

6. 慢性毒性および発癌性

(1) カルタップ原体のラットを用いた飼料混入による 104 週間慢性毒性および発癌性試験

(資料 6 - 1)

試験機関: Huntingdon Research Centre

報告書作成年: 1975 年

検体: カルタップ原体

検体純度:

供試動物: SD 系 CD ラット、1 群雌雄各 45 匹、週齢は報告書に記載なし、

群平均体重; 雄 121 g、雌 117~118 g

投与期間: 104 週間

投与方法: 検体を 0、10、20 および 40 mg/kg/日の投与量で摂取させるように飼料に所定の濃度で混入し、104 週間にわたって摂食させた。飼料は 1 週間に 2 回調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡率を次表に示した。

投与群 (mg/kg/日)		0	10	20	40
死亡率 (%)	雄	67	↓44	↓42	↓↓38
	雌	49	60	69	47

カイ二乗分布表による検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: $P < 0.05$, ↓↓: $P < 0.01$)。

検体投与群雄の死亡率が対照群と比較して有意に低値を示したが用量相関がなく、対照群雄の死亡率 (67%) は通常の 2 年間の試験で見られる死亡率 (45~55%) よりかなり高値であった。雌の死亡率に有意差は認められなかった。一般症状については、検体投与に関連した異常は認められなかった。

体重変化；投与開始時およびその後は週 1 回全動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた体重増加量を次表に示した。

性別	雄			雌		
	10	20	40	10	20	40
投与群 (mg/kg/日)						
0~13 週	99	96	↓↓92	101	95	↓↓91
14~26 週	101	99	↓↓77	113	85	↓↓60
27~52 週	88	89	84	89	↓78	↓↓45
53~104 週	75	99	↓38	97	83	↓47

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: P < 0.01, ↓↓: P < 0.001)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

40 mg/kg 群雌雄および 20 mg/kg 群雌に対照群と比較して体重増加抑制がみられた。

摂餌量および摂取餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、摂餌効率を第 26 週まで 4 週間毎に算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた総摂餌量を次表に示した。

性別	雄			雌		
	10	20	40	10	20	40
投与群 (mg/kg)						
1~13 週	100	97	↓95	↓96	↓↓93	↓↓91
14~26 週	99	96	↓92	↓97	↓↓93	↓↓88
27~52 週	98	↓94	↓↓88	98	↓↓92	↓↓86
53~104 週	96	↓92	↓↓82	99	91	↓↓81

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: P < 0.05, ↓↓: P < 0.01, ↓↓↓: P < 0.001)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

20 および 40 mg/kg 群で摂餌量が減少し、10 mg/kg 群雌でも散発的に減少が見られた。摂餌効率は投与開始後 3 ヶ月間は投与による影響を受けなかった。第 14~26 週に 40 mg/kg 群で減少したが、6 ヶ月間全体では減少はわずかで有意差は認められなかった。(申請者注 2)

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次の通りであった。

申請者注 2：摂餌量について

20 mg/kg 群雄および 10 mg/kg 群雌で摂餌量の低値が散見されたが、当該期間の体重増加量に変化が認められていないこと、また、程度が軽微であることから検体投与に起因した変化でないと判断した。

投与群 (mg/kg)		10	20	40
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	9.85	19.5	38.5
	雌	9.75	20.0	39.5

飲水量；給水瓶の観察により飲水量を調べたが、検体投与との関連が認められなかったため、飲水量の定量的な測定は実施しなかった。

血液学的検査；投与 12、25、51 および 102 週間後、対照群および 40 mg/kg 群雌雄各 5 匹の眼窩静脈叢から採血し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、網赤血球数、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、白血球分画を検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査 時期 (週)	投与群 (mg/kg/日)	
		雄	雌
		40	40
赤血球数	52	98	↓97
血小板数	52	113	↑135
ヘモグロビン	103	↑116	110
ヘマトクリット値	103	↑111	107
平均赤血球ヘモグロビン濃度	103	↑104	104
平均赤血球容積	103	97	↓97

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った
(↑ ↓: P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

いくらかの有意差が見られたが、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。(申請者注 3)

血液生化学的検査；投与 12、25、51 および 102 週間後、一夜絶食後、血液学検査で用いた動物とは異なる対照群および 40 mg/kg 群雌雄各 5 匹の眼窩より採血し、尿酸窒素、血糖、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、蛋白質分画、ア

申請者注 3：有意差の認められた血液学的検査の項目について

40 mg/kg 群雌で第 52 週に赤血球数の減少および血小板数の増加が認められたが、一過性的な変化であり、他の関連するパラメータに影響が認められなかったことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。また、同群雌で第 103 週に平均赤血球容積の減少が認められたが、他の関連するパラメータに影響が認められなかったことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。一方、同群雄で第 103 週に認められたヘモグロビン、ヘマトクリット値および平均赤血球ヘモグロビン濃度の高値は検体投与の影響であると考えられたが、赤血球数および平均赤血球容積に変化が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

ルカリホスファターゼ、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、赤血球コリンエステラーゼ、血漿コリンエステラーゼ、ナトリウム、カリウム、血清コレステロールを検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査時期 (週)	投与群 (mg/kg/日)	
		雄	雌
		40	40
総蛋白	13	↓91	97
	26	99	↓↓88
アルブミン	26	103	↓90
尿素	52	100	↑115
血糖	52	103	↓84
ALT	52	89	↓67
コレステロール	13	↓81	99
	26	93	↓75
	52	↑117	↓86
	103	↓82	100
カリウム	103	111	↑106
蛋白分画-α1	26	86	↓73
蛋白分画-α2	13	↓80	80
	103	↓71	83
蛋白分画-β	103	↓83	82
蛋白分画-γ	13	↓67	100

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑↓: P < 0.05, ↑↑↓↓: P < 0.01, ↑↑↓↓↓: P < 0.001)。表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

対照群と 40 mg/kg 群との値に一定の傾向がないことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。(申請者注 4)

申請者注 4: 有意差の認められた血液生化学的検査の項目について

40 mg/kg 群雌で第 26 週に総蛋白、アルブミンおよび蛋白分画-α1 の低値が認められたが、一過性的変化であり、アルブミン/グロブリン比に影響が認められなかったことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。同群雄で散見された蛋白分画の変化については、他の蛋白パラメータに変化が認められなかったことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。雄で認められたコレステロールの変化については、病理組織学的検査において、関連する器質的变化が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。雌で第 103 週にカリウムの高値が認められたが、軽微であり、他の電解質に影響が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。その他、有意差が認められた項目についてはいずれも一過性的変化であることから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。

脳コリンエステラーゼ検査；投与第 104 週に 1 群雌雄各 5 匹の動物を屠殺し、脳コリンエステラーゼ値を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

投与群 (mg/kg)		10	20	40
脳コリンエステラーゼ	雄	↑113	107	100
	雌	89	89	89

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定 (両側) を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓: P < 0.05)。表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

いずれの投与群にも検体投与による変化は認められなかった。(申請者注 5)

尿検査；投与 12、25、51 および 102 週間後に、対照群および 40 mg/kg 群雌雄各 5 匹から尿を採取し、尿量、pH、比重、蛋白、糖、還元物質、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、血色素、尿沈渣を検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査時期 (週)	投与群 (mg/kg/日)	
		雄	雌
		40	40
尿量	26	↑146	130
	103	↓56	76
pH	12	100	↑103
	103	↑108	↑109
比重	26	↓99	100

申請者注：申請者が Student t または Aspin-welch t 検定 (両側) を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓: P < 0.05, ↑ ↓: P < 0.01)。表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

検体投与による変化は認められなかった。(申請者注 6)

申請者注 5：10 mg/kg 群雄で認められた脳コリンエステラーゼの高値について
申請者が統計を実施した結果、10 mg/kg 群雄で有意な高値が認められたが、用量相関がないことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。

申請者注 6：有意差の認められた尿検査の項目について
40 mg/kg 群雄で第 103 週に尿量の低値が認められたが、病理組織学的検査において関連した変化が認められなかったこと、対照群に尿量の多い個体が偏っていたことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。雌雄で散見された pH の変化については、軽微であったことから、毒性学的意義はないと考えられた。その他、有意差が認められた項目についてはいずれも一過性の変化であることから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。

眼科学的検査；投与 25、51、77 および 102 週間後、対照群および 40 mg/kg 群の全生存動物について間接検眼鏡を用いて検査した。

検査 時期 (週)	異常部位	投与群 (mg/kg)			
		雄		雌	
		0	40	0	40
26	検査動物数	45	45	45	45
	水晶体-縫合線	0	1	0	0
	角膜-角膜炎	2	4	0	0
52	検査動物数	44	43	45	45
	角膜-角膜炎	2	3	0	0
	虹彩-虹彩炎	1	0	1	0
	緑内障	1	1	1	0
78	検査動物数	34	44	41	41
	水晶体-白内障	0	0	1	0
	角膜 (合計) ^a	3	4	0	0
	- 角膜癒痕	1	0	0	0
	- 角膜浮腫	2	4	0	0
	- 角膜炎	3	4	0	0
	硝子体/網膜-網膜蒼白	1	1	0	0
	虹彩-虹彩炎	0	0	1	0
緑内障	1	0	0	0	
103	検査動物数	16	30	24	25
	水晶体-縫合線	2	1	0	3
	水晶体-後極混濁	8	4*	2	1
	水晶体-その他 (合計) ^a	1	1	0	0
	- 赤道部混濁	1	0	0	0
	- 縫合線輪郭部混濁	0	1	0	0
	角膜 (合計) ^a	3	5	0	1
	- 角膜癒痕	1	1	0	1
	- 角膜浮腫	1	3	0	0
	- 角膜血管新生	1	3	0	0
	- 角膜剝離	0	1	0	0
	- 角膜炎	1	1	0	0
	硝子体/網膜-網膜蒼白	0	1	0	0
緑内障	1	0	0	0	

申請者注：申請者が所見を併記し、統計検定を行った。

a については異常部位合計数について統計検定を実施した。

*: P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

検体投与と関連のある変化は認められなかった。(申請者注7)

臓器重量；投与期間終了後、全生存動物を炭酸ガスにより屠殺し、脳、下垂体、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、甲状腺、精巣、卵巣、子宮の重量を測定し、対体重比も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

性別		雄			雌		
投与群 (mg/kg/日)		10	20	40	10	20	40
最終体重		101	100	↓85	97	91	↓↓72
脳	重量	96	96	96	105	105	100
	対体重比	100	100	↑↑120	106	113	↑↑131
心臓	重量	95	105	95	94	100	94
	対体重比	96	104	↑112	100	108	↑123
肝臓	重量	↓84	↓87	↓↓73	100	92	↓↓67
	対体重比	↓↓82	↓86	↓85	99	99	92
脾臓	重量	100	100	91	100	100	↓75
	対体重比	100	108	108	93	100	100
腎臓	重量	90	93	↓78	98	95	↓↓83
	対体重比	88	92	91	93	97	107
副腎	重量	95	90	↓↓71	↑127	107	86
	対体重比	92	83	↓83	↑127	113	113
甲状腺	重量	100	91	↓80	97	86	91
	対体重比	100	100	100	100	83	↑117
精巣	重量	↓89	93	100	-	-	-
	対体重比	↓85	93	↑120	-	-	-
卵巣	重量	-	-	-	127	107	119
	対体重比	-	-	-	129	121	↑157
子宮	重量	-	-	-	113	113	113
	対体重比	-	-	-	114	121	↑143

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った(↑↓: P < 0.05, ↑↑↓: P < 0.01, ↑↑↓↓: P < 0.001)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

40 mg/kg 群の肝臓、腎臓、雄の甲状腺および副腎、雌の脾臓の重量の減少は、一部を除いて対体重比で対照群との間に有意差が認められなかったため体重の

申請者注7：水晶体-後極混濁について

申請者が統計を実施した結果、40 mg/kg 群雄で第 103 週に水晶体-後極混濁の発現頻度の減少が認められたが、増悪化とは反対方向への変化であり、毒性学的意義はないと考えられた。

減少と関連したものと考えられた。40 mg/kg 群の脳、心臓その他の対体重比の増加も体重減少を反映したものと考えられた。(申請者注8)

肉眼的病理検査；途中死亡動物、切迫屠殺および試験終了時の全生存例につき剖検を実施した。

いずれの組織においても検体投与に関連した肉眼的病理変化はなかった。

申請者注8：臓器重量について

10 および 20 mg/kg 群雄で肝臓重量の有意な低値が認められたが、病理組織学的検査において関連する変化が認められなかったことから、毒性学的意義のない変化であると考えられた。また、10 mg/kg 群雌で副腎重量の有意な高値が認められたが、用量相関がなく、病理組織学的検査において関連する変化が認められなかったことから、検体投与に起因する影響とは考えなかった。

肉眼的病理検査

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
死亡・切迫殺	臓器	所見\検査動物数	27	18	17	16	21	26	31	20
	肝臓	腫大	0	1	0	0	0	2	0	0
		嚢胞	3	3	7*	2	7	4	5	5
		腫瘤	0	0	0	0	0	1	1	2
		胆管拡張	0	1	0	0	0	0	0	0
	腎臓	腫大	2	0	2	0	1	0	0	0
		癒痕	5	4	0	0	5	4	4	1
		腫瘤	0	1	1	0	1	0	0	1
	副腎	腫大	1	3	0	0	2	3	6	0
		暗色	0	0	0	0	4	4	4	1
	下垂体	腫大	7	4	4	5	4	9*	12	4
		出血	1	1	1	3	0	6	4	2
腫瘤	皮膚/皮下	9	7	7	10	18	22	24	14	
最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	15	25	26	28	23	18	14	24
	肝臓	腫大	0	0	1	0	0	0	0	0
		嚢胞	2	3	5	3	4	2	2	5
		腫瘤	2	0	2	4	0	0	0	0
		胆管拡張	0	6	6	1	0	0	0	0
	腎臓	腫大	0	0	1	0	0	0	0	0
		癒痕	7	6	3*	4*	5	2	0	1
		腫瘤	0	1	0	0	0	0	0	0
	副腎	腫大	1	0	1	0	1	6*	1	0
		暗色	1	0	0	0	4	1	0	0*
	下垂体	腫大	2	4	4	2	8	7	4	8
	腫瘤	皮膚/皮下	7	9	10	7	20	14	12	14*
全動物	臓器	所見\検査動物数	42	43	43	44	44	44	45	44
	肝臓	腫大	0	1	1	0	0	2	0	0
		嚢胞	5	6	12	5	11	6	7	10
		腫瘤	2	0	2	4	0	1	1	2
		胆管拡張	0	7*	6*	1	0	0	0	0
	腎臓	腫大	2	0	3	0	1	0	0	0
		癒痕	12	10	3*	4*	10	6	4	2*
		腫瘤	0	2	1	0	1	0	0	1
	副腎	腫大	2	3	1	0	3	9	7	0
		暗色	1	0	0	0	8	5	4	1*
	下垂体	腫大	9	8	8	7	12	16	16	12
		出血	1	1	1	3	0	6*	4	2
腫瘤	皮膚/皮下	16	16	17	17	38	36	36	28*	

申請者注：申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

病理組織学的検査；途中死亡動物、切迫屠殺および試験終了時の全生存例につき、次の臓器および組織について、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、眼、唾液腺、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、膵臓、胃、十二指腸、回腸、膀胱、精巣、卵巣、子宮、舌、リンパ節、大動脈および肉眼的異常部位。

〔非腫瘍性病変〕

認められた主要な非腫瘍性病変を表1に示した。

いずれの変化も自然発生的または加齢による変化であり、検体投与に起因したものではないと考えられた。

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示した。

40 mg/kg 群雌の乳腺腫瘍の発生頻度が有意な低値を示したが、これらは摂餌量の低下に伴う体重減少に関連したものと思われた。

その他の所見は対照群と同等であり、検体投与とは関連がないと考えられた。

以上の結果より、本試験におけるカルタップ原体のラットに対する飼料混入による104週間慢性毒性および発癌性試験における影響として、40 mg/kg 群雌雄および20 mg/kg 群雌で摂餌量の低値を伴う体重増加抑制が認められたことから、ラットにおける無毒性量は、雄 20 mg/kg (19.5 mg/kg/日)、雌 10 mg/kg (9.75 mg/kg/日) と判断した(申請者注9)。また、腫瘍発生についてはカルタップ原体投与の影響は認められなかった。

申請者注9：無毒性量について

報告書中には無毒性量に関する明確な記載がなかったため、申請者が判断して記載した。

表1 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌				
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40	
死亡・切迫殺	臓器	所見\検査動物数	27	18	17	16	21	26	31	20	
	心臓	心筋線維症	0	1	0	1	0	0	0	0	
	肺	リンパ球集簇	1	0	4	4	2	3	2	2	
		肺胞マクロファージ	1	0	2	3	2	3	1	1	
		異栄養性鉍質沈着	2	0	1	4	0	0	0	0	
		間質性肺炎	1	0	0	0	0	0	3	1	
		うっ血	0	0	0	1	0	0	1	1	
		硬化	1	0	1	0	0	0	0	0	
		肝臓	肝細胞空胞化および拡張	22	12	11	8*	16	19	19	10
	炎症性細胞		10	7	10	6	9	13	16	4	
	胆管増生		7	4	3	2	4	7	8	6	
	壊死		1	1	0	1	1	2	0	0	
	脂肪変性		4	5	0	0	4	4	4	2	
	嚢胞		3	4	5	2	6	4	5	5	
	類洞拡張		0	0	0	0	2	2	2	1	
	脾臓	髓外造血	2	2	1	1	5	6	4	0*	
		マクロファージ	0	1	2	1	0	1	1	0	
		うっ血	0	0	1	0	0	1	0	0	
	腎臓	尿細管拡張	1	0	0	0	0	1	2	1	
		進行性糸球体腎症	6	5	2	2	7	6	1**	1*	
		炎症性細胞	1	0	1	1	0	0	1	1	
	副腎	嚢胞変性	2	1	2	2	10	8	10	3*	
		細胞空胞化および拡張	3	5	4	3	5	5	8	2	
		皮質過形成	0	1	1	0	1	0	0	0	
		過形成性結節	0	1	0	0	0	1	1	0	
		類洞拡張	0	0	0	0	0	5	2	0	
	甲状腺	過形成	0	1	0	1	0	3	0	0	
		嚢胞状濾胞	0	0	0	0	1	0	0	0	
	精巣	萎縮	7	4	2	1	-	-	-	-	
	卵巣	嚢胞	-	-	-	-	2	4	3	2	
	最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	15	25	26	28	23	18	14	24
		心臓	心筋炎	5	4	5	2*	1	6*	1	2
心筋線維症			10	10	12	7*	3	7	2	5	
肺		リンパ球集簇	8	11	14	11	11	10	9	13	
		肺胞マクロファージ	4	6	6	2	2	3	2	6	
		異栄養性鉍質沈着	5	11	10	9	6	6	5	6	
		間質性肺炎	1	0	0	1	0	0	0	0	

- : 該当臓器なし

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05, **: P < 0.01 Fisher 直接確率検定 (両側)

表1 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	15	25	26	28	23	18	14	24
	肺	リンパ球増生	1	1	0	0	0	0	0	0
		うっ血	2	0	0	0	4	3	2	4
	肝臓	肝細胞空胞化および拡張	13	16	21	20	21	13	12	16
		炎症性細胞	12	17	21	20	13	16*	10	16
		胆管増生	2	7	6	6	8	8	4	6
		壊死	0	1	0	0	1	0	0	0
		脂肪変性	0	1	1	1	2	0	0	1
		嚢胞	2	3	5	2	3	1	2	4
		類洞拡張	2	2	3	1	0	2	0	0
	脾臓	髓外造血	0	1	1	0	0	0	0	0
		うっ血	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	尿管拡張	3	5	10	2	6	5	7	3
		進行性糸球体腎症	11	10	7**	6**	7	5	1	1*
		炎症性細胞	4	6	7	3	4	4	6	4
		皮質嚢胞	2	1	0	0	1	0	0	0
	副腎	嚢胞変性	4	5	1	1*	12	10	9	9
		細胞空胞化および拡張	6	12	5	5	3	2	2	1
		過形成性結節	0	0	0	0	0	0	1	1
	甲状腺	類洞拡張	0	0	1	0	0	0	0	0
		過形成	0	1	2	0	0	0	0	0
	精巣	嚢胞状濾胞	0	1	1	0	0	0	0	0
		萎縮	4	8	3	3	-	-	-	-
		動脈周囲炎	3	1	0*	0*	-	-	-	-
卵巣	過形成性結節	1	1	0	0	-	-	-	-	
	嚢胞	-	-	-	-	7	6	3	5	
全動物	臓器	所見\検査動物数	42	43	43	44	44	44	45	44
	心臓	心筋炎	5	4	5	2	1	6	1	2
		心筋線維症	10	11	12	8	3	7	2	5
	肺	リンパ球集簇	9	11	18	15	13	13	11	15
		肺胞マクロファージ	5	6	8	5	4	6	3	7
		異栄養性鉍質沈着	7	11	11	13	6	6	5	6
		間質性肺炎	2	0	0	1	0	0	3	1
		リンパ球増生	1	1	0	0	0	0	0	0
		うっ血	2	0	0	1	4	3	3	5
		硬化	1	0	1	0	0	0	0	0
	肝臓	肝細胞空胞化および拡張	35	28	32	28	37	32	31	26*
		炎症性細胞	22	24	31	26	22	29	26	20
		胆管増生	9	11	9	8	12	15	12	12

- : 該当臓器なし

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05, **: P < 0.01 Fisher 直接確率検定 (両側)

表1 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
全 動 物	臓器	所見\検査動物数	42	43	43	44	44	44	45	44
	肝臓	壊死	1	2	0	1	2	2	0	0
		脂肪変性	4	6	1	1	6	4	4	3
		嚢胞	5	7	10	4	9	5	7	9
		類洞拡張	2	2	3	1	2	4	2	1
	脾臓	髓外造血	2	3	2	1	5	6	4	0
		マクロファージ	0	1	2	1	0	1	1	0
		うっ血	0	0	1	1	0	1	0	0
	腎臓	尿細管拡張	4	5	10	2	6	6	9	4
		進行性糸球体腎症	17	15	9	8*	14	11	2**	2**
		炎症性細胞	5	6	8	4	4	4	7	5
		皮質嚢胞	2	1	0	0	1	0	0	0
	副腎	嚢胞変性	6	6	3	3	22	18	19	12*
		細胞空胞化および拡張	9	17	9	8	8	7	10	3
		皮質過形成	0	1	1	0	1	0	0	0
		過形成性結節	0	1	0	0	0	1	2	1
		類洞拡張	0	0	1	0	0	5	2	0
	甲状腺	過形成	0	2	2	1	0	3	0	0
		嚢胞状濾胞	0	1	1	0	1	0	0	0
	精巣	萎縮	11	12	5	4*	-	-	-	-
		動脈周囲炎	3	1	0	0	-	-	-	-
		過形成性結節	1	1	0	0	-	-	-	-
	卵巣	嚢胞	-	-	-	-	9	10	6	7

