

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

(9) 1年間反復投与毒性及び発がん性

ラットを用いた2年間慢性毒性／発癌性併合試験

(資料13)

試験機関：

(GLP)

報告書作成年：

検体純度：

試験動物： Crl:CD (SD)系ラット

開始時6週齢 体重 雄193.9～278.9g、雌154.6～205.4g

各群の構成を以下に示す。

投与量 (ppm)	0	250	1500	7500
52週中間屠殺群	雌雄各10	雌雄各10	雌雄各10	雌雄各10
回復群	雌雄各10	—	—	雌雄各10
104週後最終屠殺群	雌雄各70	雌雄各70	雌雄各70	雌雄各70
合計	雌雄各90	雌雄各80	雌雄各80	雌雄各90

投与52週間後に、中間屠殺群として各群雌雄各10匹を屠殺した。投与52週間後に対照群と7500ppm 群の雌雄各10匹を回復群として4週間基礎飼料を与えた後屠殺した。残りの動物を最終屠殺群動物とし、104週後に屠殺した。

試験期間：24カ月（ ）

投与方法： 検体を 0、250、1500 及び7500ppm の濃度で飼料に混入し、24カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。7500ppm群の雌雄各10匹の回復群の動物には、投与52週間後から4週間基礎飼料を与えた。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；全動物について、生死の確認を毎日2回、ケージサイドからの観察を毎日1回、さらに詳細な身体検査を毎週1回実施した。

一般状態において認められた主な所見を下表に示す。

性	雄				雌			
	0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
所見\投与量 (ppm)	0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
検査動物数	90	80	80	90	90	80	80	90
尿による被毛汚染	3	7	2	21	3	10	12	23
変色尿	0	0	0	7	0	0	0	0

7500 ppm群の雌雄において尿による被毛の汚染発生頻度が増加した。同群では、雄で着色尿の発生頻度が増加した。

104 週後の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)	0	250	1500	7500
死亡率 [雄]	40 (100)	55 (138) ↑	56 (140) ↑	39 (98)
(%) [雌]	67 (100)	60 (90)	60 (90)	31 (46) ↓

↑ ↓: p<0.05 (National Cancer Institute Package).

()は対照群に対する変動率

250 及び1500 ppm群の雄で統計学的に有意な死亡率の増加が認められたが用

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

量相関性が認められず投与の影響とは考えなかった。

また、7500 ppm群の雌において有意な死亡率の減少が認められた。

体重変化： 投与開始から14週間は週1回、その後は2週に1回、すべての生存動物の体重を測定した。統計検定は投与開始から14週間は週1回、その後は4週に1回の頻度で行った。

以下に統計学的有意差の認められた週を表に示す。

性 別	投与量(ppm)	雄			雌		
		250	1500	7500	250	1500	7500
検 査 週	1						↓ 98
	2		↓ 97	↓ 80		↓ 97	↓ 85
	3		↓ 97	↓ 79		↓ 97	↓ 85
	4	↓ 98	↓ 96	↓ 78		↓ 97	↓ 82
	5		↓ 96	↓ 78		↓ 97	↓ 81
	6		↓ 96	↓ 77		↓ 97	↓ 80
	7		↓ 96	↓ 77		↓ 97	↓ 79
	8		↓ 96	↓ 77		↓ 96	↓ 80
	9		↓ 97	↓ 76		↓ 96	↓ 77
	10		↓ 97	↓ 76		↓ 95	↓ 76
	11			↓ 77			↓ 78
	12		↓ 96	↓ 78		↓ 97	↓ 81
	21	↓ 97	↓ 96	↓ 74		↓ 95	↓ 71
	25			↓ 75		↓ 95	↓ 71
	29		↓ 96	↓ 74		↓ 95	↓ 68
	13		↓ 96	↓ 77		↓ 97	↓ 80
	14		↓ 96	↓ 77		↓ 97	↓ 79
	17	↓ 97	↓ 97	↓ 75		↓ 95	↓ 73
	33			↓ 73		↓ 93	↓ 66
	37			↓ 73		↓ 93	↓ 64
	41			↓ 72		↓ 94	↓ 63
	45			↓ 73			↓ 64
	49			↓ 73			↓ 63
	53			↓ 73		↓ 95	↓ 61
	57			↓ 73		↓ 92	↓ 60
	61			↓ 72		↓ 92	↓ 59
	65			↓ 72		↓ 93	↓ 59
	69			↓ 72		↓ 93	↓ 59
	73			↓ 72		↓ 91	↓ 59
	77			↓ 71		↓ 92	↓ 59
	81			↓ 70			↓ 60
	85			↓ 71			↓ 59
89			↓ 70			↓ 56	
93		↓ 94	↓ 67		↓ 92	↓ 55	
97		↓ 91	↓ 64		↓ 91	↓ 53	
101		↓ 93	↓ 64		↓ 91	↓ 54	
105			↓ 65		↓ 88	↓ 55	

↓ : p<0.05 (Dunnett's test)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

7500 ppm群の雌雄では第1週の雄を除いて、いずれの検査時期においても平均体重が対照群に比べ有意な低値を示し、試験終了時には雄では対照群の65%、雌では55%であった。

(申請者による考察：250ppm群雄、1500ppm群雌雄でも一部の週で対照群に比して体重の有意な変動がみられたがその程度は僅かであり投与による毒性影響とは判断しない。)

回復群7500ppm群雌雄では休薬後体重の回復傾向が認められたが完全には回復せず57週において対照群に比べ雄が27%、雌が23%の低値を示した。

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

摂餌量； 全ての生存動物の摂餌量を投与開始から14週間は週1回、その後は4週に1回測定した。

7500 ppm群の雌雄において総摂餌量の統計学的に有意な低下が認められた。

総摂餌量

性別	雄			雌		
	250	1500	7500	250	1500	7500
投与量 (ppm)						
1~102週			↓ 82			↓ 84

Anova + Dunnett's test ↓ : P < 0.05

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

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。

平均検体摂取量

投与量 (ppm)		250	1500	7500
検体摂取量 (mg/kg/day)	[雄]	10.0	60.2	349.5
	[雌]	12.6	78.6	484.6

眼科学的検査； 投与開始前に全動物、53週時に途中計画殺動物、57週時に回復群の全動物ならびに105 週時に最終屠殺動物を対象に、検眼鏡を用いて検査した。

何れの検査時期においても投与の影響と考えられる変化は認められなかった。投与終了時、7500 ppm群の雄では白内障の発生頻度がわずかに増加したが、組織病理学的検査において関連する所見は認められず偶発的变化と考えられた。

眼検査成績 (最終屠殺前)

性別	雄				雌			
	0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
投与量 (ppm)								
検査例数	41	31	31	43	23	28	28	48
白内障	4	6	7	12*	3	2	4	10

* p < 0.05 (Fisher検定、申請者実施)

血液学的検査； 27及び53週時に途中屠殺動物、57週時に回復群、79及び105 週時に最終屠殺動物を対象として各群雌雄10例ずつ眼窩静脈叢穿針により採血し、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球百分率、網状赤血球数、血球形態を測定・算出または観察した。採血前の絶食は行わなかった。

次頁の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

いくつかの項目で統計学的有意な変化が認められたが、何れも軽度であり経時的な一貫性がないこと及び/または同時期のその他の赤血球パラメータの有意な変化を伴わないことから生物学的意義のある変化とは考えられなかった。

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

性別		雄			雌		
		投与量 (ppm)					
項目	週	250	1500	7500	250	1500	7500
血色素量	57			↑ 114			
ヘマトクリット	57			↑ 111			
MCV	27			↑ 104			
MCH	27			↑ 106			
	53			↑ 105			
MCHC	27			↑ 102			
	57			↑ 103			↓ 98
白血球数	27		↓ 81	↓ 75			
白血球百分率	27			↓ 71			
	リンパ球	53		↓ 73			
		79			↓ 76		
好酸球	27			↑ 100			

↑ ↓ : $p \leq 0.05$ (Dunnett's test)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

血液生化学的検査；血液学的検査と同時期に採血した試料を用いて、ナトリウム、総ビリルビン、カリウム、尿素窒素、塩素、クレアチニン、総蛋白、血糖値、アルブミン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、カルシウム、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、無機リン、グロブリン、総コレステロール及びクレアチンキナーゼを測定した。採血前の絶食は行わなかった。

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

7500 ppm 群雄の27週時、同群雌の27、53、79及び105週時に総コレステロール値が増加し検体投与によるものと考えられた。この変動は回復群の57週時には認められなかった。同群雌の79及び105週時に認められた尿素窒素の増加または増加傾向も検体投与によるものと考えられた。

その他の変動は検査時期間で一貫性がなく、変動の程度が僅かであり、偶発性のものと判断された。

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

コリンエステラーゼ活性測定；各群雌雄10例ずつについて26、52、78及び104 週時（血漿及び赤血球）ならびに53及び105 週時（脳）にコリンエステラーゼ活性を測定した。さらに56週時（血漿及び赤血球）及び57週時（脳）には回復群の雌雄10例ずつについても測定した。採血前の絶食は行わなかった。

以下に統計学的有意差の認められた項目を示す。

7500ppm群雌雄で血漿コリンエステラーゼ活性が、1500ppm以上の雌雄で赤血球コリンエステラーゼ及び脳コリンエステラーゼ活性が低下し投与の影響と考えられた。
回復群の7500ppm群にはこれらコリンエステラーゼ活性の低下は認められなかった。

尿検査；27及び53週時に途中屠殺動物、57週時に回復群、79及び105 週時に最終屠殺動物を対象として各群雌雄10例ずつ採尿し、外観、pH、蛋白、ケトン体、ビリルビン、グルコース、潜血、ウロビリノーゲン、比重、沈渣、尿量について検査した。

投与の影響は認められなかった。

臓器重量；53週（中間）及び105～106週（最終）及び57週（回復群終了時）に各群雌雄10例ずつを対象として肝臓、脳、腎臓、脾臓、精巣上体を含む精巣、卵巣、副腎及び肺の臓器重量を測定し、体重比及び脳重量比を算出した。

次頁の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

何れの検査時期とも剖検時の7500ppm群雌雄の剖検時体重が対照群に比べ減少した。

肝臓、腎臓、精巣／精巣上体、脳、肺、副腎、卵巣、脾臓等で絶対重量、脳重量比の減少または対体重比の増加が認められたが、何れも最終体重の低下に起因する二次的な変動と考えられた。

臓器重量

検査 時期	性別		雄			雌		
	投与量 (ppm)		250	1500	7500	250	1500	7500
53 週	最終体重				↓ 71			↓ 58
	肝臓	絶対重量						↓ 84
		対体重比			↑ 144		↑ 113	↑ 146
		対脳重比						↓ 83
	腎臓	絶対重量						↓ 87
		対体重比			↑ 151			↑ 149
		対脳重比						↓ 86
	精巣／精巣上体	対体重比			↑ 138			
	脳	対体重比			↑ 135			↑ 175
	肺	対体重比			↑ 126			↑ 159
	副腎	対体重比			↑ 146			↑ 153
卵巣	対体重比						↑ 161	
脾臓	対体重比						↑ 148	
105- 106 週	最終体重				↓ 64		↓ 87	↓ 55
	肝臓	対体重比			↑ 136			↑ 157
	腎臓	絶対重量						↓ 84
		対体重比			↑ 135			↑ 150
		対脳重比						↓ 84
	精巣／精巣上体	対体重比			↑ 189			
	脳	対体重比			↑ 156		↑ 118	↑ 177
	肺	対体重比			↑ 155			↑ 165
副腎	絶対重量			↓ 52				
57 週 (回復 群)	最終体重				↓ 77			↓ 76
	肝臓	対体重比			↑ 127			↑ 125
	腎臓	対体重比			↑ 128			↑ 118
	精巣／精巣上体	対体重比			↑ 126			
	脳	対体重比			↑ 131			↑ 128
	肺	絶対重量			↓ 87			
		対体重比						↑ 122
		対脳重比			↓ 85			
	卵巣	対体重比						↑ 149
	脾臓	絶対重量			↓ 80			
対体重比							↑ 129	
対脳重比				↓ 79				

Dunnett's test ↑ ↓ : p ≤ 0.05 表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

肉眼病理検査；全動物について剖検を行った。

中間屠殺および回復群の剖検では検体投与の影響は認められなかった。
最終屠殺群でみられた剖検所見の概要を次頁の表に示す。
7500 ppm群の雌雄の少数例に、膀胱の腫瘍と肺の蒼白部が認められた。
同群雌では乳腺腫瘍を示す動物の発現率が対照群にくらべ減少した。

変化のみられた肉眼的病理所見（最終屠殺群）

	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
途中死亡	臓器	所見\検査動物数	31*	39	39	28*	48	43	42	24
	肺	蒼白部	0	0	1	1	0	1	0	2
	膀胱	腫瘤	0	0	0	1	0	0	0	1
	乳腺	腫瘤	-	-	-	-	31	28	25	9
計画殺	臓器	所見\検査動物数	40	31	31	43	22	27	28	46
	肺	蒼白部	0	0	0	3	0	0	0	4
	膀胱	腫瘤	0	0	0	2	0	0	0	3
	乳腺	腫瘤	-	-	-	-	14	22	20	20
全動物	臓器	所見\検査動物数	71*	70	70	71*	70	70	70	70
	肺	蒼白部	0	0	1	4	0	1	0	5
	膀胱	腫瘤	0	0	0	3	0	0	0	4
	乳腺	腫瘤	-	-	-	-	45	50	45	29

*52週の採血後に死亡した中間屠殺群の各1匹を含む

病理組織学的検査；途中死亡ならびに対照群と最高用量群の全動物を対象として、眼、腎臓、病変部及び腫瘤、副腎、皮膚、膵臓、下垂体、精囊、甲状腺／上皮小体、精巣上体／精巣、胸腺、卵巣、肺、膣／子宮、気管、肝臓、心臓、脾臓、大動脈、胃、骨髄／胸骨、唾液（顎下）腺、食道、前立腺、顎下リンパ節、十二指腸、空腸、回腸、腸間膜リンパ節、結腸、盲腸、直腸、坐骨神経、膀胱、頸部／胸部／腰部脊髄、脳幹／脳（延髄／橋、小脳及び大脳）、骨格筋及び乳腺（雌）を鏡検した。

肉眼病変部、肺、肝臓、腎臓、膀胱、甲状腺、坐骨神経、骨格筋及び膵臓（雌）については中間及び低用量群も鏡検した。

[非腫瘍性病変]

認められた主な非腫瘍性病変を表1に示す。

7500ppm群雌雄の膀胱、腎臓、肝臓、甲状腺、肺、膵臓、坐骨神経及び付随する骨格筋で非腫瘍性病変が増加した。

膀胱及び腎臓： 7500ppm群雌雄で膀胱の移行上皮細胞過形成が増加した。同群では移行上皮細胞腫瘍が増加しており、移行上皮細胞腫瘍を有する多くの動物で移行上皮細胞過形成が認められ、この変化が前腫瘍性病変であることが示唆された。7500ppm群雄の腎臓で腎盂移行上皮の過形成の発生頻度が増加した。

肝臓： 7500ppm群雌の肝臓で肝細胞肥大、色素沈着及び好酸性変異細胞巣の発生頻度が増加した。肝細胞肥大は多くの場合小葉中心性または小葉中間帯性で、程度は軽微から軽度であった。色素沈着は主に肝細胞質内に位置し、一部は細網内皮細胞にも存在した。この色素に関する詳細な同定は実施していないものの、形態学的にはリポフスチンに近似していた。

高用量群雄の肝臓では肝細胞肥大及び細胞質内ヒアリン沈着の発生頻度が認められた。高用量群雄のヒアリン沈着は52週中間屠殺動物でも認められた。

甲状腺： 甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度が7500ppm群雄で軽度に、同群雌で顕著に増加した。

肺： 高用量群雌雄で肺胞内泡沫状マクロファージ及び限局性肺炎の発生頻度が増加した。これらの変化は老齢ラットでしばしば認められるものであるが、高用量群における頻度と程度の増加は投与の影響と考えられた。

膵臓： 高用量群雌の膵臓で腺房細胞空胞化の頻度が増加した。雄ではこの変化

は認められなかった。

坐骨神経及び骨格筋： 高用量群雌雄で坐骨神経及び隣接する骨格筋の変性の頻度ならびに程度が対象群に比べ増加した。坐骨神経の変性は形態学的には本系統の老齢ラットに通常認められるものと同様であった。骨格筋の変性は坐骨神経の変性による二次的变化と考えられた。

他に認められた変化は、本系統のラットに通常認められる変化であり、投与の影響とは考えられなかった。

[腫瘍性病変]

認められた腫瘍性病変を表2に示す。

膀胱、腎臓、肝臓及び甲状腺において腫瘍性病変の発生頻度が増加した。

膀胱及び腎臓： 7500ppm群雌雄で膀胱移行上皮乳頭腫、移行上皮癌の発生頻度が増加した。

7500ppm群雄の1例（動物番号C09407）で腎臓移行上皮癌が認められた。この動物では膀胱に過形成および移行上皮乳頭腫も認められており、同群雄の膀胱、腎臓で移行上皮過形成の発生頻度が増加していることと併せ、1例のみの変化であるが投与の影響であると判断した。

肝臓： 高用量群雌の肝臓で肝細胞腺腫の発生頻度が増加した。この発生頻度の増加は投与の影響と考えられたが、同群雌における生存率が高かったことも関与していると考えられる。

甲状腺： 7500ppm群雄で濾胞上皮細胞腺腫の発生頻度が僅かに増加した。

以上の結果から、投与に関連する毒性影響として7500ppm群雌雄で一般症状観察における被毛の汚れ、変色尿（雄のみ）、体重の低下、摂餌量の減少、血液生化学検査における総コレステロールの上昇、尿素窒素の上昇（雌のみ）、血漿コリンエステラーゼ活性の低下、剖検時の肺の蒼白部ならびに膀胱の腫瘍の発生頻度の増加、病理組織学的検査における膀胱の移行上皮過形成、腎臓の移行上皮過形成（雄のみ）、肝臓の肝細胞肥大、色素沈着（雌のみ）、好酸性変異細胞巣（雌のみ）、ヒアリン沈着（雄のみ）、甲状腺濾胞上皮細胞肥大、肺胞内泡沫状マクロファージ、限局性肺炎、膵臓の腺房細胞空胞化（雌のみ）、坐骨神経ならびに骨格筋変性が、1500ppm以上の投与群雌雄で赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。また、腫瘍性病変として7500ppm投与群雌雄で膀胱の移行上皮乳頭腫ならびに移行上皮癌、同群雄で腎臓移行上皮癌および甲状腺の濾胞上皮細胞腺腫、同群雌で肝細胞腺腫の発生頻度が増加した。

本試験条件下における無毒性量は雌雄とも250 ppm（雄10.0 mg/kg/day、雌12.6 mg/kg/day）であると判断される。また、7500 ppm（雄350 mg/kg/day、雌485 mg/kg/day）において腫瘍の出現頻度が増加した。

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

表1-1 [非腫瘍性病変] - 53週中間屠殺動物

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
膀胱	移行上皮過形成	0/9	0/10	0/10	1/9	0/10	0/10	0/10	1/10
甲状腺	濾胞上皮肥大	0/9	-	-	0/9	0/9	1/10	2/10	0/10
肺	限局性肺炎	0/9	0/10	1/10	3/9	1/10	0/10	0/10	1/10
	肺胞泡沫状マクロファージ	0/9	0/10	0/10	0/9	1/10	1/10	0/10	3/10
肝臓	色素沈着	0/9	0/10	0/10	0/9	1/10	0/10	0/10	1/10
	好酸性変異細胞巣	1/9	0/10	0/10	1/9	0/10	0/10	1/10	0/10
	肝細胞肥大	0/9	0/10	0/10	1/9	0/10	0/10	0/10	2/10
	細胞質内ビリルン沈着	0/9	0/10	0/10	4/9*	0/10	0/10	0/10	0/10
腎臓	移行上皮過形成	0/9	0/9	0/10	1/9	0/10	0/10	0/10	1/10
坐骨神経	変性	0/9	0/10	2/10	0/9	0/10	0/9	0/10	0/9

(所見数/検査動物数)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Fisher直接確立検定; 申請者実施)

表1-2 [非腫瘍性病変] - 回復群動物

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
肺	肺胞泡沫マクロファージ	1/10	-	-	4/10	2/10	-	-	4/10
肝臓	好酸性変異細胞巣	0/10	-	-	1/10	0/10	-	-	0/10

(所見数/検査動物数)

