	8.4	6.6	6.9
		死亡胎児数	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		平均吸収胚数	早期	0.3	0.3	0.1	0.4	0.6
			後期	0.2	0.2	0.2	↑0.8	0.4
		胎児動物	性比 ^b		41	45	45	55
生存胎児体重 (g) ^c	雄			42.32	42.25	41.44	44.82	41.70
	雌			41.69	44.32	41.62	42.82	40.62
矮小児数	4		1	7	1	0		
外表検査	検査胎児 (腹) 数		129 (16)	125 (17)	142 (17)	92 (14)	110(16)	
	外表異常胎児 (腹) 数		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	
	ドーム頭		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	口蓋裂		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	外表異常胎児率 (各腹%)		0.0	0.0	1.0	0.0	0.8	
内臓検査	検査胎児 (腹) 数		129 (16)	125 ^d (17)	142 (17)	92 (14)	110(16)	
	内臓異常胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	1 (1)		
	大心臓血管の複合異常	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	1 (1)		
	心臓の複合異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
	心臓中隔欠損	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)		
	内臓異常胎児率 (各腹%)	0.0	0.0	1.3	0.0	0.8		
	頭部異常胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
	外水頭	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
	頭部異常胎児率 (各腹%)	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0		
	内臓変異胎児 (腹) 数	92 (16)	94 (17)	86 (17)	70 (12)	69 (15)		
	膀胱出血	28 (12)	8 (6)	12 (7)	14 (6)	10 (7)		
	胆嚢小	1 (1)	3 (2)	0 (0)	6 (2)	1 (1)		
	左頸動脈と無名動脈の乖離	63 (16)	71 (14)	65 (16)	43 (11)	52 (14)		
	腎臓結石	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
	腎臓被膜下出血	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)		
過剰血管	46 (15)	36 (14)	31 (12)	27 (11)	21 (10)			
内臓変異胎児率 (各腹%)	73.6	75.4	63.7	70.4	64.2			

b: 申請者が各群の全雄胎児数と全生存胎児数から、(全雄胎児数/全生存胎児数) × 100 として算出した。

c: 矮小胎児のデータは除外した。

d: 1 例は内臓を検査しなかった。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05)

Mann-Whitney U 検定: 黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数、胎児体重、外表、内臓及び骨格異常または変異がみられた胎児率 (各腹%)

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結果の概要 (つづき)

		投与量 (mg/kg/日)	対照	30	100	300	500
内臓検査	発育遅延による内臓変異胎児 (腹) 数		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	腎乳頭の小型化 (サイズ 1~2) ^e		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	発育遅延による内臓変異胎児率 (各腹%)		1.3	0.0	0.0	0.0	0.0
胎児動物 骨格検査	検査胎児 (腹) 数	129 (16)	125 (17)	142 (17)	92 (14)	110 (16)	
	骨格異常胎児 (腹) 数	1 (1)	3 (3)	4 (4)	0 (0)	2 (2)	
	肋骨分岐	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	肋骨癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	頭蓋骨の複合異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	胸骨分節癒合	0 (0)	1 (1)	3 (3)	0 (0)	1 (1)	
	半腰椎	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	胸椎癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	半胸椎	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	胸椎体/胸椎弓異常配列	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	胸椎弓変形	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	骨格異常胎児率 (各腹%)	0.9	2.0	3.0	0.0	1.4	
	骨格変異胎児 (腹) 数	79 (16)	77 (16)	80 (15)	62 (12)	93 (16)	
	舌骨弯曲	0 (0)	6 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	数珠状肋骨	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	肋骨肥大	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	肋骨肥厚	10 (8)	4 (3)	9 (5)	9 (7)	7 (5)	
	痕跡状 13 肋骨	26 (13)	22 (11)	24 (13)	18 (8)	11 (8)	
	13 肋骨	55 (14)	58 (13)	58 (14)	46 (11)	83 (16)	
	胸骨分節過剰	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	第 1 頸椎体上過剰骨化部	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	骨格変異胎児率 (各腹%)	59.9	66.4	62.8	65.7	↑ 87.3	
	発育遅延による骨格変異胎児 (腹) 数	17 (8)	16 (7)	41 (12)	12 (5)	31 (10)	
	波状鎖骨	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	恥骨不完全骨化	4 (2)	2 (1)	7 (4)	0 (0)	5 (2)	
	前頭骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	16 (4)	1 (1)	14 (4)	
	上顎骨不完全骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
	頭頂骨不完全骨化	0 (0)	0 (0)	4 (1)	0 (0)	1 (1)	
	上後頭骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	9 (3)	1 (1)	0 (0)	
	胸骨分節不完全骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
胸骨分節未骨化	12 (6)	8 (4)	21 (10)	6 (3)	12 (7)		
足根骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)		
頸椎不完全骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
発育遅延による骨格変異胎児率 (各腹%)	12.8	13.3	27.9	10.4	27.6		

