

8.4 亜急性毒性

8.4.1 イヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.1)

試験機関

報告書作成年 2013 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時 5~6 カ月齢

投与期間： 13 週間 (雄：2011 年 9 月 6 日~2011 年 12 月 6 日)
(雌：2011 年 9 月 15 日~2011 年 12 月 15 日)

投与方法： 検体を 0、100、1000 及び 10000 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって 1 日 1 回 300 g を給餌し、摂食させた。検体を混入した飼料は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；一般症状及び生死を毎日観察した。

死亡は認められなかった。また、検体投与の影響は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前と投与期間中 1 週間に 1 回、全例を対象として、以下の項目について観察した。

ケージ内：自発運動、異常体位/姿勢、異常行動、振戦、痙攣

ケージ外での社交性

オープンフィールド：自発運動、異常体位/姿勢、異常行動、振戦、痙攣、歩行異常、呼吸状態、皮膚及び被毛の変化、眼球、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化、流涎、流涙、分泌物、眼球結膜、口腔粘膜、異常発声、排

便、排尿、聴覚驚愕反応、接触刺激に対する反応
触診： 外表の異常、筋肉の変化

検体投与の影響は認められなかった。

体重変化； 全動物について投与開始 1 週間前、投与直前及び投与期間中毎週 1 回体重を測定した。さらに、全動物について剖検前に最終体重を記録した。

検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量； 全動物の摂餌量を馴化期間中及び投与期間中毎日測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		100	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.68	26.8	266
	雌	2.75	26.9	270

血液学的検査； 投与開始前、投与 7 週及び 13 週時に全ての動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。検査動物は採血前に一晩絶食させた。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球数容積、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球血色素量、赤血球分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網状赤血球数 (Retics)、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、白血球数 (WBC)、白血球ディファレンシャルカウント (リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

全ての投与群で検体投与の影響は認められなかった。

1000 ppm 以上の投与群の雌において、13 週時に好中球の有意な増加が認められた。

これらは両投与群の各 2 例の動物 (動物番号 30, 32, 33 および 36) で好中球の増加が認められたことに起因するが、これらの動物のうち、1000 ppm 投与群の 2 例及び 10000 ppm 投与群の 1 例には病理組織学的検査において皮膚炎が認められたため、検体投与との関連のない二次的な増加と判断した。10000 ppm 投与群の残り 1 例 (動物番号 33) には皮膚炎は認められなかったが、好中球数は背景データをわずかに逸脱するのみであり、関連する血液学及び病理組織学的変化も認められず、また同投与群の他 3 例の好中球数がいずれも背景値の範囲内であったため、検体投与との関連がない偶発的なものと判断した。【申請者注：個体別測定値によると、さらに 1000 及び 10000 ppm 投与群の各 1 例についても好中球が高かった。しかし、これらはいずれも背景値の範囲内であった。】

1000 ppm 投与群の雌で 13 週時に認められた白血球数及び単球の有意な増加には用量との関連性はなく、偶発的なものと判断した。

同投与量で認められた網状赤血球の有意な増加には用量との関連性がなく、投与前の測定値でも有意差が認められていたため、検体投与との関連がない偶発的なものと判断した。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン(Alb)、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖(Gluc)、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム(Ca)、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

統計学的に有意な変化が認められた血液生化学的検査項目を次表に示す。

10000 ppm 投与群の雌雄において、ALP の有意な上昇が認められた。雄では肝臓重量の有意な増加に加えて病理組織学的検査における肝臓の小葉中心性肝細胞肥大を伴っていたため、検体投与による毒性と判断したが、雌では関連する検査項目に変化が認められなかったため、検体投与の影響ではあるが毒性学的意義はないと判断した。

1000 ppm 投与群の雌雄で ALP の有意な上昇または上昇傾向が認められたが、雄は肝臓重量の対体重比で有意な増加を示しているものの、病理組織学的変化やその他の関連する検査項目の変動を伴っていないこと、また雌は 13 週時の検査で全て背景値の範囲内であり、関連する検査項目の変動を伴っていないことから、いずれも検体投与の影響ではあるが毒性学的意義はないと判断した。