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

表1-3 「非腫瘍性病変」－最終屠殺群

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
計画殺動物									
甲状腺	濾胞上皮肥大	1/40	0/31	0/31	2/43	3/22	3/27	2/28	30/46**
肺	限局性肺炎	6/40	3/31	4/31	10/43	3/22	4/27	3/28	35/46**
	肺胞泡沫状マクロファージ	1/40	8/31	9/31	26/43**	4/22	3/27	5/28	42/46**
肝臓	色素沈着	0/40	0/31	1/31	1/43	0/22	0/27	1/28	16/46**
	好酸性変異細胞巣	5/40	5/31	4/31	7/43	4/22	5/27	4/28	15/46
	肝細胞肥大	0/40	1/31	1/31	30/43**	2/22	4/27	2/28	23/46**
	細胞質内ビリルン沈着	0/40	0/31	0/31	12/43*	0/22	0/27	0/28	0/46
腎臓	移行上皮過形成	8/40	4/31	6/31	22/43*	8/22	18/27	6/28	15/46
膀胱	移行上皮過形成	3/40	1/31	4/31	9/43**	0/22	0/26	3/28	42/45**
坐骨神経	変性	4/40	1/31	1/31	42/42*	22/22	24/25	26/27	44/45
骨格筋	変性	2/40	2/31	6/31	5/43	0/22	0/25	1/27	2/45
睪臓	腺房細胞空胞化	0/40	-	-	0/43	0/22	0/25	0/27	15/46**
途中死亡・切迫殺動物									
甲状腺	濾胞上皮肥大	0/31	1/39	2/39	6/28	1/48	1/43	0/42	3/24
肺	限局性肺炎	1/31	0/39	2/39	4/28	5/48	2/43	0/42	7/24
	肺胞泡沫状マクロファージ	2/31	3/39	10/39	12/28	9/48	3/43	9/42	16/24
肝臓	色素沈着	2/31	3/39	4/39	3/28	6/48	6/43	6/42	9/24
	好酸性変異細胞巣	3/31	0/39	2/39	0/28	2/48	2/43	4/42	4/24
	肝細胞肥大	4/31	2/39	3/39	5/28	7/48	3/43	7/42	14/24
	細胞質内ビリルン沈着	0/31	0/39	0/39	1/28	0/48	0/43	0/42	0/24
腎臓	移行上皮過形成	4/30	3/38	3/39	8/28	13/48	23/43	22/42	6/24
膀胱	移行上皮過形成	5/30	7/39	6/39	15/28	6/47	6/43	3/41	14/24
坐骨神経	変性	10/31	1/36	21/39	17/27	19/48	15/42	18/42	17/23
骨格筋	変性	2/31	2/39	4/39	8/28	0/48	0/43	2/42	4/24
睪臓	腺房細胞空胞化	0/30	1/37	0/39	0/28	0/48	0/43	2/42	5/24

(所見数/検査動物数)

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確立検定; 申請者実施)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

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

表1-3 [非腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (続き)

性別		雄				雌			
		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
全動物									
甲状腺	濾胞上皮細胞肥大	1/71	1/70	2/70	8/70*	4/70	4/70	2/70	33/70**
肺	肺胞内泡沫状マクロファージ	13/71	11/70	19/70	38/71**	13/70	6/70	14/70	58/70**
	限局性肺炎	7/71	3/70	6/70	14/71*	8/70	6/70	3/70	42/70**
肝臓	肝細胞肥大	4/71	3/70	4/70	35/71**	9/70	7/70	9/70	37/70**
	細胞質内ビリルン沈着	0/71	0/70	0/70	13/71**	0/70	0/70	0/70	0/70
	色素沈着	2/70	3/70	5/70	4/71	6/70	6/70	7/70	25/70**
	好酸性変異細胞巣	8/70	15/70	6/70	7/71	6/70	7/70	8/70	19/70**
腎臓	移行上皮細胞過形成	12/71	7/69	9/70	30/71**	21/70	41/70	28/70	21/70
膀胱	移行上皮細胞過形成	8/71	8/70	10/70	54/71**	6/69	6/69	6/69	56/69**
坐骨神経	変性	44/71	42/67	52/70	59/69**	41/70	39/67	44/69	61/68**
骨格筋	変性	4/71	4/67	10/70	13/71*	0/70	0/68	3/69	6/68*
脾臓	腺房細胞空胞化	0/70	1/37	0/39	0/71	0/70	0/68	3/68	20/70**

(所見数/検査動物数)

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Fisher直接確立検定; 申請者実施)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

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

表2-1 [腫瘍性病変] - 53週中間屠殺動物

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
下垂体	腺腫 (B)	1/9	-	-	0/9	3/10	1/1	-	0/10
甲状腺	C細胞腺腫 (B)	0/9	-	-	0/9	0/9	1/10	0/10	0/10
膵臓	腺房細胞腺腫 (B)	0/9	-	-	0/9	0/9	1/10	0/10	0/10
乳腺	癌 (M)	-	-	-	-	0/10	0/3	0/4	1/9
	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	0/10	1/3	2/4	0/9
腹腔	脂肪肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	-	0/1
シロイン腺	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	1/1	-	-

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性

表2-2 [腫瘍性病変] - 回復群動物

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
下垂体	腺腫 (B)	1/10	-	-	0/10	0/10	-	-	1/10
乳腺	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	0/10	-	-	1/10
	癌 (M)	-	-	-	-	0/10	-	-	1/10

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性

表2-3 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (計画殺動物)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
脳	顆粒細胞腫 (B)	1/40	0/5	0/4	0/43	0/22	0/7	0/15	0/46
	星状膠細胞腫 (M)	1/40	0/5	0/4	0/43	0/22	0/7	0/15	0/46
腰部 脊髄	星状膠細胞腫 (M)	1/40	-	-	0	0	-	-	0
下垂体	腺腫 (B)	5/40	1/11	8/9	14/42**	18/22	22/24	21/21	29/45
	癌 (M)	0/40	0/11	0/9	0/42	0/22	2/24	0/21	3/45
副腎 皮質	腺腫 (B)	3/40	0/7	0/3	1/43	0/22	0/14	0/16	0/46
	神経節神経腫 (M)	0/40	0/7	0/3	0/43	0/22	0/14	1/16	0/46
副腎 髄質	良性褐色細胞腫 (B)	4/40	2/3	-	2/43	0/22	1/1	-	0/46
	悪性褐色細胞腫 (M)	4/40	1/3	-	0/43	1/22	0/1	-	0/46
甲状腺	濾胞上皮細胞腺腫 (B)	0/40	2/31	0/31	6/43*	0/22	0/27	0/28	1/46
	濾胞上皮癌 (M)	0/40	0/31	0/31	1/43	1/22	0/27	0/28	0/46
	C細胞腺腫 (B)	6/40	5/31	9/31	4/43	8/22	3/27	4/28	7/46
	C細胞癌 (M)	3/40	1/31	0/31	0/43	0/22	0/27	1/28	0/46
上皮 小体	腺腫 (B)	1/39	-	-	1/43	1/22	-	-	0/46
心臓	心内膜肉腫 (M)	0/40	-	-	1/43	0/22	-	-	0/46
脾臓	血管肉腫 (M)	0/40	1/2	0/2	0/43	0/22	0/2	-	0/46
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0/40	1/31	2/31	1/43	0/22	0/27	2/28	4/46
	肝細胞癌 (M)	0/40	1/31	2/31	0/43	0/22	0/27	0/28	0/46
腎臓	移行上皮癌 (M)	0/40	0/31	0/31	1/43	0/22	0/27	0/28	0/46
	尿細管癌 (M)	0/40	0/31	0/31	1/43	0/22	0/27	0/28	1/46
	脂肪腫 (B)	0/40	0/31	0/31	0/43	0/22	0/27	1/28	0/46
	悪性混合腫瘍 (M)	0/40	0/31	1/31	0/43	0/22	0/27	0/28	0/46
腸間膜 リンパ節	リンパ管腫 (B)	0/40	-	-	1/42	0/22	0/1	0/1	0/45
精巣	中皮腫 (M)	0/40	-	-	1/42	-	-	-	-
	間細胞腫 (B)	1/40	-	-	3/42	-	-	-	-
精巣 上体	中皮腫 (M)	1/40	1/1	-	0/43	-	-	-	-
膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	0/40	0/31	0/31	10/43**	0/22	0/26	0/28	5/45
	移行上皮癌 (M)	0/40	0/31	0/31	9/43**	0/22	0/26	0/28	5/45
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0/40	0/31	0/31	1/43	0/22	0/26	0/28	0/45
膵臓	島細胞癌 (M)	0/40	-	-	0/43	0/22	1/25	0/27	0/46
	島細胞腺腫 (B)	1/40	-	-	1/43	0/22	4/25	2/27	1/46
	腺房細胞腺腫 (B)	0/40	-	-	0/43	0/22	0/25	0/27	2/46
卵巢	良性顆粒膜 / 英膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0/22	0/7	0/5	1/46
	悪性顆粒膜 / 英膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	0/22	2/7	0/5	0/46

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確立検定; 申請者実施)

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

表2-3 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (計画殺動物) (続き)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
子宮	内膜間質ホリーフ(B)	-	-	-	-	1/22	1/6	3/6	1/46
	癌 (M)	-	-	-	-	0/22	1/6	0/6	0/46
子宮頸	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/22	-	1/1	1/46
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	0/22	-	-	1/46
胸腺	扁平上皮癌 (M)	0/33	-	-	0/33	0/22	-	-	1/43
乳腺 (雌)	癌 (M)	-	-	-	-	5/22	7/22	7/20	9/45
	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	8/22	17/22	14/20	13/45
皮膚	角化棘細胞腫 (B)	5/16	0/8	2/14	0/11	0/1	0/3	0/2	0/6
	基底細胞癌 (M)	0/16	0/8	0/14	1/11	0/1	0/3	0/2	0/6
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0/16	0/8	0/14	1/11	1/1	0/3	0/2	0/6
皮下	線維肉腫 (M)	1/5	3/5	1/4	2/5	0/2	-	-	-
	脂肪腫 (B)	1/5	0/5	0/4	1/5	0/2	-	-	-
	線維腫 (B)	2/5	2/5	2/4	0/5	1/2	-	-	-
	神経線維肉腫 (M)	0/5	0/5	0/4	1/5	0/2	-	-	-
	肉腫, NOS (M)	0/5	0/5	0/4	0/5	1/2	-	-	-
	脊索腫 (M)	0/5	0/5	1/4	0/5	0/2	-	-	-
腹腔	線維肉腫 (M)	1/1	-	1/1	-	0/1	-	-	0/1
造血器	組織球性肉腫 (M)	1/40	0/31	0/31	2/43	0/22	0/26	1/28	0/46
	造血器腫瘍 NOS (M)	0/40	0/31	0/31	0/43	0/22	1/26	0/28	0/46
シトパル腺	扁平上皮癌 (M)	1/1	-	-	-	-	1/1	-	-
乳腺	線維腺腫 (B)	1/4	0/2	0/4	0/4	-	-	-	-
陰核腺	癌 (M)	-	-	-	-	-	-	1/1	-
包皮腺	癌 (M)	-	0/1	1/1	-	-	-	-	-

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性、NOS:分類不能

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher)直接確立検定; 申請者実施)

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

表2-4 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (死亡・切迫殺動物)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
脳	星状膠細胞腫 (B)	0/31	0/39	0/39	0/28	1/48	0/43	0/42	0/24
	顆粒細胞腫 (B)	0/31	0/39	1/39	1/28	1/48	0/43	0/42	0/24
	星状膠細胞腫 (M)	1/31	0/39	0/39	0/28	0/48	1/43	0/42	0/24
頸部 脊髓	星状膠細胞腫 (M)	0/31	1/39	0/39	0/28	0/48	0/43	0/42	0/24
胸部 脊髓	星状膠細胞腫 (M)	0/31	0/39	0/39	0/28	0/48	0/43	0/42	1/24
下垂体	腺腫 (B)	14/31	16/39	28/39	14/28	8/48	30/43	33/42	17/24
	癌 (M)	1/31	1/39	0/39	0/28	6/48	3/43	2/42	2/24
副腎 皮質	腺腫 (B)	0/31	0/39	1/39	0/28	0/48	0/43	1/42	0/24
	癌 (M)	0/31	0/39	0/39	0/28	0/48	1/43	0/42	0/24
副腎 髓質	褐色細胞腫 (B)	2/31	1/39	2/39	1/28	1/48	0/43	0/41	0/24
	褐色細胞腫 (M)	0/31	0/39	1/39	0/28	1/48	1/43	0/41	0/24
甲状腺	濾胞上皮細胞腺腫 (B)	0/31	0/39	0/39	2/28	0/48	0/43	0/42	0/24
	C細胞腺腫 (B)	1/31	1/39	1/39	0/28	2/48	2/43	3/42	2/24
	C細胞癌 (M)	0/31	0/39	4/39	0/28	0/48	0/43	0/42	0/24
肺	軟骨肉腫 (M)	0/31	1/39	0/39	0/28	0/48	0/43	0/42	0/24
脾臓	血管肉腫 (M)	0/31	0/39	1/39	0/28	0/48	0/43	0/42	0/24
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1/31	0/39	0/39	0/28	1/48	0/43	1/42	3/24
	肝細胞癌 (M)	0/31	1/39	0/39	1/28	0/48	0/43	0/42	0/24
腎臓	尿細管腺腫 (B)	0/31	0/39	0/39	1/28	0/48	0/43	0/42	0/24
	悪性混合腫 (M)	0/31	0/39	0/39	0/28	0/48	1/43	1/42	0/24
前胃	平滑筋肉腫 (M)	0/31	0/39	1/39	0/28	0/48	0/43	0/42	0/24
腸間膜 リンパ節	血管腫 (B)	1/31	0/39	0/39	0/28	1/48	0/43	0/42	0/24
精巣	中皮腫 (M)	1/31	0/39	0/39	0/28	-	-	-	-
	間細胞腫 (B)	1/31	1/39	0/39	2/28	-	-	-	-
精巣 上体	中皮腫 (M)	2/31	0/39	1/39	0/28	-	-	-	-

(B):良性、(M):悪性、NOS:分類不能

(所見数/検査動物数)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

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

表2-4 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (死亡・切迫殺動物) (続き)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
前立腺	癌 (M)	0/31	0/39	0/39	1/28	-	-	-	-
膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	0/31	0/39	0/39	2/28	1/47	0/43	0/41	2/24
	移行上皮癌 (M)	0/31	0/39	0/39	2/28	0/47	0/43	0/41	1/24
睪臓	島細胞癌 (M)	2/31	0/39	1/39	0/28	0/48	1/43	0/42	0/24
	島細胞腺腫 (B)	0/31	0/39	2/39	0/28	1/48	0/43	0/42	0/24
卵巣	顆粒膜・莢膜細胞腫(B)	-	-	-	-	0/48	1/43	0/41	0/24
	セルトリ細胞腺腫 (B)	-	-	-	-	1/48	0/43	2/41	0/24
子宮	内膜間質性リーフ(B)	-	-	-	-	1/48	1/43	1/41	0/24
	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/48	1/43	0/41	0/24
子宮頸	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/48	0/42	0/41	1/24
	顆粒細胞腫 (B)	-	-	-	-	0/48	1/42	0/41	0/24
膣	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/48	0/42	0/41	1/24
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	0/48	0/42	0/41	1/24
	間質性ポリーフ (B)	-	-	-	-	0/48	0/42	0/41	1/24
顎下腺	癌 (M)	0/31	0/39	0/39	0/28	0/48	0/42	1/41	0/24
胸腺	肉腫 NOS (M)	0/20	0/34	1/30	0/17	0/39	0/35	0/33	0/8
	脂肪肉腫 (M)	0/20	0/34	0/30	0/17	0/39	2/35	0/33	0/8
乳腺 (雌)	癌 (M)	-	-	-	-	12/48	9/43	10/41	13/24
	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	23/48	26/43	5/41	5/24
皮膚	線維肉腫 (M)	2/12	0/9	0/14	1/8	0/48	0/43	0/41	0/24
	平滑筋肉腫 (M)	0/12	0/9	0/14	1/8	0/48	0/43	0/41	0/24
	角化棘細胞腫 (B)	1/12	1/9	1/14	2/8	0/48	0/43	0/41	0/24
	線維腫 (B)	0	1/9	0/14	0/8	0/48	0/43	0/41	0/24

(B): 良性、(M): 悪性、NOS: 分類不能

(所見数/検査動物数)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

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

表2-4 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (死亡・切迫殺動物) (続き)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
皮下	線維肉腫 (M)	3/3	2/9	2/6	1/8	2/4	1/6	1/8	-
	線維腫 (B)	0/3	3/9	1/6	0/8	0/4	2/6	1/8	-
	神経線維肉腫 (M)	0/3	0/9	1/6	0/8	1/4	0/6	1/8	-
	粘液肉腫 (M)	0/3	0/9	1/6	0/8	0/4	0/6	0/8	-
	平滑筋肉腫 (M)	0/3	1/9	0/6	0/8	0/4	0/6	0/8	-
	粘液腫 (B)	0/3	1/9	0/6	0/8	0/4	0/6	0/8	-
頭頂部	線維肉腫 (M)	-	-	-	1/1	0/1	-	-	0/1
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	0/1	1/1	-	-	1/1
造血器	顆粒球性白血病 (M)	0/31	0/36	1/38	1/26	2/47	0/43	1/42	1/24
	組織球性肉腫 (M)	4/31	4/36	2/38	0/26	2/47	2/43	2/42	0/24
	悪性リンパ腫 (M)	0/31	3/36	0/38	0/26	1/47	0/43	0/42	0/24
ジンバル腺	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	-	1/43	1/42	-
乳腺	線維腺腫 (B)	1/2	0/3	0/3	0/1	-	-	-	-

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性、NOS:分類不能

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

表2-5 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (全動物)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
脳	顆粒細胞腫 (B)	1/71	0/44	1/43	1/71	1/70	0/50	0/57	0/70
	星状膠細胞腫 (B)	0/71	0/44	0/43	0/71	1/70	0/50	0/57	0/70
	星状膠細胞腫 (M)	2/71	0/44	0/43	0/71	0/70	1/50	0/57	0/70
頸部 脊髄	星状膠細胞腫 (M)	0/71	1/39	0/39	0/71	0/70	0/43	0/42	0/69
胸部 脊髄	星状膠細胞腫 (M)	0/71	0/39	0/39	0/70	0/48	0/43	0/42	1/69
腰部 脊髄	星状膠細胞腫 (M)	1/71	0/39	0/39	0/70	0/70	0/43	0/42	0/68
下垂体	癌 (M)	1/71	1/50	0/48	0/70	6/70	5/67	2/63	5/69
	腺腫 (B)	14/71	16/50	28/48	14/70	8/70	30/67	33/63	17/69
副腎 髓質	良性褐色細胞腫 (B)	6/70	3/42	2/39	3/71	1/70	1/44	0/41	0/70
	腺腫 (B)	3/71	0/46	1/42	1/71	0/70	0/57	1/58	0/70
副腎 皮質	癌 (M)	0/71	0/46	0/42	0/71	0/70	1/57	0/58	0/70
	神経節神経腫 (M)	0/71	0/46	0/42	0/71	0/70	0/57	1/58	0/70
	悪性褐色細胞腫 (M)	4/70	1/42	1/39	0/71	2/70	1/44	0/41	0/70
甲状腺	濾胞上皮細胞腺腫 (B)	0/71	2/70	0/70	8/71**	0/70	0/70	0/70	1/70
	濾胞上皮癌 (M)	0/71	0/70	0/70	1/71	1/70	0/70	0/70	0/70
	C細胞腺腫 (B)	6/71	5/70	9/70	4/71	8/70	3/70	4/70	7/70
	C細胞癌 (M)	0/71	0/70	4/70	0/71	0/70	0/70	0/70	0/70
上皮 小体	腺腫 (B)	1/69	0/38	0/37	1/71	1/22	0/42	0/41	0/69
心臓	心内膜腫瘍 (M)	0/71	0/39	0/39	1/71	0/70	0/43	0/42	0/70
肺	軟骨肉腫 (M)	0/71	1/70	0/70	0/71	0/70	0/70	0/70	0/70
脾臓	血管肉腫 (M)	0/71	1/41	1/41	0/71	0/70	0/45	0/42	0/70
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1/71	1/70	2/70	1/71	1/70	0/70	3/70	7/70*
	肝細胞癌 (M)	0/71	2/70	2/70	1/71	0/70	0/70	0/70	0/70
腎臓	移行上皮癌 (M)	0/71	0/70	0/70	1/71	0/70	0/70	0/70	0/70
	尿細管癌 (M)	0/71	0/70	0/70	1/71	0/70	0/70	0/70	1/70
	尿細管腺腫 (B)	0/71	0/70	0/70	1/71	0/70	0/70	0/70	0/70
	脂肪腫 (B)	0/71	0/70	0/70	0/71	0/70	0/70	1/70	0/70
	悪性混合腫瘍 (M)	0/71	0/70	1/70	0/71	0/70	1/70	1/70	0/70
前胃	平滑筋肉腫 (M)	0/71	0/40	1/41	0/71	0/70	0/43	0/42	0/70
腸間膜 リンパ節	リンパ管腫 (B)	0/71	0/39	0/39	1/70	0/70	0/44	0/43	0/69
	血管腫 (B)	1/71	0/39	0/39	0/70	1/70	0/44	0/43	0/69
精巣	中皮腫 (M)	1/71	0/39	0/39	1/70	-	-	-	-
	間細胞腫 (B)	2/71	1/39	0/39	5/70	-	-	-	-

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性、NOS:分類不能

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確立検定; 申請者実施)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

表2-5 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (全動物) (続き)

性別		雄				雌			
		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
精巣 上体	中皮腫 (M)	3/71	1/40	1/39	0/71	-	-	-	-
前立腺	癌 (M)	0/71	0/40	0/39	1/71	-	-	-	-
膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	0/71	0/70	0/70	12/71**	1/70	0/70	0/70	7/70*
	移行上皮癌 (M)	0/71	0/70	0/70	11/71**	0/70	0/70	0/70	6/70*
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0/71	0/70	0/70	1/71	0/70	0/70	0/70	0/70
	島細胞腺腫 (B)	1/71	0/39	2/39	1/71	1/70	4/70	2/70	1/70
	腺房細胞腺腫 (B)	0/71	0/39	0/39	0/71	0/70	0/70	0/70	2/70
卵巣	良性顆粒膜/莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0/70	1/50	0/46	1/70
	悪性顆粒膜/莢膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	0/70	2/50	0/46	0/70
	セルトリ細胞腺腫(B)	-	-	-	-	1/70	0/50	2/46	0/70
子宮	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/70	1/49	0/47	0/70
	癌 (M)	-	-	-	-	0/70	1/49	0/47	0/70
	内膜間質ホリーフ(B)	-	-	-	-	1/70	1/49	1/47	0/70
子宮頸	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/70	0/42	1/42	2/70
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	0/70	0/42	0/42	1/70
	顆粒細胞腫 (B)	-	-	-	-	0/70	1/42	0/42	0/70
顎下腺	癌 (M)	0/71	0/39	0/39	0/28	0/70	0/43	1/42	0/70
膈	間質肉腫 (M)	-	-	-	-	0/70	0/42	0/42	1/70
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	-	0/70	0/42	0/42	1/70
	間質性ホリーフ (B)	-	-	-	-	0/70	0/42	0/41	1/70
胸腺	脂肪肉腫 (M)	0/53	0/34	0/30	0/50	0/60	2/35	0/33	0/51
	肉腫、NOS (M)	0/53	0/34	1/30	0/50	0/60	0/35	0/33	0/51
	扁平上皮癌 (M)	0/53	0/34	0/30	0/50	0/60	0/35	0/33	1/51
乳腺 (雌)	癌 (M)	-	-	-	-	17/70	16/65	17/61	22/69
	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	31/70	43/65	19/61	18/69
皮膚	角化棘細胞腫 (B)	5/28	0/17	2/28	0/19	0/49	0/46	0/43	0/30
	基底細胞癌 (M)	0/28	0/17	0/28	1/19	0/49	0/46	0/43	0/30
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0/28	0/17	0/28	1/19	1/49	0/46	0/43	0/30
	線維肉腫 (M)	0/28	0/17	0/28	1/19	0/49	0/46	0/43	0/30
	平滑筋肉腫 (M)	0/28	0/17	0/28	1/19	0/48	0/46	0/43	0/30
	角化棘細胞腫 (B)	1/28	1/17	1/28	2/19	0/48	0/46	0/43	0/30
	線維腫 (B)	0/28	1/17	0/28	0/19	0/49	0/46	0/43	0/30