e: 腎乳頭について、ない場合は 0、小型化は小さいものから 1~3 に分類された。

対照群との有意差の検定 (↑↓: p<0.05)

Mann-Whitney U 検定: 外表、内臓及び骨格異常または変異がみられた胎児率 (各腹%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(13) 変異原性

① 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 毒9)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年:1978年(本試験)

1983年(追加試験)

検体純度:

試験方法:ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2 *hcr* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、本試験 (1978 年実施) では 10 ~5000 μ g/プレート の範囲の 6 濃度、追加試験 (1983 年実施) では 5000 及び 10000 μ g/プレート の 2 濃度で実施した。試験は 2 連制とした。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

2 回の試験において、検体は S9 mix の存在の有無にかかわらず、最高用量 10000 μ g/プレート まで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、 β -プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレン、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジンでは S9 mix 非存在下において 2-アミノアントラセンでは S9 mix 存在下において、各試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、プロマシル原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰変異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丸和バイオケミカル株式会社にある。

本試験

(表中の数値は2連の平均値*)

薬物	濃度 (μ g/プレート)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)	0	—	20	17	105	8	11	19
プロマシル原体	10	—	13	14	110	6	10	23
	50	—	14	14	114	7	13	19
	100	—	13	14	112	9	9	17
	500	—	12	15	105	11	8	20
	1000	—	10	14	96	4	9	15
	5000	—	12	6	62	4	10	14
溶媒対照 (DMSO)	0	+	15	9	86	9	15	17
プロマシル原体	10	+	14	4	108	13	20	19
	50	+	8	10	115	6	10	20
	100	+	14	9	106	8	18	19
	500	+	12	13	119	6	16	16
	1000	+	11	8	113	9	14	18
	5000	+	10	3	90	0	15	11
陽性 対照	AF-2	0.05	—			756		
		0.1	—					464
		0.25	—	>2000				
	β -PL	50	—		1046			
	2-NF	50	—				>3000	
	9-AA	200	—				10000	
	2-AA	10	—	15	19	152	15	15
+			61	277	>2000	314	>2000	>2000

* : 申請者が算出した。

陽性対照

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

β -PL : β -プロピオラクトン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

追加試験

(表中の数値は2連の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2 <i>hcr</i>	TA98	TA1537	TA1538	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	114	28	12	30	8	10	
プロマシル原体	5000	—	109	17	11	17	0	5	
	10000	—	24 ^a	0	5 ^a	0	0	0	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	96	9	17	28	8	27	
プロマシル原体	5000	+	67	6	12	27	6	23	
	10000	+	35 ^a	1 ^a	9 ^a	17 ^a	0	9 ^a	
陽性 対照	AF-2	0.01	—	444					
		0.04	—			359			
		0.1	—				487		
	2-NF	2	—						258
	ENNG	10	—		483				
	9-AA	80	—					>2000	
	2-AA	0.5	—	128			40		9
		2	—		31			9	
		40	—			19			
		0.5	+	427			287		272
		2	+		193			125	
40	+			>1000					

a : 菌株の生育阻止を認める。

陽性対照

- AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
- 2-NF : 2-ニトロフルオレン
- ENNG : *N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン
- 9-AA : 9-アミノアクリジン
- 2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