- : 該当臓器なし

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05、**: P < 0.01 Fisher 直接確率検定 (両側)

表2 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
死亡・切迫殺	臓器	所見\検査動物数	27	18	17	16	21	26	31	20
	肝臓	線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	1
	腎臓	尿細管腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	膵臓	島細胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	2	0	0
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (B)	1	2	1	1	0	0	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	胸腺	癌肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	甲状腺	傍濾胞細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	1	0	0	0
	下垂体	腺腫 (B)	10	5	6	4	6	11	10	5
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腹腔内	線維肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	細網内皮系	リンパ肉腫 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		細網細胞肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		リンパ芽球性白血病 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	リンパ節	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨	骨肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	卵巣	顆粒膜細胞癌 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	皮膚および皮下組織	良性乳腺腫瘍 (B)	0	0	1	1	17	20	20	11
		乳腺癌 (M)	0	0	0	0	1	2	1	2
		乳腺腫瘍 (B+M)	0	0	1	1	18	20	21	13
		線維腫 (B)	2	2	2	5	0	1	1	0
		線維肉腫 (M)	3	2	1	3	0	0	0	1
		脂肪腫 (B)	1	1	0	2	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	0
扁平上皮癌 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	
皮脂腺腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0		
最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	15	25	26	28	23	18	14	24
	肺	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	肝臓	良性肝細胞腫瘍 (B)	1	0	1	1	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腎臓	尿細管腺腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
	膵臓	外分泌腺腺腫 (B)	2	0	0	0	2	0	0	0
		島細胞腺腫 (B)	2	5	6	3	0	2	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (B)	2	2	0	1	0	1	0	0
		皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
皮質腺癌 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 対象臓器なし

カイニ乗分布表による検定を実施したが有意差は認められなかった。

表2 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	15	25	26	28	23	18	14	24
	胸腺	胸腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	2	1	2	0	2	1	0	1
		傍濾胞細胞腺腫 (B)	1	1	1	0	0	0	1	0
	下垂体	腺腫 (B)	6	7	9	7	10	8	5	10
	腹腔内	線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	リンパ節	血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	中枢神経系	星状膠細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	1	0
	精巣	間細胞腫 (B)	0	1	0	1	-	-	-	-
	卵巣	管状腺腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
	子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	0	0	1	0
	膣	線維肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	皮膚および皮下組織	良性乳腺腫瘍 (B)	0	1	2	0	18	13	10	12
		乳腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	0	1
		乳腺腫瘍 (B+M)	0	1	2	0	19	13	10	13
		線維腫 (B)	4	8	4	4	1	0	0	0
		粘液線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
線維肉腫 (M)		1	1	2	0	1	0	0	0	
脂肪腫 (B)		0	5	1	0	0	1	0	0	
角化棘細胞腫 (B)		1	0	1	1	0	0	0	0	
扁平上皮乳頭腫 (B)		3	3	0	0	0	0	0	0	
扁平上皮癌 (M)	2	2	0	1	0	0	0	0		
全動物	臓器	所見\検査動物数	42	43	43	44	44	44	45	44
	肺	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	肝臓	良性肝細胞腫瘍 (B)	1	0	1	1	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	1
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腎臓	尿細管腺腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓	外分泌腺腺腫 (B)	2	0	0	0	2	0	0	0
		島細胞腺腫 (B)	2	6	6	3	0	4	0	0
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎	褐色細胞腫 (B)	3	4	1	2	0	1	0	0
		皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0
	胸腺	胸腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
癌肉腫 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当臓器なし

カイ二乗分布表による検定を実施したが有意差は認められなかった。

申請者注 : 全動物は申請者が検定を実施した。

表2 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
全 動 物	臓器	所見\検査動物数	42	43	43	44	44	44	45	44
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	2	1	2	0	2	1	0	1
		傍濾胞細胞腺腫 (B)	2	1	1	0	1	0	1	0
	下垂体	腺腫 (B)	16	12	15	11	16	19	15	15
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腹腔内	線維肉腫 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	細網内皮系	リンパ肉腫 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		細網細胞肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		リンパ芽球性白血病 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	リンパ節	血管腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
	中枢神経系	星状膠細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	1	0
	骨	骨肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	間細胞腫 (B)	0	1	0	1	-	-	-	-
	卵巢	管状腺腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		顆粒膜細胞癌 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
		顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
	子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	0	0	1	0
	膣	線維肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	皮膚および 皮下組織	良性乳腺腫瘍 (B)	0	1	3	1	35	33	30	23*
		乳腺癌 (M)	0	0	0	0	2	3	1	3
		乳腺腫瘍 (B+M)	0	1	3	1	37	33	31	26*
		線維腫 (B)	6	10	6	9	1	1	1	0
		粘液線維腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	4	3	3	3	1	0	0	1
		脂肪腫 (B)	1	6	1	2	0	1	0	0
		角化棘細胞腫 (B)	1	0	1	1	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫 (B)	4	3	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	2	2	0	2	0	0	0	0
	皮脂腺腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当臓器なし

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。

* : P < 0.05 カイ二乗検定

表 2 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
合 計	検査動物数		42	43	43	44	44	44	45	44
	腫瘍数	良性	46	50	40	33	117	119	79	56
		悪性	8	7	8	10	5	5	4	5
	腫瘍総数		54	57	48	43	122	124	83	61
	担腫瘍動物数	良性	21	26	28	26	41	40	36	32*
		悪性	8	8	8	9	4	4	4	5
	担腫瘍動物数		25	30	32	30	42	40	38	37

申請者注：申請者が統計検定を行った。

*：P < 0.05 カイ二乗検定

(2) カルタップ原体のマウスを用いた飼料混入による 80 週間発癌性試験

(資料 6-2)

試験機関：Huntingdon Research Centre

報告書作成年：1974 年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：CFLP マウス、約 5 週齢、群平均体重；雄 29~31 g、雌 25 g

52 週屠殺群（臨床検査用）：1 群雌雄各 15~25 匹

80 週投与群：1 群雌雄各 40 匹

投与期間：80 週間

投与方法：0、10、20 および 40 mg/kg/日の投与量で検体を摂取させるように飼料に所定の濃度で混入し、80 週間にわたって摂食させた。飼料は 1 週間に 2 回調製した。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡率を次表に示した。

投与群 (mg/kg/日)		0	10	20	40
死亡率 (%)	雄	30	58	48	48
	雌	55	33	45	50

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った。

試験期間を通じ、対照群と検体投与群で差異は認められなかった。

体重変化；投与開始時およびその後は週 1 回全動物の体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた体重増加量を次表に示した。

性別	雄			雌		
	10	20	40	10	20	40
投与群 (mg/kg/日)						
0~6週	↑107	96	↓93	↓91	92	↓91
7~12週	115	↓82	89	92	92	↓80
13~26週	↓82	↓83	↓84	90	103	94
27~52週	↓34	↓28	55	82	94	88
53~80週	↑-50	-68	-69	-147	-195	-158
0~26週	101	↓91	↓91	92	97	93
0~52週	94	↓↓85	↓88	91	97	93
0~80週	108	94	↓85	↓81	91	85

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑↓: P < 0.05, ↓↓: P < 0.01, ↓↓↓: P < 0.001)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

53~80 週の数値は対照群の体重増加量が減少したため、対照群を-100 とした場合の値

20 mg/kg 群雄で最初の 52 週間にわずかに減少し、40 mg/kg 群雄では 80 週間の投与期間にわたりごくわずかに減少した。

摂餌量及び摂餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、摂餌効率を第 26 週まで 4 週間毎に算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた総摂餌量を次表に示した。

性別	雄			雌		
	10	20	40	10	20	40
投与群 (mg/kg/日)						
27~52週	99	100	99	100	↑105	↑105
53~80週	108	102	104	↓90	99	98

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: P < 0.05, ↑: P < 0.01)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

摂餌量において、検体投与に起因した変化は認められなかった（申請者注1）。最初の26週間において算出した摂餌効率率は20および40 mg/kg 群雄でわずかに減少した。この減少はこれらの群の体重増加量がわずかに劣ったことに起因しており検体投与による影響と考えられた。雌での変化は極軽微な変化であり、検体投与に起因する変化ではなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次の通りであった。

投与群 (mg/kg/日)		10	20	40
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	10.6	20.9	41.7
	雌	10.3	20.9	42.5

飲水量：給水瓶の観察により飲水量を調べたが、検体投与との関連が認められなかったため、飲水量の定量的な測定は実施しなかった。

血液学的検査；投与第13、26、52および78週に、対照群および40 mg/kg 群の雌雄各5匹において眼窩静脈叢から採血し、赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、網赤血球数、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度、白血球分画を検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査 時期 (週)	投与群 (mg/kg/日)	
		雄	雌
		40	40
赤血球数	26	↓92	100
平均赤血球容積	52	100	↑105
リンパ球	78	↓47	119

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った
(↑ ↓ : P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

申請者注1：摂餌量で認められた統計学的有意差について

報告書では統計検定の実施が明らかでなかったため申請者が新たに検定を実施した。その結果、雌で摂餌量の有意な変化が認められたが、20および40 mg/kg 群における有意な高値は投与27~52週のみの一過性の変化であり、投与53~80週では有意差は認められなかったこと、また、10mg/kg 群で認められた投与53~80週の有意な低値については、より高用量において同様の変化は認められておらず用量相関性がなかったことから、いずれも検体投与の影響ではないと判断した。

いくらかの有意差が見られたが、使用したマウスの系統の正常範囲に入るもので、検体投与に起因するものではなかった。(申請者注2)

血液生化学的検査；投与第 13、26、52 および 78 週に、血液学検査で用いた動物とは異なる対照群および 40 mg/kg 群雌雄各 5 匹の眼窩静脈叢より採血し、尿素窒素、血糖、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、蛋白分画、アルカリホスファターゼ、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、赤血球コリンエステラーゼ (赤血球 ChE)、血漿コリンエステラーゼ (血漿 ChE)、ナトリウム、カリウムを検査した。さらに、投与第 80 週に 10 および 20 mg/kg 群雌雄各 5 匹の眼窩洞から同様に採血し、赤血球および血漿コリンエステラーゼ活性を測定した。投与終了後、全群の雌雄各 5 匹の脳の一部を採取し、コリンエステラーゼ活性を測定した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査時期 (週)	投与群 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	20	40	10	20	40
AST	26	—	—	↓83	—	—	76
蛋白分画-α2	52	—	—	↓86	—	—	100
蛋白分画-γ	52	—	—	↑150	—	—	60
ALT	52	—	—	↓58	—	—	107
カリウム	52	—	—	↓88	—	—	105
総蛋白	78	—	—	↓94	—	—	105
赤血球 ChE	26	—	—	96	—	—	↓77
	52	—	—	↓↓80	—	—	96
	78	—	—	↓78	—	—	105
血漿 ChE	78	—	—	96	—	—	↓78
	80	99	↓76	—	83	97	—

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑↓: P < 0.05、↓↓: P < 0.01、↓↓↓: P < 0.001)。—: 検査実施せず。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

申請者注2: 血液学的検査について

投与 26 週に 40 mg/kg 群雄で赤血球数の低値が、投与 52 週に同群雌で平均赤血球容積の高値がそれぞれ認められたが、軽微な変化であり、投与期間を通しての一貫性のある変化でなかったこと、また他の関連パラメータに変動が認められないことから投与に起因した変化ではないと判断した。さらに投与 78 週に 40 mg/kg 群雄でリンパ球の低値が認められたが、病理組織学的検査で免疫系臓器に何ら変化が認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

40 mg/kg 群雄の赤血球コリンエステラーゼが第 52 および 72 週に 20%以上低下した。また、40 mg/kg 群雌の血漿コリンエステラーゼが第 78 週に低下した（申請者注3）。

この他、いくつかの有意差が認められたが、一過性の変化であったこと、また投与による一定の傾向がないことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。

尿検査； 投与第 13、26、52 および 78 週に、対照群および 40 mg/kg 群の雌雄各 5 匹から蓄尿を採取し、第 52 週には 10 および 20 mg/kg 群の雌雄各 5 匹からも同様に蓄尿を採取して尿量、pH、比重、蛋白、糖、還元物質、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、血色素、尿沈渣を検査した。
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査時期 (週)	投与群 (mg/kg)					
		雄			雌		
		10	20	40	10	20	40
尿量	26	—	—	↓52	—	—	↑205
	52	119	160	107	↑179	149	87
pH	26	—	—	↓95	—	—	100
比重	26	—	—	100	—	—	↓99

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った（↑：P < 0.05、
↑↓：P < 0.01）。—：検査実施せず。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

申請者注3：赤血球および血漿コリンエステラーゼ (ChE) の低下について

赤血球 ChE 活性の低下が 40mg/kg 群雄で投与 52 および 78 週に、また、血漿 ChE の活性低下が同群の雌で投与 78 週に、20 mg/kg 群雄で投与 80 週にそれぞれ認められた。本剤はネライストキシンに変換されることで殺虫活性を示すが、その薬効（毒性）は ChE の活性阻害ではなくアセチルコリン受容体への結合による神経伝達の遮断により発揮されることが知られている。本剤の ChE 活性に対する作用について、昆虫を用いた実験では阻害作用を示すもののその程度は極めて弱く、殺虫活性に寄与する程度のものではないとされている¹⁾。このような本剤の薬効を考慮すると、本試験で認められた赤血球および血漿 ChE の低値についてその原因や毒性学的意義は明らかでなかった。このため、本試験では脳および赤血球における 20% 以上の活性の低下のみを毒性学的に意義のある変化とする FAO/WHO の基準²⁾に基づき、40mg/kg 群雄における赤血球 ChE 活性の低下については毒性変化と判断した。一方、同群の雌および 20mg/kg 群雄で認められた血漿 ChE 活性の有意な低値については、同基準²⁾により毒性学的意義がないものと判断した。なお、40 mg/kg 群の雌では投与 26 週に赤血球 ChE 活性の低下が認められたが、これについては一過性であることから毒性学的意義はないものと判断した。

- 1) Sakai, M. (1966), Studies on the Insecticidal Action of Nereistoxin, 4-N,N-Dimethylamino-1,2-Dimethylamino-1,2-Dithiolane. IV Role of the Anti-Cholinesterase Activity in the Insecticidal Action to Housefly, *Musca domestica* L., Appl. Ent. Zool., 1, 73-82.
- 2) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000.

これらの変化は一過性の変化であり一定の傾向がないことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。

臓器重量；投与期間終了後全生存動物を炭酸ガスにより屠殺し、脳、下垂体、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、甲状腺、精巣、卵巣、子宮の重量を測定し、対体重比も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

性別	雄			雌			
投与群 (mg/kg/日)	10	20	40	10	20	40	
最終体重	104	93	92	↓84	91	↓87	
脳	重量	100	↓91	102	100	100	
	対体重比	96	108	100	113	105	112
下垂体	重量	78	111	98	86	113	91
	対体重比	↓74	116	106	99	121	103
心臓	重量	109	91	91	105	↑123	↑118
	対体重比	107	98	98	115	↑↑130	↑↑130
甲状腺	重量	109	116	↑128	91	92	100
	対体重比	100	117	↑133	106	100	119

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓ : P < 0.05, ↑ ↓ : P < 0.01, ↑ ↑ : P < 0.001)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

40 mg/kg 群雄の甲状腺で重量および対体重比の増加、20 および 40 mg/kg 群雌の心臓で重量および対体重比の増加が見られたが、心臓での変化には用量相関性が認められなかったこと、甲状腺での変化には病理組織学的検査で裏付けられるような組織変化は見られなかったことから、偶発的なもので検体投与に関連したものではないと考えられた。

肉眼的病理検査；途中死亡動物、切迫屠殺動物および投与期間終了時の全生存動物につき剖検を実施した。

いずれの組織においても検体投与に関連した肉眼的病理変化はなかった。(申請者注4)

申請者注4：肉眼的病理検査において 40 mg/kg 群雄で認められた包皮腺の膿瘍について

申請者が統計解析を実施した結果、40 mg/kg 群雄の最終屠殺および全動物（死亡・切迫殺動物および最終屠殺動物の合計）において、包皮腺の膿瘍の発現頻度（最終屠殺：6/21 例、28.6%、全動物：7/39 例、17.9%）に有意差が認められた。包皮腺の膿瘍は、病理組織学的変化として無処置マウスにおいて、しばしば認められるとの報告もある（CD-1 マウス 17.8%、B6C3F1 マウス 4.5%）^{*)} が、本試験では当該組織の病理組織学的検査を実施しておらずその詳細は明らかでなかったため、本剤による毒性変化であることを否定できなかった。

*) Lea R. Gordon, James A. Majka et al., (1996), Spontaneous nonneoplastic and neoplastic lesions and experimentally induced neoplasms of the testes and accessory sex glands., Pathobiology of the Aging Mouse., Intl Life Sciences Inst., Washington, D. C.

肉眼的病理検査

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
死亡・切迫殺	臓器	所見\検査動物数	12	20	15	18	20	10	15	16
	肺	退色	0	0	0	1	0	0	0	0
		うっ血	0	0	1	2	2	0	0	1
		硬結	1	1	1	0	0	1	2	1
		虚脱	0	1	0	0	0	0	0	0
		無気肺	0	0	0	0	0	0	1	0
		胸膜下変色巣/域	0	2	1	1	1	0	0	0
		胸膜下裂瘡	1	1	0	0	0	0	0	1
		気管支拡張性膿瘍	0	0	0	0	1	0	0	0
		胸膜の癒着	0	0	0	0	1	0	0	0
		結節	1	6	1	5	3	3	5	2
	漿液血液状の液体貯留	1	2	0	0	4	3	3	0	
	精巣	退色	1	0	0	1	-	-	-	-
	卵巣	嚢胞	-	-	-	-	3	1	2	4
		腫瘤	-	-	-	-	0	1	2	2
	子宮	拡張	-	-	-	-	7	0	0*	1
		結節/嚢胞	-	-	-	-	2	2	0	0
	皮下組織	水腫	1	0	1	0	0	0	0	0
		膿瘍	4	3	3	1	0	0	2	0
		腫瘤	0	4	2	1	1	1	0	0
	包皮腺	膿瘍	0	1	1	1	0	0	0	0
		腫大	0	1	0	0	0	0	0	0
	最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	28	17	21	21	18	27	21
肺		うっ血	2	0	1	0	1	0	0	0
		硬結	1	0	0	1	1	0	0	0
		水腫	0	0	0	0	0	0	0	1
		肉芽	0	0	0	0	1	0	0	0
		無気肺	2	1	1	2	0	1	2	3
		胸膜下変色巣/域	0	0	0	0	0	1	1	2
		胸膜下裂瘡	0	0	1	1	0	0	0	0
		結節	15	9	7	5*	4	9	5	5
漿液血液状の液体貯留		1	1	0	0	0	0	0	0	
精巣		腫大	0	1	0	0	-	-	-	-
		変色	0	0	1	0	-	-	-	-
		うっ血	0	1	0	0	-	-	-	-
		被膜斑点	7	0*	3	5	-	-	-	-
卵巣		嚢胞	-	-	-	-	2	10	10*	4
		腫瘤	-	-	-	-	0	1	0	1

- : 該当臓器なし

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。 * : P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

肉眼的病理検査 (続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	28	17	21	21	18	27	21	20
	子宮	拡張	-	-	-	-	7	6	4	6
		うっ血	-	-	-	-	0	1	0	0
		結節/嚢胞	-	-	-	-	4	6	4	4
		腫脹	-	-	-	-	2	0	0	0
		壁の肥厚	-	-	-	-	2	1	2	1
	皮下組織	膿瘍	0	1	1	1	0	0	1	1
		腫瘤	0	1	1	3	2	0	1	2
	包皮腺	膿瘍	1	2	4	6*	0	0	0	0
	全動物	臓器	所見\検査動物数	40	37	36	39	38	37	36
肺		退色	0	0	0	1	0	0	0	0
		うっ血	2	0	2	2	3	0	0	1
		硬結	2	1	1	1	1	1	2	1
		水腫	0	0	0	0	0	0	0	1
		肉芽	0	0	0	0	1	0	0	0
		虚脱	0	1	0	0	0	0	0	0
		無気肺	2	1	1	2	0	1	3	3
		胸膜下変色巣/域	0	2	1	1	1	1	1	2
		胸膜下裂瘡	1	1	1	1	0	0	0	0
		気管支拡張性膿瘍	0	0	0	0	1	0	0	0
		胸膜の癒着	0	0	0	0	1	0	0	0
		結節	16	15	8	10	7	12	10	7
		漿液血液状の液体貯留	2	3	0	0	4	3	3	0
精巣		退色	1	0	0	1	-	-	-	-
		腫大	0	1	0	0	-	-	-	-
		変色	0	0	1	0	-	-	-	-
		うっ血	0	1	0	0	-	-	-	-
		被膜斑点	7	0*	3	5	-	-	-	-
卵巢		嚢胞	-	-	-	-	5	11	12	8
		腫瘤	-	-	-	-	0	2	2	3
子宮		拡張	-	-	-	-	14	6	4*	7
		うっ血	-	-	-	-	0	1	0	0
		結節/嚢胞	-	-	-	-	6	8	4	4
		腫脹	-	-	-	-	2	0	0	0
		壁の肥厚	-	-	-	-	2	1	2	1
皮下組織		水腫	1	0	1	0	0	0	0	0
		膿瘍	4	4	4	2	0	0	3	1
		腫瘤	0	5*	3	4	3	1	1	2
包皮腺		膿瘍	1	3	5	7*	-	-	-	-
	腫大	0	1	0	0	-	-	-	-	

- : 該当臓器なし

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。 * : P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

病理組織学的検査；投与期間終了時の生存動物につき、対照群雌雄各 10 匹および 40 mg/kg 群雌雄各 20 匹から下記組織を採取し、病理組織学的検査を実施した。

脳（延髄、小脳および大脳皮質）、下垂体、眼、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、膵臓、胃（腺胃および前胃）、膀胱、精巣、卵巣、子宮、リンパ節（頸部および腸間膜）、ならびに血液および骨髓塗抹標本

また、途中死亡動物、切迫屠殺動物および投与期間終了時の全動物につき、副腎、甲状腺、卵巣、肝臓、脾臓、リンパ節、下垂体、腫瘍を疑う肉眼的異常部位、血液および骨髓塗抹標本について病理組織学的検査を実施し、腫瘍性病変について調べた。