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性、NOS:分類不能

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確立検定:申請者実施)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

表2-5 [腫瘍性病変] - 最終屠殺群 (計画殺及び死亡・切迫殺動物計) (続き)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	250	1500	7500	0	250	1500	7500
皮下	線維肉腫 (M)	4/8	5/14	3/10	3/7	2/6	1/6	1/8	-
	脂肪腫 (B)	1/8	0/14	0/10	1/13	0/6	0/6	0/8	-
	線維腫 (B)	2/8	5/14	3/10	0/13	1/6	2/6	1/8	-
	神経線維肉腫 (M)	0/8	0/14	1/10	1/13	1/6	0/6	1/8	-
	肉腫,NOS (M)	0/8	0/14	0/10	0/13	1/6	0/6	0/8	-
	脊索腫 (M)	0/8	0/14	1/10	0/13	0/6	0/6	0/8	-
	粘液肉腫 (M)	0/8	0/14	1/10	0/13	0/6	0/6	0/8	-
	平滑筋肉腫 (M)	0/8	1/14	0/10	0/13	0/6	0/6	0/8	-
	粘液腫 (B)	0/8	1/14	0/10	0/13	0/6	0/6	0/8	-
腹腔	線維肉腫 (M)	1/2	0/4	1/3	0/1	0/2	0/1	0/2	0/1
頭頂部	線維肉腫 (M)	-	-	-	1/1	0/1	0/1	-	0/1
	扁平上皮癌 (M)	-	-	-	0/1	1/1	0/1	-	1/1
造血器	悪性リンパ腫 (M)	0/71	3/67	0/69	0/69	1/69	0/69	0/70	0/70
	組織球性肉腫 (M)	5/71	4/67	2/69	2/69	2/69	2/69	3/70	0/70
	顆粒球性白血病 (M)	0/71	0/67	1/69	1/69	2/69	0/69	1/70	1/70
	造血器腫瘍 NOS (M)	0/71	0/67	0/69	0/69	0/69	1/69	0/70	0/70
ジンバル腺	扁平上皮癌 (M)	1/32	0/36	0/38	0/26	0/47	2/44	1/42	0/24
乳腺	線維腺腫 (B)	2/6	0/5	0/7	0/5	-	-	-	-

(所見数/検査動物数)

(B):良性、(M):悪性、NOS:分類不能

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確立検定; 申請者実施)

52週間投与終了後の臨床病理学的検査時に死亡した0及び7500 ppm群の雄1例ずつは途中死亡例に含まれる。

ラットを用いた慢性毒性/発癌性併合試験の病理組織公式ピアレビュー（資料14）

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

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

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

マウスにおける発癌性試験

(資料 15)

試験機関

(GLP対応)

報告書作成年

検体純度:

試験動物: Crl: CD-1系マウス, 1群雌雄各80匹

開始時6週齢、平均体重 雄25.7g、雌20.1g

投与後12カ月時に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

試験期間: 24カ月 ()

投与方法: 検体を0、100、1000及び8000ppmの濃度で飼料に混入し、24カ月間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は4週に1度調製した。

試験項目及び結果: 一般状態及び生死をケージサイドから毎日観察した。また、週に1回詳細な身体検査を実施した。

一般状態に関して、8000ppm群雌雄でうずくまり、痩身、無気力、尿による汚れ、被毛粗剛を示す動物数が増加した。同群雌では眼球混濁の頻度が増加した。

(申請者注:尿による汚れは1000ppm群雄でも統計学的有意に増加し投与の影響と考えられた。)

所見	雄(ppm)				雌ppm)			
	0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
うずくまり	7	7	12	22**	12	11	15	54***
痩身	3	3	2	11*	8	3	9	41***
無気力	4	1	7	16**	3	4	5	18***
尿による汚れ	21	29	33*	57***	5	9	8	30***
被毛粗剛	20	31	20	43***	14	20	19	36***
眼球混濁	9	12	8	15	11	13	9	26**

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001 (Fisher; 申請者実施)

試験期間を通じた死亡率に投与の影響は認められなかった。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	100	1000	8000
死亡率(%)	雄	46	54	47	56
	雌	50	56	54	51

体重変化: 投与開始からから14週までは毎週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。

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

統計的に有意差のみられた週を下表に示す。

性	雄			雌		
	100	1000	8000	100	1000	8000
投与量(ppm)						
第1週	↓96		↓87			↓86
2	↓97	↓96	↓83			↓84
3	↓97	↓97	↓85			↓84
4	↓98	↓97	↓86			↓85
8	↓96	↓96	↓88			↓90
12			↓91			↓94
13			↓91			↓93
16		↓97	↓89			↓91
26			↓93			↓95
52			↓88			↓90
78			↓88			↓86
102			↓97			↓83

↓:p<0.05 (Dunnett's)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

8000ppm群の雌雄平均体重が試験期間を通して対照群に比べ減少した。1000ppm群雄及び100ppm群雄でも対照群に比べ統計学的に有意な体重の減少が一時的に認められたが、その程度は極軽度であり毒性学的影響とは考えられなかった。

摂餌量：全生存動物について投与開始から14週までは毎週1回、それ以降は4週に1度摂餌量を測定した。統計学的検定は13、26、50、78及び102週時の結果について実施した。

統計的に有意差のみられた週を下表に示す。

投与量(ppm)	雄			雌		
	100	1000	8000	100	1000	8000
第13週						↓93
26	↑106	↑106		↑107	↑108	↓93
50						↓91
78		↓94	↓93			↓90
102						↓91

↑ ↓:p<0.05 (Dunnett's)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

8000ppm群の雌では試験期間を通じて対照群に比べ摂餌量が減少した。また、1000ppm以上の投与群雄の摂餌量が78週時に一時的に減少した。1000ppm群及び100ppm群の雌雄で26週時に摂餌量が有意に増加したが、これらの変化は偶発性のものと考えられた。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		100	1000	8000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	14.73	146.0	1249
	雌	18.11	180.9	1441

血液学的検査：53週時及び105週時に各用量群雌雄10匹ずつについて、ペントバルビタールの麻酔下で後大動脈から採血し以下の項目の測定を実施した。

補正白血球数、総白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット、血小板数、白血球百分率、細胞形態、平均赤血球ヘモグロビン、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度

白血球百分率と細胞形態は、すべての動物について作製した血液塗沫標本を用い対照群と8000ppm群の計画殺動物及び切迫殺動物について検査した。切迫殺動物の採血は眼窩静脈叢から行った。

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

8000ppm群の雄で105週時に、同群の雌で53週時に、赤血球数、血色素量及びヘマトクリットの減少が認められた。これらの変化に検査時期による一貫性は認められないものの検体投与の影響は否定できなかった。

血小板数が8000ppm群雌で53週及び105週に増加した。この原因は明らかでなかったが、毒性学的意義は低いと考えられた。同群雌の53週に補正白血球数がリンパ球および好酸球の増加を伴って増加したが、その程度は僅かであり毒性学的意義がない変動であった。その他の変動は偶発的な変動と考えられた。

性 別	雄		雌	
	1000	8000	8000	
投与量(ppm)	1000	8000	8000	
検査時期(週)	53	105	53	105
赤血球数		↓ 77	↓ 91	
血色素量		↓ 80	↓ 93	
ヘマトクリット		↓ 79	↓ 92	
平均赤血球容積	↑ 105			
血小板数			↑ 128	↑ 186
補正白血球数			↑ 212	
リンパ球(%)			↑ 2.7/1.1*	
好酸球(%)			↑ 0.067/0.01*	

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett's)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

* : 投与群の数値(%) / 対照群の数値(%)

血液生化学的検査：53及び105週時に血液学的検査に用いた動物について以下血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性 別	雄				雌			
	1000		8000		1000		8000	
投与量(ppm)	1000		8000		1000		8000	
検査時期(週)	53	105	53	105	53	105	53	105
赤血球コリンエステラーゼ	↓ 77		↓ 70					
脳コリンエステラーゼ	↓ 82	↓ 87	↓ 43	↓ 60	↓ 87		↓ 53	↓ 66

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett's)

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低下が1000ppm以上の投与群雄で53週に認められた。脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下が、1000ppm以上の投与群雌雄で53ないし105週に認められた。

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

臓器重量：53週中間屠殺群及び試験終了時の各群雌雄10匹ずつを対照として以下の臓器重量を測定し、体重比及び脳重比も計算した。

肝臓（胆嚢を含む）、腎臓、肺、脾臓、副腎、脳、精巣及び精巣上体、卵巣

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別		雄					雌				
検査時期(週)		53		105			53		105		
投与量(ppm)		100	1000	8000	1000	8000	100	1000	8000	1000	8000
体重				↓ 91		↓ 87	↑ 112	↑ 112			↓ 85
肺	絶対重量					(93)				(63)	↓ 58
	体重比					(106)				(65)	(66)
	脳重比			↑ 114		(93)		↓ 88		↓ 62	↓ 61
肝臓 及び 胆嚢	絶対重量			(109)		(122)			↑ 124		(102)
	体重比			↑ 121		↑ 138			↑ 123		↑ 117
	脳重比			↑ 118		(121)			↑ 125		(107)
卵巣	絶対重量								↓ 67		
	体重比								↓ 65		
	脳重比								↓ 67		
脳及び 脳幹	体重比					↑ 114					
	腎臓		↑ 118	↑ 115		↑ 121					↑ 116
	脳重比	↑ 118	↑ 118								

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett's)

表中の数値は対照群に対する変動率(%), ()内は参考値

53および105週時において肝臓/胆嚢の重量（絶対重量および体重比ならびに脳重比）が8000ppm群雌雄で増加または増加傾向を示した。

53週時に8000ppm群雌の卵巣重量（絶対重量, 体重比及び脳重比）が対照群に対し有意に減少した。

その他の臓器重量の変動は体重減少による2次的な変化か、用量に関連しないものであり、検体投与による直接的影響とは考えられなかった。

肉眼病理検査：全動物について剖検を実施した。

8000ppm群の雌で最終屠殺時に眼球混濁の発生頻度が増加し、検体投与による影響と考えられた。

中間屠殺時及び死亡・切迫殺動物には検体投与に関連すると考えられる剖検所見は認められなかった。

変化の認められた肉眼的病理所見 最終屠殺群（計画殺動物）

	雄					雌				
	53	1000	8000	105	8000	53	1000	8000	105	8000

***: p<0.001 (Fisher: 申請者実施)

病理組織学的検査：すべての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。

脳及び脳幹、下垂体、甲状腺、胸腺、気管、肺、心臓、唾液腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣及び精巣上体、胸骨及び胸骨骨髓、眼球、大動脈、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、乳腺（雌のみ）、皮膚、食道、胃（腺胃及び前胃）、十二指腸、回腸、空腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、坐骨神経、脊髄（頸部、胸部、腰部）、胆のう、骨格筋、腫瘍及びその付属組織、肉眼的病変部

[非腫瘍性病変]

認められた主要な病変を後ページの表1に示す。

中間屠殺動物

1000および8000ppm群雄および8000ppm群雌で膀胱の移行上皮細胞質内タンパク様滴状物の発生頻度が増加した。また、8000ppm群雌雄で脾臓の色素沈着の発生頻度が増加した。

最終屠殺動物

1000および8000ppm群雌雄において膀胱の移行上皮細胞の細胞質内タンパク様滴状物が認められた。このタンパク様滴状物は好酸性に染色され、上皮の表層に認められた。本変化は変性、壊死、炎症ないし増殖性変化を疑わせる組織像を伴わなかった。

8000ppm群の雌雄において白内障の発生頻度が増加または増加傾向を示した。本変化はレンズ後面にみられ、ほとんどの動物で病変の程度は軽微から軽度であった。本変化に伴う網膜の2次的な変性は認められなかった。

8000ppm雌雄で脾臓の髓外造血及び色素沈着の頻度ないし程度が増加した。

最終屠殺動物における脾臓の髓外造血亢進及び色素沈着の頻度及び程度

臓器・組織	雄(ppm)				雌(ppm)				
	0	100	1000	8000	0	100	1000	8000	
検査動物数	37	31	36	30	34	31	32	32	
髓外造血	頻度	20	22	26	25*	27	24	23	29
	程度 ^a	1.2	1.1	1.3	1.8	1.4	1.5	1.3	2.0
色素沈着	頻度	35	28	35	28	27	23	30	31*
	程度 ^a	1.0	0.9	1.2	1.5	0.8	0.8	1.2	2.0

* p<0.05 (Fisher, 申請者実施)

a: 所見のグレードを0 (所見なし) ~5 (顕著) で表示した場合の平均値

申請者注:

その他の変動は本系統のマウスでしばしば観察される変化であり用量との関連がないことから偶発的変動と考えられた。

[腫瘍性病変]

認められた主要な病変を後ページの表2に示す。

投与群雄及び8000ppm群雌の最終屠殺群で血管系腫瘍(血管腫/血管肉腫)の発生頻度が増加した。次表に示すように、血管系腫瘍は主に肝臓および脾臓に認められた。

血管腫瘍の発生頻度

臓器・組織	雄(ppm)				雌(ppm)			
	0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
肝臓	0	4	5*	7**	2	1	2	7
脾臓	2	2	4	2	1	3	2	1
胸骨	0	1	2	2	1	2	0	0
心臓	0	1	0	2	0	0	0	0
リンパ節	0	0	0	0	0	1	0	0
眼球	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚	0	0	0	1	0	0	0	0
肺	0	0	0	1	0	0	0	1
副腎皮質	0	0	0	1	0	0	0	0
腹腔	0	1	0	0	0	0	0	0
皮下組織	0	0	1	1	0	0	0	1
精巣上体	0	0	0	1	—	—	—	—
子宮	—	—	—	—	2	0	1	0
血管腫瘍を有する動物数	2	6	10*	10*	3	3	4	9

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher:申請者実施)

申請者による考察:

血管腫瘍に関する背景対照データとの比較

発生臓器	本試験 100ppm 雄	背景対照データ
肝臓	4/70 (5.7%)	0/70~5/60 (0~8.3%)
脾臓	2/70 (2.9%)	0/70~2/48 (0~4.2%)
肝臓および/または脾臓	6/70 (8.6%)	0/70~6/60 (0~10%)

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

8000ppm群の雄で腎臓尿細管細胞腫瘍を有する動物数が増加した。

最終屠殺群動物における腎臓尿細管細胞腫瘍頻度

臓器・組織	雄(ppm)			
	0	100	1000	8000
検査動物数	69	70	70	70
腺腫	0	0	0	2
多発性腺腫	0	0	0	1
癌	0	0	0	3
扣腫瘍動物数	0	0	0	6*

*: $p < 0.05$ (Fisher直接確率検定；申請者実施)

8000ppm群の雌で肝細胞腫瘍の発生頻度が増加した。

最終屠殺群における肝細胞腫瘍頻度

臓器・組織	雌(ppm)			
	0	100	1000	8000
検査動物数	69	70	69	70
腺腫	0	0	1	6*
多発性腺腫	0	0	0	1
多発性癌	1	1	1	2
肝芽細胞腫	0	0	0	1
扣腫瘍動物数	1	1	2	11**

** : $p < 0.01$ (Fisher直接確率検定；申請者実施)

以上の結果、投与による毒性影響として8000ppm投与群雌雄で一般状態観察におけるうずくまり、痩身、無気力、尿による汚れ、被毛粗剛ならびに眼球混濁（雌のみ）の頻度増加、対照群に比した体重ならびに摂餌量の減少、血液学的検査における赤血球数、血色素量ならびにヘマトクリットの低下、肝臓／胆嚢重量増加、卵巣重量の減少（52週時のみ）、剖検時の眼球混濁（雌のみ）、病理組織学的検査における白内障、脾臓の色素沈着ならびに髄外造血の頻度ないし程度の上昇が、1000ppm以上の投与群雌雄で生化学検査における赤血球（雄のみ）ならびに脳コリンエステラーゼ活性阻害、病理組織学的検査における膀胱の移行上皮細胞質内タンパク様滴状物が認められた、一般状態観察時の尿による汚れ及び摂餌量の減少は1000ppm群雌でも認められた。

また、腫瘍性病変として、1000ppm以上の投与群雌及び8000ppm群雌で血管系腫瘍、8000ppm群雌で腎臓尿細管細胞腫瘍、同群雌で肝細胞腫瘍の発生頻度が増加した。

本試験における無毒性量（NOAEL）は雌雄とも100ppm（雄；14.73mg/kg/day、雌；18.11mg/kg/day）と判断された。

本試験において雄では1000ppm以上、雌では8000ppmで腫瘍誘発性が認められた。

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

表 1-1. 非腫瘍性病変 - 中間屠殺群

性		雄				雌			
用量 (ppm)		0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
腎臓	慢性腎症	6/10	7/10	10/10	9/10	9/10	9/10	10/10	10/10
膀胱	移行上皮細胞質内タバク様滴	0/10	0/10	6/10*	10/10**	0/10	0/10	0/10	10/10**
脾臓	骨髓外造血	7/10	7/10	7/10	10/10	7/10	7/10	7/9	9/10
	色素沈着	0/10	1/10	1/10	9/10**	1/10	1/10	2/9	8/10**
眼	白内障(両側性)	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10

(所見数/検査動物数)

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確率検定: 申請者実施)

表 1-2. 非腫瘍性所見 - 最終屠殺群

性		雄				雌			
用量 (ppm)		0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
途中死亡・切迫殺動物									
腎臓	慢性腎症	12/32	16/39	15/33	13/40	12/35	23/39	21/37	10/38
膀胱	移行上皮細胞質内タバク様滴	0/33	0/39	4/31	18/40	0/34	0/37	6/35	19/35
脾臓	骨髓外造血	17/33	17/39	21/33	16/39	17/35	26/38	17/35	20/35
	色素沈着	22/33	29/39	23/33	25/39	29/35	29/38	26/35	23/35
眼	白内障(両側性)	0/33	1/39	2/33	3/40	1/36	1/39	1/38	2/38
	白内障(一側性)	3/33	3/39	1/33	7/40	5/36	3/39	3/38	6/38
計画殺動物									
肝臓	壊死	1/37	2/31	7/37*	0/30	4/34	2/31	3/32	5/32
腎臓	慢性腎症	36/37	23/31**	36/37	20/30**	27/34	25/31	20/32	27/32
	アミロイド沈着	1/37	8/31**	1/28	1/29	5/34	4/31	3/32	2/32
膀胱	移行上皮層細胞質内タバク様滴	0/36	0/31	9/37**	19/30**	0/34	0/30	4/32*	25/32**
脾臓	骨髓外造血	20/37	22/31	26/36	25/30*	27/34	24/31	23/32	29/32
	色素沈着	35/37	28/31	35/36	28/30	27/34	23/31	30/32	31/32*
眼	白内障(両側性)	8/37	6/31	5/36	12/30	5/34	6/31	3/32	16/32**
	白内障(一側性)	5/37	5/31	10/36	7/30	10/34	1/31**	8/32	7/32
全動物									
肝臓	壊死	6/69	9/70	10/70	9/70	6/69	2/70	4/60	5/70
腎臓	慢性腎症	48/69	39/70	51/70	33/70	39/69	48/70	41/69	37/70
	アミロイド沈着	16/69	25/70	16/70	23/70	18/69	11/70	13/69	14/70
膀胱	移行上皮層細胞質内タバク様滴	0/69	0/70	13/68***	37/70***	0/69	0/67	10/67***	44/67***
脾臓	骨髓外造血	37/70	39/70	47/69*	41/69	44/69	50/69	49/67	51/67
	色素沈着	57/70	57/70	49/69	53/69	56/69	52/69	56/67	54/67
眼	白内障(両側性)	8/70	7/70	7/69	15/70	6/69	7/70	4/70	18/70**
	白内障(一側性)	8/70	8/70	11/69	14/70	15/70	4/70	11/70	13/70

(所見数/検査動物数)

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確率検定: 申請者実施)

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

表2-1. 腫瘍性病変 — 中間屠殺群

性		雄				雌			
		0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
用量 (ppm)									
肺	肺胞気管支腺腫 (良性)	3/10	0/10	2/10	1/10	0/10	2/10	0/10	0/10
	肺胞細気管支癌 (悪性)	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	多発性肺胞細気管支腺腫 (良性)	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
肝臓	肝細胞腺腫 (良性)	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
	多発性肝細胞腺腫 (良性)	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10

(所見数/検査動物数)

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

表2-2. 腫瘍性病変 - 最終屠殺群 (途中死亡・切迫殺動物)