② 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 毒 20)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年: 1988年[GLP 対応]

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA1535 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、50~5000 μ g/プレートの範囲の6濃度で実施した。試験は2連制とし、2回行った。

用量設定根拠;

試験結果: 結果を次表に示した。

2回の試験において、検体は S9 mix の存在の有無にかかわらず、最高用量 5000 μ g/プレートまで、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたアジ化ナトリウム、ICR-191 アクリジン、2-ニトロフルオレンでは S9 mix 非存在下において、2-アミノアントラセンでは S9 mix 存在下において、各試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、プロマシル原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰変異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丸和バイオケミカル株式会社にある。

試験 1

(表中の数値は2連の平均値*)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA97	TA98	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	18	124	111	20	
検体	50	—	23	130	117	17	
	100	—	17	119	116	14	
	500	—	17	131	133	16	
	1000	—	20	129	132	19	
	2500	—	16	97	126	16	
	5000	—	9	77	49	11	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	11	127	147	34	
検体	50	+	14	125	144	30	
	100	+	22	128	137	45	
	500	+	16	125	145	30	
	1000	+	18	128	152	38	
	2500	+	11	104	151	33	
	5000	+	12	91	117	29	
陽性 対照	NAAZ	2	—	657	769		
	ICR-191	2	—			2070	
	2-NF	25	—			1371	
	2-AA	1	+		1625	1171	
		2	+	281			2157

* : 申請者が算出した。

各濃度の検体処理群と溶媒対照群との有意差検定は平均2乗誤差推定を用いて行った。

陽性対照

NAAZ : アジ化ナトリウム

ICR-191 : ICR-191 アクリジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

2-AA : 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丸和バイオケミカル株式会社にある。

試験 2

(表中の数値は 2 連の平均値*)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA97	TA98	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	15	96	114	15	
プロマシル原体	50	—	14	101	113	11	
	100	—	17	96	115	20	
	500	—	9	102	122	20	
	1000	—	12	113	106	21	
	2500	—	7	100	122	13	
	5000	—	5	55	32	15	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	14	100	121	26	
プロマシル原体	50	+	12	107	129	34	
	100	+	8	113	136	36	
	500	+	13	117	139	22	
	1000	+	11	119	160	29	
	2500	+	10	101	166	29	
	5000	+	8	88	133	24	
陽性 対照	NAAZ	2	—	456	657		
	ICR-191	2	—			2040	
	2-NF	25	—				1704
	2-AA	1	+		1456	1752	
		2	+	192			2072

* : 申請者が算出した。

各濃度の検体処理群と溶媒対照群との有意差検定は平均 2 乗誤差推定を用いて行った。

陽性対照

- NAAZ : アジ化ナトリウム
- ICR-191 : ICR-191 アクリジン
- 2-NF : 2-ニトロフルオレン
- 2-AA : 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丸和バイオケミカル株式会社にある。

③ チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 毒9-2)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年: 1988年[GLP対応]

検体純度:

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、6-チオグアニン存在下でのコロニー増殖を指標とするヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) 遺伝子座の突然変異誘発性を検定した。

検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S9 mix 非存在下では 18~19 時間、S9 mix 存在下では 5 時間、細胞を検体で処理した。試験は 2 連制とし、S9 mix 存在下で 2 回、S9 mix 非存在下で 3 回行った。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下では、いずれの濃度においても検体処理群の突然変異細胞の発生頻度に有意な増加は認められず、用量相関性も認められなかった。

S9 mix 存在下では、1 回目試験においては 1485 及び 1980 $\mu\text{g/mL}$ で極めて強い細胞毒性が認められたため、これらの濃度での突然変異細胞の観察は不可能であったが、1188 $\mu\text{g/mL}$ を最高濃度とした 2 回目試験では、いずれの濃度においても突然変異細胞の発生頻度に有意な増加は認められず、用量相関性も認められなかった。