なお、病理組織標本は特記がない限り、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。また、肝臓および腎臓の凍結切片についてオイルレッド O 染色により脂肪を、PAS 染色により肝臓のグリコーゲン顆粒および腎臓基底膜を染色して検査した。検体投与に起因した毒性作用を示唆する病理組織学的変化は認められなかった。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 1 (p. 6~9) に示した。

いずれの変化も対照群と投与群との間に差はなく、検体投与による影響は認められなかった。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 (p. 10~11) に示した。

いずれの変化も対照群と投与群との間に差はなく、検体投与による影響は認められなかった。

以上のように、カルタップ原体のマウスに対する飼料混入による 80 週間発癌性試験における影響として、20 および 40 mg/kg 群雄で体重増加抑制および摂餌効率の低下が認められ、40 mg/kg 群雄では赤血球コリンエステラーゼ活性の低下および包皮腺の膿瘍が認められた。一方、雌では何ら影響は認められなかった。これらのことから、本試験における無毒性量は、雄で 10 mg/kg (10.6 mg/kg/日)、雌では 40 mg/kg (42.5 mg/kg/日) と判断した (申請者注5)。また、カルタップ原体投与による発癌性は認められなかった。

申請者注5：無毒性量について

報告書中には無毒性量に関する記載がなかったため、申請者が判断して記載した。

表 1 非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
死亡・ 切迫殺	臓器	所見\検査動物数	12	23	15	17	20	10	15	16
	肺	うっ血	1	0	1	0	0	0	0	0
		虚脱	1	1	0	0	0	0	0	0
		硬化	0	0	1	0	0	0	0	0
		気管支拡張膿瘍	0	1	0	0	0	1	1	0
		間質性肺炎/胸膜炎	0	0	1	0	0	0	0	0
		色素食食マクロファージの集簇	0	0	0	1	1	1	0	0
		気管支周囲/血管周囲リンパ球集簇	1	0	0	2	1	0	2	1
		気管支周囲/血管周囲リンパ組織過形成	2	1	1	3	1	0	1	1
	肝臓	肝細胞空胞化/大型化	1	3	4	5	4	1	2	7
		細胞浸潤	1	2	5	7	5	3	4	4
		脂肪変性	0	1	0	1	0	1	0	0
		壊死	2	2	1	1	1	0	2	0
		線維化	4	0**	0*	2	0	0	0	0
		出血	0	0	1	0	1	0	0	0
		血管腫様領域	0	0	0	1	0	0	0	0
		類洞拡張	0	0	0	1	0	0	0	0
		嚢胞/膿瘍	1	0	2	0	0	0	0	0
		肝細胞再生	1	0	0	1	0	0	0	1
	腎臓	細胞浸潤	0	0	1	2	0	1	0	0
		進行性糸球体腎炎	0	0	1	0	1	0	0	0
		膿瘍	0	0	0	0	1	0	1	0
		実質性糸球体硬化症	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾臓	髓外造血	3	2	5	3	4	1	1	1
		細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	2	0
		好酸性/ヒアリン沈着物	0	0	0	0	0	0	1	0
		出血	0	1	0	0	0	0	0	0
		過形成	0	0	1	1	0	0	1	0
		線維化	0	0	0	0	0	0	1	0
	副腎	細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	0	0
		細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	0	1
	卵巢	嚢胞	-	-	-	-	2	1	3	4
膿瘍		-	-	-	-	0	0	1	0	
炎症+壊死		-	-	-	-	0	0	1	0	
出血		-	-	-	-	0	0	2	0	

- : 該当臓器なし

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05、**: P < 0.01 Fisher 直接確率検定 (両側)

表1 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄				雌				
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40	
最終 屠殺	臓器	所見\検査動物数	10	—	—	20	10	—	—	20	
	心臓	線維化	1	—	—	1	0	—	—	1	
		心筋炎	2	—	—	1	0	—	—	0	
		鉍質沈着	0	—	—	0	1	—	—	0	
	肺	色素貪食マクロファージの集簇	0	—	—	0	1	—	—	1	
		気管支周囲/血管周囲リンパ組織過形成	5	—	—	3	1	—	—	3	
		腺腫症領域	1	—	—	0	0	—	—	1	
	肝臓	間質性線維症+肺胞内出血	0	—	—	1	0	—	—	0	
		肝細胞空胞化/大型化	2	—	—	2	6	—	—	13	
		細胞浸潤	2	—	—	2	1	—	—	0	
		脂肪変性	7	—	—	8	8	—	—	18	
		好酸性沈着物	0	—	—	1	0	—	—	1	
		壊死	0	—	—	0	0	—	—	1	
		線維化	0	—	—	0	0	—	—	2	
		出血	0	—	—	0	0	—	—	2	
		嚢胞/膿瘍	0	—	—	1	0	—	—	0	
		肝細胞再生	0	—	—	1	0	—	—	0	
	腎臓	細胞浸潤	1	—	—	2	0	—	—	0	
		間質性腎炎	0	—	—	3	0	—	—	1	
		実質性糸球体硬化症	0	—	—	0	0	—	—	1	
	脾臓	髄外造血	0	—	—	1	1	—	—	0	
		好酸性沈着物	0	—	—	1	0	—	—	0	
		好酸性/ヒアリン沈着物	0	—	—	0	0	—	—	1	
	精巣	色素貪食マクロファージ	0	—	—	0	1	—	—	0	
		被膜下線維化	0	—	—	1	—	—	—	—	
		間質細胞過形成	0	—	—	2	—	—	—	—	
	卵巣	嚢胞	—	—	—	—	0	—	—	1	
		色素貪食マクロファージ	—	—	—	—	0	—	—	1	
	全 動物	臓器	所見\検査動物数	22	23	15	37	30	10	15	36
		心臓	線維化	1	0	0	1	0	0	0	1
心筋炎			2	0	0	1	0	0	0	0	
鉍質沈着			0	0	0	0	1	0	0	0	
肺		うっ血	1	0	1	0	0	0	0	0	
		虚脱	1	1	0	0	0	0	0	0	
		硬化	0	0	1	0	0	0	0	0	
		気管支拡張膿瘍	0	1	0	0	0	1	1	0	
		間質性肺炎/胸膜炎	0	0	1	0	0	0	0	0	
		色素貪食マクロファージの集簇	0	0	0	1	2	1	0	1	
		気管支周囲/血管周囲リンパ球集簇	1	0	0	2	1	0	2	1	
		気管支周囲/血管周囲リンパ組織過形成	7	1	1	6	2	0	1	4	
		腺腫症領域	1	0	0	0	0	0	0	1	
		間質性線維症+肺胞内出血	0	0	0	1	0	0	0	0	

— : 該当臓器なし

申請者注: 申請者がFisher 直接確率検定 (両側) を実施したが、有意差は認められなかった。

表1 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
全 動 物	臓器	所見\検査動物数	32	23	15	37	30	10	15	36
	肝臓	肝細胞空胞化/大型化	3	3	4	7	10	1	2	20
		細胞浸潤	3	2	5	9	6	3	4	4
		脂肪変性	7	1	0	9	8	1	0*	18
		好酸性沈着物	0	0	0	1	0	0	0	1
		壊死	2	2	1	1	1	0	2	1
		線維化	4	0	0	2	0	0	0	2
		出血	0	0	1	0	1	0	0	2
		血管腫様領域	0	0	0	1	0	0	0	0
		類洞拡張	0	0	0	1	0	0	0	0
		嚢胞/膿瘍	1	0	2	1	0	0	0	0
		肝細胞再生	1	0	0	2	0	0	0	1
	腎臓	細胞浸潤	1	0	1	4	0	1	0	0
		進行性糸球体腎炎	0	0	1	0	1	0	0	0
		間質性腎炎	0	0	0	3	0	0	0	1
		膿瘍	0	0	0	0	1	0	1	0
		実質性糸球体硬化症	0	0	0	0	0	0	1	1
	脾臓	髓外造血	3	2	5	4	5	1	1	1
		細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	2	0
		好酸性/ヒアリン沈着物	0	0	0	0	0	0	1	1
		色素貪食マクロファージ	0	0	0	0	1	0	0	0
		好酸性沈着物	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維化	0	0	0	0	0	0	1	0
		出血	0	1	0	0	0	0	0	0
	副腎	過形成	0	0	1	1	0	0	1	0
		細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	0	1
		被膜下線維化	0	0	0	1	-	-	-	-
	卵巣	間質細胞過形成	0	0	0	2	-	-	-	-
		嚢胞	-	-	-	-	2	1	3	5
		膿瘍	-	-	-	-	0	0	1	0
		炎症+壊死	-	-	-	-	0	0	1	0
出血		-	-	-	-	0	0	2	0	
	色素貪食マクロファージ	-	-	-	-	0	0	0	1	

- : 該当臓器なし

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

表 2 腫瘍性病変

検査時期	性 別		雄				雌				
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40	
死亡・切迫・殺	臓器	所見\検査動物数	12	23	15	17	20	10	15	16	
	リンパ細網系	リンパ肉腫 (M)	0	2	1	0	2	0	1	2	
		リンパ芽球性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		異常白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
		リンパ節扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	肺	肺腫瘍 (B)	1	7	2	6	2	2	5	1	
		肝臓	肝細胞腫瘍 (B)	0	1	1	0	0	0	0	0
			肝細胞腫瘍+局所性浸潤 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	血管腫 (B)		2	1	0	3	0	0	0	0	
	消化管	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	内分泌腺	甲状腺乳頭状腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		脾臓癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
		下垂体腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	皮膚組織	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	皮下組織	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
		肉腫様腫瘍 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
筋肉	良性骨腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0		
子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	1	0	0	0		
最終屠殺	臓器	所見\検査動物数	28	17	21	21	18	27	21	20	
	リンパ細網系	リンパ肉腫 (M)	2	0	0	2	3	1	1	0	
		細網細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	2	1	
		リンパ節血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
	肺	肺腫瘍 (B)	7	5	4	4	0	6	1	4	
	肝臓	肝細胞腫瘍 (B)	0	4	1	4	1	1	1	0	
		血管腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	1	
	腎臓	腺腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0	
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	内分泌腺	下垂体腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	皮下組織	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	精巣	間質細胞腫 (B)	1	0	0	2	-	-	-	-	
	卵巣	嚢胞腺癌 (M)	-	-	-	-	0	0	0	1	
子宮		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	1	
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	未分化肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0		
全動物	臓器	所見\検査動物数	40	40	36	38	38	37	36	36	
	リンパ細網系	リンパ肉腫 (M)	2	2	1	2	5	1	2	2	
		リンパ芽球性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		異常白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
		細網細胞肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	2	1	
		リンパ節扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
		リンパ節血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、- : 該当臓器なし
 2×2 分割表検定を実施したが、有意差は認められなかった。
 申請者注：死亡・切迫殺動物および最終屠殺動物を併せた全動物については申請者が検定を実施した。

表2 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与群 (mg/kg)		0	10	20	40	0	10	20	40
全動物	臓器	所見\検査動物数	40	40	36	38	38	37	36	36
	肺	肺腫瘍 (B)	8	12	6	10	2	8	6	5
	肝臓	肝細胞腫瘍 (B)	0	5	2	4	1	1	1	0
		肝細胞腫瘍+局所性浸潤 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	3	1	1	3	0	0	0	1
	腎臓	腺腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	消化管	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	内分泌腺	甲状腺乳頭状腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		膵臓癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		下垂体腺腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0
	皮膚組織	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮下組織	肉腫様腫瘍 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	筋肉	良性骨腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	間質細胞腫 (B)	1	0	0	2	-	-	-	-
	卵巣	嚢胞腺癌 (M)	-	-	-	-	0	0	0	1
	子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	1	1	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
未分化肉腫 (M)		-	-	-	-	1	0	0	0	
合計	検査動物数		40	40	36	38	38	37	36	36
	腫瘍数	良性	12	21	10	20	6	11	8	8
		悪性	2	4	2	3	9	3	5	4
	腫瘍総数		14	25	12	23	15	14	13	12
	担腫瘍動物数	良性	11	17	10	16	6	10	7	8
		悪性	2	4	2	3	8	3	4	4
担腫瘍動物数		12	20	12	18	13	13	11	12	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当臓器なし

申請者注 : 死亡・切迫殺動物および最終屠殺動物を併せた全動物および腫瘍の合計数については申請者が2×2分割表検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(3) カルタップ原体のサルを用いた 2 年間慢性毒性試験

(資料 6-3)

試験機関：Huntingdon Research Centre

報告書作成年：1976 年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：アカゲサル (*Macaca mulatta*)、1 群雌雄各 4 匹*、2.5~3.5 歳

試験開始時体重：2.8~4.0 kg

*：高用量群の雌については投与初期（投与 39 日）に 1 例が死亡したため別の動物を追加して置き換えた。このため、同群の雌における観察・検査項目のうち一般症状および死亡率、臓器重量、病理肉眼的検査および病理組織学的検査については、検査動物数を 5 匹として評価した。

投与期間：2 年間（1973 年 9 月 20 日~1975 年 9 月 18~23 日）

投与方法：検体を 0.5%トラガカント漿に懸濁し、0、0.3、3.0 および 30.0 mg/kg の割合で 2 年間にわたり投与した。投与液量は 4 mL/kg とした。投与液は毎日調製した。

投与用量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；毎日 1 回、一般症状および生死を観察した。

30 mg/kg 群の雄 1 例、雌 3 例で投与 39 日以降に死亡がみられた。これらの動物では嘔吐および軟便あるいは液状便が認められ、雌 1 例では痙攣も認められた。

試験終了時の死亡率を次表に示した。

投与群 (mg/kg)		0	0.3	3.0	30.0
死亡率 (%)	雄	0	0	0	25
	雌	0	0	0	60

生存例では、30 mg/kg 群の雌雄で嘔吐および軟便あるいは液状便の発生頻度が増加し、同群の雌 1 例では振戦も認められた。

申請者注 1：投与量設定根拠について

報告書中に投与量設定根拠に関する記載がなかったため、申請者が記載した。

体重変化；毎週1回、全動物の体重を測定した。

体重増加量の対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

期間	投与群 (mg/kg)								
	雄			雌			雌+雄		
	0.3	3.0	30.0	0.3	3.0	30.0	0.3	3.0	30.0
0~104週	101	78	↓19	98	131	31*	100	94	↓24

Student の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: P < 0.01)。

*: 生存2例のため統計解析せず

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

30.0 mg/kg 群の雌雄で体重増加抑制が認められた。

摂餌量；毎週1回、全動物の摂餌量を測定した。

投与0から104週における各週の摂餌量から算出した1週あたりの平均摂餌量を次表に示した。

性別	雄			雌		
投与群 (mg/kg)	0.3	3.0	30.0	0.3	3.0	30.0
平均摂餌量	101	↓96	↓↓94	99	100	↓↓94

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った (↓: P < 0.05、↓↓: P < 0.001)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

3.0 および 30.0 mg/kg 群で有意な摂餌量の減少が認められた（申請者注2）。

摂水量；投与開始から4週間、その後は8~11、21~24、34~37、47~50、73~76、86~89 および98~101週に全動物の摂水量を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

申請者注2：摂餌量について

報告書中では雌雄を合わせて評価していたため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。30.0 mg/kg 群では雌雄で有意な摂餌量の低値が認められた。この他、3.0 mg/kg 群では雄のみで有意な低値が認められたが、体重に影響を及ぼす程度のものでなく毒性学的意義はないものと考えられた。

期間	投与群 (mg/kg)					
	雄			雌		
	0.3	3.0	30.0	0.3	3.0	30.0
1~4週	↑129	83	102	↑155	↑127	112
8~11週	↑134	86	↓80	↑138	109	↓78
21~24週	↑155	88	↓53	↑130	97	↓59
34~37週	↑155	106	↓57	↑135	107	↓43
47~50週	↑146	↓74	↓37	↑132	↑129	↓55
73~76週	↑140	78	↓36	104	120	↓29
86~89週	↑149	↓86	↓33	↑117	↑124	↓31
98~101週	↑125	↓77	↓51	117	115	↓49

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った（↑ ↓：P < 0.05、↑ ↓：P < 0.01、↑ ↓ ↓ ↓：P < 0.001）。
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

30.0 mg/kg 群で有意な減少が認められた（申請者注 3）。

血液学的検査；投与開始前および投与 12、26、39、52、78 および 102 週に、全生存動物を対象として血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素濃度、網赤血球、血小板数、赤血球沈降速度、白血球分類、プロトロンビン時間（申請者注 4）

群平均値について対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

また、0. mg/kg（対照）群および 30.0 mg/kg 群の雌における赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値については、個体別値も表に示した。

申請者注 3：摂水量について

報告書中では雌雄を合わせて評価していたため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。30.0 mg/kg 群では雌雄ともに投与 8 週以降に有意な低値が認められ、同様の変化は 3.0 mg/kg 群の雄においても投与 47 週以降に認められた。摂水量の減少は摂餌量の減少と関連したものと考えられ、30.0 mg/kg 群の雌雄ではこれらによると考えられる体重増加抑制が認められたことから、いずれも毒性変化と考えられた。一方、3.0 mg/kg 群の雄では体重に影響を及ぼす程度のもではなかったことから、摂餌量の減少を含めて毒性学的意義はないものと考えられた。この他に認められた摂水量の有意な高値については、いずれも用量反応性はなく検体投与の影響とは考えられなかった。

申請者注 4：プロトロンビン時間の表記について

報告書中では、対照群におけるプロトロンビン時間（秒）の平均値を 100%とした時の各個体の値（%）を算出してプロトロンビン指数として記載しているが、本抄録ではプロトロンビン時間と表記した。

群平均値

検査項目	検査時期 (週)	投与群 (mg/kg)					
		雄			雌		
		0.3	3.0	30.0	0.3	3.0	30.0
赤血球数	26	105	105	107	98	95	↓92
ヘモグロビン量	26	99	102	102	98	97	↓89
平均赤血球容積	39	97	100	97	98	99	↓93
血小板数	78	87	102	↓62	123	119	96
白血球分類, 好酸球	0	100	100	0	0	↑0	0
プロトロンビン時間	26	96	101	97	97	↓91	98

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った（↑↓：P < 0.05）。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

個体別値

検査項目	検査時期 (週)	投与群 (mg/kg)					
		雌					
		0			30		
		No. 294	No. 296	No. 298	No. 300	No. 318	No. 320
赤血球数 ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	78	6.6	6.6	5.1	5.6	4.4	5.4
	102	4.9	5.2	4.6	5.5	4.8	4.9
ヘモグロビン量 (g/dl)	78	14.2	14.8	12.0	14.0	8.6	13.0
	102	12.9	13.6	11.6	14.4	10.0	13.2
ヘマトクリット値 (%)	78	47	48	40	47	33	43
	102	43	44	39	46	34	41

No. は動物番号を示す。

群平均値はすべて正常範囲内であった（申請者注 5）。一方、個体別値では、30 mg/kg 群の雌 1 例（No. 318）において 78 週以降に赤血球数、ヘモグロビン量あるいはヘマトクリット値の低値が認められた。

申請者注 5：血液学的検査について

報告書中では統計検定の実施が不明であったため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。30 mg/kg 群で認められた統計学的に有意な変化は、いずれも一過性であり毒性的意義はないものと考えられた。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液を用い、以下の項目の測定を行った。

総蛋白、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)、ビリルビン、血糖、尿素、ナトリウム、カリウム、蛋白分画

このうち、AST の測定は投与 72 週にも追加された。

また、対照および 30.0 mg/kg 群については投与 72 および 102 週に ALP アイソエンザイムを測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査 時期 (週)	投与量 (mg/kg/日)						
		雄			雌			
		0.3	3.0	30	0.3	3.0	30	
総蛋白	12	101	97	↓76	100	96	↓87	
	52	104	100	89	110	99	↓87	
A/G	52	106	100	80	↓76	83	90	
ALT	12	86	83	67	↑171	88	96	
	26	109	103	72	84	↓49	54	
	39	106	89	75	↑148	90	66	
ALP	12	78	83	↓55	122	89	↓59	
	26	87	82	↓61	100	111	61	
	52	98	71	57	123	103	↓41	
LAP	0	↓68	77	96	89	96	86	
	12	100	91	↓70	91	↓79	↓↓54	
	26	104	75	57	82	↓71	↓↓49	
	39	107	98	↓67	111	91	↓↓52	
	52	113	89	↓56	98	↓72	↓↓37	
	78	101	88	↓56	102	79	↓43	
	102	105	89	73	98	80	↓↓52	
尿素	39	119	97	100	94	↓70	85	
ナトリウム	102	101	99	100	100	↓96	102	
カリウム	102	98	100	↑117	98	95	109	
蛋白 分画	アルブミン	12	102	↓83	↓↓70	111	89	↓80
		39	↓91	93	↓88	95	90	93
		52	107	100	81	95	91	↓84
	α1 グロブリン	78	75	↓75	75	100	100	↓33
		52	125	100	100	125	100	↓75
	β グロブリン	26	86	86	↓71	100	↓71	↓71
		52	100	106	106	↑131	113	100
	γ グロブリン	26	↑200	175	150	114	100	86
52		100	120	100	↑160	120	100	

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った（↑ ↓：P < 0.05、↑ ↓ ↓：P < 0.01、↓ ↓ ↓：P < 0.001）。
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

30 mg/kg 群で 52 週まで総蛋白が有意に減少し、主にアルブミンの減少によるものと考えられた。また、同群では ALP および LAP の有意な減少も認められた。LAP の有意な減少は 3.0 mg/kg 群でも認められた。その他の所見はいずれも正常範囲内と考えられた。また、ALP のアイソエンザイム測定の結果、これは主に肝臓由来のものであり、30.0 mg/kg 群で認められた ALP の低下は体重増加抑制によるものと考えられた（申請

者注 6)。

コリンエステラーゼ活性測定；赤血球および血漿コリンエステラーゼ活性については投与前開始前に3回ならびに投与4、8、16、26、39、52、72、78 および102週に、脳コリンエステラーゼ活性については投与期間終了時に全生存動物を対象としてそれぞれ測定を実施した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示した。

検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		0.3	3.0	30	0.3	3.0	30
血漿	4	106	96	↓70	89	88	↓62
	16	125	112	↓55	90	95	↓55
	26	107	89	72	98	83	↓52
	39	108	109	↓61	89	90	↓53
	52	124	116	68	97	91	↓48
	72	112	106	82	85	86	↓66
赤血球	26	101	102	92	88	102	↓79

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った（↑ ↓: P < 0.05）。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

30 mg/kg 群のすべての検査時に血漿コリンエステラーゼが有意に減少し、投与26週には赤血球コリンエステラーゼも減少した。脳コリンエステラーゼには有意差は認め