全ての投与群の雄で 7 週時と 13 週時の Alb 及び Ca の有意な低下と低下傾向が認められたが、偶発的に対照群の値が高値傾向であったことに加え、個体別の数値はすべて背景範囲内であったため、検体投与との関連のない偶発的变化と判断した。

雄の 1000 ppm 投与群で認められた Gluc の有意な低下には用量との関連性がないため、偶発的なものと判断した。

尿検査； 投与開始前及び投与 7 及び 13 週時に、すべての動物に関する尿検査を以下の項目について行った。

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

検体投与の影響は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前及び投与 13 週時に全動物について、検眼鏡を用いて以下の部位を観察した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体、硝子体、眼底

検体投与の影響は認められなかった。10000 ppm 投与群の雄の 1 例で 13 週時に角膜の混濁がみられたが、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査においても異常が認められなかったため、検体投与の影響ではないと判断した。

臓器重量；投与終了時に計画殺した全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

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

*胆のうから胆汁を排出した後計量

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

雄の 10000 ppm 投与群で認められた肝臓の絶対重量および対体重比の有意な増加は、血液生化学的検査における ALP の上昇、組織学的検査における小葉中心性肝細胞肥大を伴っていたため、検体投与による毒性と判断した。

雄の 1000 ppm 以下の投与群において肝臓の対体重比の有意な増加が認められたが、絶対重量に有意な増加はみられず、組織学的変化を伴っていないため、毒性学的意義はないと判断した。雌では検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与の影響が認められた項目を下表に示す。

雄の 10000 ppm 投与群で 1 例に肝臓腫大が認められた。これは検体投与による影響と考えられた。その他の投与群では検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査；すべての動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、咽頭、唾液腺（顎下腺及び耳下腺）、食道、胃（噴門部、胃底部及び幽門部）、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺（主要気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮（角部、体部及び頸管部）、膾、眼球（網膜及び視神経を含む）、涙腺、骨格筋（下腿三頭筋）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与に関連した病理組織学的変化を下表に示す。

10000 ppm 投与群の雄で小葉中心性肝細胞肥大が 1 例に認められた。この変化は毒性変化と考えられた。その他の投与群では病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する飼料混入による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、10000 ppm 投与群の雄における ALP 上昇、肝臓腫大、肝臓重量増加及び小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

従って、本試験における本剤の無毒性量は雄で 1000 ppm、雌で 10000 ppm (雄 26.8 mg/kg/day、雌 270 mg/kg/day)であると判断される。

8.4.2 ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.2)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物： Wistar Hannover 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間： 13 週間 (雄；2010 年 7 月 6 日～10 月 5 日)

(雌；2010 年 7 月 13 日～10 月 12 日)

投与方法： 検体を 0、600、6000 及び 20000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態と生死を毎日観察した。

いずれの投与群においても一般状態に有意な変化はなく、投与期間中の死亡・切迫
殺動物もなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前に 1 回及び投与期間中は 1 週間に 1 回、全動物を対象として、
以下の項目について観察した。

ケージ内： 興奮、鎮静、異常姿勢、異常行動

ハンドリング： 取り扱い難さ、筋緊張の変化、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化、流涎、流涙、
分泌物、眼球突出、体温の変化、呼吸異常音、被毛の変化、皮膚及び可視粘膜
の変化