一方、陽性対照であるメタンサルホン酸エチルエステルでは S9 mix 非存在下において、9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセンでは S9 mix 存在下において、いずれの試験においても突然変異頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果から、プロマシル原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表1 S9 mix 非存在下

	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	相対細胞生存率 ^a (%)	コロニー形成率 ^b (%)	突然変異頻度 ^c ($\times 10^{-6}$)
1 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	105.6 94.4	62.6 72.9	3.2 0
	プロマシル原体	99	103.8 110.0	59.3 71.3	33.7 47.7
		297	93.8 98.8	62.7 74.3	55.8 4.0
		594	96.8 70.4	56.3 50.2	44.4 6.0
		792	51.7 90.9	57.9 67.7	22.5 5.9
		990	27.1 18.6	57.8 60.2	12.1 0
	陽性対照 (EMS)	62.1	72.9 71.4	50.9 56.4	375.2* 253.5
	2 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	102.8 97.2	88.2 94.7
プロマシル原体		99	90.7 78.2	76.0 76.2	0 3.9
		297	96.6 96.7	82.4 68.6	0 5.8
		594	75.3 78.6	84.2 85.6	0 0
		792	19.8 36.2	72.1 73.6	5.5 2.7
		990	17.0 6.0	94.6 86.0	0 3.5
陽性対照 (EMS)		62.1	78.5 88.3	84.8 76.1	224.1* 202.4
3 回目 試験		溶媒対照 (DMSO)	0	93.3 106.7	70.7 75.3
	プロマシル原体	99	101.8 107.1	72.5 83.7	2.8 6.0
		297	88.1 119.3	62.5 66.2	14.4 16.6
		594	103.5 104.9	63.2 84.0	6.3 2.4
		792	100.8 100.7	66.8 59.4	16.5 23.6
		990	82.3 75.2	73.2 66.8	2.7 56.9
	陽性対照 (EMS)	62.1	89.7 100.8	56.1 65.2	295.9* 168.7

DMSO : ジメチルスルホキシド

EMS : メタンスルホン酸エチルエステル

* : 統計学的に有意な増加 (2連の平均値について Dunnett 検定)

a : 溶媒対照群の2連の細胞生存率の平均値に対する検体処理群及び溶媒対照群の各連の細胞生存率の割合

b : コロニー形成率 = (形質発現期間後のコロニー数 / 接種細胞数) $\times 100$

c : 生存細胞 10^6 当りの突然変異細胞数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表2 S9 mix 存在下

	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	相対細胞生存率 ^a (%)	コロニー形成率 ^b (%)	突然変異頻度 ^c ($\times 10^{-6}$)
1 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	109.8 90.2	65.1 78.5	7.7 11.5
	プロマシル原体	248	94.3 90.1	70.1 71.8	8.6 1.4
		495	88.0 88.1	69.2 69.8	13.0 12.9
		990	1.6 1.0	68.1 74.5	8.8 5.4
		1485	1.1 0.2	— —	— —
		1980	0 0.2	— —	— —
	陽性対照 (DMBA)	3.8	92.4 98.0	70.5 67.2	102.1* 211.3
	2 回目 試験	溶媒対照 (DMSO)	0	93.5 106.5	58.1 56.6
プロマシル原体		248	88.0 100.3	46.9 56.4	10.7 7.1
		495	92.1 109.2	53.8 55.8	14.9 0
		743	88.0 67.3	62.4 68.7	0 0
		990	17.9 21.9	58.8 53.8	0 0
		1188	13.0 1.6	58.0 60.1	3.4 3.3
陽性対照 (DMBA)		3.8	88.8 82.9	63.1 70.6	213.9* 272.0

DMSO : ジメチルスルホキシド

DMBA : 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン

— : 細胞毒性により観察不可

* : 統計学的に有意な増加 (2連の平均値について Dunnett 検定)

a : 溶媒対照群の2連の細胞生存率の平均値に対する検体処理群及び溶媒対照群の各連の細胞生存率の割合

b : コロニー形成率 = (形質発現期間後のコロニー数 / 接種細胞数) $\times 100$

c : 生存細胞 10^6 当りの突然変異細胞数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

④ ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 毒 9-3)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1987年[GLP 対応]