申請者注 6：血液生化学的検査について

報告書中では雌雄を合わせて評価していたため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。その結果、以下の通り有意差が認められた。

- ・アルブミンの有意な低値やそれに伴う総蛋白の有意な低値が3.0 mg/kg 群の雄および30.0 mg/kg 群の雌雄で認められたが、いずれも投与期間終了時には回復した一過性的変化であり、毒性学的意義はないものと判断した。また、この他に蛋白分画で認められた有意な差についても、用量反応性がないあるいは一過性的変化であり毒性学的意義はないものと考えられた。
- ・A/G、ALT、尿素およびナトリウムで認められた有意な差についてはいずれも用量反応性がなく、検体投与の影響とは考えられなかった。
- ・ALPの有意な低値が30.0 mg/kg 群で認められたが、体重増加抑制に伴うもので、かつ、投与期間終了時には消失した一過性的変化であることから毒性学的意義はないものと判断した。
- ・LAPの有意な低値が3.0 mg/kg の雌および30.0 mg/kg の雌雄で認められたが、LAPは胆汁うっ滞や肝炎などの際に上昇するものであることが知られており*)、その低下には毒性学的意義はないものと考えられた。

*) 堺 隆弘、III. B. 10. ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)、「広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査 (1)」、375-378、日本臨床社、(2004)。

- ・カリウムの有意な高値が30.0 mg/kg 群の雄で投与102週に認められたが、ナトリウムに変化はなく、また、血液学的検査における赤血球系パラメータや尿検査における尿量など、関連する検査項目にも異常はなかったことから毒性学的意義はないものと考えられた。

られなかった（申請者注7）。

尿検査；投与開始前および投与12、26、39、52、78 および102週に、全生存動物を対象として全動物を対象として尿を採取し、以下の項目を検査した。

尿量、尿比重、pH、糖、蛋白、還元物質、ケトン体、胆汁色素、ウロビリノーゲン、ヘモグロビン、沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

申請者注7：コリンエステラーゼ（ChE）活性測定について

報告書中では雌雄を合わせて評価していたため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。その結果、血漿 ChE 活性の有意な低値は 30.0 mg/kg 群の雌雄ともに認められ、赤血球 ChE 活性の有意な低値は同群の雌のみで認められた。なお、雌雄を合せて評価した際に認められた 3.0 mg/kg 群における血漿 ChE 活性の有意な低値は認められなかった。

本剤はネライストキシンに変換されることで殺虫活性を示すが、その薬効（毒性）は ChE の活性阻害ではなくアセチルコリン受容体への結合による神経伝達の遮断により発揮されることが知られている。本剤の ChE 活性に対する作用について、昆虫を用いた実験では阻害作用を示すもののその程度は極めて弱く、殺虫活性に寄与する程度のものではないとされている¹⁾。このような本剤の薬効を考慮すると、本試験で認められた赤血球および血漿 ChE の低値についてその原因は明らかでなかった。しかしながら、少なくとも毒性学的意義はないものと考えられる。すなわち、ChE 活性の低値について、FAO/WHO²⁾ の基準では脳および赤血球における 20%以上の活性の低下のみを毒性学的に意義のある変化と判断している。したがって、本試験で認められた血漿における活性の有意な低値については、毒性学的意義はないものと判断した。また、赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な低値については、一過性の変化であり毒性学的意義はないものと判断した。

- 1) Sakai, M., Studies on the Insecticidal Action of Nereistoxin, 4-N,N-Dimethylamino-1,2-Dimethylamino-1,2-Dithiolane. IV Role of the Anti-Cholinesterase Activity in the Insecticidal Action to Housefly, *Musca domestica* L., Appl. Ent. Zool., 1, 73-82, (1966).
- 2) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

検査項目	検査 時期 (週)	投与量 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		0.3	3.0	30	0.3	3.0	30
尿比重	12	100	100	100	100	↑100	100
	52	100	100	100	100	↑100	100
pH	0	109	103	106	↑110	103	101
	12	97	96	↓84	98	91	88
	52	99	102	94	↓94	↓93	↓92

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った（↑ ↓: P < 0.05）。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった（申請者注 8）。

眼科学的検査；投与開始前および投与第 13、26、39、52、78 および 104 週に、全生存動物を対象として検査した。

検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

臓器重量；全動物を対象として頸動脈切断により屠殺し、剖検後、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、甲状腺、胸腺、下垂体、前立腺、精巣、卵巣、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

申請者注 8：尿検査について

報告書中では統計検定の実施が不明であったため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。その結果、尿比重および pH に有意差が認められたが、いずれも用量反応性がないあるいは一過性の変化であり、毒性学的意義はないものと判断した。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		0.3	3.0	30.0	0.3	3.0	30.0
最終体重		99	83	↓↓52	108	112	80
脳	絶対重量	92	90	90	103	102	94
	対体重比	93	107	↑177	97	93	116
心臓	絶対重量	103	87	↓63	95	98	83
	対体重比	106	108	122	90	88	102
肺	絶対重量	116	87	↓67	98	105	83
	対体重比	116	105	130	91	93	100
肝臓	絶対重量	99	85	77	96	111	99
	対体重比	102	103	↑154	90	102	124
膵臓	絶対重量	↓68	↓58	↓45	110	85	108
	対体重比	67	67	86	106	76	135
副腎	絶対重量	113	104	91	131	128	100
	対体重比	114	125	↑178	127	118	124
下垂体	絶対重量	100	101	82	106	119	119
	対体重比	100	120	↑156	97	106	144
精巣	絶対重量	110	96	↓31	-	-	-
	対体重比	142	147	77	-	-	-
前立腺	絶対重量	135	123	46	-	-	-
	対体重比	142	147	77	-	-	-

申請者注：申請者が Dunnett または Steel の多重比較検定（両側）を用いて対照群との有意差検定を行った（↓：P < 0.05、↑↓：P < 0.01、↓↓：P < 0.001）。
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

30.0 mg/kg 群の多くの臓器で明らかな絶対重量の減少が認められたが、これは体重増加抑制の直接的な結果と考えられた。特に、精巣および前立腺の絶対重量が大きく低値となった。また、いくつかの臓器で対体重比の増加が認められたが、これも体重増加抑制によるものと考えられた。一方、精巣および前立腺については絶対重量が大幅に減少したため、対体重比も減少した（申請者注 9）。

肉眼的病理検査；投与期間終了時、全動物を対象として剖検を行った。

申請者注 9：臓器重量について

報告書中では統計検定の実施が不明であったため、申請者が雌雄別に統計検定を行い評価した。その結果、30.0 mg/kg 群の雄で精巣の絶対重量が有意な低値を示し、対体重比も低値傾向を示した。また、統計学的有意差はなかったが、前立腺についても絶対重量および対体重比の低値傾向が認められた。膵臓の絶対重量の有意な低値が雄の全投与群で認められたが、対体重比には有意な差がなく、病理組織学的検査においても異常はなかったことから、毒性学的意義はないものと考えられた。その他、30 mg/kg の雄で認められた絶対重量の有意な低値あるいは対体重比の有意な高値は、いずれも体重増加抑制に起因したものであり、毒性学的意義はないものと判断した。

検体投与に関連したと思われる影響は認められなかった。

病理組織学的検査；投与期間終了時、肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

中枢神経系（大脳皮質、視床核、中脳、小脳、延髄）、心臓、肺、肝臓、胆嚢、脾臓、膵臓、腎臓、副腎、甲状腺、胸腺、大動脈（弓および腹部）、気管、リンパ節（頸部および腸間膜）、膀胱、唾液腺、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、皮膚、乳腺、前立腺、精巣、子宮、卵巣、骨格筋、骨、骨髄、下垂体、中枢神経、坐骨神経、眼、視神経

投与期間終了時生存例で認められた主要な病理組織学的所見を次表に示した。

性別		雄				雌			
投与群 (mg/kg)		0	0.3	3.0	30.0	0	0.3	3.0	30.0
臓器	所見\検査動物数	4	4	4	3	4	4	4	2
心臓	慢性炎症性細胞の限局性集簇	0	0	0	0	0	1	0	0
	心内膜下慢性炎症巣	0	0	0	0	0	0	2	0
肺	細気管支周囲リンパ組織過形成	1	1	0	0	2	0	1	0
	炭粉沈着	1	0	0	0	0	0	0	0
	慢性炎症性細胞浸潤 ^a	0	0	2	1	0	0	0	0
	血管周囲リンパ球浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0
	細気管支周囲慢性炎症性細胞の集簇	0	0	0	0	1	2	0	0
	間質性肺炎	0	0	1	0	0	0	1	0
	寄生虫周囲の慢性炎症 ^b	1	0	0	0	0	0	1	0
肝臓	好酸性異物周囲の慢性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0
	慢性炎症性細胞浸潤 ^c	3	0	1	2	1	3	2	0
	門脈周囲慢性炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	0
	肝細胞び慢性空胞化	0	0	0	0	0	1	0	0
腎臓	被膜下線維化	0	0	1	0	0	0	0	0
	間質性腎炎 ^d	2	0	1	1	2	0	0	0
	線維化を伴う慢性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0
副腎	髄質鉍質沈着 ^e	2	0	0	0	1	1	0	0
甲状腺	リンパ球浸潤	1	0	0	0	0	0	0	0
	慢性炎症性細胞集簇	0	0	0	0	0	1	0	0
精巣	精子形成の低下 [#]	2	0	0	1	-	-	-	-
	未成熟 ¹⁾	0	0	0	1	-	-	-	-
前立腺	未成熟 ²⁾	0	0	0	1	-	-	-	-

- : 該当臓器なし

: 対照群 2 例は片側の精巣に、30 mg/kg 群 1 例は両側の精巣に認めた。

申請者注：申請者が Fisher 直接確率検定（両側）による検定を実施したが有意差は認められなかった。なお、次の所見 a~e については、報告書付表中の表現が異なるものの同一所見と考えられたため、記載の通りに統一した。

a : 慢性炎症性細胞の集簇、慢性炎症性細胞浸潤→慢性炎症性細胞浸潤に統一

b : 寄生虫を含む気道周囲の慢性炎症性細胞の集簇、寄生虫周囲の慢性炎症反応→寄生虫周囲の慢性炎症に統一

c : 実質慢性炎症性細胞集簇、実質慢性炎症性細胞浸潤、実質慢性炎症→慢性炎症性細胞浸潤に統一

d : 慢性間質性腎炎、間質性腎炎、慢性間質性炎症→間質性腎炎に統一

e : 髄質石灰化、髄質鉍質沈着、髄質のジストロフィー性鉍質沈着→髄質鉍質沈着に統一

1) 精子形成がほとんど認められない状態

2) 報告書には未成熟という所見に対する説明はないが、分泌物の合成がまだ不十分であることを示す所見と思われる（申請者注）。

30.0 mg/kg 群では雄 2 例で性成熟の遅延を示唆する変化が認められた。すなわち、雄 1 例で精巣および前立腺の未成熟が認められ、別の雄 1 例では精巣（両側）においてごく僅かな精子形成の低下が認められた（申請者注10）。なお、精子形成の低下は対照群の雄 2 例においても認められたが、片側性かつ限局性の変化であった。その他、検体投与に関連したと思われる影響は認められなかった。また、死亡例では、雌 2 例で胃粘膜のうっ血あるいは表在性壊死が認められたが、この他には検体投与による影響は認められなかった。

以上のように、カルタップ原体をアカゲザルに 2 年間反復強制経口投与した結果、30.0 mg/kg 群で死亡が認められた。これらの死亡例では一般症状として嘔吐、便性状の異常や痙攣が認められ、病理組織学的検査では胃のうっ血あるいは壊死が認められた。一方、生存例では 30.0 mg/kg 群において一般症状として嘔吐や便性状の異常のほか振戦が認められ、摂餌および摂水量の減少ならびに体重増加抑制も認められた。さらに、同群では血液学的検査において雌 1 例で赤血球数、ヘマトクリット値やヘモグロビンの低値が認められ、病理組織学的検査では雄で性成熟の遅延を示唆する変化（精巣ならびに前立腺の重量低値および未成熟、精巣における精子形成の低下）が認められた。したがって、無毒性量は雌雄ともに 3.0 mg/kg/日であると判断した（申請者注11）。

申請者注10：申請者注 10：30.0 mg/kg 群で認められた性成熟の遅延について

30.0 mg/kg 群では雄 1 例で精巣および前立腺の未成熟が、別の雄 1 例では精巣においてごく僅かな精子形成の低下が認められ、臓器重量ではこれらの重量の低値も認められており性成熟の遅延が示唆された。これらの変化について、アカゲザルの雄の性成熟時期は 4～5 歳であり¹⁾ 本試験の解剖時点での年齢もほぼ同じ 4.5～5.5 歳であったこと、また、同様の変化は片側性であるものの対照群の 2 例の精巣でも認められていることから偶発的な性成熟のばらつきにより生じた可能性も考えられる。その一方で、これら 2 例では摂餌量の減少によると考えられる体重の顕著な増加抑制や減少が認められており、ラットやアカゲザルでは低栄養状態において性成熟が遅延することが知られていることから²⁾、本試験においても摂餌量や体重の低値に起因して同変化が認められた可能性も否定できない。

このように、30.0 mg/kg 群の雄 2 例で認められた性成熟の遅延を示唆する変化に関し、検体投与による影響か否かも含めてその原因は明らかでなかったが、検体投与による影響であったとしても性成熟のばらつきや摂餌量あるいは体重への影響を考慮すると、少なくとも検体による直接的な影響ではないものと考えられる。

1) 安達 二朗、松沼 尚史、6. 生殖・繁殖学的性状、「実験動物の生物学的特性データ」、田嶋 嘉雄 監修、219-248、ソフトサイエンス社、(1989)。

2) Higami, Y., Yamaza, H. and Shimokawa, I., Laboratory fundings of caloric restriction in rodents and primates, *Advances in Clinical Chemistry*, 39, 211-237, (2005).

申請者注11：無毒性量について

報告書中には無毒性量に関する記載がなかったため、申請者が判断して記載した。

7. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

(1) カルタップ原体のラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 7-1)

試験機関 : Hazleton Laboratories, Inc.

報告書作成年 : 1972 年

検体 : カルタップ原体

検体純度 :

供試動物 : Charles River 系ラット、投与開始時 3 週齢 (P 世代投与開始時体重 ; 雄 82 ~103 g、雌 80~99 g)

P、F₁ 世代 ; 1 群雄 10 匹、雌 20 匹、F₂ 世代 ; 69~244 匹

投与期間 : P 世代 : 投与開始から F_{1b} 児離乳時まで、F₁ 世代 : 離乳時から F_{2b} 児離乳時まで (1971 年 5 月 5 日~1972 年 5 月 27 日)

投与方法 : 検体 0、100、1000 ppm を飼料に加えて、混合器を用いてよく混合し、自由に摂取させた。飼料は毎週調製した。

交配・調整・選抜および観察・検査項目 : 概要を表にまとめた。

一般状態および死亡率 : 試験期間中、P および F₁ 世代について、各個体の一般状態および生死を投与開始時、開始後 4 および 9 週に観察した。

体重および摂餌量 : P および F₁ 世代の親動物について、各個体の体重および摂餌量を投与開始時、開始後 4 および 9 週に観察した。F_{1a}、F_{1b}、F_{2a} および F_{2b} 児について、体重を生後 24 時間、7、14 日および離乳時に雌雄について測定した。

交配および妊娠の確認 : 雄 1 匹、雌 2 匹をそれぞれ交配用ケージに同居させ、3 週間の交配期間中、各ケージの雄は 1 週間ごとに交代させた。

妊娠の確認は分娩をもって行った。

繁殖性に関する指標 : 交配、妊娠、哺育期間の観察に基づき、妊娠動物数、出産動物数、生産児数、死産児数、出産児数、哺育期間中の死亡児数、離乳児数について調べ、次の指標を算出した。

受胎率 (%) = (妊娠動物数 / 交配動物数) × 100

出産率 (%) = (出産動物数 / 妊娠動物数) × 100

生産率 (%) = (生産児数 / 出産児数) × 100

離乳率 (%) = (離乳児数 / 児数調整後の哺育児数) × 100

病理組織学的検査 : F_{1a}、F_{1b}、F_{2a}、F_{2b} 児それぞれ約 1/3 について剖検を行った。F_{1b} 世代

の母動物約半数例を帝王切開し、得た胎児 (F_{2b}) の半数は剖検を行い内臓の異常を検索し、残り半数は透明染色骨格標本を作成し、骨化状態の検査を行った。また、離乳後の F_{2b} 児各群雄 10 匹、雌 10 匹より以下の組織を採取し、10%中性緩衝ホルマリン液中に保存した。対照および 1000 ppm 群の雌雄各 5 匹について鏡検し、さらに 100 ppm 群の雌雄各 5 匹について、肝臓、腎臓、その他の異常組織の鏡検を行った。哺育期間中に死亡した児は、可能な限り 10%中性緩衝ホルマリン液中に保存した。

脳、脳下垂体、眼球、甲状腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胃、膵臓、小腸、大腸、膀胱、生殖腺、骨、骨髄 (スライド塗抹)、神経および筋肉、脊髄、尾、その他の異常な組織

骨格検査：帝王切開によって得た生存胎児の半数につき、外形観察ののち、アリザリンレッド S 染色透明骨格標本を作成し、100%グリセリン液中に保存した。これらの標本につき、大きさ、部位、骨格の異常、骨化状態および骨格組織欠如の有無を検査した。

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 (9週)		体重、摂餌量および一般症状を投与開始時、投与開始後4週および9週に記録
	第1回交配 (3週)	雄1対雌2で3週間同居、雄は1週間ごとに交代	
	妊娠 (3週)		
	分娩		妊娠動物数、分娩動物数、生産児数、死産児数、出産児数を記録
	哺育 (3週)	$[F_{1a}]$ 出産24時間後に最大限8匹(雌雄ほぼ同数)に調整	哺育期間中の死亡児数、離乳児数を記録 生後24時間、7、14日および離乳時に雌雄について体重測定
	離乳	F_{1a} 児約1/3の安楽殺 F_{1a} 児の離乳 (第1回交配に準ずる)	F_{1a} 児約1/3の剖検(残りは安楽殺後、廃棄)
	第2回交配 (3週)		
	妊娠 (3週)		
	分娩		(第1回交配に準ずる)
	哺育 (3週)	$[F_{1b}]$ (第1回交配に準ずる)	(第1回交配に準ずる)
F ₁	離乳	(第1回交配に準ずる) 各群 F_{1b} 離乳児から継代用に雄10匹、雌20匹を選抜	(第1回交配に準ずる)
	育成期間 (約80日)		(P世代に準ずる)
	第1回交配 (3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	妊娠 (3週)		
	分娩		(P世代に準ずる)
	哺育 (3週)	$[F_{2a}]$ (P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳		
	第2回交配 (3週)		
	妊娠 (3週)	F_{1b} 母動物の半数を妊娠19日に帝王切開し、胎児 (F_{2a}) を取り出す	帝王切開により得た胎児の半数を剖検し、器官の異常を検索。残りの半数は透明染色骨格標本を作成し、骨化状態の検査
	分娩	F_{1b} 母動物の残り半数は、自然分娩させ、 F_{2b} 児を得る	(P世代に準ずる)
F ₂	哺育 (3週)	$[F_{2b}]$ (P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳	離乳後の F_{2b} 児各群雄10匹、雌10匹から組織採取	採取した組織をホルマリン液中に保存 対照群および1000 ppm 投与群の雄5匹、雌5匹について鏡検 100 ppm 投与群の雄5匹、雌5匹について、肝臓、腎臓、その他の異常組織の鏡検

結果：概要を末尾の表に示した。

(1) 親動物について

P世代の対照群雌1匹が第1回交配後1ヵ月に、F₁世代の1000 ppm群雌2匹が交配期間中に死亡した。一般症状においては、検体投与の影響は認められなかった¹⁾。体重は、PおよびF₁世代の1000 ppm群雌雄で体重増加抑制が認められた。摂餌量は、F₁世代の1000 ppm群雌雄で投与開始後4週に低下したが、その後回復し、投与開始後9週には対照群との差が認められなかった。繁殖成績に検体投与の影響は認められなかった²⁾。また、F₁世代の母動物に対する帝王切開時検査(F_{2b})では、黄体数および着床数に検体投与の影響はなかった。

(2) 児について

F_{1a}、F_{1b}、F_{2a}およびF_{2b}の各世代において、出産率、生産率、出産児数、生産児数および出生時の体重に検体投与の影響は認められなかった³⁾。一般症状および剖検では、各世代とも検体投与の影響は認められなかった⁴⁾。生後の体重は、各世代の1000 ppm群の雌雄で低値を示した。F_{2b}世代の胎児において、着床率、胚・児死亡数および胎児体重に対照群との差は認めら

1) 申請者注：親動物に認められた死亡および一般症状について

死亡はP世代の対照およびF₁世代の1000 ppm群で1および2例に発現した。F₁世代の1000 ppm群の死亡はいずれも同一の雄との交配期間中にみられた事故死と考えられ、検体投与との関連はなかった。また、一般症状においては、P世代では、対照群で喘鳴が、100 ppm群で円背位、脱毛および体毛の尿汚染が、1000 ppm群で鼻に血性痂皮が散見された。F₁世代では、100 ppm群で喘鳴および円背位が、1000 ppm群で頸部の腫脹、右眼の斜視、腹部の脱毛、円背位、鼻に血性痂皮、魚鱗状の尾および体毛の尿汚染等が観察されたが、いずれの所見も発現例数に明らかな用量相関性がないか、片性のみでの発現であることから、検体投与と関連しない変化と考えられた。

2) 申請者注：受胎率および離乳率について

受胎率がF_{2a}世代の1000 ppm群で低かったが、F₁およびF_{2b}世代の同群の受胎率は対照群と差がないことから、検体投与に関連しない偶発的变化と考えられた。また、離乳率がF_{1b}世代の1000 ppm群で低かったが、F_{1a}およびF₂世代の同群の離乳率は対照群と差がないことから、検体投与に関連しない偶発的变化と考えられた。F_{2a}世代の100 ppm群でも離乳率が低かったが、用量相関性のない変化であり、検体投与に関連しない変化と考えられた。

3) 申請者注：出産児数および生産児数について

F_{2b}世代の1000 ppm群で出産児数および生産児数が低値傾向を示したが、いずれの世代の1000 ppm群にも死産児はみられず、出生時の体重にも検体投与の影響は認められなかった。また、F_{2b}世代の黄体数、着床数、着床率、吸収胚数、死亡胎児数および生存胎児数にも影響はないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