ケージ外： 跳躍、旋回、痙攣、歩行異常、自発運動、身づくろい動作、立ち上がり姿勢、
呼吸、発声、立毛、排尿、排便、異常姿勢、異常行動

いずれの項目にも統計学的に有意な変化は認められなかった。

機能検査；投与11週時に全ての動物を対象として、以下の項目の測定を行った。

自発運動量、握力（前肢及び後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応及び空中立ち直り反射）

検体投与に関連する異常は認められなかった。

体重変化；投与開始時及び投与期間中毎週1回、全生存動物について体重を測定した。

いずれの投与群においても、対照群の体重と同程度の値で推移した。

摂餌量；全ケージについて、投与期間中毎週1回、連続3日分のケージ別摂餌量を測定した。

いずれの投与群においても、対照群と同程度の値で推移した。

食餌効率；投与期間中毎週、1週間ごとの群平均体重増加量をそれぞれの群平均摂餌量で除して算出した。

いずれの投与群においても、食餌効率は対照群と同程度であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		600	6000	20000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	39.9	402	1331
	雌	43.3	467	1594

眼科学的検査；馴化期間中に全動物について、また投与13週時に対照群及び20000 ppm群の全生存動物について、ハロゲン検眼鏡による以下の部位の検査を実施した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体/硝子体、眼底

投与13週時の検査において、20000 ppm投与群の雌雄で検体投与に関連する異常は認められなかった。

尿検査；投与13週時に全動物について、以下の項目を検査した。

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

統計学的有意な変化が認められた項目を次表に示す。

雌の 600 及び 6000 ppm 投与群にてウロビリノーゲン及びケトン体の統計学的有意な減少が認められた。これらの変化には投与用量との相関性がないため、検体投与との関連はないと考えられた。

血液学的検査；13 週間投与終了時に全動物を対象として後大静脈から採血し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、赤血球容積分布幅、赤血球色素量分布幅、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント (リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

すべての投与群の雌で APTT の統計学的に有意な延長が認められた。これらのうち、20000 ppm 投与群における APTT の延長は、高用量群でみられていること、またその値がその他の投与群よりも高い (対照群値の 110%、Dunnet の多重比較法にて危険率 0.01 以下) ことから、検体投与に関連していると考えた。一方、6000 及び 600 ppm 投与群における APTT の延長は、投与用量との明らかな相関性がないことから検体投与が関連する可能性はないと考えられた。6000 ppm 投与群の雄では大型非染色球の統計学的に有意な増加が認められたが、用量相関性が認められず偶発的な変

化と考えられた。

血液生化学的検査；13週間投与終了時に全動物について、以下の項目を検査した。

アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、クレアチニン(Creat)、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

全投与群の雌雄で T.Bil の統計学的に有意な減少が認められたが、この検査項目の減少に毒性学的意義はないと判断した。600 ppm 投与群の雌では Creat の統計学的に有意な増加が認められたが、投与用量との相関性がないため偶発的な変化であると判断した。

臓器重量；13週間投与終了後の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上部、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。

20000 ppm 投与群の雌で、心臓、肝臓及び卵巣の絶対重量ならびに対体重比が統計学的に有意に増加し、検体投与の影響であると考えられた。

6000 および 600 ppm 投与群では雌の肝臓の絶対重量が有意に増加したが、対体重比に有意差はなかったため有害作用とは考えなかった。

600 ppm 投与群ではさらに、雌で心臓、肝臓、卵巣の絶対重量が有意に増加した。これらの変化は投与用量との相関性がないため偶発的なものであると判断した。

肉眼的病理検査；13 週間投与試験終了後の全生存動物について剖検を行った。

いずれの投与群でも有意な変化は認められなかった。

病理組織学的検査；0 及び 20000 ppm 投与群の全例の以下の組織及び臓器、ならびに 600 及び 6000 ppm 投与群の雌の心臓及び卵巣ならびに雌雄の肝臓、副腎及び肉眼的異常部位について病理組織学的検査を行った。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓（胸骨、大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮（角部及び頸部）、膈、眼球（網膜及び視神経を含む）、ハーダ一腺、骨格筋（下腿三頭筋）、膝関節、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）、肉眼的異常部位

いずれの投与群でも有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響として、20000 ppm 投与群の雌における APTT の延長、肝臓、心臓及び卵巣重量の増加が認められたので、無毒性量は雄 20000 ppm、雌 6000 ppm（雄：1331 mg/kg/day、雌：467 mg/kg/day）であると判断される。