性		雄				雌			
		0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
	用量 (ppm)								
脳	星状膠細胞腫 (悪性)	0/33	0/39	0/33	1/40	0/36	0/39	0/38	0/38
副腎	褐色細胞腫 (悪性)	0/33	0/39	1/31	0/38	0/35	0/39	0/37	0/37
髄質	褐色細胞腫 (良性)	1/33	0/39	0/31	0/38	0/35	0/39	0/37	0/37
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (良性)	0/33	0/39	0/33	0/39	0/35	0/39	1/36	0/37
肺	肺胞細気管支癌 (悪性)	7/33	1/39	3/33	2/40	2/35	3/39	2/38	2/38
	多発性肺胞細気管支腺腫 (良性)	0/33	1/39	0/33	1/40	1/35	0/39	1/38	0/38
	肺胞気管支腺腫 (良性)	6/33	5/39	3/33	5/40	4/35	6/39	2/38	6/38
	多発性肺胞細気管支癌 (悪性)	0/33	1/39	1/33	0/40	0/35	1/39	0/38	0/38
肝臓	肝細胞腺腫 (良性)	3/32	1/39	4/33	1/40	0/35	0/39	0/37	1/38
	多発性肝細胞腺腫 (良性)	0/32	0/39	0/33	1/40	0/35	0/39	0/37	0/38
	肝細胞癌 (悪性)	3/32	5/39	1/33	5/40	0/35	1/39	1/37	2/38
腎臓	尿細管細胞腺腫 (良性)	0/32	0/39	0/33	1/40	0/35	0/39	0/37	0/38
盲腸	平滑筋肉腫 (悪性)	0/27	0/29	0/22	0/35	0/29	1/35	0/34	0/34
精巣	間質細胞腫 (良性)	1/33	0/39	1/32	1/40	-	-	-	-
精囊	肺胞細気管支癌 (良性)	0/33	0/39	1/33	0/40	-	-	-	-
卵巣	黄体腫 (良性)	-	-	-	-	0/34	1/39	0/36	0/37
	肉芽細胞腫瘍 (良性)	-	-	-	-	1/34	0/39	0/36	0/37
子宮	内膜基質ホリ-ブ (良性)	-	-	-	-	2/35	2/39	2/36	0/37
	子宮内膜肉腫 (悪性)	-	-	-	-	2/35	1/39	0/36	0/37
	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	0/35	2/39	1/36	0/37
子宮頸部	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	1/35	1/39	0/37	0/37
	平滑筋腫 (良性)	-	-	-	-	0/35	1/39	0/37	0/37
	肉芽細胞腫瘍 (良性)	-	-	-	-	0/35	1/39	0/37	0/37
	線維肉腫 (悪性)	-	-	-	-	1/35	0/39	0/37	0/37
胸腺	骨原性肉腫 (悪性)	0/19	0/28	0/17	0/18	0/21	0/31	1/30	0/24
乳腺 (雌)	癌 (悪性)	-	-	-	-	1/36	0/39	1/38	0/38
血管組織	血管肉腫 (悪性)	0/33	3/39	3/33	3/40	1/36	3/39	1/38	8/38
	血管腫 (良性)	0/33	0/39	0/33	1/40	0/36	0/39	1/38	0/38
皮膚、その他	線維肉腫 (良性)	0/6	0/9	0/6	0/8	1/2	0/8	0/3	0/4
皮下組織	線維肉腫 (悪性)	0/6	0/5	0/6	0/3	2/6	0/3	0/3	0/2
聴覚皮脂	癌 (悪性)	-	-	-	1/1	-	-	-	-
造血組織	組織球肉腫 (悪性)	0/33	2/39	1/33	2/40	1/36	3/39	3/38	3/37
	リンパ腫 (悪性)	1/33	1/39	2/33	2/40	3/36	4/39	3/38	1/37
	顆粒細胞白血病 (悪性)	0/33	0/39	0/33	1/40	0/36	0/39	0/38	0/37
	リンパ細胞リンパ腫 (悪性)	2/33	3/39	1/33	0/40	0/36	1/39	2/38	2/37
	リンパ芽細胞リンパ腫 (悪性)	1/33	0/39	0/33	0/40	0/36	0/39	1/38	0/37
	未分類リンパ腫 (悪性)	0/33	0/39	0/33	0/40	0/36	0/39	1/38	0/37
乳腺	骨肉腫 (悪性)	-	-	-	1/1	-	-	-	-
筋肉	横紋筋腫 (悪性)	-	-	-	-	-	1/1	-	-
ハタゲ腺	腺腫 (良性)	1/1	-	-	-	-	-	1/1	-

(所見数/検査動物数)

表2-3. 腫瘍性病変 — 最終屠殺群 (計兩殺動物)

		性		雄				雌			
		用量 (ppm)		0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
脳下垂体	腺腫 (良性)			0/37	0/31	1/37	0/29	1/34	2/29	0/32	0/32
副腎髓質	褐色細胞腫 (良性)			1/37	1/31	0/37	0/30	0/34	0/31	0/32	0/32
甲状腺	肉腫 (良性)			0/36	0/30	1/37	0/30	0/34	0/31	0/32	0/30
上皮小体	腺腫 (良性)			0/28	0/26	0/35	0/28	0/33	0/27	0/29	1/24
肺	肺胞気管支腺腫 (良性)			7/37	7/31	8/37	8/30	6/34	8/31	4/32	3/32
	肺胞細気管支癌 (悪性)			9/37	8/31	6/37	4/30	4/34	3/31	3/32	7/32
	多発性肺胞細気管支腺腫 (良性)			2/37	0/31	3/37	2/30	0/34	2/31	0/32	0/32
	多発性肺胞細気管支癌 (悪性)			0/37	0/31	1/37	0/30	1/34	0/31	0/32	0/32
胆嚢	腺腫 (良性)			0/37	0/31	0/37	0/30	0/34	0/31	0/32	0/32
肝臓	肝細胞腺腫 (良性)			8/37	6/31	6/37	4/30	0/34	0/31	1/32	5/32*
	多発性肝細胞腺腫 (良性)			0/37	0/31	2/37	2/30	0/34	0/31	0/32	1/32
	肝細胞癌 (悪性)			3/37	2/31	2/37	3/30	1/34	0/31	0/32	0/32
	多発性肝細胞癌 (悪性)			0/37	0/31	0/37	0/30	0/34	0/31	0/32	1/32
	肝芽細胞腫 (悪性)			0/37	0/31	0/37	0/30	0/34	0/31	0/32	1/32
腎臓	尿細管細胞腺腫 (良性)			0/37	0/31	0/37	1/30	0/34	0/31	0/32	0/32
	尿細管細胞癌 (悪性)			0/37	0/31	0/37	3/30	0/34	0/31	0/32	0/32
	多発性尿細管細胞腺腫 (良性)			0/37	0/31	0/37	1/30	0/34	0/31	0/32	0/32
膀胱	移行上皮癌 (悪性)			0/36	1/31	0/37	0/30	0/34	0/30	0/32	0/32
胃非腺部	扁平細胞癌 (悪性)			0/37	0/31	1/36	0/30	0/34	0/31	1/32	0/32
胃腺部	腺腫 (良性)			0/37	0/31	0/37	0/30	1/34	0/31	0/32	0/32
十二指腸	癌 (悪性)			0/37	0/31	0/37	0/30	0/34	0/31	0/32	1/32
精巣	間質性細胞腫瘍 (良性)			0/37	1/31	4/37	0/30	-	-	-	-
卵巢	黄体腫 (良性)			-	-	-	-	1/34	0/31	2/32	1/32
	嚢腺腫 (良性)			-	-	-	-	1/34	3/31	0/32	0/32
	癌 (悪性)			-	-	-	-	0/34	0/31	0/32	1/32
子宮	内膜基質ポリープ (良性)			-	-	-	-	5/34	0/31*	4/32	0/32*
	腺腫様ポリープ (良性)			-	-	-	-	0/34	0/31	1/32	0/32
	平滑筋肉腫 (悪性)			-	-	-	-	0/34	0/31	2/32	0/32
	癌 (悪性)			-	-	-	-	0/34	1/31	0/32	0/32
	線維腫 (良性)			-	-	-	-	0/34	0/31	0/32	0/32
子宮頸部	平滑筋肉腫 (悪性)			-	-	-	-	0/34	0/29	1/32	0/32
	平滑筋腫 (良性)			-	-	-	-	0/34	1/29	0/32	0/32
	子宮内膜肉腫 (悪性)			-	-	-	-	1/34	0/29	0/32	0/32
乳腺 (雌)	癌 (悪性)			-	-	-	1/34	0/31	0/32	0/32	
胸骨	骨腫 (良性)			0/37	0/31	0/37	0/30	1/34	0/31	0/32	0/32
血管	血管肉腫 (悪性)			2/37	2/31	6/37	4/30	1/34	0/31	2/32	0/32
	血管腫 (良性)			0/37	1/31	1/37	2/30	1/34	0/31	0/32	0/32
皮膚、その他	扁平細胞乳頭腫 (良性)			1/11	0/2	0/9	0/7	1/2	0/3	0/6	0/6
皮下組織	線維肉腫 (悪性)			-	-	0/1	-	1/1	-	-	0/32
造血組織	組織球肉腫 (悪性)			2/37	0/31	1/37	1/30	1/34	4/31	2/32	0/32
	リンパ腫 (悪性)			0/37	1/31	1/37	1/30	5/34	2/31	3/32	2/32
	リンパ細胞リンパ腫 (悪性)			0/37	0/31	0/37	0/30	1/34	0/31	1/32	0/32
	リンパ芽細胞リンパ腫 (悪性)			0/37	0/31	0/37	0/30	0/34	1/31	1/32	0/32
包皮腺	線維肉腫 (悪性)			-	-	1/1	-	-	-	-	-
ハーダー腺	腺腫 (良性)			3/3	1/1	2/3	1/1	-	3/3	1/1	-
	多発性腺腫 (良性)			0/3	0/1	1/3	0/1	-	0/3	0/1	-

(所見数/検査動物数)

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確率検定: 申請者実施)

表2-4. 腫瘍性病変 — 最終屠殺群 (全動物)

		性				雄				雌				
		用量 (ppm)		0	100	1000	8000	0	100	1000	8000	0	100	1000
脳	悪性神経膠状細胞腫 (悪性)		0/33	0/39	0/33	1/40	0/36	0/39	0/38	0/38				
脳下垂体	腺腫 (良性)		0/69	0/68	1/69	0/69	1/70	2/68	0/70	0/70				
副腎髓質	褐色細胞腫 (良性)		2/70	1/70	0/68	0/68	0/69	0/70	0/69	0/69				
	褐色細胞腫 (悪性)		0/70	0/70	1/69	0/68	0/69	0/70	0/69	0/69				
甲状腺	肉腫 (良性)		0/69	0/69	1/70	0/69	0/69	0/70	0/68	0/67				
	濾胞細胞腺腫 (良性)		0/69	0/69	0/70	0/69	0/69	0/70	1/68	0/67				
上皮小体	腺腫 (良性)		0/28	0/26	0/35	0/28	0/33	0/27	0/29	1/24				
肺	多発性肺胞細気管支癌 (悪性)		0/70	1/70	2/70	0/70	1/69	1/70	0/70	0/70				
	多発性肺胞細気管支腺腫 (良性)		2/70	1/70	3/70	3/70	1/69	2/70	1/70	0/70				
	肺胞気管支腺腫 (良性)		13/70	12/70	11/70	13/70	10/69	14/70	6/70	9/70				
	肺胞細気管支癌 (悪性)		16/70	9/70	9/70	6/70*	6/69	6/70	5/70	9/70				
胆嚢	腺腫 (良性)		0/60	0/55	0/58	0/54	0/55	0/58	0/58	0/61				
肝臓	肝芽細胞腫 (悪性)		0/69	0/70	0/70	0/70	0/69	0/70	0/69	1/70				
	肝細胞癌 (悪性)		6/69	7/70	3/70	8/70	1/69	1/70	1/69	2/70				
	肝細胞腺腫 (良性)		11/69	7/70	10/70	5/70	0/69	0/70	1/69	6/70*				
	多発性肝細胞癌 (悪性)		0/69	0/70	0/70	0/70	0/69	0/70	0/69	1/70				
	多発性肝細胞腺腫 (良性)		0/69	0/70	2/70	3/70	0/69	0/70	0/69	1/70				
腎臓	尿細管細胞癌 (悪性)		0/69	0/70	0/70	3/70	0/69	0/70	0/69	0/70				
	尿細管細胞腺腫 (良性)		0/69	0/70	0/70	2/70	0/69	0/70	0/69	0/70				
	多発性尿細管細胞腺腫 (良性)		0/69	0/70	0/70	1/70	0/69	0/70	0/69	0/70				
膀胱	移行上皮癌 (悪性)		0/69	1/70	0/68	0/70	0/68	0/67	0/67	0/67				
胃非腺部	扁平細胞癌 (悪性)		0/70	0/70	1/69	0/70	0/69	0/70	1/69	0/70				
胃腺部	腺腫 (良性)		0/70	0/70	0/69	0/70	1/68	0/70	0/66	0/70				
十二指腸	癌 (悪性)		0/63	0/65	0/66	0/66	0/67	0/69	0/64	1/69				
盲腸	平滑筋肉腫 (悪性)		0/64	0/60	0/59	0/65	0/63	1/66	0/66	0/66				
精巣	間質性細胞腫瘍 (良性)		1/70	1/70	5/69	1/70	-	-	-	-				
卵巢	黄体腫 (良性)		-	-	-	-	1/68	1/70	2/68	1/69				
	癌 (悪性)		-	-	-	-	0/68	0/70	0/68	1/69				
	肉芽細胞腫瘍 (良性)		-	-	-	-	1/68	0/70	0/68	0/69				
	囊腺腫 (良性)		-	-	-	-	1/68	3/70	0/68	0/69				
子宮	癌 (悪性)		-	-	-	-	0/69	1/70	0/68	0/69				
	子宮内膜肉腫 (悪性)		-	-	-	-	2/69	1/70	0/68	0/69				
	線維腫 (良性)		-	-	-	-	0/69	0/70	0/68	0/69				
	腺腫様ホリーフ (良性)		-	-	-	-	0/69	0/70	1/68	0/69				
	内膜基質ホリーフ (良性)		-	-	-	-	7/69	2/70	6/68	0/69				
	平滑筋肉腫 (悪性)		-	-	-	-	0/69	2/70	3/68	0/69				
子宮頸部	子宮内膜肉腫 (悪性)		-	-	-	-	1/69	0/68	0/69	0/69				
	線維肉腫 (悪性)		-	-	-	-	1/69	0/68	0/69	0/69				
	肉芽細胞腫瘍 (良性)		-	-	-	-	0/69	1/68	0/69	0/69				
	平滑筋腫 (良性)		-	-	-	-	0/69	2/68	0/69	0/69				
	平滑筋肉腫 (悪性)		-	-	-	-	1/69	1/68	1/69	0/69				
胸腺	骨原性肉腫 (悪性)		0/41	0/50	0/41	0/35	0/49	0/61	1/60	0/49				
乳腺(雌)	癌 (悪性)		-	-	-	-	2/70	0/70	1/70	0/70				
胸骨	骨腫 (良性)		0/70	0/70	0/70	0/69	1/70	0/70	0/69	0/70				
血管組織	血管腫 (良性)		0/70	1/70	1/70	3/70	1/70	0/70	1/70	0/70				
	血管肉腫 (悪性)		2/70	5/70	9/70*	7/70	2/70	3/70	3/70	8/70*				

(所見数/検査動物数)

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確率検定; 申請者実施)

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

表2-4. 腫瘍性病変 - 最終屠殺群 (全動物) (続き)

		性				雌					
		用量 (ppm)				0	100	1000	8000	0	100
皮膚、 その他	扁平細胞乳頭腫 (良性)	0/8	0/11	0/15	0/15	1/4	0/11	0/9	0/10		
	線維肉腫 (良性)	0/17	0/11	0/15	0/15	1/4	0/11	0/9	0/10		
皮下 組織	線維肉腫 (悪性)	0/6	0/5	0/7	0/3	3/7	0/3	0/3	0/2		
聴覚 皮脂	癌 (悪性)	-	-	-	1/1	-	-	-	-		
造血 組織	リンパ芽細胞リンパ腫(悪性)	1/70	0/70	0/70	0/70	0/70	1/70	2/70	0/69		
	リンパ細胞リンパ腫 (悪性)	2/70	3/70	1/70	0/70	1/70	1/70	3/70	2/69		
	リンパ腫 (悪性)	1/70	2/70	3/70	3/70	8/70	6/70	6/70	3/69		
	組織球肉腫 (悪性)	2/70	2/70	2/70	3/70	2/70	7/70	5/70	3/69		
	未分類リンパ腫 (悪性)	0/70	0/70	0/70	0/70	0/70	0/70	1/70	0/69		
	顆粒細胞白血病 (悪性)	0/70	0/70	0/70	1/70	0/70	0/70	0/70	0/69		
乳腺 (雄)	骨肉腫 (悪性)	-	-	0/1	1/1	-	-	-	-		
筋肉	横紋筋腫 (悪性)	-	-	-	0/1	-	1/1	-	-		
包皮腺	線維肉腫 (悪性)	-	0/1	1/1	-	-	-	-	-		
ハ-ダ-腺	腺腫 (良性)	4/4	1/1	2/3	1/1	-	3/3	2/2	-		
	多発性腺腫 (良性)	0/4	0/1	1/3	0/1	-	0/3	0/2	-		

(所見数/検査動物数)

*: p<0.05, **: p<0.01 (Fisher直接確率検定; 申請者実施)

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

マウスを用いた発癌性試験の病理組織公式ピアレビュー

(資料16)

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

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

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

イヌを用いた1年間慢性毒性試験

(資料17)

試験機関：

報告書作成年：

(GLP)

検体の純度：

試験動物：純系ビーグル犬 1群 雌雄各6匹

(試験開始時20~21週令：体重 雄 6.0~8.3kg、雌 5.5~7.2kg)

試験期間：12ヶ月 ()

試験方法：検体を0、125、400、1250ppmの濃度で試料に混和し投与した。飼料は毎週調製し、毎日1回午前8時~10時の間に投与した。対照群には基礎飼料のみを投与した。

用量設定根拠：

試験項目および結果

一般状態及び死亡率：一般状態は毎日1回、動物の生死は毎日2回観察を行った。

試験期間中、死亡動物はなく、どの動物にも検体の投与に関連した異常症状は認められなかった。認められた変化は、本試験実施施設で飼育した犬において通常観察されているものであった。

体重変化：各動物の体重を毎週、投与開始時に測定した。

各試験期間における体重の変化量は以下の表の通りである。

投与量 (ppm)	0		125		400		1250	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0~5	1.1	1.0	1.3	1.1	1.2	1.0	0.7	0.5*
0~13	2.0	1.7	2.3	1.8	2.1	1.6	2.0	1.3
0~26	2.6	2.2	2.9	2.3	2.8	2.2	3.0	1.6
0~52	2.9	2.4	3.3	2.7	3.2	2.3	3.5	2.1

* : P<0.05 (Dunnett) (数値は体重変化量：kg)

0~5週時に1250ppmの雌に有意な体重増加抑制が認められたが、生物学的に意義のある変化とはみなさなかった。

摂餌量及び検体摂取量：毎週各動物の摂餌量を測定し、飼料中検体濃度、摂餌量及び体重より検体摂取量を算出した。

試験期間を通じて摂餌量に有意な差はなかった。

52週間における平均検体摂取量は表の通りである()。

投与群 (ppm)	雄	雌
125	3.37mg/kg/day	3.73mg/kg/day
400	11.2mg/kg/day	11.1mg/kg/day
1250	33.8mg/kg/day	34.4mg/kg/day

血液学的検査；投与開始前2週と、投与開始後13, 26及び52週時にコリンエステラーゼ活性測定のための採血日の翌日給餌前に全動物から採血し、血色素量、ヘマトクリット、赤血球数、総白血球数、白血球百分比、血小板、プロトロンビン時間、ハイツ小体、細胞形態を測定・観察した。

投与群 (ppm)		125				400				1250			
検査時期(週)		5	13	26	52	5	13	26	52	5	13	26	52
雄	赤血球		↑ 105										
	血色素量		↑ 113										
	ヘマトクリット		↑ 114										
	凝固時間							↓ 85				↓ 79	
	白血球数											↑ 130	↑ 148
	好中球												↑ 161

↑ ↓ : P<0.05 (Dunnett) (数値は対照群に対する変動率%)

高用量群雄の26及び52週時の白血球数、並びに52週時の好中球数が有意に増加した。血液学的検査で認められたその他の変動は生物学的に重要な変化とは考えられなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査と同時期に全動物から採血し、アルブミン、アルブミン／グロブリン比、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素、グルコース、総コレステロール、尿素窒素、クレアチンキナーゼ、無機リン、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGPT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、グロブリン、クレアチニン、メトヘモグロビン、尿酸脱水素酵素、総蛋白、直接ビリルビン、総ビリルビンを測定した。

ppm		125			400			1250		
週		13	26	52	13	26	52	13	26	52
雄	カルシウム	↑ 104								
	グルコース	↑ 108								
	AST						↓ 77			↓ 77
	ALT			↓ 75			↓ 75			↓ 72
	クレアチンキナーゼ			↓ 46			↓ 49			
	GGPT								↓ 50	
雌	ナトリウム	↑ 102								
	カリウム						↓ 91			
	アルブミン							↓ 91	↓ 91	↓ 89
	無機リン									↑ 125
	尿素窒素							↑ 167		
	グルコース		↓ 94				↓ 93		↓ 92	

↑ ↓ : P<0.05 (Dunnett) (数値は対照群に対する変動率%)