検体純度：

試験方法：健康な男性及び女性ドナーから得られた培養ヒト末梢血リンパ球を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。

観察は1濃度あたり100個(2連で男女ドナー各50個、但し、陽性対照群については1濃度あたり50または100個)の分裂中期像について行い、2試験を実施した。

用量設定根拠；

試験結果：結果を表1及び2に、個別結果を表3及び4に示した。

S9 mix 非存在下の試験1及び2において、いずれの検体濃度においても、溶媒対照群と比較して、少なくとも1個の染色体異常を有する細胞の発現率に統計学的に有意な増加は認められず、用量相関性も認められなかった。

S9 mix 存在下の試験1及び2において、1000及び1250 $\mu\text{g/mL}$ 処理群において、溶媒対照群と比較して、少なくとも1個の染色体異常を有する細胞の発現率に統計学的に有意な増加が認められ、用量相関性も認められた。また、2個以上の染色体異常を有する細胞の発現率については統計学的に有意な増加は認められなかったが、用量相関性が認められた。

一方、陽性対照のマイトマイシンC及びシクロホスファミドではそれぞれ染色体異常を有する細胞の発現率に明らかな増加が認められた。

以上の結果から、プロマシル原体は薬物代謝酵素系の存在下で染色体異常誘発性を有すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表 1 試験 1

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mix の有無	細胞 1 個 当たりの 異常数	異常細胞 発現率 (%)	2 個以上の 異常を有する 細胞発現率 (%)	分裂指数 (%)
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	100	-	0.00	0.0	0.0	7.8
プロマシル 原体	500			100		0.00	0.0	0.0	6.8
	750			100		0.01	1.0	0.0	8.1
	1000			100		0.02	2.0	0.0	6.6
	1250		100	0.02		2.0	1.0	5.5	
陽性対照 (MMC)	0.30	27	50	0.36	24.0***	12.0**	7.6		
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	100	+	0.00	0.0	0.0	10.2
プロマシル 原体	500			100		0.00	0.0	0.0	9.9
	750			100		0.02	2.0	0.0	9.5
	1000			100		0.20	6.0*	4.0	6.7
	1250		100	0.10		4.0	2.0	6.6	
陽性対照 (CP)	10	27	50	0.58	40.0***	12.0***	2.8		

表 2 試験 2

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mix の有無	細胞 1 個 当たりの 異常数	異常細胞 発現率 (%)	2 個以上の 異常を有する 細胞発現率 (%)	分裂指数 (%)
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	100	-	0.04	4.0	0.0	9.3
プロマシル 原体	500			100		0.02	2.0	0.0	9.5
	750			100		0.02	2.0	0.0	8.4
	1000			100		0.04	4.0	0.0	7.4
	1250		100	0.06		5.0	1.0	6.9	
陽性対照 (MMC)	0.30	27	100	0.28	23.0**	5.0*	7.4		
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	100	+	0.01	1.0	0.0	11.8
プロマシル 原体	500			100		0.00	0.0	0.0	7.2
	750			100		0.04	3.0	1.0	9.8
	1000			100		0.18	5.0	3.0	9.7
	1250		100	0.13		9.0*	4.0	5.0	
陽性対照 (CP)	10	27	50	0.64	36.0***	10.0**	3.4		

異常細胞発現率及び 2 個以上の異常を有する細胞発現率について、溶媒対照群との有意差検定を行った (Fisher の直接確率検定 * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$)。