4) 申請者注：児の症状および剖検について

一般症状において、各世代で低体温、削瘦、円背位、低体温、鼻に血性痂皮、喘鳴、呼吸頻数、皮膚に青斑、へそに痂皮が観察されたが、いずれの所見も各世代で一貫性がないか、明らかな用量相関性がないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。また、剖検においては、F_{2b}世代で、肺に1~2ヵ所の暗赤変色、腎盂の拡大、腎臓の緑色変色、肝臓の蒼白変色、主要器官すべての蒼白変色、胃の蒼白変色等が認められたが、いずれの所見も明らかな用量相関性が認められないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

れなかった⁵⁾。

F_{2b}世代の外形および内臓異常所見では、外形の小型化、蒼白、頸部の腫脹、肩に青変部、頭部に暗色部、鼻に青変部、四肢異常などが観察された⁶⁾。骨格検査では、頭頂間骨の骨化遅延、頭頂間骨の欠損、後頭骨の骨化遅延、後頭骨の欠損、全頭蓋骨の骨化不斉、胸椎・腰椎・仙椎骨化中心の骨化遅延、四肢骨の骨化遅延などが認められた⁷⁾。

F_{2b}世代の病理組織学的検査では、肺、脾臓、骨髄、甲状腺、精巣、卵巣に所見がみられたが、検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、2世代にわたって検体を飼料に混入して投与した場合、1000 ppm 群の親動物で体重増加抑制および摂餌量減少がみられたが、生殖能力、分娩および哺育といった繁殖機能に影響は認められなかった。F₁およびF₂世代の児に対しては、1000 ppm 群で体重増加抑制がみられた。また、F_{1b}母動物の子宮内に影響はなかったが、1000 ppm 群のF_{2b}胎児の骨格検査では、対照群と比較して骨化遅延の発生率が高かった⁸⁾。

-
- 5) 申請者注：帝王切開所見について
統計検定が行われていなかったため申請者が実施したところ、100 ppm 群の胎児体重に高値が認められた。しかしながら用量相関性のない変化であることから、検体投与の影響ではないと判断した。
 - 6) 申請者注：F_{2b}世代の外形および内臓異常所見について
いずれの所見の発現頻度も明確な用量相関性がないことから、検体投与との関連がないと考えられた。
 - 7) 申請者注：F_{2b}世代の骨格検査結果について
報告書中で実施されていなかった統計検定を申請者が実施した結果、1000 ppm 群で頭部骨格、中軸骨格および四肢骨の骨化遅延の発現頻度が増加していることから、検体投与の影響と考えられた。なお、100 ppm 群では尾椎弓骨化遅延 25-26 個、胸骨分節 1 番欠損、中足骨 0-2 本欠損および中足骨 3-4 本欠損の発現頻度に統計学的な差がみられたが、用量相関性のない変化であることから、検体投与の影響とは考えられなかった。また、後頭骨骨化遅延の発現頻度が 1000 ppm 群とともに増加したが、100 ppm 群の他の骨に骨化の遅れを示唆する変化はみられないことから、偶発性の変化であり、検体投与との関連はないと判断した。
 - 8) 申請者注：無毒性量について
親動物および児に対する無毒性量は雌雄とも 100 ppm (P 世代：雄 9.17 mg/kg/日、雌 9.65 mg/kg/日、F₁ 世代：雄 9.53 mg/kg/日、雌 11.0 mg/kg/日)、繁殖性に対する無毒性量は 1000 ppm (P 世代：雄 99.1 mg/kg/日、雌 101 mg/kg/日、F₁ 世代：雄 136 mg/kg/日、雌 145 mg/kg/日) と判断した (いずれも投与開始後 4 および 9 週の平均値)。

結果の概要

世代		親:P 児:F _{1a} , F _{1b}			親:F ₁ 児:F _{2a} , F _{2b}			
投与量 (ppm)		0	100	1000	0	100	1000	
動物数	雄	10	10	10	10	10	10	
	雌	20	20	20	20	20	20	
一般状態 (発現数)	雄	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	喘鳴(1)	^{a)} 症状	
	雌	喘鳴(1)	円背位、脱毛、体毛の尿汚染(2)	鼻に血性痂皮(1)	異常なし	円背位(1)	^{a)} 症状	
死亡数	雄	0	0	0	0	0	0	
	雌	1	0	0	0	0	2	
育成期体重 (g)	雄	0週	93	93	93	122	114	↓67
		4週	309	296	↓249	289	307	↓146
		9週	437	433	↓392	400	405	↓267
	雌	0週	89	89	89	109	93	↓55
		4週	209	206	↓177	212	209	↓123
		9週	264	260	↓223	255	249	↓185
摂餌量 (g)	雄	4週	156	163	152	159	171	↓109
		9週	147	162	160	184	186	182
	雌	4週	124	125	116	131	136	↓103
		9週	114	117	107	147	147	136
検体 摂取量 (mg/kg)	雄	4週	—	12.003	126.761	—	11.624	145.469
		9週	—	6.340	71.462	—	7.444	125.562
	雌	4週	—	12.094	124.788	—	12.898	165.046
		9週	—	7.196	76.632	—	9.158	125.532
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常は認められなかった						
受胎率 (%)	a	85	85	100	95	100	↓71	
	b	100	95	100	100	80	88	
出産率 (%)	a	100	100	100	100	100	100	
	b	95	100	100	100	100	100	
生産率 (%)	a	100	100	100	100	98.7	100	
	b	100	100	100	100	100	100	
離乳率 (%)	a	97.1	91.5	93.0	99.3	94.2	94.5	
	b	94.0	96.0	↓81.8	76.3	↓56.3	87.3	
胎児 妊娠19日 帝王切開	^{b)} 黄体数					16.3	16.1	14.6
	着床数					14.2	12.6	11.7
	着床率 (%)					85.7	77.4	81.4
	吸収胚数					0.5	0.4	0.3
	生存胎児数					13.7	12.3	11
	死亡胎児数					0	0	0.3
	生存胎児体重 (g)					2.26	↑2.47	2.10

a) 雄：頸部の腫脹(1)、右眼の斜視(1)、腹部の脱毛(1)

雌：円背位(3)、鼻に血性痂皮(1)、魚鱗状の尾(4)、体毛の尿汚染(1) 等

b) 申請者が平均値を算出した。

—：対照群

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

↑↓：体重、摂餌量、受胎率、出産率、生産率および離乳率は個体別表がなく、統計検定を実施できなかったため、報告書中で変化と認められた項目に記した。

申請者注：以下の項目について申請者が統計検定を実施した (↑: p < 0.05)。

Dunnett または Steel 検定 (両側)：黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数、死亡胎児数、生存胎児体重

Steel 検定 (両側)：着床率

結果の概要 (つづき)

世代		親 : P 児 : F _{1a} , F _{1b}			親 : F ₁ 児 : F _{2a} , F _{2b}					
投与量 (ppm)		0	100	1000	0	100	1000			
出生児	生産児数	a	205	196	199	244	232	118		
		b	271	253	225	129	105	69		
	死産児数	a	0	0	0	0	3	0		
		b	0	0	0	0	0	0		
	平均 生産児数 (腹毎)	雄	a	6	6	4	7	7	6	
			b	7	6	6	6	7	4	
		雌	a	6	5	6	6	6	4	
			b	7	7	6	7	6	5	
	一般状態 (発現数)	a	低体重 (1)、削瘦 (1)、円背 位(3)	低体重 (13)、削瘦 (10)、円背 位(10)、低 体温(10)	低体重(1)、 円背位 (10)、低体 温(16)、鼻 に血性痂皮 (8)、喘鳴 (2)、呼吸頻 数(2)	低体重 (13)	低体温 (13)、皮 膚に青 斑(1)、 へそに 痂皮(1)	低体重 (12)、皮膚 に青斑(1)		
		b	低体重 (16)、削 瘦(3)、円 背位(4)、 低体温 (3)	低体重 (1)、削瘦 (1)、円背 位(1)、低 体温(10)、 皮膚に青 斑(1)	円背位(7)	削瘦 (1)、円 背位、 (1)低体 温(6)	低体温 (3)	鼻に血性 痂皮(16)		
	肉眼的 病理検査 (発現数)	a	検体投与に起因する異常は認められなかった							
		b	検体投与に起因する異常は認められなかった			肺の暗赤 変色(9)、 腎盂拡大 (3)、腎臓 緑色変色 (1)	肺の暗赤 変色(7)、 腎盂拡大 (1)	肺の暗赤変 色(7)、腎臓 緑色変色 (1)、肝臓蒼 白変色(2)、 全主要器官 蒼白変色 (1)、胃の蒼 白変色(1)		
	児 平均体重 (g)	雄	24 時間	a	6	6	6	7	7	7
				b	7	7	7	7	7	7
			7日	a	16	17	↓13	16	17	15
				b	16	17	↓12	13	13	13
			14日	a	29	30	↓22	32	32	↓25
				b	31	32	↓20	31	29	↓24
離乳時		a	47	49	↓33	50	48	↓34		
		b	49	47	↓28	49	43	↓33		
雌		24 時間	a	6	6	6	6	6	6	
			b	6	7	6	7	6	7	
		7日	a	15	16	↓13	15	17	15	
			b	17	17	↓12	14	13	12	
	14日	a	27	29	↓21	30	31	↓23		
		b	32	32	↓19	29	31	↓22		
離乳時	a	45	47	↓33	46	48	↓32			
	b	49	46	↓27	46	44	↓33			

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

↑↓：生産児数、死産児数および児体重は個体別表がなく、統計検定を実施できなかったため、報告書中で変化と認められた項目に記した。

結果の概要 (つづき)

世代		親:P 児:F _{1a} , F _{1b}			親:F ₁ 児:F _{2a} , F _{2b}		
投与量 (ppm)		0	100	1000	0	100	1000
胎児 F _{2b}	外形および内臓検査 (発現数)	/	/	/	小型化 (6)、蒼白 (1)、咽喉 腫脹(1)、 四肢異常 (1)	小型化(1)、 肩に青変部 (1)、頭部に 暗色部(1)、 四肢異常 (1)	小型化 (4)、頭部 に暗色部 (1)、鼻に 青変部 (1)、四肢 異常(1)
	検査胎児数	/	/	/	68	51	40
	閉鎖度 0	/	/	/	0(0)	0(0)	2(5)
	閉鎖度 1	/	/	/	2(3)	1(2)	5(13)
	閉鎖度 2	/	/	/	66(97)	50(98)	↓33(83)
	頭頂間骨骨化遅延	/	/	/	3(4)	0(0)	4(10)
	頭頂間骨欠損	/	/	/	0(0)	0(0)	↑4(10)
	後頭骨欠損	/	/	/	1(1)	1(2)	↑5(13)
	後頭骨骨化遅延	/	/	/	2(3)	↑8(16)	↑8(20)
	頭頂部骨化不斉	/	/	/	0(0)	1(2)	2(5)
	頭頂部骨化遅延	/	/	/	0(0)	0(0)	1(3)
	前頭部骨化不斉	/	/	/	0(0)	1(2)	1(3)
	全頭蓋骨骨化不斉	/	/	/	0(0)	0(0)	↑4(10)
	13 対	/	/	/	67(99)	51(100)	40(100)
	14 対	/	/	/	1(1)	0(0)	0(0)
	片側肋骨	/	/	/	1(1)	0(0)	1(3)
	最終対小型	/	/	/	1(1)	0(0)	0(0)
	腰部第 1 に余剰対小型	/	/	/	1(1)	0(0)	0(0)
	片側小型	/	/	/	1(1)	0(0)	0(0)

c) 閉鎖度 0: 頭蓋骨が染色されない、閉鎖度 1: 頭蓋骨が約 25%染色、閉鎖度 2: 頭蓋骨が約 50%染色
 申請者注: 骨格異常発現数について申請者がカイ二乗検定を実施した (↑↓: p < 0.05, ↑↑: p < 0.01)。

結果の概要 (つづき)

世代		親 : P			児 : F _{1a} , F _{1b}			親 : F ₁			児 : F _{2a} , F _{2b}		
		投与量 (ppm)			0	100	1000	0	100	1000	0	100	1000
胎児 F _{2b}	骨格異常発現数 (率)	検査胎児数					68	51	40				
		頸椎骨化中心 7 個遅延					68(100)	51(100)	40(100)				
		胸椎骨化中心 1 個遅延					20(29)	13(25)	15(38)				
		胸椎骨化中心 2 個遅延					0(0)	0(0)	1(3)				
		胸椎骨化中心 3 個遅延					1(1)	0(0)	0(0)				
		胸椎骨化中心 9 個遅延					0(0)	0(0)	1(3)				
		胸椎骨化中心 13 個遅延					0(0)	0(0)	3(8)				
		腰椎骨化中心 6 個遅延					0(0)	0(0)	↑4(10)				
		仙椎骨化中心 1 個遅延					11(16)	2(4)	12(30)				
		仙椎骨化中心 2 個遅延					2(3)	0(0)	2(5)				
		仙椎骨化中心 3-4 個遅延					0(0)	0(0)	↑6(15)				
		尾椎骨化中心 23-24 個遅延					27(40)	26(51)	↓7(18)				
		尾椎骨化中心 25-26 個遅延					41(60)	25(49)	↑33(83)				
		胸椎小型 1-2 個					39(57)	29(57)	22(55)				
		胸椎小型 3-4 個					0(0)	0(0)	1(3)				
		腰椎小型 6 個					0(0)	0(0)	1(3)				
		仙椎小型 1 個					0(0)	0(0)	1(3)				
		胸椎分裂 1-2 個					1(1)	1(2)	1(3)				
		垂鈴状胸椎 1-2 個					27(40)	24(47)	15(38)				
		垂鈴状胸椎 3-4 個					2(3)	6(12)	2(5)				
		短尾					1(1)	0(0)	0(0)				
		腰椎弓骨化遅延 2 個					0(0)	0(0)	2(5)				
		仙椎弓骨化遅延 1 個					23(34)	10(20)	16(40)				
		仙椎弓骨化遅延 2 個					7(10)	1(2)	6(15)				
		仙椎弓骨化遅延 3-4 個					0(0)	0(0)	↑5(13)				
		尾椎弓骨化遅延 25-26 個					61(90)	↑51(100)	34(85)				
		1 番欠損					13(19)	↓2(4)	11(28)				
		2 番欠損					42(62)	23(45)	32(80)				
		3 番欠損					2(3)	1(2)	↑7(18)				
		4 番欠損					14(21)	11(22)	↑20(50)				
		5 番欠損					68(100)	51(100)	39(98)				
		6 番欠損					68(100)	51(100)	39(98)				
		1 番小型					4(6)	8(16)	7(18)				
2 番小型					19(28)	10(20)	4(10)						
3 番小型					3(4)	1(2)	4(10)						
4 番小型					15(22)	8(16)	9(23)						
5 番小型					0(0)	0(0)	1(3)						

申請者注: 骨格異常発現数について申請者がカイ二乗検定を実施した (↑↓: p < 0.05, ↑↑: p < 0.01)。

結果の概要 (つづき)

		世代			親: P			児: F _{1a} , F _{1b}			親: F ₁			児: F _{2a} , F _{2b}			
		投与量 (ppm)			0	100	1000	0	100	1000	0	100	1000	0	100	1000	
胎児 F _{2b}	骨格異常発現数 (率)	検査胎児数						68	51	40							
		骨盤	右坐骨欠損						1 (1)	0 (0)	0 (0)						
			右恥骨欠損						4 (6)	4 (8)	0 (0)						
			左坐骨欠損						1 (1)	0 (0)	0 (0)						
			左恥骨欠損						5 (7)	5 (10)	0 (0)						
		長管骨	大腿骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑5 (13)						
			脛骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑5 (13)						
			腓骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑5 (13)						
			肩甲骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑4 (10)						
			鎖骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑4 (10)						
			上腕骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑4 (10)						
			橈骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑4 (10)						
			尺骨骨化遅延						0 (0)	0 (0)	↑4 (10)						
		前肢	手根骨 16 本欠損						68 (100)	51 (100)	40 (100)						
			中手骨 3-4 本欠損						62 (91)	49 (96)	↓26 (65)						
			中手骨 5-10 本欠損						6 (9)	2 (4)	9 (23)						
			指骨 26-28 本欠損						68 (100)	51 (100)	40 (100)						
			右前肢第 2 指の第 2 中手骨から先の欠損						0 (0)	1 (2)	0 (0)						
			右前肢第 1 指欠損						0 (0)	1 (2)	0 (0)						
		後肢	検査胎児数						67	50	39						
			足根骨 16 本欠損						67 (100)	50 (100)	38 (97)						
			足根骨 8 本欠損						0 (0)	0 (0)	2 (5)						
			中足骨 0-2 本欠損						3 (4)	↑20 (40)	3 (8)						
			中足骨 3-4 本欠損						63 (94)	↓30 (60)	32 (82)						
			中足骨 5-10 本欠損						1 (1)	0 (0)	↑5 (13)						
			趾骨 26-28 本欠損						67 (100)	50 (100)	39 (100)						
			左後肢欠損						0 (0)	0 (0)	1 (3)						
			左後肢第 1 趾欠損						0 (0)	0 (0)	1 (3)						
			左後肢第 2~5 指の中足骨より先の変形						0 (0)	0 (0)	1 (3)						
			左後肢第 2~5 指の中足骨より先の短縮						0 (0)	0 (0)	1 (3)						
			左後肢欠損部分に痕跡趾発生						0 (0)	0 (0)	1 (3)						
			病理組織学的検査						投与に起因する異常なし								

申請者注: 骨格異常発現数について申請者がカイ二乗検定を実施した (↑↓: p < 0.05, ↑↓: p < 0.01)。

(2) カルタップ原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 7-2)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1971年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：SD系妊娠ラット、交配開始時11～13週齢（体重範囲は報告書中に記載なし）、1群12～23匹

投与期間：妊娠9日から15日までの7日間

投与方法：検体を投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水に溶解し、50および100 mg/kgの投与量で妊娠9日^{*}から妊娠15日まで、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群として無処置群および溶媒対照群を設け、溶媒対照群には蒸留水10 mL/kgを同様に投与した。

^{*}：膈栓を確認した日を妊娠1日として起算した。

[投与量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物；妊娠1、9、16および21日に体重を測定した。出産予定日の前日に安楽殺して帝王切開を行い、着床数および胚・児死亡について検査した。

生存胎児；外表異常の有無について詳細に観察し、性別を調べ、体重を測定した。臓器摘出の際に、内臓異常について詳細に肉眼的に観察し、その後、全胎児を骨格異常および変異検査のために95%エタノール中に固定した。骨格染色については、Dawsonの方法にしたがって行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

母動物；100 mg/kg群は、投与期間中に体重増加抑制がみられた。50 mg/kg群の12匹中1匹および100 mg/kg群の17匹中4匹が、投与回数後に、無呼吸症状のために死亡した¹⁾。着床数、死亡胚・児数、性比および生存胎児体重については、検体投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

生存胎児；100 mg/kg群の胎児体重がやや低かったが、対照群との間に有意差はみられなかった。外表および内臓異常として、溶媒対照群では、293胎児中2例に弯曲尾がみられたが、無処置対照群ならびに検体投与群には認められなかった。また、骨格異常として、溶媒対照群で276胎児中2例に波状肋骨などがみられたが、無処置対照群および検体投与群には認められなかった。骨格変異として、100 mg/kg群で、胸椎体の二分

1) 申請者注：50 mg/kg以上でみられた死亡は検体投与の影響と判断した。

骨化の発現率が増加した²⁾。

以上の結果より、カルタップ原体を妊娠ラットに投与したとき、母動物に対しては、100 mg/kg 群で投与期間中に死亡または体重増加抑制が認められた。胎児に対しては、胚・児致死作用ならびに催奇形作用はなかったが、100 mg/kg 群で骨格変異である胸椎体の二分骨化をもつ胎児の発現率増加が認められた³⁾。

2) 申請者注：統計検定について、報告書で使用された方法が不明であったため、あらたに申請者がカイ二乗検定を実施した。その結果、100 mg/kg 群で腰肋の発現頻度に統計学的な差がみられたが、減少方向の変化であることから毒性学的意義はないと判断した。

3) 申請者注：母動物に対しては、50 mg/kg 以上の投与で死亡が認められたため、一般毒性学な無毒性量は 50 mg/kg を下回ると考えられた。胎児に対する無毒性量は 50 mg/kg と判断された。

結果の概要

試験群		対照群		検体投与群 (mg/kg)			
		無処置	溶媒対照	50	100		
1群当たり動物数		23	21	12	17		
母動物死亡		0	0	1	4		
母動物	体重増加量	妊娠 1-9 日	-	有意差なし			
		妊娠 9-16 日	-	有意差なし	抑制		
		妊娠 16-21 日	-	有意差なし			
	子宮内所見	着床数 (各腹平均)	322 (14.0)	310 (14.8)	155 (14.1)	186 (14.3)	
		着床痕	0	0	0	0	
		胎盤遺残	20	17	4	12	
浸軟児		0	0	0	0		
胚・児死亡率 (%)		6.2	5.5	2.6	6.5		
胎児	胎児体重 (g) ±S. E.		3.55±0.052	3.51±0.081	3.43±0.049	3.14±0.052	
	性比 (雄/雌×100)		100	105	99	118	
	外表・内臓観察	検査胎児数 (各腹平均)	302 (13.1)	293 (14.0)	151 (13.7)	174 (13.4)	
		異常 (%)	弯曲尾	0	2 (0.7)	0	0
		異常発現総数 (%)		0	2 (0.7)	0	0
	骨格観察	検査胎児数		300	276	151	174
		変異 (%)	頸椎弓分岐	2 (0.7)	0	0	0
			胸椎体二分骨化	6 (2.0)	11 (4.0)	2 (1.3)	↑25 (14.4)
			胸骨分節非対称	1 (0.3)	0	0	0
			腰椎体二分骨化	0	1 (0.4)	0	2 (1.1)
			腰椎数的変異	5 (1.7)	1 (0.4)	0	3 (1.7)
			腰肋	110 (36.7)	68 (24.6)	30 (19.9)	↓20 (11.5)
		骨格変異発現総数 (%)		117 (39.0)	78 (28.3)	31 (20.5)	41 (23.6)
		異常 (%)	頸椎弓骨化遅延	0	2 (0.7)	0	0
			隣接胸骨分節癒合	0	2 (0.7)	0	0
波状肋骨			0	1 (0.4)	0	0	
三角筋粗面欠損			0	2 (0.7)	0	0	
尺骨弯曲	0		2 (0.7)	0	0		
恥骨骨化遅延	0		2 (0.7)	0	0		
骨格異常発現総数 (%)		0	2 (0.7)	0	0		

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

- : 対照群

申請者注：胎児の外表・内臓・骨格の異常発現数について、申請者がカイ二乗検定を用いて溶媒対照群との有意差検定を実施した (↑↓: p < 0.01)。

(3) カルタップ原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 7-3)