高用量群雌でアルブミンの平均値が検査時期を通じて有意に減少した。臨床生化学的検査で認められたその他の変動は、生物学的に重要な変化とは考えられなかった。

コリンエステラーゼ活性；全動物について投与開始前3, 2及び1週と投与開始後5, 13, 26及び52週に飼料投与2時間後に採血し測定し、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。また投与終了後に屠殺した（最終投与後約2時間後に屠殺）全動物の脳コリンエステラーゼ活性を測定した。対照群と比較して25%以上のコリンエステラーゼ活性の抑制が認められた場合に生物学的に意義がある変化と判断した。

400及び1250ppm群雌雄で投与期間を通じて血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性が対照群に比べ25%以上低下した。また、400ppm群雄と1250ppm群雌雄の脳コリンエステラーゼ活性が対照群に比べ25%以上抑制され投与の影響と考えられた。

投与5～13週時の125ppm群雌の血漿コリンエステラーゼ活性は対照群に比べ25%近く低値を示したが、当群においては投与前の数値も低値を示しており、個体間の変動を反映したものと考えられた。

尿検査： 血液学的検査実施日と同日午前中にケージ底板より尿を採取し、色調／外観、尿量、比重、pH、潜血、蛋白、グルコース、ウロビリノーゲン、ビリルビン、ケトン、沈渣、還元物質について測定した。
投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

眼科学的検査：投与開始前及び投与後52週にすべての動物に対し、スリットランプ及び間接検眼鏡を用いて眼科学的検査を行った。
検体投与に関連する変化は認められなかった。

剖検： 投与後52週に全動物について剖検し、認められた肉眼的異常を記録した。
投与に関連した肉眼的異常は認められなかった。

臓器重量：剖検後、全動物について以下の臓器重量を測定し、体重及び脳に対する相対重量も計算した。

副腎、脳（脳幹を含む）、生殖腺（精巣及び精巣上体／卵巢）、心臓、腎臓、肝臓（胆嚢を含む）甲状腺及び上皮小体、下垂体

投与群 (ppm)		125	400	1250
雄	肝臓（胆嚢を含む）絶対重量			↑ 124
	甲状腺 対体重比			↓ 72

↑ ↓ : P<0.05 (Dunnett) (数値は対照群に対する変動率%)

対照群と比較して、肝臓の絶対重量が1250ppm群雄で有意に増加した。

甲状腺重量の対体重比が1250ppm群雄で有意に減少したが、絶対重量に有意差はなく、病理組織学的所見も認められないことから、生物学的意義はないと考えられた。

雌の臓器重量に変化は認められなかった。

病理組織学的検査：投与後52週に全動物を屠殺し、以下の組織を包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色して鏡検した。

脳（大脳、小脳、脳幹）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、眼、下垂体、唾液腺（顎下腺両側）、心臓、胸部大動脈、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、肺（主気管支を含む）、気管、脾臓、胸骨（骨髄を含む）、リンパ節（顎下、腸間膜）、坐骨神経、食道、胃（噴門部、胃底部、幽門部）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、副腎、膵臓、肝臓及び胆嚢、腎臓、膀胱、卵巢／精巣、前立腺、精巣上体、膈、子宮／子宮頸部、皮膚、乳腺、骨格筋、肉眼的異常部位

認められた主な所見を表1に示す。

検体投与に関連する異常は認められなかった。認められた変化はいずれも通常認められる変化であり、検体投与による変化とは考えられなかった。

(

)

以上の結果、投与による毒性影響として雄では1250ppm群で血液学的検査における白血球ならびに好中球数の増加及び肝重量（絶対）の増加、400ppm以上の投与群で血漿、血液及び脳コリンエステラーゼ活性阻害が、雌では1250ppm群で脳コリンエステラーゼ活性阻害及び血漿中のアルブミン濃度の低下が、400ppm以上の投与群で血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性阻害が認められた。

本試験における無毒性量は雌雄とも125ppm（雄 3.37mg/kg/day、雌 3.73mg/kg/day）と判断された。

表. 病理学的検査結果

投与量		雄				雌			
		0	125	400	1250	0	125	400	1250
検査動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
脳	血管周囲性単核細胞浸潤	1	0	0	1	1	0	0	0
	血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	0
頸髄	血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	0
胸髄	血管周囲性単核細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	0
下垂体	嚢胞	2	0	0	2	0	2	0	0
甲状腺	リンパ球性甲状腺炎	1	0	0	0	1	0	0	1
	扁平上皮遺残	1	0	0	0	0	0	0	0
	コラーゲン減少	0	0	0	1	1	1	2	1
	C細胞過形成	2	2	1	4	4	5	3	5
	嚢胞	0	0	1	0	0	0	0	0
上皮小体	嚢胞	0	0	1	0	0	1	2	0
	過形成	0	0	1	0	0	0	0	0
副腎皮質	単核細胞浸潤限局性	0	0	0	0	1	1	1	0
肺	気管枝周囲性/血管周囲性リンパ球浸潤	1	3	2	3	4	2	2	3
	限局性肺炎	2	1	2	5	0	5	2	1
	肺間質マクロファージ	0	0	3	0	0	0	0	1
	肉芽腫性炎症	0	0	0	0	1	0	0	0
	限局性骨化生	0	0	0	0	0	1	0	0
心臓	弁組織過形成	0	1	0	0	1	0	0	0
	鈣質沈着	0	0	0	0	1	0	0	0
	限局性単核細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	0	0
	心膜脂質、動脈炎	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓	色素増加	0	3	1	1	2	2	2	1
	鉄血症性斑点	1	1	1	0	1	1	1	1
	髓外造血亢進	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓	門脈性単核細胞浸潤	4	3	0*	1	1	3	5*	0
	亜急性炎症	5	6	6	6	6	5	6	5
	色素沈着	0	0	0	0	0	1	0	1
胆嚢	単核細胞浸潤	6	6	6	6	6	6	6	6
腎臓	尿細管鈣質沈着	5	6	6	5	6	6	5	3
	尿細管細胞色素沈着	1	0	1	2	0	0	0	0
	尿細管再生	1	0	3	1	1	1	1	1
	局所性単核細胞浸潤	0	0	2	0	2	2	2	3
	局所性皮質繊維化	0	0	0	0	1	0	0	0
	尿細管脂質変化	0	0	0	0	3	5	3	5
腎盂亜急性炎症	0	0	0	0	0	1	0	0	
胃	単核細胞浸潤	5	6	5	6	6	6	6	6
食道	局所性単核細胞浸潤	0	1	0	0	2	1	2	0
膵臓	個別細胞壊死	0	1	0	0	1	0	0	0
	局所性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0
十二指腸	陰窩膿瘍	3	2	1	2	2	1	1	1
腸間膜	炎症、慢性	1	0	1	1	1	0	0	0
精巣	精子減少	2	1	1	2	0	0	0	0
精巣上体	単核細胞浸潤	2	1	0	1	0	0	0	0
前立腺	炎症、亜急性	2	0	1	0	0	0	0	0
膀胱	出血	0	0	1	0	0	1	0	0
	局所性単核細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	0	0
	局所性膀胱壁変性	0	0	0	0	0	0	0	1
	血管炎症	0	0	0	0	0	0	1	0

*p<0.05 (Fisher検定: 申請者実施)

表. 病理学的検査結果 (続き)

投与量		雄				雌			
		0	125	400	1250	0	125	400	1250
検査動物数		6	6	6	6	6	6	6	6
膣	局所性単核細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	1	2
	唾液腺	局所性単核細胞浸潤	0	0	1	1	1	1	0
胸腺	嚢胞	0	1	0	1	0	0	1	1
	リンパ球減少	0	2	0	0	1	0	0	0
	局所性上皮細胞遺残	0	0	0	0	0	1	0	0
下顎骨	炎症、急性	0	0	0	1	1	0	1	0
	リンパ球増生	0	0	0	1	0	0	0	0
	マクロファージ色素沈着	0	1	1	0	1	0	2	0
	出血	0	0	0	0	0	1	0	1
骨格筋	肉芽腫性炎症	0	0	1	0	0	0	0	0
	局所性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
皮膚	炎症、亜急性	2	1	0	2	0	0	0	1
	表皮肥厚	1	0	0	1	0	0	0	1
	角化亢進	1	0	0	0	0	0	0	0
	寄生虫感染	0	0	0	1	0	0	0	0
胸骨	局所性肉芽組織	0	0	0	0	0	1	0	0
リンパ節、 その他	リンパ球増生	1	0	0	1	0	1	0	0
	洞組織球増殖	0	0	0	1	0	0	0	0
	出血	0	0	0	0	0	1	0	0
	炎症、急性	1	0	0	0	0	0	0	0
皮膚、 その他	炎症、亜急性	1	0	1	1	0	0	0	0
	表皮肥厚	1	0	1	1	0	0	0	2
	寄生虫感染	0	0	0	1	0	0	0	0
	腐食	0	0	0	0	0	0	0	1
	炎症、急性	0	0	0	0	0	0	0	2
	濾胞膿瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
皮下組織	ヘマトシスト	0	0	0	0	0	0	0	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TKI JAPAN 株式会社にある。

(10) 繁殖毒性及び催奇形性

ラットを用いた2世代繁殖試験

(資料18)

試験実施機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験動物： Crl:CD (SD)系ラット 7週齢 雌雄30匹/群
(雄 225.7～276.5 g 雌 162.7～203.9 g)

投与期間： F0世代;交配前10週からF1児離乳時まで
F1世代;離乳からF2児離乳時まで
()

投与方法： 検体を 0、75、300及び1500ppmの濃度で混入した飼料を自由摂取させた。動物が約7週齢時に全F0動物について投与を開始した。

用量設定根拠；

方法及び試験項目:試験進行の概要を次表「手順」にまとめた。

手 川 頁

世代	期間	交配・調整・選抜	試験観察項目
F0	生育(10週)	交配は雌雄1対1で同居させ腔内精子もしくは腔栓を確認した日を妊娠0日とした。	交配前投与期間の最終の3週間、雌性周期を検査した。
	交配(2週)		一般状態及び死亡観察。体重及び摂餌量を毎週測定し、食餌効率を測定した。
	妊娠(約22日)		妊娠0、7、14、20日に雌体重を測定した。 妊娠0～7、7～14及び14～20日に摂餌量を測定した。
	出産		出産状況観察 妊娠期間、出産率、新生児数、性比、外表及び新生児体重
	授乳(3週間)	生後4日、各腹児数を雌雄各5匹に調整。	出産後0、4、7、14、21日に体重測定をした。 全親動物は、毎週摂餌量を記録した。 母動物の摂餌量を出産後0～4、4～7、7～14、14～21日について測定し食餌効率を算出した。
	離乳 (生後21日目)	F1同腹児を腹当り雌雄各1匹を、F2世代動物に選抜。	選抜後、腹当り雌雄各3匹の離乳児を剖検、臓器重量、外表及び臓器検査。非選抜児動物は、外表を検査後廃棄。 全群F0親動物について肉眼的剖検を行い、臓器重量を測定した。 F0雄親動物屠殺は、F1児出産完了後(試験84～105日)に行った。 F0雄親動物の屠殺時に、精巣の精子細胞核数の計数と1日当り精子産生及び1日当り精子産生率を計算した。精巣上体尾部重量測定、精子数、精子運動率及び形態について精液を評価した。 F0母動物屠殺は、F1児動物の離乳後に行われた。 剖検日に、発情段階を確認するため腔垢を調べた。 高用量群と対照群親動物雌雄各10匹の組織病理組織学的検査。その他投与群は、投与関連の変化を示す臓器について検査した。
F1	生育(10週)	(F0世代に、準ずる)	(F0世代に、準ずる)
	交配(2週)	(F0世代に、準ずる)	交配前投与期間の最後の3週間及び2週の交配期間中、雌の性周期を評価した。 交配前投与期間中、腔開口について生後22日から観察し、腔開口完了日の体重を記録した。 同時期に陰茎龟头包皮開裂を生後35日から観察し、包皮分離完了日の体重を記録した。
	妊娠(約22日)	(F0世代に、準ずる)	(F0世代に、準ずる)
	出産		
	授乳(3週間)		F2児動物生後0日に肛門-生殖突起間距離と体重を記録した。
	離乳		(F0世代に、準ずる) 離乳時に児動物を全て屠殺して剖検を実施した。

<F0、F1親動物>

- 一般状態及び死亡率：全動物について、全検査時期に一般状態及び生死を毎日2回観察した。
- 体重： F0及びF1親動物の体重は、交配前及び交配期間中毎週測定した。雌については妊娠期間中は妊娠0、7、14及び20日に、哺育期間中は出産後0、4、7、14及び21日にも測定した。
- 摂餌量：F0及びF1親動物の摂餌量は交配前の期間中毎週実施した。雌親動物については妊娠0-7、7-14及び14-20日目に、また、哺育期間中は出産後0-4、4-7、7-14及び14-21日にも測定した。但し、出産後14日以降の摂餌量には児動物による摂餌量も含まれる。
- 性周期、状態：交配前期間の終期3週間（8～10週）、全てのF0雌動物より膈垢を採取し性周期及び状態を検査した。
- 交配方法及び交尾確認：交配前期間終了後雌雄1対1で最大14日間同居させ交配させた。毎日膈検査を行い、膈内精子もしくは膈栓が認められた場合を交尾成立とした。交尾確認日を妊娠 0日とした。交尾成後雌雄は別々のケージに移した。
- 出産、哺育：妊娠20日から出産の証拠について雌を毎日2回観察した。出産後4日に腹当たり雌雄各5匹となるよう児動物を無作為に選抜し、他の児動物は屠殺し廃棄した。選抜した児動物は出産後21日まで母動物に哺育させた。F1児動物哺育期間終了後可能な限り各腹当たり雌雄1匹（雌雄各30匹／群）をF1世代親動物として無作為に選抜した。
- 性成熟：F1親動物の交配前期間中、雌については生後22日目より膈開口について、雄については生後35日目より陰茎龟头包皮分離について検査した。
- 剖検：雄親動物についてはその児動物の出産後、雌親動物についてはその児動物の離乳後に屠殺し剖検した。
- 精子検査：雄親動物の屠殺時に高用量群と対照群の全例について以下を採取、検査した。
精巣の精子細胞核数・1日当たり精子産生・1日当たり精子産生率、精巣上体尾部の重量・精子数・精子運動率・精子形態
- 臓器重量：高用量群と対照群の各10匹について以下の臓器を秤量した。
卵巣（両側）、子宮（卵管、頸部を含む）、下垂体（固定後）、副腎（両側）、肝臓、精のう（両側、凝固線と内容液を含む）、精巣上体（内容物を含む、全体及び尾部の重量）、脾臓、前立腺、精巣（両側）、脳、腎臓（両側）
- 病理組織学的検査：高用量群と対照群の各10匹について以下の組織について病理組織学的検査を実施した。
卵巣（両側、原始卵胞数の計数を含む）、膈、子宮（卵管、頸部を含む）、肝臓、精巣（片側、頭部、体部、尾部の縦断面の評価を含む）、精巣上体（内容物を含む、両側（片側尾部を除く））、精のう（凝固線と内容物を含む、両側）、前立腺、肉眼的病変のみられた組織

<F1、F2児動物>

- 出産児数、雌雄、生存率：出生日（=生後0日）、生後4、7、14日及び21日（離乳時）に全生存児数を数え、性を判定し、体重を個体別に測定した。身体的異常については哺育期間を通じて検査した。なお、生後4日に、各腹の児数を可能な限り雌雄各5匹となるよう無作為に選抜し、残りの個体は屠殺し廃棄した。
- 肛門－生殖突起間距離：F1雄及び雌の性成熟の完了に遅延が認められたため全F2児動物について生後0日に肛門－生殖突起間距離を測定した。
- 剖検：生後21日に可能な限り腹当たり雌雄各3匹の離乳児を無作為に選抜し剖検した。剖検用及び次世代の親動物として選抜されなかった児動物については肉眼的外

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

表異常について検査後安楽死させ廃棄した。

臓器重量：剖検した児動物について以下の臓器を秤量した。

脳、脾臓、胸腺

<繁殖及び児の指標>

交配、妊娠、出産及び授乳期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

雄	交尾率(%)= $\frac{\text{雌を受精させた雄数}}{\text{交配雄数}} \times 100$
	授精率(%)= $\frac{\text{出産時を得た雄親動物数}}{\text{雌を受精させた雄数}} \times 100$
	妊娠率(%)= $\frac{\text{妊娠雌数}}{\text{雌を受精させた雄数}} \times 100$
雌	交尾率(%)= $\frac{\text{精子陽性雌数}}{\text{交配雌数}} \times 100$
	受精率(%)= $\frac{\text{妊娠雌数}}{\text{精子陽性雌数}} \times 100$
	出産率(%)= $\frac{\text{生存児を持つ雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100$
児	生存出生率(%)= $\frac{\text{出生時生存児数}}{\text{総出産児数}} \times 100$
	4日生存率(%)= $\frac{\text{4日(間引き前)生存児数}}{\text{出生時総生存児数}} \times 100$
	7日生存率(%)= $\frac{\text{7日生存児数}}{\text{4日(間引き後)総生存児数}} \times 100$
	14日生存率(%)= $\frac{\text{14日生存児数}}{\text{7日総生存児数}} \times 100$
	21日生存率(%)= $\frac{\text{21日生存児数}}{\text{14日総生存児数}} \times 100$
	哺育率(%)= $\frac{\text{21日生存児数}}{\text{4日(間引き後)総生存児数}} \times 100$

結果及び考察 (結果を後ページの表に示した)

<F0及びF1親動物>

体重； F0及びF1雌雄の1500ppm投与群で試験期間を通じて体重及び体重増加量が対照群に比べ減少しほとんどの調査時期で統計学的有意差が認められた。300 ppm投与動物でも体重は低い傾向がみられ、ほとんど調査時点で統計学的有意差は認められなかったものの、世代を通して一貫しており生物学的に意義のある変化と判断された。75ppm投与群では影響はみられなかった。

摂餌量及び食餌効率； F0及びF1雌雄でg/日で表わした摂餌量が1500 ppmで減少した。g/kg/dayで表わした摂餌量及び食餌効率は一定の傾向を示さなかった。

検体摂取量； 下表に、F0及びF1世代の交配前期間中における検体摂取量(mg/kg/day)を示す。

性別	雄			雌		
	75	300	1500	75	300	1500
F0	4.67	31.3	92.4	5.56	36.3	111
F1	5.79	23.5	124	6.41	26.9	136

繁殖能力； F0、F1雌親動物の性周期、交尾が成立するまでの日数、交尾率、受精率、出産率、妊娠期間、着床数、着床後胚死亡率、出産児数、生後0日目の生存及び死亡児動物数ならびに雄親動物の交尾成立までの日数、交尾率、授精率、妊娠率に投与群と対照群で差は認められず、繁殖能力に対する影響は認められなかった。

性成熟； F1雄親動物の包皮分離日齢が1500ppm群では対照群に比べ有意に遅延した。また、F1雌親動物の陰開口日齢が1500ppm群で対照群に比べ有意に遅延した。何れも体重の有意な減少を伴っており、体重減少による2次的影響と考えられた。

剖検所見； F0、F1親動物について剖検時に投与に関連すると考えられる肉眼的異常は認められなかった。

臓器重量； F0雄親動物の1500 ppmで腎臓相対重量の増加が、F0雌親動物の1500ppmで、肝臓絶対重量及び相対重量の増加、腎臓相対重量の増加、副腎絶対重量の減少、F1雄親動物で脳絶対重量の減少ならびに相対重量の増加、下垂体絶対重量の減少、精巣上体の絶対重量の減少、肝臓及び腎臓相対重量の増加、F1雌親動物では脳絶対重量の減少が統計学的有意に認められた。F1雄における精巣上体の絶対重量の減少及び肝臓相対重量の増加は300ppm群でも認められた。

申請者による考察； F0雌動物の肝重量の増加を除き、1500ppm群雌雄に散見された他の臓器重量の変化は、絶対または相対のいずれかの変化あるいは逆方向変化であり、同群における体重の減少に伴う2次的変化と考えられた。また、F0雌動物の75ppmで肝臓及び腎臓の絶対重量が対照群に比べ統計学的に有意に減少したが用量との関連がなく、偶発的変動と考えられた。

病理組織学的検査； F0またはF1親動物について雌雄の生殖器官を含むいずれの臓器にも、病理組織学的病変の発生率または程度に投与関連の増加はなかった。

生殖器官への影響； F0またはF1雄親動物の生殖器官のいずれにも投与の影響は認められず、精巣の絶対または相対重量、精巣上体の相対重量、前立腺と精囊・凝固腺の絶対及び相対重量への影響、ならびにこれらの臓器への

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

肉眼的な投与の影響は何もなかった。また、雄親動物について、精巣上体の精子濃度、運動または前進運動精子の率、精巣の均質化抵抗性精子細胞頭部数、1日当りの精子産生、1日当りの精子産生率または異常精子の百分率への投与の影響も認められなかった。

F0及びF1雌の両側卵巣の卵胞数は投与の影響は認められなかった。

F0及びF1雌の屠殺時の発情段階は全群で同等であった。

<F1及びF2児動物>

生存率； F2児動物の生後4日目（調整前）の生存数が300及び1500ppm投与群で対照群に比べ統計学的に有意に減少し、同群では4日生存率が低下傾向を示した。生存出生率、生後0日の腹当り生存児数、哺育を通じた性比（雄の割合）、哺育率（生後4～21日）あるいは生後4～7、7～14または14～21日の生存率に投与の影響は認められなかった。

体重； F1及びF2児動物の体重は、1500ppmで生後4、7、14及び21日に有意に減少した。

肛門-生殖突起間距離； F2雄の肛門-生殖突起間距離は1500ppm投与群で減少したが、同群における体重の減少による2次的影響と考えられた。F2雌の肛門-生殖突起間距離には影響はみられなかった。