8.4.3 マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.3)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体の純度: %

供試動物: ICR 系マウス、1 群雌雄各 12 匹、投与開始時 5~6 週齢

投与期間: 13 週間 (2011 年 3 月 16 日~6 月 17 日)

投与方法: 検体を 0、200、1200 及び 8000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を毎日観察し、週 1 回詳細な身体検査を行った。

試験期間を通して検体投与に関連する所見及び死亡は認められなかった。

体重変化: 投与開始 1 週間前、投与開始からは週 1 回及び最終解剖前にすべての動物の体重を測定した。

試験終了時の体重及び投与開始時から終了時までの体重増加量を下表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	200	1200	8000	200	1200	8000
最終体重	99	105	108	95	109	96
体重増加量	97	119	↑137	88	126	90

Williams または Dunnett 検定 ↑↓; $P < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

1200 及び 8000 ppm 投与群の雄において、体重増加量が有意に増加あるいは増加傾向を示した。マウスでは体重変動が大きいため、体重増加量の増加は有害作用ではないと考えられた。また、雌の 1200 ppm 投与群で体重増加量の増加傾向が認められたが、8000 ppm 投与群で同様の所見が認められなかったため、検体投与との関連はないと判断した。

摂餌量； ケージ別の摂餌量を投与開始 1 週間前から週 1 回測定した。これらの記録から各ケージについて動物 1 匹あたりの週平均摂餌量を算出した。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		200	1200	8000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	27	159	1023
	雌	34	179	1350

血液学的検査； 最終解剖時に全動物を対象として、イソフルラン吸入による全身麻酔下で眼窩静脈洞より採血し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素濃度、赤血球数(RBC)、網状赤血球数(Retic)、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球容積、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント(好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色球)、血小板数

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

8000 ppm 投与群の雄において Retic が有意に増加したが、RBC に変化が見られなかった。雄の全ての投与群で好中球が有意に低下したが、1200 ppm 投与群の 1 例を除き、全ての個体別データが背景範囲内 (90 パーセントイル範囲： $0.46 \times 10^9 \sim 3.55 \times 10^9/L$, $n=204$) であった。雌の全ての投与群で RBC が有意に増加した。

雌の全ての投与群で好塩基球が有意に増加したが、8000 ppm 投与群の 1 例を除き、全ての個体別データが背景範囲内 (90 パーセントイル範囲： $0.00 \times 10^9 \sim 0.03 \times 10^9/L$, $n=202$) であった。以上の結果から、有意差の認められた検査項目は全て、軽度の変化または用量との関連性あるいは雌雄の一貫性がないため、検体投与との関連のない通常の生物学的変動の範囲内と考えられた。

血液生化学的検査； 最終解剖時に全動物を対象として眼窩静脈洞より採取した血液から得られ

た血漿を用い、以下の項目を検査した。

ア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、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、総ビリルビン(T.Bil)、尿素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、ナトリウム、カリウム(K)、塩素(Cl)、カルシウム、無機リン(P)、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比(計算により算出)

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

全ての投与群で T.Bil の有意な減少または減少傾向が認められたが、大部分の動物が背景範囲内(90パーセンタイル範囲:雄 1~4 $\mu\text{mol/L}$ 、 $n=115$ 、雌 1~3 $\mu\text{mol/L}$ 、 $n=115$)にあった。その他の有意な変動も全て用量との関連性及び雌雄の一貫性を欠いていた。以上の結果から、認められた全ての統計学的に有意な変動は検体投与との関連のない通常の生物学的変動の範囲内と考えられた。

臓器重量; 試験終了時に全動物を対象として以下の臓器の重量を測定し、剖検前の体重による補正值及び対体重比を算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、子宮及び子宮頸部