MMC : マイトマイシン C、CP : シクロホスファミド

表3 試験1 個別結果

薬物	濃度 (µg/mL)	処理 時間 (h)	標本 作製 時間 (h)	S9 mix の 有無	観察 細胞 数	構造異常/異常を有する細胞数																		異常細胞 (%)		分裂 指数 (%)
						染色体型									染色体型						その他					
						ギャップ			切断			交換			切断			交換			≥10	pu	pc	≥1	>1	
						tg	ig	tb	ib	f	tr	qr	int	af	dm	r	t	d	≥10	pu	pc	≥1	>1			
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	-	M50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9.8	
					F50	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.8
プロマシル 原体	500				M50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.0	
					F50	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.6
	750				M50	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10.2
					F50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6.0
	1000				M50	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.2
					F50	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7.0
1250	M50				2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.0	
	F50				1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	2	1	6.0	
陽性対照 (MMC)	0.30	27			M50	15	3	5	1	0	4	2	0	6	0	0	0	0	0	0	12	6	7.6			
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	+	M50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12.2	
					F50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8.2
プロマシル 原体	500				M50	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12.2	
					F50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.6	
	750				M50	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10.6	
					F50	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8.4	
	1000				M50	3	2	3	1	1	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	5.8	
					F50	1	0	5	0	0	1	3	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	3	2	7.6	
1250	M50				3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	6.8		
	F50				4	0	0	0	0	4	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	6.4		
陽性対照 (CP)	10	27			F50	13	6	18	2	0	2	3	0	3	0	0	1	0	0	20	6	2.8				

MMC: マイトマイシン CCP: シクロホスファミド M: 男性由来のリンパ球細胞 F: 女性由来のリンパ球細胞 ≥10: 10以上の異常を有する細胞数
 tg: 染色体ギャップ ig: 同染色体ギャップ tb: 染色体切断 ib: 同染色体切断 d: 二重中心性
 f: 切片 tr: 三放射状 qr: 四放射状 int: 内部交換 pu: 細粉化染色体
 af: 中心外切片 dm: 二重マイニュート r: 環状 t: 転座 pc: 細粉化細胞

表4 試験2 個別結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理 時間 (h)	標本 作製 時間 (h)	S9 mix の有無	観察 細胞 数	構造異常/異常を有する細胞数																異常細胞 (%)		分裂 指数 (%)		
						染色分体型						染色体型						その他								
						ギャップ		切断			交換			切断			交換			≥ 10	pu	pc	≥ 1		> 1	
						tg	ig	tb	ib	f	tr	qr	int	af	dm	r	t	d								
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	-	M50	3	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	8.6	
					F50	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
M50	1				0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10.6	
F50	4				1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8.4	
M50	1				0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	9.2	
F50	2				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.6	
プロマシル 原体	500		27		22	M50	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7.0
						F50	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	3	0	7.8
						M50	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	7.2
						F50	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1	6.6
						M50	4	2	2	1	1	0	0	0	4	0	0	0	0	0	1	0	0	7	2	10.2
						F50	5	1	9	4	0	1	2	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	16	3	8.6
陽性対照 (MMC)	0.30																									
溶媒対照 (DMSO)	0	3	22	+	M50	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.2
					F50	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	12.4
M50	3				1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.4		
F50	3				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.0		
M50	2				0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	8.6		
F50	2				0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1	11.0			
プロマシル 原体	500		27		22	M50	5	0	4	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	3	2	11.4	
						F50	12	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	8.0	
						M50	4	0	1	0	1	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	2	5.0	
						F50	7	0	0	1	0	1	1	0	3	1	0	0	0	0	0	0	5	2	5.0	
						M50	4	0	1	0	1	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	2	5.0	
						F50	7	0	0	1	0	1	1	0	3	1	0	0	0	0	0	0	5	2	5.0	
陽性対照 (CP)	10																									

MMC: マイトマイシン CCP: シクロホスファミド M: 男性由来のリンパ球細胞 F: 女性由来のリンパ球細胞 ≥ 10 : 10以上の異常を有する細胞数
 tg: 染色分体ギャップ ig: 同染色分体ギャップ tb: 染色分体切断 ib: 同染色分体切断 d: 二重中心性
 f: 切片 tr: 三放射状 qr: 四放射状 int: 内部交換 pu: 細粉化染色体
 af: 中心外切片 dm: 二重マイニユート r: 環状 t: 転座 pc: 細粉化細胞