剖検所見； F1及びF2離乳児の剖検で、雌雄いずれとも投与の影響は認められなかった。

F1及びF2離乳児雌雄の1500ppm投与群で剖検時の体重が対照群に対し有意に減少した。同群では胸腺、脾臓及び脳の実重量が減少し、1部については脳の比重量が増加したが、これらは剖検時体重の減少に伴う変化と考えられた。

F1及びF2離乳児の剖検で、投与に関連する肉眼的所見は何もなかった。

以上の結果、投与による毒性影響として、親動物では1500ppm投与群でF0及びF1親動物雌雄で摂餌量の減少、低体重に起因すると考えられるF1雄の陰茎亀頭包皮分離日及び雌の膈開11日の遅延が、300ppm以上の投与群でF0及びF1親動物雌雄で体重への影響が認められた。児動物に対しては300ppm以上の投与群でF2児動物の生後4日間の生存率が低下し、1500ppm投与群でF1、F2児動物雌雄の生後4～21の体重が対照群に比べ減少し、また低体重に関連すると考えられる肛門-生殖突起間距離の減少がF2雄で認められた。本試験における無毒性量（NOAEL）は親動物、児動物とも75 ppm（F0；雄4.67mg/kg/day、雌5.56mg/kg/day、F1；雄5.79mg/kg/day、雌6.41mg/kg/day）と判断された。繁殖に関する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 TKI JAPAN 株式会社にある。

世代		親:F0				親:F1					
投与量(ppm)		0	75	300	1500	0	75	300	1500		
動物数 (雄/雌)		30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30		
死亡動物 (雄/雌)		0/0	0/0	2/0	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0		
親動物	体重量	第0週 雄	253.6	252.1	251.3	250.8	130.2	130.1	123.4	105.1***	
		開始時 雌	184.4	182.9	182.6	182.0	114.6	115.6	107.8	89.4	
	第1週	雄	312.5	310.7	305.9	269.0***	194.7	193.3	182.0	159.3***	
		雌	209.0	207.0	206.0	199.9**	154.7	156.0	145.5	125.7***	
	第2週	雄	354.0	350.0	345.9	336.1***	252.6	252.8	238.9	210.7***	
		雌	231.8	230.0	226.8	220.1**	181.4	183.4	174.0	154.4***	
	第3週	雄	398.4	393.5	386.2	374.5***	292.0	302.0	292.9	260.3***	
		雌	243.4	241.6	243.0	233.1*	206.2	209.4	197.4	178.0***	
	第4週	雄	423.2	420.4	409.3	398.1***	333.2	336.5	321.0	293.1***	
		雌	257.9	257.8	255.9	247.1*	230.3	233.9	219.3	201.7***	
	第5週	雄	450.5	442.2	441.1	427.7***	388.6	389.9	372.9	340.2***	
		雌	271.6	269.0	264.5	258.3*	251.2	255.0	241.2	220.0***	
	第6週	雄	481.3	474.3	466.6	451.9***	430.5	434.5	415.4	379.0***	
		雌	278.8	270.5	272.3	263.8**	265.5	270.3	258.0	236.2***	
	第7週	雄	501.3	497.8	488.7	471.8**	461.1	464.1	447.5	409.0***	
		雌	283.6	282.1	278.5	270.6	279.1	285.0	270.3	249.3***	
	第8週	雄	515.9	511.9	502.0	486.7**	486.0	492.9	473.1	433.6***	
		雌	290.5	288.2	285.6	281.1	289.6	293.0	279.5	262.3***	
	第9週	雄	529.5	524.9	520.5	499.5**	509.1	514.1	492.4	455.7***	
		雌	297.8	295.0	295.4	288.5	302.0	305.7	289.4	276.2**	
	第10週	雄	542.8	540.2	534.2	513.1**	531.5	535.3	512.5	475.8***	
		雌	303.6	301.3	298.8	292.4	309.3	314.3	302.8	283.6**	
	第11週	雄	542.1	538.7	534.7	516.0	530.6	535.0	517.0	479.3***	
		雌	308.7	306.1	327.0	370.2	300.2	317.4	300.3	288.2	
	第12週	雄	555.4	552.1	548.0	529.4	553.2	557.6	537.2	501.7***	
		雌	333.8	329.3	332.5	383.8	346.1	365.8	318.7	318.0	
	妊娠期間	第0日	雌	295.6	291.7	289.6	285.9	301.0	301.5	295.1	276.8*
		第7日	雌	330.2	326.1	320.1	313.7	333.2	333.2	324.3	300.9***
		第14日	雌	355.9	349.4	346.3	338.9	366.1	367.4	356.8	329.8***
		第20日	雌	433.8	421.9	421.6	406.9**	441.1	438.7	428.8	392.1***
授乳期間	第0日	雌	332.8	325.0	321.5	312.6**	339.3	346.7	326.9	308.4***	
	第4日	雌	344.8	337.8	336.2	320.5***	358.1	355.0	339.8*	309.5***	
	第7日	雌	346.9	337.8	333.8	323.9**	354.4	354.1	339.4	315.2***	
	第14日	雌	342.0	341.7	342.5	328.6	357.7	368.8	348.1	326.5***	
	第21日	雌	342.2	328.3	334.1	327.0*	347.7	352.4	335.6	324.1**	

* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 (Dunnett's test)

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

世代		親:F0				親:F1				
投与量(ppm)		0	75	300	1500	0	75	300	1500	
親動物	0-1週	雄	58.9	58.6	54.6	45.2***	64.6	63.1	58.6**	54.2***
		雌	24.5	24.5	23.4	17.9***	40.1	40.4	37.8	36.3*
	1-2	雄	41.6	39.4	40.1	40.1	57.8	59.5	56.9	51.5***
		雌	22.8	22.6	20.7	20.2	26.6	27.4	28.5	28.7
	2-3	雄	44.4	43.4	40.4*	38.4**	39.4	49.2\$	54.0\$\$\$	50.0\$\$\$
		雌	11.6	11.6	16.3	13.0	24.8	26.0	23.4	23.6
	3-4	雄	24.8	26.9	23.1	23.6	41.2	34.5	28.1	32.8
		雌	14.6	16.2	12.8	13.9	24.1	24.5	21.9	23.7
	4-5	雄	27.3	21.8	31.8	29.7	55.4	53.4	51.8	47.1
		雌	13.	11.2	8.6	11.2	20.9	21.1	21.9	18.3
	5-6	雄	30.8	32.1	25.5	24.2*	41.9	44.6	42.6	38.8
		雌	7.2	1.6	7.8	5.5	14.3	15.2	14.8	16.2
	6-7	雄	20.0	23.5	22.1	19.9	30.6	29.6	32.1	30.0
		雌	4.7	11.6	6.2	6.8	13.6	14.8	14.3	13.1
	7-8	雄	14.5	14.1	13.2	14.9	24.9	28.8	25.5	24.6
		雌	7.0	6.1	7.1	10.5	10.5	8.0	9.1	12.9
	8-9	雄	13.7	13.0	14.5	12.8	23.2	21.2	19.3	22.1
		雌	7.3	6.7	9.8	7.4	12.4	12.7	10.0	14.0
	9-10	雄	13.3	15.4	13.7	13.5	22.4	21.2	20.2	20.1
		雌	5.8	6.4	3.4	3.9	7.2	8.6	13.4*	7.4
0-10	雄	289.2	288.2	283.6	262.3**	401.4	405.1	389.1	370.8**	
	雌	119.1	118.5	116.2	110.4	194.6	198.6	195.0	194.2	
妊娠期間	0-7日	雌	34.5	34.4	30.5	27.8*	32.2	31.7	29.3	24.0*
	7-14日	雌	25.8	23.2	26.2	25.1	32.9	34.2	32.5	29.0
	14-20日	雌	77.8	72.6	75.2	68.1**	74.9	71.3	73.3	62.3***
	0-20日	雌	138.1	130.2	132.0	121.0***	140.1	137.2	134.3	115.3***
	0-4日	雌	11.9	12.8	14.7	7.9	18.8	8.4**	12.9	1.1***
授乳期間	4-7日	雌	2.1	0.1	-2.4	3.4	-3.7	-0.9	0.0	5.0
	7-14日	雌	-4.9	3.8	8.7	4.7	3.2	14.7	9.2	11.3
	14-21日	雌	0.2	-13.4	-8.4	-1.6	-9.9	-16.5	-12.5	-2.4
	0-21日	雌	9.3	3.3	12.6	14.4	8.5	5.7	10.8	15.8

*: p < 0.05; **: p < 0.01; ***: p < 0.001 (Dunnett's test) ;\$: p < 0.05, \$\$\$: p < 0.001 (t-test for pairwise comparisons to control in robust regression model)

世代		親:F0				親:F1						
投与量 (ppm)		0	75	300	1500	0	75	300	1500			
親動物	餌量 ^(a)	0-1 週	雄	25.2	25.0	25.0	23.6**	20.4	20.5	19.5	18.1***	
			雌	18.9	19.6	18.1	18.9	16.7	16.8	16.2	15.1***	
		1-2	雄	26.0	26.0	25.6	24.6*	24.2	24.4	23.5	22.0**	
			雌	18.9	19.5	19.2	19.7	17.9	17.8	17.3	16.3**	
		2-3	雄	27.0	26.6	25.8	24.9***	23.5	25.0	25.6**	23.4	
			雌	20.1	19.6	18.8	18.4*	18.9	19.5	18.8	17.5*	
		3-4	雄	27.0	27.3	26.6	25.3*	30.4	28.1	27.4*	26.4**	
			雌	20.0	20.3	19.4	19.3	20.9	20.6	20.5	18.9**	
		4-5	雌	20.0	19.8	18.6 ^s	18.1 ^{ss}	21.1	21.8	21.5	18.7**	
		5-6	雄	27.5	26.2	26.7	25.2**	31.2	31.6	30.1	29.1*	
			雌	19.0	18.7	18.0	18.2	22.3	22.1	21.5	19.9**	
		6-7	雄	27.9	27.4	26.9	25.7**	31.4	31.0	30.6	29.4	
			雌	18.4	18.3	18.0	18.1	22.9	22.0	22.0	20.4**	
		9-10	雄	26.9	27.0	27.0	25.5 ^s	30.3	30.0	28.9	28.5	
		0-10	雄	27.2	26.7	26.6	25.3**	28.1	28.4	27.5	26.4*	
			雌	19.1	19.1	18.5	18.3	20.5	20.4	20.3	18.7**	
		妊娠期間	14-20日	雌	23.6	23.5	22.7	22.1*	25.7	25.9	25.4	23.1 ^{ss}
		授乳期間	0-4日	雌	32.5	33.7	34.1	34.7	37.0	34.6	33.0	29.8***
	4-7日		雌	43.8	44.9	45.1	44.3	49.3	47.6	45.7	42.1**	
	7-14日		雌	59.2	58.6	58.2	56.5	64.6	63.6	61.5	53.4**	
14-21日	雌		71.6	72.2	73.8	69.4	76.6	75.0	71.6	64.2***		
0-21日	雌		56.3	56.2	57.0	55.2	61.1	59.6	57.4	51.4***		
食餌効率 ^(b)	生育期	0-1週	雄	33.4	33.5	31.3	27.4***	45.3	44.1	43.2*	42.9*	
			雌	18.5	18.3	18.4	13.7***	34.3	34.4	33.5	34.5	
		1-2	雌	17.3	16.6	15.4	15.2	21.4	21.7	23.6	25.1 ^{ss}	
		2-3	雄	23.5	23.3	22.3	22.0	23.4	27.9 ^s	29.8 ^{ss}	30.6 ^{sss}	
			雌	8.2	8.5	12.4*	10.0	18.8	19.2	17.7	19.1	
		5-6	雄	16.1	17.9	13.7 ^s	13.6 ^s	19.3	20.1	20.1	19.0	
	0-10	雌	8.9	8.9	9.0	8.6	13.6	14.0	13.8	14.9 ^{sss}		
	妊娠期間	0-7日	雌	23.7	22.6	20.8	19.1*	20.1	19.1	18.2	16.2	
		0-20日	雌	31.1	29.1	29.9	28.1**	29.3	27.6	27.5	26.2	
	授乳期間	0-4日	雌	8.3	8.1	10.2	6.0	12.4	4.7*	9.3	0.0***	

*: p < 0.05; **: p < 0.01; ***: p < 0.001 (Dunnett's test); ^s: p < 0.05, ^{ss}: p < 0.01, ^{sss}: p < 0.001 (t-test for pairwise comparisons to control in robust regression model)

a) 単位(g/day)、b) 単位(%)

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

世代			親:F0				親:F1				
投与量 (ppm)			0	75	300	1500	0	75	300	1500	
検体 摂取量 (mg/kg/ day)	生育	雄	0	4.67	31.34	92.43	0	5.79	23.49	124.33	
		雌	0	5.56	36.32	110.78	0	6.41	26.91	135.54	
	第0-10週	雌	0	4.84	31.96	96.11	0	5.19	21.04	102.56	
	妊娠0-20日	雌	0	12.63	85.60	258.44	0	12.64	51.03	244.14	
		授乳0-21日	雌	0	12.63	85.60	258.44	0	12.64	51.03	244.14
性周期日			4.59	4.35	4.30	4.77	4.44	4.39	4.40	4.37	
交尾前日数			2.1	1.5	2.2	2.4	3.3	3.2	3.3	3.1	
交尾率 (%) 雌			100	100	100	100	100	96.7	93.3	100	
受精率 (%) 雌			96.7	80.0	90.0	100	96.7	86.2	92.9	90.0	
出産率 (%) 雌			100	100	100	100	100	100	100	100	
親 動 物	交尾率 (%) 雄			100	100	100	100	100	96.7	93.3	100
	授精率 (%) 雄			96.7	80.0	89.3	100	96.7	86.2	92.9	89.7
	妊娠率 (%) 雄			96.7	80.0	96.4	100	96.7	86.2	92.9	93.1
	妊娠期間(日)			21.8	22.2	22.0	22.1	22.0	22.1	22.0	21.9
	着床痕数/腹			15.07	14.25	15.59	15.53	15.86	15.44	15.15	14.78
	着床後胚死亡/腹 (%)			7.79	6.46	6.43	7.53	4.46	10.71	9.45	5.13
	児動物総数 生後0日			415	325	396	443	458	362	373	386
	生後0日生存児動物数/腹			14.2	13.4	14.7	14.5	15.7	14.1	14.0	14.1
	生後0日死亡児動物/腹			0.1	0.2	0.0	0.2	0.1	0.4	0.4	0.1

- : 検査対象外

*: p < 0.05; **: p < 0.01、***: p < 0.001 (Dunnett's test)

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

世代		親:F0				親:F1				
投与量 (ppm)		0	75	300	1500	0	75	300	1500	
親動物	精巢上体精子濃度 (10 ⁶ /g)	827	841	764	783	866	881	842	847	
	運動性精子率 (%)	57.7	57.9	60.2	52.0	79.8	79.3	80.4	78.4	
	前進運動性精子率 (%)	46.3	47.0	49.5	41.8	68.8	67.3	67.4	66.2	
	精巢精子細胞頭部数 (10 ⁶ /g)	61.5	64.6	68.3	60.7	92.9	89.8	92.8	94.2	
	1日精子産生 (10 ⁶ /精巢/日)	23.8	25.1	25.4	23.8	38.2	35.8	37.4	37.3	
	1日精子産生率 (10 ⁶ /精巢/日)	13.3	14.0	14.8	13.2	20.2	19.5	20.1	20.4	
	異常精子率 (%)	1.74	1.88	2.56	5.14	3.13	3.36	3.12	3.32	
	雄	屠殺時体重 (g)	599.6	593.4	587.8	570.8	605.1	617.5	594.7	548.0***
	脳絶対重量 (g)					2.24	2.20	2.19	2.16**	
	脳相対重量 (%)					0.37	0.36	0.37	0.40*	
雄	脳下垂体絶対重量 (g)					0.019	0.019	0.018	0.017*	
雄	精巢上体絶対重量 (g)					1.48	1.43	1.41*	1.40*	
雄	肝相対重量 (%)					3.75	3.79	3.95*	4.03*	
雄	腎臓相対重量 (%)	0.72	0.71	0.71	0.77**	0.71	0.69	0.71	0.76*	
雄	前立腺相対重量 (%)					0.15	0.13*	0.15	0.16	
雌	屠殺時体重 (g)	334.6	320.6	328.1	323.9	343.5	348.9	332.5	315.6**	
	脳絶対重量 (g)					1.95	1.96	1.94	1.88*	
	肝絶対重量 (g)	17.5	16.0***	17.9	19.3***					
	肝相対重量 (%)	5.22	4.99	5.43	5.96***					
	腎臓重量 (g)	2.80	2.63**	2.77	2.86					
	腎臓相対重量 (%)	0.84	0.82	0.85	0.89*					
	副腎絶対重量 (g)	0.087	0.086	0.084	0.077*					
剖検所見		検体投与に起因する影響は認められなかった。								
病理組織学的検査		検体投与に起因する影響は認められなかった。								
両側卵巣原始卵細胞数	雌	281.3	-	-	321.1	357.9	-	-	368.8	
剖検時性周期		雌 検体投与に起因する影響は認められなかった。								

○: 検査対象外、空欄は統計学的有意差なし
 *: p < 0.05; **: p < 0.01; ***: p < 0.001 (Dunnnett's test)

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

世代		児:F1				児:F2				
投与量(ppm)		0	75	300	1500	0	75	300	1500	
生存児数 /腹	授乳0日	14.2	13.4	14.7	14.5	15.7	14.1	14.0	14.1	
	授乳4日調整前	13.9	13.3	13.9	14.3	15.4	13.9	12.7*	12.5**	
	授乳4日調整後	9.9	9.8	9.8	10.0	10	9.6	9.3	9.5	
	授乳7日	9.9	9.8	9.8	9.9	10.0	9.5	8.9	9.0	
	授乳14日	9.8	9.8	9.7	9.5	9.9	9.5	8.8	9.0	
	授乳21日	9.8	9.8	9.6	9.5	9.9	9.4	9.1	9.0	
生存出生率		99.0	98.9	100	98.3	99.2	97.8	95.9	99.1	
4日生存率		98.4	99.1	95.0	98.1	99.8	98.7	92.0	88.9	
7日生存率		99.7	100.0	99.6	99.3	100.0	99.6	96.0	93.0	
14日生存率		99.7	100.0	99.2	95.4	98.6	99.6	94.8	96.6	
21日生存率		100.0	100.0	99.3	99.7	100.0	99.6	100.0	100.0	
哺育率(生後4~21日)		99.3	100	98.1	94.7	98.6	98.8	94.4	90.3	
生後0~4日死亡数		11	7	20	15	12	12	43	54	
生後5~21日死亡数		2	0	5	16	4	3	14	13	
性比 (%雄/腹)	生後0日 (%)	51.0	50.2	50.8	46.7	52.1	47.1	48.4	51.5	
	生後4日 (%)	51.9	51.5	51.2	47.8	52.3	46.9	47.6	51.6	
	生後7日 (%)	51.6	50.7	49.0	50.4	49.7	47.2	51.0	50.6	
	生後14日 (%)	51.5	50.7	49.0	50.3	50.5	47.0	47.1	51.3	
	生後21日 (%)	51.5	50.7	49.0	50.5	50.5	47.0	47.1	50.4	
体重	生後0日	雄+雌	6.34	6.68	6.41	6.09	6.27	6.51	6.58	6.00
		雄	6.51	6.82	6.57	6.27	6.43	6.72	6.71	6.20
		雌	6.17	6.55*	6.24	5.91	6.09	6.33	6.41	5.81
	生後4日	雄+雌	10.30	10.85	10.32	9.14**	9.81	10.46	10.21	8.46**
		雄	10.53	11.08	10.53	9.37**	10.03	10.67	10.33	8.64**
		雌	10.04	10.67	10.03	8.97**	9.55	10.21	9.98	8.29**
	生後7日	雄+雌	16.35	16.87	16.23	13.87***	15.93	16.84	16.2	12.86***
		雄	16.67	17.18	16.60	14.18***	16.34	16.99	16.63	13.19***
		雌	16.02	16.62	15.75	13.56***	15.48	16.56	15.66	12.56***
	生後14日	雄+雌	32.21	32.28	31.90	27.73***	33.2	34.22	32.72	25.58***
		雄	32.73	32.75	32.48	28.30***	33.84	34.57	32.84	25.96***
		雌	31.68	31.83	31.20	27.14***	32.5	33.71	32.19	25.16***
	生後21日	雄+雌	48.79	49.46	50.73	43.36***	50.91	52.3	49.68	40.39***
		雄	50.10	50.72	51.87	44.28***	52.24	53.12	49.93	40.83***
		雌	47.54	48.17	49.43	42.37***	49.53	51.39	48.47	39.91***

*: p < 0.05; **: p < 0.01; ***: p < 0.001 (Dunnett's test)

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

世代		親:F0				児:F1					
投与量(ppm)		0	75	300	1500	0	75	300	1500		
児 動 物	包皮分離時日齢 雄	41.6	41.5	41.7	43.7**						
	包皮分離時体重(g) 雄	213.6	212.7	209.3	198.8**						
	腔開口時日齢 雌	30.6	31.1	31.1	32.0**						
	腔開口時体重(g) 雌	104.6	106.7	105.7	93.3**						
	肛門-生殖結 節間距離 (mm)	雄	-				2.11	2.17	2.12	2.00*	
		雌	-				0.96	1.01	1.00	0.96	
	臓器 重量	雄	屠殺時体重(g)	48.56	50.09	51.31	43.3***	52.53	52.50	50.71	41.89***
			胸腺絶対重量(g)	0.229	0.226	0.229	0.200**	0.235	0.232	0.225	0.185***
			脾臓絶対重量(g)					0.232	0.223	0.221	0.177***
			脳絶対重量(g)					1.47	1.49	1.47	1.40***
		脳相対重量(%)	3.1	3.0	2.9*	3.4**	2.8	2.9	3.0	3.4***	
		雌	屠殺時体重(g)	46.7	47.2	48.5	42.2***	49.3	51.3	47.2	41.5***
			胸腺絶対重量(g)	0.228	0.224	0.229	0.199**	0.235	0.241	0.218	0.197***
			脾臓絶対重量(g)	0.205	0.191	0.210	0.180*	0.219	0.226	0.205	0.183***
脳絶対重量(g)	1.43		1.42	1.42	1.38**						
脳相対重量(%)	3.12	3.05	2.97	3.32*	2.90	2.80	3.09	3.43***			
剖検所見		検体投与に起因する影響は認められなかった。									