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

雄の全ての投与群において肝臓重量（体重補正值及び対体重比）が、8000 ppm 投与群で腎臓重量（体重補正值及び対体重比）が有意に低下した。これらは絶対値が全て背景範囲内であり（90 パーセンタイル範囲は雄の腎臓重量が 0.53～0.91 g、n=162、雄の肝臓重量が 1.49～2.60 g、n=162）、用量との関連性及び雌雄の一貫性がないため、検体投与との関連がない偶発性の変化と考えられた。また、雌の 8000 ppm 投与群で肝臓の対体重比が有意に増加した。8000 ppm 投与群の雌の絶対肝臓重量は 1 例を除き全て対照群の重量値の範囲内であった。また、対照群を含む各群で、一部の肝臓重量が背景範囲（90 パーセンタイル範囲：1.15～2.04 g、n=164）を超えた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見はなかった。認められた所見はいずれも一般的な背景に一致するものであり、検体投与に関連した所見は認められなかった。

病理組織学的検査；以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

対照群及び 8000 ppm 投与群：副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼球、大腿骨*、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺、リンパ節（下顎、腸間膜、左腋窩）、食道、視神経、卵巣、膵臓、パイエル板、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺*（顎下腺、舌下腺）、坐骨神経*、精嚢、骨格筋*、皮膚及び乳腺、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、膣、肉眼的異常部位

*：片側のみ検査した

200 及び 1200 ppm 投与群：腎臓、肝臓、肺、肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見はなかった。認められた所見はいずれも一般的な背景に一致するものであり、検体投与に関連した所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験の影響は 8000 ppm 投与群においても認められなかったため、無毒性量は雌雄共に 8000 ppm (雄: 1023 mg/kg/day、雌: 1350 mg/kg/day)と判断される。

8.4.4 ラットを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験 (資料 No. T-2.4)

試験機関

報告書作成年 2013 年 [GLP 対応]

検体の純度: %

供試動物: SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 7~8 週齢

試験期間: 4 週間 (2011 年 9 月 29 日~10 月 28 日)

試験方法: 検体を 0、100、300 及び 1000 mg/kg/day の投与用量になるように 0.2 mL の精製水で湿らせ、4 週間にわたって毎日、刈毛した背部皮膚に少なくとも 1 日 6 時間半閉塞貼付した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 健康状態及び投与への反応を 1 日 2 回観察し、投与後 1 週間は毎日、投与後 2~4 週間は週 2 回詳細な観察をした。さらにより詳細な身体検査を週 1 回実施した。投与前に毎日、投与部位皮膚の刺激性を Draize の基準に従って評価した。

雌の 100 mg/kg/day 投与群の 1 例で投与 20 日から、投与中に頭部腫脹、呼吸速迫を伴う苦悶を呈し、投与 26 日には頭部に青紫色の腫脹部位を認めため、動物福祉の観点から切迫殺した。病理組織学的検査の結果、この動物の皮膚には潰瘍、表皮過形成、皮膚炎及び皮下の線維化が認められた。これらの所見から、この動物の死因はおそらくケージと接触したことによる外傷であり、検体投与との関連のない偶発的なものと判断した。その他には試験期間を通して検体投与による一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

体重変化； 投与開始 7 日前、2 日前、投与開始時、1 週間毎及び剖検前に、すべての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項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (mg/kg/day)	100	300	1000	100	300	1000
体重増加量 (0-4 週)	96	110	97	88	83	↓72

Williams 検定 ↑ ↓ ; $P < 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

雌の 1000 mg/kg/day 投与群において、0~4 週までの体重増加量が有意に低下した。同群の 3 例の動物の体重増加量が低値 (12~18 g)であったが、いずれも背景対照値の範囲内 (-7~100 g)であった。また、雄では同様の影響はなく、摂餌量及び臨床所見にも検体投与の影響がなかったため、偶発的な変化と考えられた。

試験実施施設における SD シラットを用いた 4 週間経皮投与試験の体重増加量 (0-4 週)：雌

試験名	本試験		A	B	C	D	E	F
	1000 mg/kg/day 群	対照群						
試験実施年	2011		2007	2009	2010	2010	2011	2012
投与開始日齢	50-57		63-70	56-63	67-74	54-61	54-61	41-47
体重増加量 (平均値)	36	49	9	25	23	49	41	66
(最少値/最大値)	12/61	24/75	-7/21	11/45	5/35	32/68	16/64	50/100