試験機関 : Life Science Research

報告書作成年 : 1976年

検体 : カルタップ原体

検体純度 :

供試動物 : CD系妊娠ラット、試験開始時 週齢は報告書中に記載なし (妊娠1日体重 ; 199~254 g)、1群 20~22匹

投与期間 : 妊娠6日から15日までの10日間

投与方法 : 検体を投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水に溶解し、10、25および50 mg/kgの投与量で妊娠6日¹⁾から妊娠15日まで、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には蒸留水10 mL/kgを同様に投与した。

*) : 膣栓あるいは膣スメア中に精子を確認した日を妊娠1日として起算した。

観察・検査項目 :

母動物 ; 一般症状を毎日観察し、妊娠1、3、6、8、10、12、14、15、18および21日に体重を測定した。妊娠21日に二酸化炭素により安楽死させ、肉眼的病理検査を実施した。卵巣を含む生殖器を摘出後、黄体数を記録した。子宮を切開し、その内容物を検査し、着床数、着床位置およびその状態を記録し、死亡胚・児について死亡時期を推定した。

生存胎児 ; 性別、体重および外表異常の観察を行った。各同腹胎児の約1/3をWilson法によりフリーハンドセクションとするためにBouin固定液中に保存し、残りの胎児は胸腔および腹腔を切開し低倍率で鏡検した。各内臓を観察した後摘出し、Dawson染色法による骨格検査用処理のために、95%アルコール中に保存した。

結果 : 概要を次頁の表に示した。

母動物 ; 一般症状について、検体投与群および対照群の間に差異は認められなかった。50 mg/kg群の1匹が交配後10日に死亡したが、自己融解および食損のため死因は確認できなかった¹⁾。体重、剖検所見についても、検体投与に関する影響は認められなかった。また、胚・児死亡率は、対照群と差がなかった。

生存胎児 ; 検体投与群の生存胎児数は対照群と差がなかった。胎児体重は10および25 mg/kg群では対照群と差がなかったが、50 mg/kg群では、わずかに有意な低値を示した。内臓観察では、50 mg/kg群で皮下水腫の発現頻度が27.7%と試験施設の背景データの平均0.9% (0-3%)と比較すると高かったが、対照群でも18.8%の頻度で観察されており、ばらつきの大きな事象であることから、検体投与との関連性はないと考えられた。同群で、髄膜周囲の空洞形成が39.8%と対照群の26.3%と比べて増加したが、試験施設の

1) 申請者注 : 50 mg/kg群の1例の死亡は検体投与の影響と判断した。

背景データで平均 25% (0-54%) にみられる所見であり、検体投与と関係ないものと考えられた。また、同群で、大泉門の大きさおよび手根骨と足根骨との骨化数から、骨化進行がわずかに遅延していると判断され、胎児体重の低値と一致すると考えられた。その他、この系統のラットに自然発生的に認められるタイプの骨格異常が対照群および検体投与群の少数例にみられたが、その発現頻度に差は認められなかった。

以上の結果より、カルタップ原体を妊娠ラットに投与したときの母動物および胎児に対する無毒性量は共に 25 mg/kg であった。また、最高投与量の 50 mg/kg でも胎児に対して胚・児致死作用および催奇形作用を及ぼさないと判断した。

結果の概要

投与群 (mg/kg)		0	10	25	50	
動物数		22	20	21	21	
妊娠動物数		20	20	20	19	
死亡数 (%)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5.3)	
一般状態		—	検体投与に起因する異常は認められなかった			
平均 体重 (g)	妊娠 1 日	230	224	224	229	
	妊娠 3 日	245	239	237	243	
	妊娠 6 日	264	255	253	260	
	妊娠 8 日	272	267	261	269	
	妊娠 10 日	282	278	272	281	
	妊娠 12 日	297	293	284	295	
	妊娠 15 日	316	309	301	314	
	妊娠 18 日	352	342	332	346	
	妊娠 21 日	401	386	380	389	
肉眼的病理検査		—	検体投与に起因する異常は認められなかった			
子宮 内 所 見	黄体数	15.5	16.0	16.0	15.3	
	着床数	13.0	13.5	13.6	13.8	
	生存胎児数	雄	6.8	6.3	5.1	6.3
		雌	5.9	6.6	8.3	6.9
		合計	12.7	12.9	13.4	13.2
	死亡胚・児数	早期	0.4	0.5	0.3	0.6
		後期	0.0	0.1	0.0	0.1
		合計	0.4	0.6	0.3	0.6
	着床前損失率 (%)	15.9	15.7	14.7	10.0	
胚・児死亡率 (%)	2.7	4.1	1.8	4.6		

—: 対照群

Mann-Whitney の non-parametric U-Test により検定した。

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

黄体数、着床数、生存胎児数および死亡胚・児数は一腹当たりの平均値を記載した。

着床前損失率 (%) = ((黄体数 - 着床数 (妊娠 21 日)) / 黄体数) × 100

胚・児死亡率 (%) = ((着床数 - 生存胎児数) / 着床数) × 100

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg)		0	10	25	50	
外 表 異 常 (%)	胎児体重 (g)	3.9	3.8	3.8	43.6	
	一腹総重量 (g)	49.1	49.3	50.4	47.1	
	性比	1.15	0.95	0.61	0.91	
	検査胎児数[腹]	253[20]	258[20]	267[20]	250[20]	
	皮下出血-頭部	0[0]	0[0]	0.4[1]	0.4[1]	
	皮下出血-背部	0[0]	0[0]	0[0]	0.4[1]	
	皮下出血-四肢	0[0]	0[0]	0.4[1]	0[0]	
	皮下出血-尾	0[0]	0.4[1]	0[0]	0[0]	
	小型胎児	0[0]	0[0]	0[0]	0.4[1]	
	胎 児 内 臓 異 常 (%)	検査胎児数[腹] (骨格観察用に処理した胎児)	173[20]	174[20]	179[20]	167[19]
		尿管水腫	4.0[3]	9.2[9]	5.6[4]	3.6[4]
		水腎	0.6[1]	2.3[4]	0[0]	0.6[1]
		尿管水腫および水腎の併発	1.2[2]	6.3[6]	0.6[1]	3.6[2]
		腎臓出血	0[0]	0.6[1]	0[0]	0.6[1]
		検査胎児数[腹] (内臓観察のみ実施した胎児)	80[20]	84[20]	88[20]	83[19]
頭 部		髄膜周囲の空洞形成	26.3[15]	22.6[11]	33.0[16]	39.8[16]
		鼻の皮下出血	1.3[1]	4.8[4]	2.3[2]	0[0]
		頭部皮下出血	0[0]	1.2[1]	3.4[2]	0[0]
		出血性頭蓋皮膜	0[0]	0[0]	1.1[1]	0[0]
		片側性小眼球症	0[0]	0[0]	1.1[1]	0[0]
		脳内出血	0[0]	0[0]	1.1[1]	0[0]
胸 部 お よ び 腹 部		心嚢内出血	1.3[1]	1.2[1]	1.1[1]	0[0]
		血胸	0[0]	1.2[1]	3.4[3]	1.2[1]
		胸部の皮下出血	0[0]	0[0]	1.1[1]	1.2[1]
		肝臓の出血	7.5[5]	4.8[3]	3.4[3]	8.4[5]
		腹部出血	1.3[1]	3.6[2]	0[0]	1.2[1]
		片側性水腎症	3.8[2]	4.8[3]	4.5[4]	2.4[2]
そ の 他		両側性水腎症	0[0]	1.2[1]	1.1[1]	1.2[1]
		皮下水腫	18.8[7]	11.9[6]	20.5[11]	27.7[11]
		肩甲部の皮下出血	5.0[4]	0[0]	2.3[2]	4.8[2]
	四肢の皮下出血	0[0]	1.2[1]	0[0]	0[0]	
	脊髄周囲に間隙	0[0]	0[0]	1.1[1]	0[0]	
	脊椎筋肉組織の出血	0[0]	0[0]	1.1[1]	0[0]	
	上腕の出血	0[0]	0[0]	1.1[1]	0[0]	
小型、未熟胎児	0[0]	0[0]	0[0]	1.2[1]		

性比=雄胎児数/雌胎児数

Mann-Whitney の non-parametric U-Test により検定した (U: p < 0.01)

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

申請者注: 異常発現腹数について申請者がカイ二乗検定を実施したが、有意差は認められなかった。

結果の概要 (つづき)

		投与群 (mg/kg/日)	0	10	25	50	
胎児	骨格異常 (%)	検査胎児数[腹] (骨格観察を実施した胎児)	173[20]	174[20]	179[20]	168[19]	
		頭蓋骨	大泉門-小	9.8[9]	4.6[5]	3.9[3]	1.8[2]
			大泉門-中	83.8[20]	92.0[20]	87.2[20]	85.0[19]
			大泉門-大	6.4[5]	3.4[5]	8.9[6]	13.2[11]
			骨化不全	2.3[2]	1.1[2]	7.8[7]	9.0[6]
			陥没	0.6[1]	0[0]	0.6[1]	0[0]
			骨化不整	0[0]	0[0]	0[0]	1.2[1]
		胸部	肋骨数-12/13	0[0]	0[0]	0.6[1]	0[0]
			肋骨数-13	91.9[20]	85.6[20]	90.5[20]	98.8[19]
			肋骨数-13/14	5.2[6]	10.3[11]	3.9[6]	1.2[2]
			肋骨数-14	2.9[3]	4.0[3]	5.0[5]	0.0[0]
			胸骨分節骨化不全	100.0[20]	98.9[20]	100.0[20]	99.4[19]
			胸椎体骨化不全	49.7[18]	37.4[17]	40.2[20]	44.3[19]
			輪状軟骨欠損	2.9[3]	1.7[3]	7.3[8]	4.2[5]
			波状肋骨短小	0.6[1]	0[0]	0[0]	0[0]
			胸骨分節異常	0.6[1]	0[0]	0[0]	0[0]
			11 胸椎異常、9-13 胸椎および1 腰椎体小型、脊柱側弯症	0[0]	0[0]	0.6[1]	0[0]
		四肢	手根骨/足根骨数-3/4	24.3[14]	29.9[16]	37.4[15]	47.9[16]
			手根骨/足根骨数-4/4	75.7[20]	70.1[19]	60.9[17]	51.5[17]
			指骨化骨不全	0[0]	0[0]	1.7[2]	0.6[1]

Mann-Whitney の non-parametric U-Test により検定したが、有意差は認められなかった。

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

申請者注：異常発現腹数について申請者がカイ二乗検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(4) カルタップ原体のマウスにおける催奇形性試験

(資料 7-2)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1971年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：CF-1 妊娠マウス、交配開始時 11~13 週齢（体重範囲は報告書中に記載なし）、1 群 12 ~21 匹

投与期間：妊娠 8 日から 13 日までの 6 日間

投与方法：検体を投与液量が 10 mL/kg となるように蒸留水に溶解し、50 および 100 mg/kg の投与量で妊娠 8 日^{*)} から妊娠 13 日まで、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群として無処置群および溶媒対照群を設け、溶媒対照群には蒸留水 10 mL/kg を同様に投与した。

*)：産栓を確認した日を妊娠 1 日として起算した。

[投与量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物；妊娠 1、8、14 および 19 日に体重を測定した。出産予定日の前日に安楽殺して帝王切開を行い、着床数および胚・児死亡について検査した。

生存胎児；外表異常の有無について詳細に観察し、性別を調べ、体重を測定した。器官摘出の際に、内臓異常について詳細に肉眼的に観察し、その後、全胎児を骨格異常および変異検査のために 95%エタノール中に固定した。骨格染色については、Dawson の方法にしたがって行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

母動物；平均体重推移および妊娠維持について、検体投与の影響を示す所見はみられなかった。着床数、胚・児死亡数、性比および生存胎児体重に関して、検体投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

生存胎児；外表異常として、無処置対照群に内反足が 1 例に、溶媒対照群に口蓋裂または弯曲尾が 2 例に、50 および 100 mg/kg 群に多合指が各 1 例にみられた。また、骨格異常として、50 および 100 mg/kg 群に頸椎弓癒合および胸骨分節癒合がみられたが、外形および骨格異常児数に関して検体投与群と対照群の間に有意差は認められなかった¹⁾。その他、内臓異常は、いずれの群にもみられず、骨格変異についても、検体投与群と

1) 申請者注：統計検定について、報告書で使用された方法が不明であったため、あらたに申請者がカイ二乗検定を実施した。その結果、50 mg/kg 群で腰椎数変異の発現頻度が増加したが、用量相関性のない変化であることから、検体投与に関連しない偶発性の変化と判断した。

対照群の間に有意差は認められなかった。

以上の結果より、カルタップ原体を 100 mg/kg の投与量で妊娠マウスに投与しても、胚・児致死作用および催奇形作用を起こさないと判断した²⁾

2) 申請者注：無毒性量は 100 mg/kg と考えられた。

結果の概要

試験群		対照群		検体投与群 (mg/kg)			
		無処置	溶媒対照	50	100		
1群当たり動物数		21	20	12	14		
母動物	体重増加量	妊娠 1-8 日	-	有意差なし			
		妊娠 8-14 日	-	有意差なし			
		妊娠 14-19 日	-	有意差なし			
	子宮内所見	着床数 (各腹平均)	237 (11.3)	218 (10.9)	119 (9.9)	140 (10.0)	
		着床痕	0	0	0	0	
		胎盤遺残	22	36	9	20	
		浸軟児	1	1	0	0	
		胚・児死亡率 (%)	9.7	17.0	8.2	14.3	
	胎児体重 (g) ±S.E.		1.25±0.017	1.36±0.026	1.25±0.038	1.22±0.027	
	性比 (雄/雌×100)		110	87	144	97	
外表・内臓観察	検査胎児数 (各腹平均)	214 (10.2)	181 (9.1)	110 (9.2)	120 (8.6)		
	異常 (%)	口蓋裂	0	1 (0.5)	0	0	
		内反足	1 (0.5)	0	0	0	
		多合指	0	0	1 (0.9)	1 (0.8)	
		彎曲尾	0	1 (0.5)	0	0	
異常発現総数 (%)	1 (0.5)	2 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.8)			
胎児	骨格観察	検査胎児数	212	181	110	120	
		変異 (%)	頸椎弓分岐	0	0	2 (1.8)	0
			頸椎弓非対称	0	0	1 (0.9)	2 (1.7)
			頸肋	24 (11.3)	18 (9.9)	9 (8.2)	22 (18.3)
			胸椎弓分岐	0	0	0	1 (0.8)
			胸骨分節分岐	1 (0.5)	0	0	0
			胸骨分節非対称	3 (1.4)	1 (1.6)	0	2 (1.7)
			腰椎数的変異	1 (0.5)	0	↑6 (5.5)	2 (1.7)
			腰肋	24 (11.3)	25 (13.8)	12 (10.9)	13 (10.8)
		骨格変異発現総数 (%)	51 (24.1)	42 (23.2)	25 (22.7)	37 (30.8)	
		異常 (%)	頸椎弓癒合	0	0	1 (0.9)	1 (0.8)
			胸骨分節癒合	0	0	1 (0.9)	1 (0.8)
		骨格異常発現総数 (%)	0	0	2 (1.8)	2 (1.7)	

—: 対照群

検定方法記載なし

申請者注: 胎児の外表・内臓・骨格の異常発現数について、申請者がカイ二乗検定を用いて溶媒対照群との有意差検定を実施した (↑: p < 0.01)。

(5) カルタップ原体のマウスにおける催奇形性試験

(資料 7-4)

試験機関: Life Science Research

報告書作成年: 1976年

検体: カルタップ原体

検体純度:

供試動物: CD-1系妊娠マウス、試験開始時 週齢は報告書中に記載なし(妊娠1日体重; 21~31g)、1群24~25匹

投与期間: 妊娠6日から15日までの10日間

投与方法: 検体を投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水で溶解し、10、25および50 mg/kgの投与量で妊娠6日^{*)}から妊娠15日まで、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には蒸留水10 mL/kgを同様に投与した。

*) : 陰栓を確認した日を妊娠1日として起算した。

観察・検査項目:

母動物; 一般症状を毎日観察し、妊娠1、3、6、8、10、12、14、15および18日に体重を測定した。妊娠18日に二酸化炭素により安楽死させ、肉眼的病理検査を実施した。卵巣を含む生殖器を摘出後、黄体数を記録した。子宮を切開し、その内容物を検査した。着床数、着床位置およびその状態を記録し、死亡胚・児について死亡時期を推定した。

生存胎児; 性別、体重測定および外表異常の調査を行った。各同腹胎児の約1/3をWilson法によりフリーハンドセクションとするためにBouin固定液中に保存し、残りの胎児は胸腔および腹腔を切開し低倍率で鏡検した。各内臓を観察した後、摘出し、Dawson染色法による骨格検査用処理のために、95%アルコール中に保存した。

結果: 概要を次頁の表に示した。

母動物; 一般症状について、検体投与群および対照群の間に差異は認められなかった。50 mg/kg群で、対照群に比べ有意な体重増加量の抑制がみられた。肉眼的病理検査では、50 mg/kg群1匹で右肢に血腫が見られたが、他にこのような例がないことから検体投与に関係ないものと考えられた。着床前損失率および胚・児死亡率は、対照群と差がなかった。

生存胎児; 検体投与群の生存胎児数および胎児体重は対照群と差がなかった。外表、内臓および骨格異常の種類、発現率および分布は群間で差がなかった。25 mg/kg群で外脳がみられたが、当該所見は試験施設の背景データにおいて、0.5~1.2%の出現がみられるので、検体投与と関連がないものと考えられた¹⁾。また、対照群を含む全群で出血が発

1) 申請者注: 25 mg/kg群で外脳が背景データの範囲を僅かに上回る1.4%の胎児にみられたが、50 mg/kg群で同様の所見が発現していないことから、検体投与に関連しない変化と判断した。

現したが、検体投与に関連した傾向は認められないことから、投与の影響によるものではないと考えられた。

以上の結果より、カルタップ原体を妊娠マウスに投与したときの母動物および胎児に対する無毒性量はそれぞれ25および50 mg/kgであった。また、最高投与量の50 mg/kgでも胎児に対して胚・児致死作用および催奇形作用を及ぼさないと判断された。

結果の概要

投与群 (mg/kg)		0	10	25	50	
1群当たり動物数		25	25	25	24	
妊娠動物数		20	17	21	17	
死亡数 (%)		0 (0)	0 (0)	1 (4)	0 (0)	
一般状態		—	検体投与に起因する異常は認められなかった			
母動物	平均体重 (g)	妊娠 1 日	25.3	25.1	25.6	25.8
		妊娠 3 日	26.0	25.6	26.2	26.3
		妊娠 6 日	27.6	27.2	27.8	27.9
		妊娠 8 日	29.1	27.9	28.9	28.9
		妊娠 10 日	30.2	29.5	30.6	30.1
		妊娠 12 日	33.1	32.5	33.6	32.7
		妊娠 14 日	35.9	35.9	36.7	35.4
		妊娠 15 日	37.9	37.5	38.3	36.8
		妊娠 18 日	46.9	46.1	47.2	44.6
		体重増加量(妊娠 1-18 日)		21.6	21.0	21.6
肉眼的病理検査		—	検体投与に起因する異常は認められなかった			
子宮内所見	黄体数		12.5	12.8	13.1	12.8
	着床数		11.7	11.6	12.1	11.8
	生存胎児数	雄	5.3	5.0	4.9	5.2
		雌	5.4	5.7	6.0	5.4
		合計	10.6	10.7	10.8	10.6
	胚・児死亡数	早期	0.9	0.6	0.9	0.7
		後期	0.2	0.4	0.4	0.4
		合計	1.1	0.9	1.3	1.1
着床前損失率 (%)		6.4	9.2	8.0	7.8	
胚・児死亡率 (%)		9.4	8.1	10.4	9.5	

— : 対照群

黄体数、着床数、生存胎児数および胚・児死亡数は一腹当たりの平均値を記載した。

着床前損失率 (%) = ((黄体数 - 着床数 (妊娠 18 日)) / 黄体数) × 100

胚・児死亡率 (%) = ((着床数 - 生存胎児数) / 着床数) × 100

Mann-Whitney の non-parametric U-Test により検定 (↓ : p < 0.05)

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg)		0	10	25	50	
平均体重 (g)		0.96	0.97	0.95	0.93	
一腹総重量 (g)		10.20	10.38	10.26	9.87	
性比		0.98	0.82	0.82	0.96	
外表異常 (%)	検査胎児数[腹]	212[20]	182[17]	216[20]	181[17]	
	外脳	0[0]	0[0]	1.4[3]	0[0]	
	軽度水頭	0[0]	0[0]	0[0]	0.6[1]	
	舌突出	0[0]	0[0]	0.5[1]	0[0]	
	皮下出血	0[0]	1.1[1]	2.8[4]	1.1[2]	
	結合胎盤	0[0]	0[0]	0.5[1]	1.1[2]	
	虚血性又は黒縁胎盤	0[0]	0.6[1]	0[0]	0.6[1]	
	検査胎児数[腹] (骨格観察用に処理した胎児)	142[20]	119[17]	142[20]	121[17]	
胎児内臓異常 (%)	腎臓出血	0.7[1]	1.7[2]	0.7[1]	0[0]	
	検査胎児数[腹] (内臓観察のみ実施した胎児)	70[20]	63[17]	74[20]	60[17]	
	髄膜周囲の空洞形成	7.1[5]	7.9[5]	8.1[6]	6.7[3]	
	鼻の皮下出血	4.3[3]	7.9[4]	13.5[6]	8.3[5]	
	下顎の皮下出血	2.9[1]	0[0]	4.1[3]	0[0]	
	頭部筋肉内出血	1.4[1]	0[0]	0[0]	0[0]	
	脳内出血	1.4[1]	1.6[1]	0[0]	0[0]	
	口蓋裂	1.4[1]	0[0]	0[0]	0[0]	
	頭蓋上部の皮下に間隙	0[0]	3.2[2]	1.4[1]	1.7[1]	
	頭部皮下出血	0[0]	1.6[1]	0[0]	1.7[1]	
	軽度内水頭	0[0]	0[0]	0[0]	1.7[1]	
	胸部および腹部	血胸症	2.9[1]	0[0]	0[0]	0[0]
	心筋内出血	1.4[1]	0[0]	0[0]	0[0]	
	肝臓の出血	1.4[1]	0[0]	0[0]	0[0]	
腹部出血	1.4[1]	3.2[2]	1.4[1]	8.3[3]		
片側性水腎	0[0]	0[0]	1.4[1]	0[0]		
腎臓出血	0[0]	0[0]	1.4[1]	0[0]		
膀胱拡張	1.4[1]	1.6[1]	0[0]	0[0]		