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

⑤ マウスを用いた小核試験

(資料 毒 9-4)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年: 1988年[GLP 対応]

検体純度:

供試動物: Crl:CD-1(ICR)BR 系マウス、7週齢、体重; 雄 29.5~34.6g、雌 18.4~26.7g、
1群雌雄各 5 匹または 6 匹

試験方法: 検体をコーンオイルに懸濁し、5、75 及び 500mg/kg の投与量(投与液量: 15mL/kg)で単回強制経口投与した。なお、溶媒対照としてコーンオイルを、また、陽性対照としてシクロホスファミド (40 mg/kg) を用いた。

投与 24、48 及び 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取して、スライドグラス上にメタノールで固定後、アクリジンオレンジ溶液で染色して骨髄標本を作製した。

各標本あたり 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞の出現頻度を調べた。また、骨髄に対する毒性を調べるため、各標本あたり 1000 個の全赤血球を観察し、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合を求めた。

用量設定根拠;

試験結果: 結果を次表に示した。

投与後数分以内に 75 及び 500mg/kg 投与群で半閉塞眼、嗜眠、呼吸困難、痙攣、振戦、よろめき歩行等の中毒症状が認められ、500mg/kg 投与群の雄 1 例が投与後に死亡した。投与 24 及び 48 時間後に標本を採取した 500mg/kg 投与群の雄に有意な体重の減少が認められた。

いずれの投与量、標本採取時間においても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。投与後 48 時間後に標本を採取した 500mg/kg 投与群の雄で、全赤血球に対する多染性赤血球の割合の有意な低下が認められた。

一方、陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、有意な増加が認められた。

以上の結果から、プロマシル原体は本試験条件下において、マウス骨髄細胞に対して小核を誘発しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

薬物	投与量 (mg/kg)	採取 時間 (hr)	観察 動物数		MN-PCE ^a % (平均値±SE)		PCE/ (PCE+NCE) ^b % (平均値±SE)	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌
溶媒対照 (コーンオイル)	15mL/kg	24	5	5	0.22±0.09	0.08±0.05	1.05±0.14	1.22±0.30
プロマシル 原体	5	24	5	5	0.18±0.05	0.16±0.04	0.80±0.06	1.10±0.17
	75	24	5	5	0.24±0.05	0.18±0.07	1.16±0.19	1.31±0.11
	500	24	6 ^c	6	0.22±0.11	0.23±0.09	0.91±0.16	0.79±0.12
溶媒対照 (コーンオイル)	15mL/kg	24	5	5	0.26±0.02	0.10±0.03	1.17±0.21	1.35±0.28
プロマシル 原体	5	48	5	5	0.22±0.07	0.20±0.06	1.03±0.08	1.16±0.35
	75	48	5	5	0.06±0.04	0.24±0.08	1.30±0.32	1.78±0.18
	500	48	6	6	0.45±0.15	0.18±0.05	0.57±0.05**	1.07±0.15
溶媒対照 (コーンオイル)	15mL/kg	72	5	5	0.20±0.04	0.10±0.03	1.15±0.23	1.49±0.22
プロマシル 原体	5	72	5	5	0.24±0.05	0.18±0.04	0.79±0.18	1.29±0.20
	75	72	5	5	0.10±0.04	0.22±0.10	1.52±0.29	1.44±0.12
	500	72	6	6	0.18±0.05	0.10±0.07	0.87±0.13	1.44±0.49
陽性対照 (シクロホスファミド [*])	40	24	5	5	1.96±0.35**	1.70±0.16**	0.83±0.09	1.22±0.09

Dunnett の検定 (片側) ** : p<0.01

PCE : 多染性赤血球

NCE : 正染性赤血球

MN-PCE : 小核を有する多染性赤血球

a : 1 個体につき 1000 個の多染性赤血球を観察した。

b : 1 個体につき 1000 個の赤血球を観察した。

c : 計画屠殺前に 1 匹が死亡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

⑥ 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 毒9)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年:1978年(本試験)