摂餌量； 全動物の摂餌量を投与 1 週間前から試験終了まで毎週 1 回測定した。
検体投与に伴う変化はなかった。

血液学的検査；最終解剖時に全動物を対象として舌下静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット、血色素量、赤血球数、網状赤血球数、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント(好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色球)、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

血小板数、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

4週間投与後の血液学的検査において、300 mg/kg/day 以上の投与群の雌で MCHC
の有意な増加が、雄の 1000 mg/kg/day 投与群で PT の有意な増加が認められたが、
いずれも対照群との差が僅かで、用量との関連性及び雌雄の一貫性がなかったため、
検体投与と関連のない偶発的変化と判断した。

血液生化学的検査；最終解剖時に全動物を対象として、舌下静脈より採血した血液から血漿を
分離し、以下の項目の測定を行った。

ア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、アスパラギン
酸アミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、総ビリル
ビン(Bili)、尿素、クレアチニン(Creat)、血糖、総コレステロール(Chol)、トリ
グリセリド、ナトリウム(Na)、カリウム、塩素(Cl)、カルシウム、無機リン、
総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比（計算により算出）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

雌の全ての投与群及び雄の 1000 mg/kg/day 投与群で Bili の有意な減少が、また雌
の 1000 mg/kg/day 投与群で Creat の有意な減少が認められたが、全ての個体別値
が背景データの範囲内であったため、検体投与と関連のない変化と判断した。その
他の統計学的有意差が認められた全ての検査項目は、用量との関連性がないか雌雄
の一貫性がなく、また軽微でほとんどの測定値が背景データの範囲内であったため、
検体投与と関連のない変化と判断した。

尿検査； 剖検直前に全動物を対象として一晚蓄尿し、以下の項目を検査した。

外観、尿量、pH、比重、蛋白質、尿糖、ケトン体、胆汁色素、ウロビリノーゲン、血色素、尿沈渣

検体の投与に関連のある異常は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前に全動物を、投与後4週時に対照群及び1000 mg/kg/day 投与群の全動物を検査した。

検体の投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量；試験終了時に全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、剖検前の体重による補正値を算出し、対体重比を算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、肺及び気管幹、卵巣、下垂体、前立腺、唾液腺、精嚢、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、子宮及び子宮頸部

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

統計学的有意差が認められた項目は、いずれも用量との関連性、並びに雌雄間の一貫性がなかったため、検体投与と関連のない偶発性の変化と判断した。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行った。

検体の投与に関連のある異常は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び1000 mg/kg/day 投与群の全動物について、以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼球、大腿骨、心臓、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

回腸、空腸、腎臓、涙腺、咽頭、肝臓、肺、リンパ節、食道、視神経、卵巣、
膵臓、パイエル板、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、
皮膚、乳腺、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、
膀胱、子宮及び子宮頸部、膣、肉眼的異常部位

検体投与に関連する所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する 28 日間経皮投与試験において、検体投与による影響は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/day であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.4.5 ラットを用いた 90 日間反復吸入毒性試験

急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性を有するおそれがないと考えられるため、試験を省略した。

8.4.6 ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与神経毒性試験 (資料 No. T-2.5)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 5~6 週齢

投与期間： 13 週間 (2012 年 5 月 7 日~2012 年 8 月 9 日)

投与方法： 検体を 0、600、3100 及び 16000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料はほぼ 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

臨床観察：健康状態及び投与への反応を 1 日 2 回観察した。さらに詳細な身体検査を週 1 回行
った。

試験期間中、いずれの投与群においても、死亡は発生せず、投与に起因した臨床症
状は認められなかった。

体重変化：投与 1 週間前、開始から毎週 1 回及び剖検前に、すべての動物の体重を測定した。
投与による統計学的に有意な変化は認められなかった。

摂餌量：投与 1 週間前から毎週、ケージ毎の摂餌量を測定し、1 匹あたりの週間平均摂餌量
を算出した。

投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		600	3100	16000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	40	204	1085
	雌	49	240	1279