- : 検査対象外、空欄は統計学的有意差なし

*: p < 0.05; **: p < 0.01; ***: p < 0.001 (Dunnnett's test)

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

ラットを用いた催奇形性

(資料19)

試験機関：

報告書作成年： [GLP対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD (SD)系未経産雌ラット 1群雌25匹
開始時週齢；13週齢 開始時体重；241～304g

試験方法： 検体を0、1、4、30mg/kg/日で0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、10ml/kgの容量で妊娠6から20日まで強制経口投与した（交尾の確認日を妊娠0日とした）。妊娠21日目に屠殺し子宮内容物を検査した。

用量設定根拠：

交配方法： 雌は1対1で同系雄と交尾させた。毎朝各雌ラットの膣垢中精子または陰栓が認められれば妊娠したとみなした。交尾が確認された日を妊娠0日とした。

検査項目及び方法：

母動物： 一般状態は毎日観察した。体重は妊娠0日及び6日から21日に全雌動物の体重を測定し、妊娠0日から6日は隔日、6日から20日は毎日摂餌量を測定した。妊娠21日目に屠殺・剖検後、子宮、卵管及び卵巣を取りだし秤量後（内容物含む）以下の項目について記録した。着床の認められない子宮角は10%硫酸アンモニウム溶液に浸漬し着床の有無を判別した。

- 卵巣ごとの黄体数
- 子宮角ごとの着床数
- 子宮角ごとの着床痕(初期死亡及び後期死亡に分類)数、位置
- 子宮角ごとの生存胎児数及び死亡胎児数ならびにその比
- 生存胎児性別
- 各生存胎児体重及び胎盤重量

胎児： 全胎児をペントバルビタールナトリウムの皮下注射により屠殺後外表検査に供した。各同腹児胎児の約半数についてBouin液に浸漬しフリーハンド切片法により内臓検査を行った。残る半数の胎児は臓器を除去し無水エタノールに浸漬後Stables and Schnell染色し、骨格検査を行った。

結果：概要を後頁の表に示す。

母動物

死亡率：死亡例は認められなかった。

臨床徴候：30mg/kg/day投与群の25例中18例で投与後20分以内～投与1時間後に流涎が認められた。この所見は、主として妊娠14から20日にかけて観察された。

妊娠率：妊娠率はいずれの群も100%であった。

体重：30mg/kg/day投与群で体重増加量、補正体重及び補正体重増加量の統計学的に有意な抑制が認められた。

摂餌量：投与期間を通して30mg/kg/day投与群の平均摂餌量が対照群に比べ有意に減少した。

剖検所見：妊娠21日の剖検時に、投与によるものと考えられる所見は認められなかった。

着床所見：黄体数、子宮着床数、生存胎児数、死亡胎児数、着床前胚損失、着床後胚損失及び胎児の雌雄比等のパラメータに関して投与の影響は認められなかった。

胎盤重量が4mg/kg/day投与群で高かったが、用量との関連がなく投与の影響とはみなされなかった。

胎児

胎児体重：30mg/kg/day投与群の雌雄胎児の体重が対照群に比較して減少した。

外表、内臓、骨格検査：30mg/kg/day投与群で発育不全（対照群胎児平均体重の75%（雄3.9g、雌4.2g）未満の体重を示す胎児）を示す胎児が8例認められ投与の影響と判断された。同群の骨格検査において第7頸椎の未骨化または不完全骨化、第5胸骨分節の未骨化及び第1中指骨の未骨化を示した胎児数ないし腹数が増加し、胎児の低体重との関連が考えられた。

奇形所見として、外表検査における胃壁破裂、無尾、全身浮腫、内臓検査における網膜皺襞、小眼症、複合奇形、全身性皮下膠様質、骨格検査における胸骨分節癒合、25仙骨前椎、第5腰椎／腰椎弓癒着・第6腰椎欠損・第1,2仙椎／全尾椎未化骨等が投与群を含む全群に認められたが、何れも単発的であり投与の影響とは考えられなかった。

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

以上の結果、投与による毒性影響として母動物に対しては、30mg/kg/day投与群で一般状態観察における流産の増加、補正体重ならびに体重の抑制及び摂餌量低下が認められた。同腹児パラメータには、投与による影響は認められなかった。

胎児に対して30mg/kg/day投与群では胎児体重の低値、外表検査における発育不全を示す胎児数の増加、骨格検査における第5胸椎分節不完全骨化、3頸椎未骨化ないし不完全骨化、第1中指骨未骨化等の骨形成遅滞を示す胎児が増加した。1mg/kg/day投与群及び4mg/kg/day投与群では母動物及び胎児に対する投与の影響は認められなかった。

本試験における母動物及び胎児に対する無毒性量（NOAEL）は母動物、児動物のいずれについても4mg/kg/dayと判断された。
催奇形性は認められなかった。

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

母動物：

投与量(mg/kg/day)		0	1	4	30
1群当りの動物数		25	25	25	25
死亡動物数		0	0	0	0
妊娠率(%)		100	100	100	100
妊娠子宮重量(g)		108.36	110.12	108.72	94.00
一般状態		—	影響なし	影響なし	流産 (18/25例、妊 娠14-20日)
体重 (g)		影響なし			
体重増加量 (g)	6-9日	9.56	10.20	10.68	-0.88**
	6-12日	24.52	25.08	25.12	9.76**
	6-15日	40.84	42.60	43.12	24.80**
	6-18日	79.16	79.88	80.36	55.76**
	6-21日	132.76	137.76	132.48	98.88**
摂餌量(g/day)	6-9日	27.74	28.04	28.49	22.90**
	9-12日	27.95	28.47	28.20	24.11**
	12-15日	27.76	28.35	28.47	24.89**
	15-18日	29.52	29.68	29.55	26.23**
	18-21日	29.05	30.68	28.88	25.03**
補正体重(g)		324.5	328.9	326.6	302.5**
補正体重増加量(g)		57.76	60.68	58.00	35.60**
剖検所見		影響なし			
着床所見	検査動物数	25	25	25	25
	黄体数	16.8	18.0	16.7	16.6
	着床数	15.9	16.2	15.9	15.4
	着床前損失(%)	5.0	8.9	4.4	7.6
	早期胚吸収数	0.84	0.56	0.72	0.88
	後期胚吸収数	0.00	0.04	0.08	0.12
	総胚吸収数	0.84	0.60	0.80	1.00
	死亡胎児数	0.00	0.00	0.04	0.08
	着床後損失(%)	5.4	3.6	5.3	6.9
	生存胎児数	雄	7.1	8.3	7.6
雌		8.0	7.2	7.5	7.5
計		15.1	15.5	15.1	14.3
胎盤重量(g)	雄	0.712	0.717	0.729	0.669
	雌	0.676	0.667	0.730*	0.649

* P<0.05 ** P<0.01 (Dunnett 又は Mann-Whitney Test)

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

胎児：

投与群 (mg/kg/day)			0	1	4	30
胎児体重(g)		雄	5.56	5.56	5.46	5.10**
		雌	5.24	5.20	5.25	4.87**
生存胎児数 (雄性比)			377(53)	389(47)	377(50)	359(52)
外表検査	蒼白	変異			1(1)	1(1)
	発育不全	変異		3(2)	3(2)	8**(6*)
	尾：位置異常	異常	1(1)	1(1)		
	胃壁中央破裂	奇形		1(1)		
	頸部：浮腫	異常		1(1)		
	舌：突出	異常		3(1)		
	無尾	奇形				1(1)
	全身浮腫	奇形				1(1)
	後脚：回転不良(一側性)	変異				1(1)
検査胎児数 ()内は腹数			181(25)	188(25)	181(25)	173(25)
内臓検査	胸腺肥大(一・両側性)	変異	2(1)	12*(7*)	3(3)	8(7*)
	網膜(一・両側性)：皺襞	奇形	2(1)	2(2)		
	網膜(一側性)：分離	異常		1(1)		
	小眼症(一側性)	奇形				1(1)
	複合奇形	奇形				1(1)
	蛇行尿管(一・両側性)、拡張	変異	62(19)	45*(19)	39**(18)	35**(15)
	腎盂拡張(一・両側性)	変異	13(8)	9(7)	6(4)	7(4)
	腎乳頭(一・両側性)肥大	変異	7(4)	8(3)	8(4)	6(3)
	腎乳頭(一・両側性)欠損	異常	1(1)			3(3)
	腎位置異常	異常	1(1)			1(1)
	短尿管(一・両側性)	異常				1(1)
全身：皮下膠様質	奇形				1(1)	

外検、内臓検査及び骨格検査で提示した数字は影響を受けた胎児発現数を、()内はその腹数を示す。
胎盤重量、胎児重量、胎児数、性比：Dunnett又は Mann-Whitney Test * P<0.05 ** P<0.01
外表検査、内臓検査、骨格検査：Fisher直接確率計算法 * P<0.05 ** P<0.01 (申請者実施)

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

胎児 (続き)

投与群 (mg/kg/day)		0	1	4	30	
検査胎児数 ()内は腹数		196(25)	201(25)	196(25)	186(25)	
骨格検査	頭部					
	前頭骨間不完全骨化	変異	1(1)			
	/前頭骨不完全骨化(両側性)					
	大泉門/三角泉門拡張	異常	1(1)	4(3)	3(3)	
	舌骨中心不完全骨化	変異	2(2)	2(2)	3(2)	
	頭頂骨間縫合過剰骨化部位	変異			1(1)	
	歯突起 未骨化	変異	47(19)	48(19)	49(19)	40(17)
	歯突起 不完全骨化または二分骨化	変異	98(25)	98(25)	107(24)	86(24)
	胸骨分節と肋骨					
	第1-4胸骨分節不完全骨化・未骨化	変異		1(1)	1(1)	1(1)
	第1・2胸骨分節癒合	奇形			1(1)	
	第3、4、5胸骨分節不整列	異常	4(4)	2(2)		2(2)
	第5胸骨分節不完全骨化	変異	39(14)	51(19)	47(20)	67 ^{**} (22 ⁺)
	第5、6胸骨分節未骨化	異常	3(2)	1(1)	1(1)	5(5)
	第6胸骨分節不完全骨化	変異			3(3)	1(1)
	肋骨(・・両側性) 瘤	異常			1(1)	
	第13肋骨(一側性)不連続	異常			1(1)	
	第13肋骨短小(一側性)	変異	3(3)	3(3)	4(2)	5(3)
	第13肋骨短小(両側性)	変異		2(2)	1(1)	1(1)
	第13肋骨骨化点のみ	変異	1(1)			
	第14胸椎過剰骨化点(・・両側性)	変異	4(4)	9(8)	15 ^{**} (9)	8(4)
	第14胸椎肋骨短小(・・両側性)	変異	2(2)	4(3)	3(3)	6(5)
	第14胸椎肋骨(両側性)	変異				1(1)
	第13肋骨波状化(一側性)	変異	75(21)	62(20)	47 ^{**} (18)	71(20)
	椎骨と肢帯					
	第1,2,3頸椎未骨化	変異	158(25)	165(25)	157(24)	176 ^{**} (25)
	第1,2,3頸椎不完全骨化・二分骨化	変異	73(22)	79(24)	85(22)	54(22)
	第4、5、6頸椎未骨化	変異	83(21)	74(22)	68(22)	110 ^{**} (24)
	第4、5、6頸椎不完全骨化	変異	74(23)	80(24)	77(21)	84(25)
	第7頸椎未骨化	変異	9(8)	8(6)	11(6)	19 ⁺ (10)
	第7頸椎不完全骨化	変異	34(14)	28(16)	27(12)	47(18)
	第7頸椎過剰骨化点(一・両側性)	異常		1(1)		1(1)
	第1胸椎未骨化	異常	1(1)			
	胸椎ダンベル型骨化	変異	3(2)		1(1)	2(2)
	胸椎二分骨化	変異	1(1)	2(2)	2(2)	3(2)
	第3肋骨弓過剰骨化点(一側性)	異常	1(1)			
	25仙骨前椎	奇形	1(1)		2(1)	
	第6腰椎弓発生異常(一側性)、第6腰椎半椎位置異常	異常		1(1)	3(1)	
	第5腰椎/腰椎弓癒着、第6腰椎欠損、第1,2仙椎及び全尾椎未骨化	奇形				1(1)
	7以下の尾椎	異常	3(2)	4(3)	3(3)	7(6)
前脚(・・両側性)第3、4近位指節骨未骨化	変異	6(5)	3(3)	4(4)	3(3)	
第1中指骨(・・両側性)未骨化	異常	12(7)	20(11)	23(10)	34 ^{**} (15 ⁺)	
第5中手骨(一・両側性)未骨化	異常		1(1)	2(2)	1(1)	
第5中手骨(一・両側性)不完全骨化	変異			2(2)	1(1)	

外検、内臓検査及び骨格検査で提示した数字は影響を受けた胎児発現数を、()内はその腹数を示す。

外表検査、内臓検査、骨格検査: Fisher直接確率計算法 * P<0.05 ** P<0.01 (申請者実施)

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

ウサギを用いた催奇形性試験

(資料20)

試験機関：

報告書作成年： [GLP対応]

検体純度：

試験期間：開始日

終了日

供試動物：ニュージーランド白色ウサギ 1群22匹

開始時月齢：約5月齢、 体重：2.758～4.186 kg(妊娠0日目)

試験方法：検体を、0.0、5.0、50.0及び150.0 mg/kg/dayで、0.5%メチルセルロース水溶液中に懸濁して妊娠6日から29日まで強制経口投与した(24日間)。妊娠30日に屠殺した。

用量設定根拠：

交配方法：ウサギは、出荷前に業者が自然交配した。試験機関に搬入時にウサギは妊娠1から3日目であった。

試験項目及び方法：

母動物の体重は妊娠0、3、6、9、12、15、18、21、24、27、29及び30日目に測定した。

臨床観察は、搬入日から5日目、妊娠30日目は1日最低1回、投与時は1日2回及び投与期間中は投与後約1～2時間に行った。

摂餌量は妊娠3～6日目、6～9、9～12、12～15、15～18、18～21、21～24、24～27、27～29及び29～30日に測定した。

末梢血中コリンエステラーゼ活性（赤血球及び血漿）測定は、妊娠25日目の投与約1時間後に採血し測定した。

妊娠30日目に母動物を屠殺し、剖検を実施した。剖検は、胸腔、腹腔及び臓器について実施し、子宮検査により妊娠状態を確認した。体重、肝臓及び子宮重量を秤量し、卵巣黄体数、子宮内容(着床部位数、吸収数、死亡胎仔数、生存胎仔数)を記録した。

生存胎仔は、ペントバルビタールの腹腔内注射により安楽死させた。全生存胎仔について体重を測定し、外表検査をした。全同腹仔について全生存胎仔の内臓検査を実施し、約1/2は、頭部切片を作成して検査した。全胎児について内臓を除去後、骨格検査を実施した。

結果： 概要を後頁の表に示す。

母毒性

一般状態、死亡率：妊娠率は全群において同等であった。

150mg/kg/day群で体重減少を示す動物数が対照群に比べ増加した他は投与の影響と考えられる一般状態の変化は認められなかった。

0 mg/kg/day投与で1匹、150 mg/kg/day群で2匹が早産した。0 mg/kg/day群の2匹は投与ミスのため試験から除外した。0及び5 mg/kg/day群で各1匹及び50 mg/kg/day群で2匹が試験中に死亡した。何れも検体による影響とは考えられなかった。

体重： 150 mg/kg/day投与群の増体重は妊娠6～9、6～29、3～30及び0～30日目の間で対照群に比べ統計学的有意に減少した。

摂餌量： 50 mg/kg/dayで妊娠6～29日目および3～30日目のみ、g/dayまたはg/kg/dayで表した時も、対照群の値と比較して統計的に有意な増加を表した。

血液コリンエステラーゼ活性：血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性は、用量相関的に低下傾向を示し、50及び150 mg/kg/day投与で統計的に有意に低下した。

臓器重量：妊娠子宮重量及び肝重量への影響はみられなかった。

着床所見：卵巣黄体数、子宮着床部位総数、着床前後の胚損失、同腹児当りの生存胎児数または性比に及ぼす有意な投与の影響はなかった。

胎児

胎児重量：150 mg/kg/day投与において全胎児または雌雄別に計算した胎児体重が対照群に比べ有意に減少した。

胎児検査：胎児の外表、内臓、及び骨格検査において以下の奇形の発現が認められた。

外表検査において50mg/kg/day群で1小眼球症1例、内臓検査では対照群で心室中隔欠損1例、5mg/kg/day群で左回旋状網膜及び右心症各1例、150mg/kg/day群では左回旋状網膜1例、胆管無発生1例及び胆嚢無発生2例が、骨格検査では、150mg/kg/day群の同腹の2例で胸骨分節融合が認められた。何れも単発的であり、用量との関連が認められず偶発的所見と考えられた。また、対照群を含む全群の外表、内臓及び骨格検査における変異が認められたが用量との関連性は認められず偶発的変化と考えられた。

本試験の結果、母毒性として150 mg/kg/day群の体重増加量減少が、50mg/kg/day以上の投与群で血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性阻害が認められた。

胎児への影響として、150mg/kg/day投与群で胎児体重の減少が認められた。

本試験における無毒性量は母動物に対しては5.0mg/kg/day、胎児に対しては50mg/kg/dayと判断された。

催奇形性は認められなかった。

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

母動物；

投与量(mg/kg/day)		0	5.0	50	150
1群当りの動物数		22	22	22	22
除去した動物数		2	0	0	0
途中死亡もしくは屠殺動物数		1	1	2	0
屠殺前に早期分娩		1	0	0	2
妊娠率(%)		100	100	100	100
体重増加量 (g)	6-9日	69.4	62.4	31.3	-74.8**
	6-29日	443.4	395.9	333.8	208.3**
	3-30日	689.9	654.9	592.8	463.3**
	0-30日	529.1	524.4	453.3	325.9**
摂餌量(g/day)	6-29日	153.7	163.3	184.0*	141.8
	3-30日	155.2	168.2	187.6*	147.6
摂餌量(g/day/kg)	6-29日	41.6	43.6	49.8**	40.0
	3-30日	42.1	43.9	50.8**	42.0
コリンエステラーゼ活性 (対照群に対する%)	血漿	100	87	54*	32**
	赤血球	100	94	81**	73**
妊娠子宮重量(g)		610.92	594.63	511.26	545.58
肝重量(g)	絶対重量	102.82	102.23	101.94	99.63
	体重比%	2.69	2.68	2.74	2.67
着床所見	検査動物数	18	21	19	20
	生存胎児のある腹数	18	21	18	20
	黄体数	9.72	8.81	8.56	9.65
	着床数	9.06	8.48	7.53	8.75
	着床前損失率(%)	7.66	4.92	14.48	9.77
	早期吸収胚数	0.39	0.19	0.21	0.20
	後期吸収胚数	0.17	0.00	0.11	0.00
	胚・胎児死亡数	0.56	0.19	0.32	0.20
	着床後損失率(%)	6.33	2.60	9.36	2.58
	腹当たり生存胎児数	8.50	8.29	7.61	5.88
	胎児性比 (雄の%)	46.63	48.10	41.06	48.69

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett Test), +: p<0.05, **: p<0.01 (Mann Whitney U Test)

胎児：

投与群 (mg/kg/day)		0	5.0	50	150
生存胎児数	雄	4.06	4.00	3.22	4.00
	雌	4.44	4.29	4.39	4.55
	合計	8.50	8.29	7.61	8.55
	雄性	46.63%	48.10%	41.06%	48.69%
胎児体重(g)	雄	52.69	51.29	50.48	47.44*
	雌	50.40	49.76	50.42	45.34**
	平均	51.69	50.50	50.58	46.43**
外表検査	小眼球：左	奇形		1(1)	
内臓検査	左回旋状網膜	奇形		1(1)	1(1)
	右心症	奇形		1(1)	
	心室中隔欠損	奇形	1(1)		
	胆管無発生	奇形			1(1)
	胆嚢無発生	奇形			2(2)
	心室拡大 両側性	変異			1(1)
	心室拡大 左	変異			3(2)
	副鼻拡大	変異	4(3)		1(1)
	通常の倍の直径の大動脈	変異	1(1)		
	肺動脈の直径が通常の半分	変異	1(1)		
	乳頭筋数異常	変異	12(7)	12(9)	9(6)
	乳頭筋拡大	変異			1(1)
	肝葉発生異常	変異	1(1)		
	胆嚢付着肝様組織	変異		1(1)	
	円形胆嚢	変異		2(2)	
通常の半分の大きさの胆嚢	変異		2(2)		
円形、通常の半分の大きさの胆嚢	変異			1(1)	
骨格検査	胸骨分節癒合	奇形			2(1)
	腰肋 完全(両側性)	変異	59(16)	39(14)	51(13)
	完全(一側性)左	変異	11(8)	10(6)	5(5)
	完全(一側性)右	変異	8(7)	4(4)	5(5)
	痕跡(両側性)	変異		3(2)	1(1)
	痕跡(一側性)左	変異	7(5)	1(1)	3(3)
	痕跡(一側性)右	変異	2(2)	5(5)	3(3)
	通常軟骨2分割骨化中心胸椎	変異		1(1)	
	通常軟骨2分割骨化中心腰椎	変異		10(2)	
外表奇形をもつ胎児数		0	0	1	0
外表奇形をもつ腹数		0	0	1	0
内臓奇形をもつ胎児数		1	2	0	3
内臓奇形をもつ腹数		1	2	0	3
骨格奇形をもつ胎児数		0	0	0	2
骨格奇形をもつ腹数		0	0	0	2
腹当たり奇形胎児数		0.06	0.10	0.06	0.25
腹当たり奇形胎児数 雄		0.00	0.05	0.00	0.00
腹当たり奇形胎児数 雌		0.06	0.05	0.06	0.25
外表変異をもつ胎児数		0	0	0	0
外表変異をもつ腹数		0	0	0	0
内臓変異をもつ胎児数		18	16	11	18
内臓変異をもつ腹数		9	11	7	11
骨格変異をもつ胎児数		84	64	64	88
骨格変異をもつ腹数		17	16	14	18
腹当たり変異胎児数		5.28	3.52	3.94	4.85
腹当たり変異胎児数 雄		2.53	1.38	1.72	2.15
腹当たり変異胎児数 雌		2.89	2.14	2.22	2.70