1983年(追加試験)

検体純度:

試験方法: 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、
賀田らの Rec-assay 法を用いて DNA 損傷誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、本試験 (1978年実施) は 20~
2000 μ g/ディスクの範囲の 6 濃度で、追加試験 (1983年実施) は 2000~10000 μ g/
ディスクの範囲の 3 濃度で実施した。

用量設定根拠;

試験結果: 結果を次表に示した。

検体はいずれの濃度においても、M45、H17 両株に対し全く生育阻止帯を示さな
かった。

一方、陽性対照のマイトマイシン C は両株の間に明らかな生育阻止帯の差を生じ、
陰性対照のカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の結果から、プロマシル原体は本試験条件下で DNA 損傷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丸和バイオケミカル株式会社にある。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	本試験			追加試験		
		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	—	—	—
プロマシル原体	20	0	0	0	—	—	—
	100	0	0	0	—	—	—
	200	0	0	0	—	—	—
	500	0	0	0	—	—	—
	1000	0	0	0	—	—	—
	2000	0	0	0	0	0	0
	5000	—	—	—	0	0	0
	10000	—	—	—	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	7.5	5	2.5	7	6.5	0.5
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1	8	0	8	8	1	7

* : 差 = (M45 株における阻止帯) - (H17 株における阻止帯)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(14) 生体機能影響

プロマシル原体における薬理試験

(資料 毒-10)

試験機関:

報告書番号:

報告書作成年: 1989年

検体の純度:

【マウスの中樞神経系に対する作用】

マウスにおける睡眠延長作用

供試動物: Slc:ICR 系雄マウス、体重; 21.0~25.9g、1群 10~11匹

投与方法: 検体を 0.5%CMC 溶液に懸濁し、60、200 及び 600mg/kg の用量で経口投与した。投与 60 分後にヘキソバルビタール 75mg/kg を腹腔内投与して正向反射が消失してから回復するまでの時間を測定した。陽性対照としてクロルプロマジン 10mg/kg を投与し、同様に測定した。

結果: 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	溶媒対照	60	200	600	陽性対照
睡眠時間 (分)	42.5±11.5	35.0±8.4	46.7±13.7	129.3±42.4**	193.4±46.2**

表中の数値は平均値±SDを示す。

Student の t 検定あるいは Welch の検定 ** : p<0.01

600mg/kg 投与群では対照群と比較して 3.0 倍の有意な睡眠時間の延長が認められた。60 及び 200mg/kg 投与群では影響は認められなかった。一方、クロルプロマジンでは有意な睡眠延長が認められた。

認められた睡眠時間の延長は、予備試験の一般状態観察において 300mg/kg 以上の投与で自発運動の低下及び歩行異常が、1200mg/kg 投与で正向反射の消失（横臥状態）が認められていることから、中樞神経系の抑制によるものと考えられた。

【ラットの血液に対する作用】

血液凝固に対する作用

供試動物: Slc:Wistar/KY 系雄ラット、体重; 167~191g、1群 10~11匹

投与方法: 検体は 0.5%CMC 溶液に懸濁し、200、600 及び 2000mg/kg の用量で経口投与した。投与 60 分後にエーテル麻酔下で腹大静脈より採血し、3.8%クエン酸ナトリウム液を添加して血漿を分取し、プロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間及びフィブリノーゲン量を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

結 果：検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、プロマシル原体は中枢神経系に対しては抑制作用を有すると考えられたが、血液凝固能に対しては影響を与えなかった。

プロマシル原体の「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		動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系	睡眠延長作用 (ヘキサバルビタール睡眠)	マウス	経口 (0.5%CMC 溶液)	0、60、 200、600	雄 10~11	600	200	600mg/kg で対照群と比べ3倍の有意な睡眠延長を認めた。
血液	凝固作用	ラット	経口 (0.5%CMC 溶液)	0、200、 600、2000	雄 10~11	—	2000	検体投与による影響は認められなかった。