性比=雄胎児数/雌胎児数

Mann-Whitney の non-parametric U-Test により検定

申請者注: 異常発現腹数について申請者がカイ二乗検定を実施したが、有意差は認められなかった。

結果の概要 (つづき)

		投与群 (mg/kg)	0	10	25	50
胎児	内臓異常 (%)	検査胎児数[腹] (内臓観察のみ実施した胎児)	70[20]	63[17]	74[20]	60[17]
		皮下水腫	18.6[8]	6.3[4]	17.6[8]	18.3[7]
		脊髄周囲の間隙	1.4[1]	0[0]	5.4[3]	1.7[1]
		その他				
		小型、未熟胎児	2.9[2]	0[0]	1.4[1]	1.7[1]
		肩甲部の皮下出血	0[0]	1.6[1]	0[0]	3.3[2]
		背部の皮下出血	0[0]	0[0]	1.4[1]	0[0]
		四肢の皮下出血	0[0]	0[0]	1.4[1]	0[0]
	背部の皮下に間隙	0[0]	0[0]	0[0]	1.7[1]	
	骨格異常 (%)	検査胎児数[腹] (骨格観察を実施した胎児)	134[19]	120[17]	142[20]	120[17]
		頭蓋骨				
		大泉門—小	1.5[1]	2.5[1]	1.4[2]	5.0[1]
		大泉門—中	39.6[17]	58.3[15]	36.6[16]	47.5[11]
		大泉門—大	59.0[18]	39.2[14]	59.9[17]	47.5[14]
		頭蓋骨の化骨不全	20.1[11]	37.5[14]	18.3[12]	39.2[10]
		頭蓋骨の陥没	0.7[1]	0[0]	2.1[2]	0[0]
		外脳	0[0]	0[0]	2.1[3]	0[0]
		肋骨				
		肋骨数—12/13	0.7[1]	1.7[2]	0[0]	0[0]
		肋骨数—13	75.4[19]	67.5[17]	78.2[20]	71.7[17]
肋骨数—13/14		9.0[9]	9.2[10]	7.0[7]	8.3[8]	
肋骨数—14	14.9[9]	21.7[12]	14.8[10]	20.0[11]		
肋骨短小	0[0]	0.8[1]	0[0]	0[0]		
12 および 13 肋骨の片側性癒合	0[0]	0[0]	0[0]	0.8[1]		
胸郭						
胸郭異常	0.7[1]	0[0]	0.7[1]	0[0]		
胸骨分節骨化不全	98.5[19]	97.5[17]	99.3[20]	99.2[17]		
輪状軟骨欠損	8.2[9]	13.3[7]	6.3[8]	5.8[4]		
胸椎体骨化不全	0[0]	0[0]	0[0]	0.8[1]		
胸骨分節異常	0[0]	0.8[1]	0[0]	0.8[1]		
四肢						
手根骨/足根骨数—3/4	63.4[18]	55.0[15]	52.1[17]	43.3[15]		
手根骨/足根骨数—4/4	27.6[13]	34.2[11]	39.4[14]	40.8[10]		
手根骨/足根骨化不全	9.0[6]	10.8[8]	8.5[7]	15.8[5]		

Mann-Whitney の non-parametric U-Test により検定

申請者注：異常発現腹数について申請者がカイ二乗検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(6) カルタップ原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 7-5)

試験機関 : International Research and
Development Corporation

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1987 年

検 体 : カルタップ原体

検体純度 :

供試動物 : ニュージーランドホワイト系 SPF 妊娠ウサギ (妊娠 0 日の体重 3565~4760 g)、授精
時約 6.5 ヶ月齢、1 群 16 匹

投与期間 : 妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間 (1986 年 11 月 3 日~1986 年 11 月 16 日)

投与方法 : 検体を脱イオン水で溶解し、4、8 および 12 mg/kg の投与量で妊娠 7 日^{*)} から妊娠 19
日まで、毎日 1 回経口投与した。投与液量は 5 mL/kg とした。対照群には脱イオン水
のみを同様に投与した。

*) : 授精日を妊娠 0 日とした。

観察・検査項目 :

母動物 ; 試験期間を通じ、死亡および一般症状を毎日 2 回観察し、毒性症状の発現と発症期間
を妊娠 7 日から 29 日まで毎日 1 回記録した。妊娠 0、7、13、20、24 および 29 日に体
重を測定した。また、個別別摂餌量および摂水量を妊娠 7 日から 28 日まで毎日記録し
た。妊娠 29 日にペントバルビタールナトリウムを辺縁耳静脈から注射して全生存動物
を安楽殺した。腹部切開により子宮と卵巣を露出させた。生存および死亡胚・児数お
よび部位、早期および後期死亡胚・児、総着床数および黄体数を記録した。胎盤の重
量を測定して胎児を取り出し、腹腔および胸腔の器官の形態学的変化を肉眼的に検査
した。

生存胎児 ; 各胎児の体重を測定し、外部奇形および変異 (異常) を検査した。各胎児を剖検し、
内部的に性別を確認し、脳の中央冠状切片を含む内臓の奇形および変異 (異常) につ
いて検査した。心臓については Staples の変法で切片を作製した。内臓検査後、Dawson
法により、骨格標本作製し、異常および変異を調べた。

結 果 : 概要を次頁表に示した。

母動物 ; 4、8 および 12 mg/kg 群でそれぞれ 1、2 (非妊娠動物 1 例を含む) および 1 例の動物が
死亡したが、8 mg/kg 群の 1 例で数個の肉眼所見が認められた以外、何ら臨床症状、肉
眼的病変は観察されなかったことから、いずれの動物もその死因を特定することができ
ず、また、低頻度の発現であるため、検体投与との関連性は不明であった¹⁾。

¹⁾ 申請者注 : 検体投与群で発現した死亡について

死亡例の発現例数に明確な用量相関がみられないことから、検体投与の影響ではない偶発性の変化と考えられた。

対照群を含むすべての投与群の1または2例に流産がみられたが、検体投与と関連性がないと考えられた。

8および12 mg/kg 群で検体投与に関連すると考えられる摂餌量および摂水量の低下がみられた。これらの群では排便減少の発生頻度の増加も見られ、摂餌量減少に関連する変化と考えられた²⁾。

帝王切開所見に検体投与の影響は認められなかった。

生存胎児；吸収胚数、生存胎児数、死亡胎児数および性比は対照群、各投与群とも差がなかった。12 mg/kg 群の平均胎児体重が対照群と比較して軽度に低値を示したが、この群の1腹あたりの生存胎児数に増加傾向がみられたためであり、検体投与に関連した変化ではないと考えられた³⁾。

外表検査、内臓検査および骨格検査で、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった⁴⁾。

以上の結果より、カルタップ原体を妊娠ウサギに投与したときの母動物および胎児に対する無毒性量はそれぞれ8 mg/kg/日および12 mg/kg/日であった。また、最高投与量の12 mg/kg/日でも胎児に対して胚・児致死作用および催奇形作用を及ぼさないと判断した。

2) 申請者注：摂餌量および摂水量ならびに排便の減少について

報告書には、「8および12 mg/kg 群で検体投与に関連すると考えられる摂餌量および摂水量の低下がみられた」とあるが、統計検定が報告書中で実施されていなかったため、申請者が実施し確認した。その結果、12 mg/kg 群では妊娠7-12日の摂餌量および妊娠13-19日の摂水量に有意な低値が認められたことから、これらの期間に検体投与の影響を受けたと判断した。一方、8 mg/kg 群の摂餌量および摂水量は妊娠期間を通じて対照群との間に統計学的な差を認めず、投与期間(妊娠7-19日)の摂餌量は143.1 gと対照群の149.9 gとほぼ同等であり、摂水量も12 mg/kg 群との間に明らかな用量相関性を認めなかったことから、検体投与の影響はないと判断した。また、排便の減少はいずれの群でも投与期間終了後(対照群：妊娠21-29日、4 mg/kg 群：妊娠29日、8 mg/kg 群：妊娠21-29日、12 mg/kg 群：妊娠22-29日)に発現しており、摂餌および摂水量との関係が明らかでないことから、検体投与の影響ではないと判断した。

3) 申請者注：胎児体重の低値について

着床数が対照群の7.1に対し、12 mg/kg 群で10.0と高値を示したが、投与は着床後の妊娠7日から開始していることから、当該変化は検体投与に関連しない偶発性の変化と考えられた。この偶発性の変化により、生存胎児数は対照群の6.9に対し、12 mg/kg 群で9.4と高値傾向が認められ、胎児体重が低値傾向を示したものと判断した。

4) 申請者注：骨格変異(12対を超える肋骨)について

申請者が有所見胎児をもつ腹の頻度を統計検定したところ、「12対を超える肋骨」の頻度が8 mg/kg 群で高かったが、用量相関性のない変化であることから検体投与と関連のないものと判断した。

結果の概要

投与群 (mg/kg)		0	4	8	12	
1 群当たり動物数		16	16	16	16	
母動物	妊娠動物数	15	15	15	16	
	死亡妊娠動物数	0	1	1*	1	
	流早産数	1	1	1	2	
	一般状態	排便の減少 2	排便の減少 1	排便の減少 4	排便の減少 5	
	体重変化 (g)	妊娠 0-7 日	93	69	126	87
		妊娠 7-13 日	31	102	76	-6
		妊娠 13-20 日	40	-69	-23	8
		妊娠 20-24 日	26	44	26	-20
		妊娠 24-29 日	-23	-16	-39	1
		妊娠 7-20 日	71	33	53	1
		妊娠 0-29 日	190	117	201	131
	摂餌量 (g)	妊娠 7-12 日	169.2	162.6	165.1	↓135.0
		妊娠 13-19 日	134.7	147.3	122.3	91.0
		妊娠 20-23 日	139.0	155.1	122.9	111.9
		妊娠 24-28 日	78.0	92.1	64.3	71.7
妊娠 7-19 日		149.9	153.8	143.1	111.9	
妊娠 7-28 日		132.0	140.0	122.7	103.2	
摂水量 (g)	妊娠 7-12 日	399.1	466.9	375.7	379.4	
	妊娠 13-19 日	436.5	443.5	330.2	↓295.9	
	妊娠 20-23 日	486.1	490.7	357.5	368.8	
	妊娠 24-28 日	379.7	354.3	292.8	397.2	
	妊娠 7-19 日	418.3	454.7	351.3	337.7	
	妊娠 7-28 日	422.4	437.1	342.3	353.4	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

*: 非妊娠動物 1 例にも死亡がみられた

申請者注: 以下の項目について申請者が統計検定を実施した (↑ ↓: p < 0.05)。

Dunnnett または Steel 検定: 体重変化、摂餌量、摂水量

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg)		0	4	8	12
1群当たり動物数		16	16	16	16
母 動 物	肉眼的病理検査	—	検体投与に起因する異常は認められなかった		
	検査母動物数	15	14	13	13
	黄体数	12.1	13.0	13.5	14.4
	着床数	7.1	8.4	9.2	↑10.0
	生存胎児数	6.9	7.7	8.9	9.4
	胚・児死亡数	0.3	0.7	0.3	0.6
	着床前損失率 (%)	40.8	31.4	31.8	30.5
	胚・児死亡率 (%)	4.0	8.3	3.3	6.2
	胎盤重量 (g)	5.17	5.22	5.39	5.03
	胎児重量 (g)	43.2	40.7	41.9	38.1

— : 対照群

* : 非妊娠動物 1 例にも死亡がみられた

胚・児死亡率は Mann-Whitney の U 検定を用いて検定

黄体数、着床数、生存胎児数、胎児重量および胎盤重量は、分散分析により対照群との有意差を検定 (↑ : p < 0.05)

黄体数、着床数、生存胎児数および胚・児死亡数は一腹当たりの平均値を記載した。

着床前損失率 (%) = ((総黄体数 - 総着床数) / 総黄体数) × 100

胚・児死亡率 (%) = ((総着床数 - 総生存胎児数) / 総着床数) × 100

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg)		0	4	8	12		
胎児	性比 (雄)	50.0	51.0	47.4	46.7		
	外表異常	検査胎児数 (%) [腹]	96[14]	100[12]	124[14]	122[13]	
		奇形	無口	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
			無顎	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
			無眼瞼	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
			耳介短小	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
	外表奇形発現数	0 [0]	0 [0]	0 [0]	1 [1]		
	内臓異常	検査胎児数 (%) [腹]	96[14]	100[12]	124[14]	122[13]	
		変異	虹彩出血	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.81)[1]	0(0.00)[0]
			食道背方鎖骨下動脈	0(0.00)[0]	1(1.00)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
			腕頭動脈起始頸動脈	14(14.58)[5]	13(13.00)[2]	5(4.03)[2]	5(4.10)[4]
			対性肺葉欠損	3(3.13)[3]	10(10.00)[4]	4(3.23)[3]	1(0.82)[1]
			胆嚢形成不全	1(1.04)[1]	2(2.00)[2]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
			腎乳頭形成不全および /または尿管拡張	2(2.08)[2]	1(1.00)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
		内臓変異発現数	18[7]	26[7]	10[6]	6[5]	
		奇形	心室中隔欠損	1(1.04)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
			胆嚢欠損	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
	内臓奇形発現数	1[1]	0[0]	0[0]	1[1]		

性比はカイ二乗検定を用いて検定

奇形をもった腹数の比率はFisherの直接確率計算法を用いて検定

申請者注：以下の項目について申請者が統計検定を実施したが、有意差は認められなかった。

Steel検定(両側)：外表異常(各腹率)、内臓異常(各腹率)

カイ二乗検定：外表異常(発現腹数)、内臓異常(発現腹数)

性比 = 雄生存胎児数 / 生存胎児数 × 100

(%) : 各腹率 = (所見が発現した胎児数 / 検査胎児数) × 100

結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	4	8	12	
胎児	骨格異常	検査胎児数 (%) [腹]	96[14]	100[12]	124[14]	122[13]
		変異				
		舌骨未化骨	3(3.13)[3]	2(2.00)[2]	2(1.61)[1]	4(3.28)[1]
		舌骨弓湾曲	6(6.25)[4]	1(1.00)[1]	1(0.81)[1]	1(0.82)[1]
		頭蓋副骨	1(1.04)[1]	2(2.00)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
		仙椎前椎骨数 27	9(9.38)[6]	11(11.00)[7]	11(8.87)[6]	14(11.48)[7]
		仙椎前椎骨数 25	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
		椎体変異	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
		頸肋	1(1.04)[1]	1(1.00)[1]	3(2.42)[3]	5(4.10)[4]
		12対を超える肋骨	31(32.29)[8]	42(42.00)[9]	54(43.55)[↑14]	64(52.46)[12]
		第13痕跡肋骨	17(17.71)[11]	18(18.00)[8]	30(24.19)[12]	17(13.93)[10]
		胸骨分節癒合	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	3(2.42)[3]	1(0.82)[1]
		胸骨分節不整	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.82)[1]
		第5および/または第6胸骨分節未化骨	18(18.75)[4]	12(12.00)[↑9]	9(7.26)[5]	16(13.11)[9]
		過剰胸骨分節	1(1.04)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
		恥骨未化骨	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
		尾骨未化骨	3(3.13)[2]	0(0.00)[0]	1(0.81)[1]	0(0.00)[0]
		骨格変異発現数 (腹)	69[14]	83[12]	95[14]	92[13]
		奇形				
		頭蓋骨癒合	1(1.04)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
		肋骨奇形を伴う/伴わない脊椎奇形	1(1.04)[1]	1(1.00)[1]	0(0.00)[0]	3(2.46)[1]
		椎弓の骨化不全	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	1(0.81)[1]	0(0.00)[0]
		肋骨の球状肥大	1(1.04)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]
		肩甲骨分岐	1(1.04)[1]	0(0.00)[0]	0(0.00)[0]	3(2.46)[2]
		骨格奇形発現数 (腹)	3[3]	1[1]	1[1]	5[2]

異常をもった腹数の比率は Fisher の直接確率計算法を用いて検定

申請者注：以下の項目について申請者が統計検定を行った (↑ : p < 0.05)。

Steel 検定 (両側) : 骨格異常 (各腹率)

カイ二乗検定 : 骨格異常 (発現腹数)

(%) : 各腹率 = (所見が発現した胎児数 / 検査胎児数) × 100

(7) カルタップ原体のハムスターにおける催奇形性試験

(資料 7-2)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1971年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：妊娠ゴールデンハムスター、交配開始時9～11週齢(体重範囲は報告書中に記載なし)、
1群7～15匹

投与期間：妊娠8日から13日までの6日間

投与方法：検体を投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水に溶解し、2、10、50および100 mg/kg
の投与量で妊娠8日^{*}から妊娠13日まで、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群
として無処置群および溶媒対照群を設け、溶媒対照群には蒸留水10 mL/kgを同様に投
与した。

^{*}：陰栓を確認した日を妊娠1日として起算した。

[投与量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物；妊娠1、8、14および16日に体重を測定した。出産予定日の前日に安楽殺して帝王切
開を行い、着床数および胚・児死亡について検査した。

生存胎児；外表異常の有無について詳細に観察し、性別を調べ、体重を測定した。臓器摘出の
際に、内臓異常について再度詳細に肉眼的に観察し、その後、全胎児を骨格異常およ
び変異検査のために95%エタノール中に固定した。骨格染色については、Dawsonの方
法にしたがって行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

母動物；2、10および50 mg/kg 群は、体重推移ならびに妊娠維持に検体投与の影響は認められ
なかった。100 mg/kg 群において、7匹中2匹の死亡が観察された。また、投与期間中
に体重増加抑制が認められた。着床数、胚・児死亡数、性比および生存胎児体重に関
して検体投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

生存胎児；外表異常は、対照群、10および50 mg/kg 群で認められたが、100 mg/kg 群では認め
られなかったため、検体投与とは関連がないとみなされた。内臓異常はいずれの群に
も観察されなかった。骨格異常の発現頻度は50 mg/kg 以下の群と対照群の間に有意差
は認められなかった。100 mg/kg 群では骨格異常児の総数がやや増加する傾向を示し
たが、特定の異常の頻度が増加する傾向は認められなかった。骨格変異は発現総数お

よび腰肋が 50 および 100 mg/kg 群で、対照群と比較して統計学的に高値であった¹⁾。

以上の結果より、カルタップ原体を妊娠ハムスターに投与したとき、100 mg/kg 群で投与期間中に死亡および体重増加抑制が認められた。胎児に対しては、胚・児致死作用ならびに催奇形作用はなかったが、50 および 100 mg/kg 群で腰肋をもつ胎児の発現率が高値を示し、骨格変異の発現総数が増加した²⁾。

-
- 1) 申請者注：統計検定について、報告書で使用された方法が不明であったため、あらたに申請者がカイ二乗検定を実施した。その結果、報告書中で統計学的な差がみられた 50 mg/kg 群の 13 肋骨短小および腰椎数的変異は媒体対照群との間に有意差を認めなかった。また、100 mg/kg 群の胸骨分節癒合も報告書中では統計学的な差がみられているが、上記と同様に有意差を認めなかった。骨格異常児の発現総数は報告書と同じく統計学的にやや高値を示したが、特定の異常の頻度が増加したものではないことから、検体投与に関連しない偶発性の変化と判断した。
 - 2) 申請者注：母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 50 mg/kg、胎児に対する無毒性量は 10 mg/kg と考えられた。

結果の概要

試験群		対照群		検体投与群 (mg/kg)					
		無処置	溶媒対照	2	10	50	100		
1群当たり動物数		15	9	7	8	9	7		
母動物死亡		0	0	0	0	0	2		
母動物	体重増加量	妊娠 1-8 日	-	有意差なし					
		妊娠 8-14 日	-	有意差なし				抑制	
		妊娠 14-16 日	-	有意差なし					
	子宮内所見	着床数 (各腹平均)	178 (11.9)	119 (13.2)	89 (12.7)	101 (12.6)	123 (13.7)	57 (11.4)	
		着床痕	0	0	0	0	0	0	
		胎盤遺残	20	11	8	13	16	5	
		浸軟児	3	1	1	0	4	0	
		胚・児死亡率 (%)	12.9	10.0	10.1	12.9	16.3	8.8	
	胎児	胎児体重 (g) ±S.E.	2.24± 0.070	2.47± 0.035	2.30± 0.103	2.34± 0.032	2.21± 0.047	2.34± 0.049	
			性比 (雄/雌×100)	57	98	82	83	91	63
外表・内臓観察		異常 (%)	検査胎児数	155	107	80	88	103	52
			脳ヘルニア	0	0	0	0	1 (1.0)	0
			小眼球	1 (0.6)	0	0	0	0	0
			口蓋裂	0	0	0	0	1 (1.0)	0
			多指	1 (0.6)	0	0	0	0	0
			合指	1 (0.6)	0	0	0	0	0
			欠指	0	1 (0.9)	0	0	0	0
			湾曲指	0	0	0	1 (1.1)	0	0
異常発現総数 (%)	2 (1.3)	1 (0.9)	0	1 (1.1)	3 (2.9)	0			

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

— : 対照群

検定方法記載なし

申請者注：胎児の外表・内臓の異常発現数について、申請者がカイ二乗検定を用いて溶媒対照群との有意差検定を実施したが有意差は認められなかった。

試験群		対照群		検体投与群 (mg/kg)					
		無処置	溶媒対照	2	10	50	100		
胎児	骨格観察	検査胎児数	155	107	80	88	103	52	
		変異 (%)	頸肋	5 (3.2)	2 (1.9)	2 (2.5)	2 (2.3)	8 (7.8)	0
			胸椎体二分骨化	1 (0.6)	0	0	0	0	0
			胸骨分節非対称	4 (2.6)	1 (0.9)	0	2 (2.3)	4 (3.9)	1 (1.9)
			13肋骨短小	0	0	0	0	3 (2.9)	0
			腰椎数的変異	0	0	0	0	3 (2.9)	0
			腰肋	70 (45.2)	54 (50.5)	40 (50.0)	49 (55.7)	↑83 (80.6)	↑48 (92.3)
		骨格変異発現総数 (%)	73 (47.1)	55 (51.4)	41 (51.3)	51 (58.0)	↑91 (88.3)	↑48 (92.3)	
		異常 (%)	胸椎異常	2 (1.3)	0	0	1 (1.1)	0	0
			胸椎弓癒合	1 (0.6)	0	0	0	0	0
			胸椎体癒合	0	0	0	0	0	1 (1.9)
			胸椎数的異常	0	0	0	0	0	1 (1.9)
			胸骨分節癒合	0	0	0	0	1 (1.0)	3 (5.8)
			胸骨分節二分骨化	2 (1.3)	0	1 (1.3)	0	0	0
			肋骨癒合	4 (2.6)	2 (1.9)	1 (1.3)	2 (2.3)	0	4 (7.7)
			腰椎異常	1 (0.6)	0	0	0	0	0
		骨格異常発現総数 (%)	6 (3.9)	3 (2.8)	2 (2.5)	2 (2.3)	1 (1.0)	↑6 (11.5)	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