表中の数値は所見の認められた胎児数 ()内は腹数

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnnett Test), *: p<0.05, **: p<0.01 (Mann Whitney U Test)

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

(11) 変異原性

細菌を用いたDNA修復試験

(資料21)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験方法：*Bacillus subtilis*の組換修復機構保持株（H17）と欠損株（M45）を使用した。検体をDMSOに溶解し、直径10mmの濾紙に0.02ml含ませ、ストリークの開始点を覆うように置き、37℃で一夜培養後阻止帯の長さを測定した。陰性対照としてKanamycin, 陽性対照としてMitomycin Cを用いた。

結果：

	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
			M45	H17	
対照	DMSO		0	0	0
検体	検体	20	0	0	0
		100	0	0	0
		200	0	0	0
		500	0	0	0
		1000	0	0	0
		2000	0	0	0
陰性対照	Kanamycin	10	5.5	5	0.5
陽性対照	Mitomycin C	0.1	9	1	8

検体存在下では両株に全く生育阻止を認めなかった。

陽性対照（Mitomycin C）ではM45株のみに著明な生育阻止帯を生じた。

陰性対照（Kanamycin）では両株の間に著明な生育阻止帯を生じた。

以上の結果より検体は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 TKI JAPAN 株式会社にある。

細菌を用いた復帰変異試験

(資料22)

試験機関:

報告書作成年: [GLP対応]

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535 TA1537, TA1538) を用いラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素 (S9 mix) の存在下, 非存在下で Amesらの方法を用いて変異原性を検索した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。

突然変異試験では1回目の試験では1000~5.00 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲の6用量で試験を実施したが, TA98株とTA100株以外の菌株では1000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の濃度においても抗菌性が認められなかったため, 2回目の確認試験では2000~10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲の6用量で試験を行った。2回の試験とも各用量につき3枚のプレートを用いた。

試験結果: 結果を表1および表2に示した。

2回の試験において検体は S9 mixの有無にかかわらず, 菌株に対し抗菌性を示した濃度においても, 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, 陽性対照群ではすべての試験菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より, 検体は代謝活性化系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た。

表1

葉 剤	濃 度 μg/プレート	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート (3枚の平均)					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA98	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	
溶媒対照(DMSO)	0	-	15	7	79	3	6	
検 体	5.00	-	12	4	84	5	4	
	10.0	-	11	7	85	4	7	
	50.0	-	14	8	78	4	5	
	100	-	8	11	84	8	5	
	500	-	8	6	60	6	4	
	1000	-	3	4	19	4	7	
溶媒対照(DMSO)	0	+	21	5	90	7	11	
検 体	5.00	+	22	8	94	5	11	
	10.0	+	19	12	95	7	10	
	50.0	+	22	11	92	8	11	
	100	+	16	8	87	5	14	
	500	+	16	11	71	6	12	
	1000	+	11	5	43	6	13	
陽 性 対 照	2-ニトロフルレン	1.0	-	122				170
	NaN3	2.0	-		500	477		
	ICR-191	2.0	-				329	
	2-アミノアントラセン	2.5	+	858	155	1088	154	1077

表2

葉 剤	濃 度 μg/プレート	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート (3枚の平均)					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA98	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	19	10	93	5	4	
検 体	10.0	-	16	9	75	3	6	
	50.0	-	19	11	86	6	6	
	100	-	14	8	73	5	5	
	500	-	16	11	49	5	4	
	1000	-	10	8	22	5	4	
	2000	-	3	7	1	1	1	
溶媒対照(DMSO)	0	+	21	12	112	4	8	
検 体	10.0	+	18	9	111	3	11	
	50.0	+	20	11	113	6	12	
	100	+	25	11	119	5	14	
	500	+	13	10	95	5	8	
	1000	+	7	8	59	7	7	
	2000	+	3	4	6	1	2	
陽 性 対 照	2-ニトロフルレン	1.0	-	137				187
	NaN3	2.0	-		465	665		
	ICR-191	2.0	-				328	
	2-アミノアントラセン	2.5	+	985	168	1133	143	859

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

細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料23)

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100株及びトリプトファン要求性の *Escherichia coli* wp2 *hcr*株を用い、SD系雄ラットの肝より調製した薬物代謝酵素系による代謝活性化を含む復帰変異原性試験を行った。
陽性対照として2-aminoanthracene, AF-2, β -propiolactone, 9-amino-acridine 及び2-nitrofluorene を用いた。
検体はDMSOで溶解した。

結果：

次頁の表に示す通り、検体存在下では、いずれの変異株においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。
一方、陽性対照群では対照に比して顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異原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TKI JAPAN株式会社にある。

表. 試験結果

(数値は2プレートの平均値)

薬物	濃度 (μ g/plate)	S-9 Mix	復帰変異 colony数/plate						
			base-change 型			frameshift 型			
			WP2her	TA1535	TA 100	TA1537	TA1538	TA 98	
対照 (DMSO)		-	11	4	133	3	11	26	
検体	10	-	16	11	128	4	13	17	
	50	-	16	9	124	4	8	20	
	100	-	17	11	106	5	11	17	
	500	-	12	18	72	4	7	11	
	1000	-	7	10	77	5	9	21	
	5000	-	11	*	*	*	*	*	
対照 (DMSO)		+	10	9	155	12	17	17	
検体	10	+	13	11	142	8	11	15	
	50	+	7	10	126	7	16	17	
	100	+	15	13	116	8	14	18	
	500	+	13	8	93	5	9	11	
	1000	+	16	10	98	5	13	10	
	5000	+	7	3	1	1	8	0	
陽性 対照	2-amino- anthracene	10	-	11	13	165	16	19	35
		10	+	4348	332	>3000	270	>2000	>3000
	注a)~f)参照		-	1132 a	946 b	1132 c	>10000 d	>3000 e	341 f

注 * 菌株の生育阻止を認める

a) 0.25 μ g/plate AF-2 b) 50 μ g/plate β -propiolactone c) 0.05 μ g/plate AF-2

d) 200 μ g/plate 9-aminoacridin e) 50 μ g/plate 2-nitrofluorene f) 0.1 μ g/plate AF-2

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

チャイニーズハムスターの卵巣細胞 (CHO) を用いたHGPRT前進性遺伝子突然変異試験 (資料24)

試験機関

報告書作成年

[GLP対応]

検体純度:

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣由来のCHO-K1-BH₄細胞株を用い、代謝活性化系及び非活性化系においてHGPRT遺伝子座を指標として突然変異誘発性を検討した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。

1回目の突然変異試験での検体の濃度は、非活性化系では0.001 mg/mlから0.3 mg/mlの範囲で9用量を、代謝活性化系では0.01から0.3 mg/mlの範囲で8用量を設定した。2回目の試験における用量は、1回目 の試験結果より0.01~0.3 mg/mlの範囲で6用量 (非活性化系) , 0.001~0.13mg/mlの範囲で9用量 (代謝活性化系) を設定した。検体は4時間処理し、その後7日間の発現時間をおき、変異細胞選択用培地 (TGを4 μ g/ml含む) に細胞を2 \times 10⁵個播種し、7日間培養して変異コロニーを形成させた。同時にコロニー形成率を測定するため正常培地に200個の細胞を播種し、コロニーを形成させた。変異細胞検出用では各用量につき12枚のシャーレを用いた。コロニー形成率測定用では各用量につき3枚のシャーレを用いた。試験は非活性化系、代謝活性化系とも2回実施した。

試験結果は、Kastenbaum and Bowman の表による統計学的検定を実施した。

試験結果: 結果を表1および表2に示した。

非活性化系では1回目の試験では0.15 mg/ml, 確認試験では0.20 mg/mlの用量で突然変異頻度が溶媒対照と比べて有意に増加した。代謝活性化系では、1回目の試験において0.15 mg/mlの用量で突然変異頻度が有意に増加したが確認試験では有意な増加は認められなかった。統計学的有意差の認められた用量における突然変異頻度はいずれも対照背景値の範囲内であり、これらは偶発的なものと考えられた。

以上の結果より、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、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) に対し、HGPRTを指標とした突然変異誘発性を有しないものと判断された。

表1 (1回目の突然変異試験)

薬物	濃度 (mg/ml)	S9 mix	細胞生存率 平均コロニー数	細胞生存率 対照に対する割合	変異コロニー 増殖率(%)	変異コロニー 総数	絶対的コロニー 形成率	突然変異頻度 10 ⁻⁶ unit a
溶媒対照 (DMSO)	0	-	188.3±9.6	94.9	89.0	3	99.2±6.1	1.3
	0	-	208.7±22.5	105.1	111.0	5	97.4±14.3	2.1
検体	0.001	-	218.0±7.0	109.8	115.9	5	94.9±8.6	2.2
	0.01	-	197.7±6.7	99.6	NS	-	-	-
	0.03	-	163.3±26.3	82.3	86.9	6	91.4±5.4	2.7
	0.05	-	110.7±15.5	55.8	45.0	6	91.2±8.0	2.7
	0.08	-	69.3±2.9	34.9	27.1	1	86.5±7.9	0.5
	0.1	-	54.3±12.6	27.4	18.1	8	97.2±3.3	3.4
	0.15	-	59.0±2.6	29.7	15.3	15	83.7±4.3	7.5c
	0.2	-	38.3±8.1	19.3	6.0	0	79.3±7.4	0.0
	0.3	-	5.0±1.0	2.5	T	-	-	-
陽性対照 (BrdU)	50µg/ml	-	134.0±6.1	67.5	39.9	227	84.7±11.6	111.7b
溶媒対照 (DMSO)	0	+	218.3±2.9	106.0	92.7	9	92.5±7.6	4.1
	0	+	193.7±11.0	94.0	107.3	4	89.2±3.2	1.9
検体	0.01	+	194.0±17.6	94.2	87.3	4	93.0±9.7	1.8
	0.05	+	162.0±4.4	78.6	73.0	1	83.9±7.0	0.5
	0.08	+	171.7±27.4	83.3	51.0	4	95.0±7.4	1.8
	0.1	+	140.7±6.4	68.3	46.8	11	88.4±11.6	5.2
	0.12	+	121.3±4.6	58.9	37.2	9	104.7±5.0	3.6
	0.15	+	53.7±9.7	26.1	12.6	14	80.9±13.0	7.2c
	0.2	+	15.3±5.5	7.4	1.2	37	62.2±8.6	24.8d
	0.3	+	0.0±0.0	0.0	T	-	-	-
陽性対照 (3-MCA)	5µg/ml	+	187.3±14.7	90.9	61.0	866	76.5±4.6	471.7b

DMSO: ジメチルスルホキシド BrdU: 5-ブロモ-2'-デオキシウリジン

3-MCA: 3-メチルコラントレン

a: 突然変異頻度 = 総変異コロニー / (プレート数 × 2 × 10⁵ × 絶対的コロニー形成率)

b: 統計学的有意に増加: Kastenbaum-Bowman 検定 p<0.01, および突然変異頻度 >15 × 10⁻⁶

c: Kastenbaum-Bowman 検定 p<0.05だが、突然変異頻度は背景値の範囲内であった (<15.0 × 10⁻⁶)

d: 10%以下の相対的細胞生存率。データは記載するが評価には含めなかった。

NS: 試験を実施しなかった

T: 著しい細胞毒性のため試験を中止した

表2 (2回目の突然変異試験)

薬物	濃度 (mg/ml)	S9 mix	細胞生存率 平均コロニー数	細胞生存率 対照に対する割合	変異コロニー 増殖率(%)	変異コロニー 総数	絶対的コロニー 形成率	突然変異頻度 10 ⁻⁶ unit a
溶媒対照 (DMSO)	0	-	225.7 ± 13.9	98.9	106.0	1	83.9 ± 18.6	0.5
	0	-	230.7 ± 9.3	101.1	94.0	17	89.7 ± 3.9	7.9
検体	0.01	-	236.7 ± 17.2	103.7	138.0	19	90.5 ± 2.7	8.7c
	0.05	-	94.3 ± 9.7	41.3	24.5	14	81.7 ± 5.4	7.1
	0.1	-	55.7 ± 4.0	24.4	14.6	2	88.2 ± 2.4	0.9
	0.15	-	42.7 ± 7.0	18.7	11.4	4	70.7 ± 2.0	2.4
	0.2	-	7.3 ± 2.5	3.2	2.1	8	52.5 ± 3.5	6.3d
	0.25	-	2.3 ± 2.5	1.0	T	-	-	-
	0.3	-	0.0 ± 0.0	0.0	T	-	-	-
陽性対照 (BrdU)	50 μg/ml	-	138.7 ± 6.1	60.8	69.9	243	93.7 ± 11.3	108.1b
溶媒対照 (DMSO)	0	+	114.0 ± 5.3	101.0	104.0	33	100.4 ± 3.8	13.7
	0	+	111.7 ± 9.0	99.0	96.0	29	106.5 ± 6.6	11.3
検体	0.001	+	122.0 ± 18.3	108.1	72.5	11	101.8 ± 6.9	4.5
	0.005	+	115.7 ± 6.0	102.5	63.0	25	101.8 ± 7.3	10.2
	0.01	+	129.7 ± 11.0	114.9	69.4	28	99.5 ± 4.4	11.7
	0.02	+	127.7 ± 4.7	113.2	57.3	4	90.7 ± 12.5	1.8
	0.04	+	69.7 ± 9.5	61.8	21.9	19	90.5 ± 5.7	8.7
	0.06	+	34.0 ± 2.6	30.1	6.8	2	91.9 ± 10.3	0.9
	0.08	+	9.3 ± 2.9	8.2	2.0	3	90.2 ± 4.2	1.4d
	0.1	+	1.7 ± 1.2	1.5	T	-	-	-
	0.13	+	0.0 ± 0.0	0.0	T	-	-	-
	陽性対照 (3-MCA)	5 μg/ml	+	112.3 ± 13.7	99.5	43.9	492	92.0 ± 9.1

DMSO: ジメチルスルホキシド BrdU: 5-ブromo-2'-デオキシウリジン

3-MCA: 3-メチルコラントレン

a: 突然変異頻度 = 総変異コロニー / (プレート数 × 2 × 10⁵ × 絶対的コロニー形成率)

b: 統計学的有意に増加: Kastenbaum Bowman 検定 p < 0.01, および突然変異頻度 > 15 × 10⁻⁶

c: Kastenbaum-Bowman 検定 p < 0.05だが, 突然変異頻度は背景値の範囲内であった (< 15.0 × 10⁻⁶)

d: 10%以下の相対的細胞生存率。データは記載するが評価には含めなかった。

T: 著しい細胞毒性のため試験を中止した

チャイニーズハムスターの卵巣(CHO)細胞を用いたin vitro染色体異常試験

(資料25)

試験機関

報告書作成年

[GLP対応]

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣由来のCHO細胞株を用い、代謝活性化系及び非活性化系における染色体異常誘発性を検索した。
検体はジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解して用いた。

非活性化系では検体を7.5, 10.0, 25.0, 50.0, 75.0 $\mu\text{g/ml}$ の用量で17.25時間処理し、検体処理開始から20時間後に細胞回収し、空気乾燥法によりスライド標本を作製した。代謝活性化系では検体をS9 mix存在下で2時間処理し、処理開始の20時間後ならびに30時間後に細胞を回収した。染色体異常の解析は両回収時間とも150, 200, 250, 300 $\mu\text{g/ml}$ の用量で行った。両系とも細胞回収の2.5時間前にコルセミドを添加した。検体処理群については1用量につき2枚のプレートを用いた。

観察は、陽性対照と明らかな陽性反応を示した用量を除き、1用量あたり200個の分裂中期像について行った。

試験結果は、Fisherの直接確率計算法に多重比較の補正を行い、統計学的検定を実施した。

試験結果：結果を表1および表2に示した。

検体は非活性化系においては染色体異常を誘発しなかったが、代謝活性化系存在下において試験を行ったいずれの用量においても染色体異常を誘発した。

以上の結果より、検体は本試験条件下で、代謝活性化系存在下において染色体異常誘発性を有するものと判断された。

表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 TKI JAPAN 株式会社にある。

表2

ラット一次培養肝細胞における不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (資料26)

試験機関
報告書作成年 [GLP対応]

検体純度

試験方法 Fischer 344 系成熟雄ラットの肝臓から肝細胞を得、培養プレート上に単層培養細胞を形成させた。検体を所定濃度で溶解したDMSO溶液を、 $5 \mu\text{Ci/ml}$ の H^3 -チミジンを含む培養液で100倍に希釈して細胞を18.1時間(1回目試験)または19時間(2回目試験)培養した。各処理は5枚のプレートを使用し、内2枚では処理後3時間(1回目試験)または3.8時間(2回目試験)、検体を含まない培地でさらに培養後、トリパンブルーの排出により生存細胞数を計測した。残りの3枚のプレートは1%クエン酸ナトリウムで処理後酢酸:エタノール(1:3)で固定し、乾燥させたのちKodak NTB2で感光後D19で現像しヘマトキシリン・エオシン変法を用いて染色した。顕微鏡下でプレートあたり50細胞当たりの核粒を計数し、隣接した背景粒数を減じることで正味の核粒数を求めることによりUDSを測定した。

1回目試験では $750 \sim 0.025 \mu\text{g/ml}$ の15段階の検体濃度で処理し、細胞生存率に基づき $25 \sim 0.5 \mu\text{g/ml}$ の6段階でUDSを評価した。2回目試験では $50.0 \sim 0.625 \mu\text{g/ml}$ の11段階で処理し、細胞生存率に基づき $25 \sim 5.0 \mu\text{g/ml}$ の6段階でUDSを評価した。陰性対照として溶媒のみ(DMSO 1%)、溶性対照として $0.1 \mu\text{g/ml}$ の2-AAF(2-アセチルアミノフルオレン)を同時に供試した。

試験結果 結果を次表1, 2 に示した。

1回目の実験では、 $10.0 \mu\text{g/ml}$ の濃度で6以上の粒を含む核の数がわずかではあるが有意に増加した。しかしながら、用量相関性の反応や傾向はみられず、解析したいずれの用量でも正味核粒数には有意な増加は認められなかった。

2回目の実験では、被験物質処理試料のいずれにおいても対照群にくらべ有意なUDSの増加はみられず、また用量相関性の傾向もみられなかった。

以上の結果より、検体は本試験条件下でUDS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 TKI JAPAN 株式会社にある。

表1. ラット肝細胞 UDS 試験 実験1データまとめ

表2. ラット肝細胞 UDS 試験 実験2データまとめ

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

マウスを用いた小核試験

(資料27)

試験機関：

報告書作成年： [GLP対応]

検体純度：

試験動物：CD-1系マウス（5～6週齢）、1群雌雄各5匹

体重： 雄 28～36g、雌 21～26g

試験期間：投与後24および48時間に試料採取

試験方法：検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、50、100及び200mg/kgの用量で2日間にわたり強制経口投与した。2回目投与24時間及び48時間後に各群雌雄各5匹を屠殺し大腿骨を摘出して骨髓細胞の塗抹標本を作製した。溶媒対照群も同様に骨髓細胞塗抹標本を作製した。陽性対照群はCyclophosamide 80mg/kgを生理食塩水に希釈し投与し、24時間後に屠殺し骨髓細胞の塗抹標本を作製した。塗抹標本はギムザ染色し、小核を有する多染性赤血球の頻度を調べた。さらに、多染性赤血球／正染性赤血球の割合も求めた。

投与量設定根拠：

結 果：次表に結果を示す。

いずれ時点の検体投与群でも小核を有する多染性赤血球の有意な増加は認められず、多染性赤血球／正染性赤血球比も対照群と比べ異常はみられなかった。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下では、検体の小核を有する多染性赤血球の誘発はないと判断される。

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

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

ラット骨髄細胞における *in vivo* 染色体異常試験

(資料28)

試験機関

報告書作成年

[GLP対応]

検体純度

試験方法 1群当たり雌雄各5匹 Sprague-Dawley 系若齢成熟ラットに検体を30, 60 および 120 mg/kg の用量で強制単回経口投与し、処理 6, 24 または 48 時間後に骨髄細胞を採取して染色体異常を評価した。検体はメチルセルロースに懸濁して投与した。また、試料採取の1時間前に動物にコルヒチン1mg/kgを腹腔内投与し、分裂中期像の細胞を得た。分裂頻度の計算および染色体異常の解析は、動物1匹あたりそれぞれ 500 個の細胞および原則 100 個の分裂中期細胞について実施した。

試験結果 最高用量群の全例で、投与直後に毒性の身体徴候が観察された。細胞遺伝学的試験の結果を次表に示した。いずれの用量および標本採取時間でも、染色体異常を有する細胞の頻度は、溶媒対照群と同程度であった。

以上の結果より、検体は本試験条件下でラットの骨髄細胞に対して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 TKI JAPAN 株式会社にある。

表 結果

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

DNA結合性の検索

(資料29)

試験機関：

報告書作成年：

[GLP対応]

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

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

(12) 生体の機能への影響に関する試験

薬理試験（文献*）

（資料30）

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