溶媒対照群と有意差あり (↑: p < 0.05, ↑↑: p < 0.01) 検定方法記載なし

申請者注: 胎児の骨格異常発現数について、申請者がカイ二乗検定を用いて溶媒対照群との有意差検定を実施した (↑↑: p < 0.01)。

8. 変異原性

(1) カルタップ原体の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 8-1)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

報告書作成年：1976年

検体：カルタップ原体

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) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *her* 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) の存在下および非存在下で、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、10、100 および 1000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 3 濃度で実施した。試験は 2 連制とし、プレート法で 1 回行った。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は S9 mix の有無にかかわらず、全ての濃度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ることはなかった。

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 (AF-2)、 β -プロピオラクトン (β -PL)、9-アミノアクリジン (9-AA)、2-ニトロフルオレン (2-NF) では、各菌株で著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、2-アミノアントラセン (2-AA) は S9 mix 存在下で各菌株に著明な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、カルタップ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は有しないと判断された。

試験結果

(表中の数値は2連の平均値¹⁾)

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			
			WP2 hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	19	13	150	19	10	29	
カルタップ原体	10	-	19	7	193	16	9	24	
	100	-	19	9	159	17	16	26	
	1000	-	27	16	141	6	Tox	18	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	12	9*	153	22	16	23	
カルタップ原体	10	+	18	10	156*	25	12	20	
	100	+	10	11	163	26	12	19	
	1000	+	21	4	154	28	12	30	
陽性 対照	2-AA	-	/	11	249	31	24	44	
		+	/	399	3830	425	4075	2172	
	AF-2	0.05	-	/	/	1350	/	/	/
		0.25	-	1950	/	/	/	/	/
		0.1	-	/	/	/	/	/	377
	β -PL	50	-	/	1008	/	/	/	/
	9-AA	200	-	/	/	/	1139	/	/
2-NF	50	-	/	/	/	/	4890	/	

Tox : 菌株の生育阻害が認められた

* : 1連の値

/ : 試験を行っていない

2-AA : 2-アミノアントラセン

β -PL : β -プロピオラクトン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

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

1 申請者注:2連の平均値は報告書には記載されていないが、個別データより算出して記載した。

(2) カルタップ原体の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 8-1)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

報告書作成年：1976 年

検体：カルタップ原体

検体純度：

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構野生株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の非存在下で、賀田らの Rec-assay 法により DNA 損傷誘起性を検定した。

検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、20、100、200、500、1000 および 2000 µg/disk の 6 濃度で 1 回試験を実施した。なお、溶媒対照として DMSO、陰性対照としてカナマイシン (10 µg/disk)、陽性対照としてマイトマイシン C (0.1 µg/disk) を用いた。

試験結果：結果を下表に示した。

薬物	濃度 (µg/disk)	S9 mix の有無	阻止帯 (mm)		差 (mm)
			M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)	0 ^{a)}	—	0	0	0
カルタップ原体	20	—	0	0	0
	100	—	0	0	0
	200	—	0	0	0
	500	—	0	0	0
	1000	—	0	0	0
	2000	—	<1	0	<1
陰性対照 (カナマイシン)	10	—	5	4	1
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	—	11	2	9

a) 20 µL/disk

検体では高濃度においても、H17 株と M45 株にほとんど生育阻止帯を認めなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では、両株の間に著明な生育阻止帯の差を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは、両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の結果より、カルタップ原体は本試験条件下で DNA 損傷誘発性を有しないと判断された。

(3) カルタップ原体のマウスを用いた小核試験

(資料 8-2)

試験機関: Hazleton Biotechnologies

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体: カルタップ原体

検体純度:

供試動物: ICR 系マウス、9 週齢、1 群雌雄各 5 匹

試験方法: 検体を脱イオン水に溶解し、10、50 および 80 mg/kg の用量で 1 回強制経口投与した。80 mg/kg 群については死亡時の観察動物数を確保するため、雌雄各 5 匹の予備群を設定した。溶媒対照群には脱イオン水 10 mL/kg を 1 回強制経口投与、陽性対照群にはトリエチレンメラミン (TEM) 1.5 mg/kg を 1 回腹腔内投与した。

検体投与群は投与後 24、48 および 72 時間に、溶媒および陽性対照群は投与後 24 時間に二酸化炭素を用いて屠殺した。各動物から脛骨の骨髓を採取し、スライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ液で染色し骨髓塗抹標本作製した。各標本について 1000 個の多染性赤血球を観察し、全多染性赤血球中の小核を有する細胞の出現頻度を調べた。また、骨髓細胞に対する毒性を調べるため、全赤血球に対する多染性赤血球の比率を算出した。

投与量設定根拠: 別途実施した *in vivo* 染色体異常試験で得られた毒性情報に基づいて、最高投与量を 80 mg/kg とし、以下 50、10 mg/kg の 3 濃度を設定した。

試験結果: 骨髓標本の観察結果を次頁に示した。

雄の 80 mg/kg 群の全例で振戦および痙攣が認められ、投与後翌日までに計 4 例が死亡した。他の投与群の動物の一般状態には異常は認められなかった。いずれの性、用量および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は溶媒対照群と比較して有意な増加を示さなかった。

一方、TEM を用いた陽性対照群では、溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の有意な増加が認められた。

以上の結果から、カルタップ原体は本試験条件下において、マウス骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断された。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量	性	観察動物数	MNPCE % (平均±SD)	PCE/RBC % (平均±SD)
24	溶媒対照 (脱イオン水)	10 mL/kg	雄	5	0.06±0.04	0.48±0.06
			雌	5	0.14±0.07	0.71±0.14
	カルタップ原体	10 mg/kg	雄	5	0.04±0.02	0.45±0.10
			雌	5	0.14±0.07	0.76±0.19
		50 mg/kg	雄	5	0.10±0.06	0.38±0.07
			雌	5	0.08±0.02	0.58±0.09
		80 mg/kg	雄	5	0.10±0.03	0.67±0.07
			雌	5	0.08±0.02	0.83±0.15
	陽性対照 (TEM)	1.5 mg/kg	雄	5	3.66±1.48*	0.25±0.06
			雌	5	6.26±1.94*	0.37±0.05
48	カルタップ原体	10 mg/kg	雄	5	0.02±0.02	0.53±0.06
			雌	5	0.06±0.04	0.63±0.13
		50 mg/kg	雄	5	0.08±0.04	0.34±0.04
			雌	5	0.10±0.04	0.57±0.13
		80 mg/kg	雄	5	0.12±0.05	0.43±0.10
			雌	5	0.00±0.00	0.70±0.12
72	カルタップ原体	10 mg/kg	雄	5	0.08±0.05	0.38±0.01
			雌	5	0.04±0.02	0.43±0.10
		50 mg/kg	雄	5	0.06±0.04	0.44±0.14
			雌	5	0.02±0.02	0.57±0.09
		80 mg/kg	雄	5	0.04±0.02	0.44±0.10
			雌	5	0.18±0.08	0.40±0.04

最小有意差法による多重比較 * : p < 0.01 値は雌雄各5匹の平均値

PCE : 多染性赤血球数

RBC : 全赤血球数

MNPCE : 多染性赤血球数 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

TEM : トリエチレンメラミン

(4) カルタップ原体のラットを用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 8-3)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1976年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：Wistar系成熟雄ラット（9～11週齢）、1群5匹

試験方法：検体を、投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水に溶解し、10および100 mg/kgの用量で1回または5日間連続強制経口投与した。溶媒対照群には蒸留水10 mL/kgを1回経口投与、陽性対照群にはトリエチレンメラミン (TEM) 0.5 mg/kgを1回腹腔内投与した。

1回投与群では投与後24時間、5日間連続投与群では最終投与後6時間に動物を屠殺した。分裂中期像を集めるため、屠殺前2時間にコルヒチン (4 mg/kg)を腹腔内投与した。大腿骨から骨髓細胞を採取してメタノール固定後、ギムザ染色を施し、骨髓細胞の染色体標本を作製した。1個体当たり50個の分裂中期像について染色体異常の有無を調べた。

投与量設定根拠：

試験結果：観察結果を次頁に示した。

いずれの投与群においても、異常細胞の出現率は1.6%以下であり、ギャップの頻度についても、溶媒対照群との間に有意な差はなかった。

一方、TEMを用いた陽性対照群では、異常細胞が37.2%と高率に出現し、溶媒対照群と比べて著しい増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下においてカルタップ原体はラットの骨髓細胞に対して染色体異常誘発性を有しないと結論した。

観察結果

薬物	投与量 (mg/kg/日×回数)	投与経路	投与後の採取時間 (hr)	動物数	観察細胞数	ギャップ		異常数										構造異常細胞		判定
						染色分体型	染色体型	切断		断片	環状	交換	多重	その他	合計		細胞数	%		
								染色分体型	染色体型						異常数	細胞当たり				
溶媒対照 (蒸留水)	10 mL/kg × 1	経口	24	5	250	5	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0.008	2	0.8	/
カルタツ ブ原体	10 × 1	経口	24	5	250	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.004	1	0.4	-
	10 × 5	経口	6	5	250	4	0	2	0	2	0	0	0	0	0	4	0.016	4	1.6	-
	100 × 1	経口	24	5	250	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100 × 5	経口	6	5	250	8	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.004	1	0.4	-
陽性対照 (TEM)	0.5 × 1	腹腔内	24	5	250	67	10	82	22	17	1	26	9	1	>158	>0.632	93	37.2	+	

TEM：トリエチレンメラミン

判定：-：陰性、+：陽性

(5) カルタップ原体の幼若ラットを用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 8-3)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1976年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：Wistar系雄幼若ラット（3週齢）、1群5匹

試験方法：検体を蒸留水に溶解し、200 mg/kgの用量で1回強制経口投与および30 mg/kgの用量で1回腹腔内投与した。陰性対照群として無処理群、陽性対照群として2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2) 240 mg/kgの1回腹腔内投与群を設けた。

投与後6および24時間に動物を屠殺した。分裂中期像を集めるため、屠殺前2時間にコルヒチン (4 mg/kg) を腹腔内投与した。大腿骨から骨髓細胞を採取してメタノール固定後、ギムザ染色を施し、骨髓細胞の染色体標本作製した。

1個体当たり50個の分裂中期像について染色体異常の有無を調べた。

投与量設定根拠；

試験結果：観察結果を次頁に示した。

30 mg/kgの用量で腹腔内投与した幼若ラットでは、投与直後に死亡する個体が多く、6時間処理群では2個体が得られたのみであった。

染色体異常の出現頻度について、いずれの投与群においても、無処理群との間に有意な差はみられなかった。

一方、AF-2を用いた陽性対照群では、異常細胞が9.2%と高率に出現し、溶媒対照群と比べて著しい増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下においてカルタップ原体は幼若ラットの骨髓細胞に対して染色体異常誘発性を有しないと結論した。

観察結果

薬物	投与量 (mg/kg)	投与 経路	投与後 の採取 時間 (hr)	動物 数	観察 細胞数	ギャップ		異常数				構造異 常細胞		判定
						染色 分体型	染色体 型	切断		合計		細胞 数	%	
								染色分 体型	染色体 型	異常数	細胞 当たり			
陰性対照 (無処理)	—	—	—	5	250	6	0	1	0	1	0.004	1	0.4	
カルタップ原体	200	経口	6	5	250	9	0	2	0	2	0.008	2	0.8	-
	30	腹腔内	6	2 ^{a)}	100	1	1	0	0	0	0	0	0	-
	200	経口	24	5	250	4	1	2	0	2	0.008	2	0.8	-
	30	腹腔内	24	5	250	4	0	0	0	0	0	0	0	-
陽性対照 (AF-2)	240*	腹腔内	6	5	250	69	0	28	1	29	0.116	23	9.2	+

AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

判定：-：陰性、+：陽性

*：50 mL (1% CMC 懸濁液) /kg

a)：投与直後に死亡する個体が多く、2個体が得られたのみであった

(6) カルタップ原体のマウスを用いた *in vivo* 染色体異常試験

(資料 8-3)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1976年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：CF-1系雄マウス（9～11週齢）、1群5匹

試験方法：検体を、投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水に溶解し、10、100および150 mg/kgの用量で1回または5日間連続強制経口投与した。溶媒対照群には蒸留水10 mL/kgを1回経口投与、陽性対照群にはトリエチレンメラミン (TEM) 0.5 mg/kgを1回腹腔内投与した。

1回投与群では投与後24時間、5日間連続投与群では最終投与後6時間に動物を屠殺した。分裂中期像を集めるため、屠殺前2時間にコルヒチン (4 mg/kg) を腹腔内投与した。大腿骨から骨髓細胞を採取してメタノール固定後、ギムザ染色を施し、骨髓細胞の染色体標本作製した。1個体当たり50個の分裂中期像について染色体異常の有無を調べた。

投与量設定根拠：

試験結果：観察結果を次頁に示した。

いずれの投与群においても、異常細胞の出現率は2%以下であり、ギャップの頻度についても、溶媒対照群との間に有意な差はなかった。

一方、TEMを用いた陽性対照群では、異常細胞が38.8%と高率に出現し、溶媒対照群と比べて著しい増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下においてカルタップ原体はマウスの骨髓細胞に対して染色体異常誘発性を有しないと結論した。

観察結果

薬物	投与量 (mg/kg/日×回数)	投与経路	投与後の採取時間 (hr)	動物数	観察細胞数	ギャップ		異常数									構造異常細胞		判定
						染色分体型	染色体型	切断		断片	環状	交換	多重	その他	合計		細胞数	%	
								染色分体型	染色体型						異常数	細胞当たり			
溶媒対照 (蒸留水)	10 mL/kg × 1	経口	24	5	250	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
カルタツ ブ原体	10 × 1	経口	24	5	250	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	10 × 5	経口	6	5	250	9	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0.004	1	0.4	-
	100 × 1	経口	24	5	250	8	1	0	0	4	0	0	0	0	4	0.016	2	0.8	-
	100 × 5	経口	6	5	250	14	2	3	1	1	0	0	0	0	5	0.020	5	2.0	-
	150 × 1	経口	24	5	250	12	0	1	1	0	0	0	0	0	2	0.008	2	0.8	-
	150 × 5	経口	6	5	250	11	0	2	0	1	0	0	0	2	5	0.020	5	2.0	-
陽性対照 (TEM)	0.5 × 1	腹腔内	24	5	250	138	9	168	11	43	1	12	1	0	>236	>0.944	97	38.8	+

TEM：トリエチレンメラミン

判定：-：陰性、+：陽性

(7) カルタップ原体のマウスにおける優性致死試験

(資料 8-3)

試験機関：武田薬品工業株式会社

報告書作成年：1976年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：CF-1系雌雄マウス（9～11週齢）、1群雄1匹あたり雌1匹の割合

試験方法：検体を、投与液量が10 mL/kgとなるように蒸留水に溶解し、雄マウスに100 mg/kgの割合で1回または5日間連続強制経口投与した。溶媒対照群には蒸留水10 mL/kgを1回経口投与、陽性対照群にはトリエチレンメラミン（TEM）0.2 mg/kgを1回腹腔内投与した。

これら処理をした雄マウスを個別飼育し、投与終了の翌日から6週間にわたり無処理の未經産発情雌と週1回または2回交配させた。交配の際には雄1個体に対し雌1個体を終夜配し、翌日膈栓の認められた雌を分離飼育し、妊娠成立の有無を観察した。妊娠した雌について、黄体数、着床数、生存胚数および死亡胚数を調べ、着床前卵の死亡率、着床卵生存率および雄の精子形成過程における誘発優性致死率を求めた。誘発優性致死率が20%を超える場合に、優性致死誘発性があると判定した。

投与量設定根拠：

試験結果：結果を次頁に示した。

いずれの検体投与群においても、各週の妊娠率、1母動物当りの黄体数と着床数、着床前卵の死亡率、1母動物当りの生存胚数と死亡胚数、着床卵生存率において溶媒対照群との間に有意な差はみられず、誘発優性致死率も10%を超えることはなかった。

一方、TEMを用いた陽性対照群では、第2週で着床卵生存率が著しく低下し、誘発優性致死率は46.32%と有意な増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下においてカルタップ原体はマウスに優性致死誘発性を有しないと結論した。

試験結果

薬物	投与量 (mg/kg/日×回数)	投与経路	投与後 交配 (週)	妊娠率 (%)	黄体数 /妊娠雌 ±S. D.	着床数 /妊娠雌 ±S. D.	死亡胚数 /妊娠雌 ±S. D.	生存胚数 /妊娠雌 ±S. D.	着床前卵 死亡率 (%)	着床卵 生存率 (%)	誘発優性 致死率 J* (%)
溶媒対照 (蒸留水)	10 mL/kg × 1	経口	1-6	88.6	13.01±1.40	10.97±2.84	2.42±1.71	8.55±2.76	15.70	77.94	-
カルタッ プ原体	100 × 1	経口	1	97.1	13.03±1.88	11.18±2.42	2.47±1.73	8.71±2.32	14.22	77.89	-1.87
			2	86.8	12.97±1.72	10.88±2.98	2.76±2.87	8.12±2.84	16.12	74.65	5.03
			3	87.5	13.71±1.54	12.68±1.94	2.54±1.67	10.14±2.68	7.55	80.00	-18.60
			4	94.1	12.88±1.75	11.13±3.56	2.81±1.97	8.31±2.87	13.59	74.72	2.81
			5	77.8	13.64±1.34	12.00±1.04	2.79±2.29	9.21±2.15	12.04	76.79	-7.72
			6	89.5	12.88±1.58	10.53±2.90	2.06±2.16	8.47±2.87	18.26	80.45	0.94
	100 × 5	経口	1	97.3	12.47±1.93	10.31±3.44	2.53±1.54	7.78±3.14	17.37	75.47	9.01
			2	87.2	13.00±1.71	10.94±3.36	3.00±2.15	7.94±2.93	15.87	72.58	7.13
			3	90.3	12.68±1.59	11.25±2.76	2.89±1.81	8.36±2.53	11.27	74.29	2.22
			4	92.3	12.75±2.14	10.75±3.05	2.75±1.36	8.00±3.10	15.69	74.42	6.43
			5	100.0	13.00±1.46	10.80±3.03	2.20±1.78	8.60±3.11	16.92	79.63	-0.58
			6	87.5	12.71±0.99	10.43±3.34	2.21±1.25	8.21±3.12	17.98	78.77	3.98
陽性対照 (TEM)	0.2 × 1	腹腔内	1	88.9	13.25±1.29	10.00±2.13	4.81±1.91	5.19±2.04	24.53	51.88	39.30
			2	94.4	12.29±2.05	9.29±2.71	4.71±1.79	4.59±2.15	24.40	49.37	46.32
			3	94.1	12.94±2.11	11.19±3.08	4.13±2.25	7.06±3.21	13.53	63.13	17.43
			4	100.0	13.13±1.59	12.31±1.40	3.56±2.42	8.75±2.59	6.19	71.07	-2.34
			5	94.4	13.53±1.37	11.94±2.22	3.12±2.18	8.82±3.28	11.74	73.89	-3.16
			6	86.7	12.92±2.06	11.54±3.31	2.69±1.55	8.85±3.29	10.71	76.67	-3.51

TEM : トリエチレンメラミン

$$\text{誘発優性致死率 } *J = \left(1 - \frac{\text{検体投与群における各週の1母動物当りの生存胚数}}{\text{溶媒対照群における各週の1母動物当りの生存胚数}} \right) \times 100$$

(8) カルタップ原体のマウスを用いた宿主経路試験

(資料 8-1)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

報告書作成年：1976年

検体：カルタップ原体

検体純度：

供試動物：ICR系雄マウス、1群各6匹、7週齢、体重：32.4±1.5g

試験方法：検体を20および60mg/kgの用量でマウスに24時間間隔で2回強制経口投与した。2回目の投与直後、ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* G46株) を腹腔内に注入し、その3時間後に腹腔内菌液を回収し、突然変異率を求めた。溶媒対照には水、陽性対照にはジメチルニトロソアミン (DMN、50mg/kg、1回経口投与) を用いた。

また、ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*S. typhimurium* G46株) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。試験は2連制とし、10、100および1000μg/プレートの3濃度で、プレート法で1回行った。陽性対照としてβ-プロピオラクトンを用いた。

投与量設定根拠；

試験結果：結果を次頁に示した。

検体投与群では溶媒対照群と比較して、突然変異率の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群のDMNでは溶媒対照群と比較して突然変異率の有意な増加が認められた。また、G46株を用いた *in vitro* における復帰突然変異試験の結果は陰性であった。

以上の結果より、カルタップ原体は本試験条件下で突然変異誘発性を有しないと判断された。

表 1 宿主經由試験

薬物	総投与量 (mg/kg/ 日×回数)	復帰変異菌数/mL	生存菌数 × 10 ⁸ /mL	復帰変異菌数/生存菌数 × 10 ⁸ (平均値±S. D.)
溶媒対照 (水)	0 ^{a)}	15.83	54.8	0.29
		17.50	58.2	0.30
		12.50	42.6	0.29
		8.33	50.8	0.16
		4.17	53.3	0.08
		16.67	42.1	0.40
(0.25±0.11)				
カルタップ原体	20×2	12.50	34.0	0.37
	20×2	6.67	40.9	0.16
	20×2	10.83	55.4	0.20
	20×2	14.17	52.1	0.27
	20×2	11.67	50.5	0.23
	20×2	14.17	51.3	0.28
	60×2	3.33	47.4	0.07
	60×2	30.83	40.2	0.77
	60×2	10.00	62.7	0.16
	60×2	13.33	67.5	0.20
	60×2	8.33	81.6	0.10
	60×2	20.83	76.5	0.27
(0.25±0.07)				
陽性対照 (DMN)	50	3810.00	46.0	82.83
	50	2046.67	40.9	50.04
	50	2693.33	52.7	51.11
	50	3763.33	46.9	80.24
	50	4140.00	69.6	59.48
	50	2106.67	45.7	46.10
(61.63±16.04 ^{***})				

a) 20 mL/kg *** : p < 0.001 (Aspin-Welch の t 検定、両側)

DMN : ジメチルニトロソアミン

表 2 復帰突然変異試験 (*S. typhimurium* G46 株)

薬物	カルタップ原体				β-プロピオラクトン
	濃度 (µg/プレート)	0	10	100	1000
復帰変異コロニー数/プレート	1	2	5	3	81
	2	2	0	1	118