機能観察バッテリー；試験開始前、試験開始後 2、4、8 及び 13 週時に全動物を対象として、以下の項目を検査した。

ケージ内； 姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、眼瞼閉鎖、発声

ハンドリング時； ケージからの取り出し易さ、流涎、流涙、眼球突出、立毛、
被毛の状態、保定時の啼鳴及び反応性

アリーナでの観察；覚醒度、歩行、身づくろい、活動カウント、立ち上がり回数、
眼瞼閉鎖、姿勢、振戦、筋攣縮、痙攣、排尿、脱糞

操作時の観察； 接近反応、接触反応、聴覚驚愕反射、尾つまみ反応、握力、正
向反射、体温、着地時開脚幅、体重

自発運動量；投与前と投与2、4、8 及び13週目に、各動物の自発運動を、げっ
歯類活動モニタリングシステム (version 2.0.3、ハードウェア：
Pearson Technical Services より供給、ソフトウェア：
Huntingdon Life Sciencesが開発・メンテナンス)を用いて測定
した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

16000 ppm 投与群の雄で4週時に活動スコア及び立ち上がりスコアが有意に低下し、2週時に体温、2週及び4週時に体重が有意に低下した。また雄の全投与群で8週時に着地時開脚幅が有意に増加した。

雄の投与群で自発運動量の有意な低下が散見されたが、変化に一貫性も用量との関連性も認められなかった。また、対照群でスコアの異常高値がしばしばみられたことから、これらの差は投与と関連のない偶発性的変化と判断した。16000 ppm 投与群の雌では4週時の高位置6分において有意な自発運動量の低下が認められた。

眼科学的検査：投与開始前及び13週目に対照群と16000 ppm 投与群の全動物を対象に検眼鏡を用いて検査を行った。

投与による変化は認められなかった。

解剖学的測定；全ての生存動物について、嗅球を除く脳の長さ及び大脳半球の幅を計測した。

投与に起因する変化は認められなかった。

脳重量測定；試験終了時に全ての生存動物の脳重量を測定した。

投与による変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時に全ての生存動物を検査した。

投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群及び16000 ppm 投与群の雌雄各5匹を対象に、バルビタールを腹腔内に投与して麻酔し、4%パラホルムアルデヒド/1.5%グルタルアルデヒド固定液を用いて灌流固定した後、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。坐骨神経及び脛骨神経は樹脂包埋し、トルイジンブルーで染色した。その他はパラフィン包埋し、HE染色した。

脳（前脳、大脳、海馬、視床及び視床下部、中脳蓋及び被蓋、小脳及び橋、延髄）、後根神経線維（頸髄及び腰髄）、後根神経節（頸髄及び腰髄）、眼球（網膜）、視神経、骨格筋（右腓腹筋）、脊髄（頸髄膨大部及び腰髄膨大部）、前根神経線維（頸髄及び腰髄）、右坐骨神経、右脛骨神経

投与による病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による90日間反復神経毒性試験において、検体投与による影響は認められなかったため、本剤の神経毒性に対する無毒性量は、雌雄共に16000 ppm以上（雄：1085 mg/kg/day、雌：1279 mg/kg/day）と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.4.7 ラットを用いた 28 日間反復遅発性神経毒性試験

急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要があると考えられることから試験を省略した。

8.5 慢性毒性及び発がん性.

8.5.1 イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験(資料 No. T-3.1)

試験機関

報告書作成年 2013年.[GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: ビーグル犬、1群雌雄各4匹、開始週齢5~6カ月齢

投与期間: 12カ月(雄; 2012年4月18日~2013年4月18日)
(雌; 2012年4月26日~2013年4月26日)

投与方法: 検体を0、50、150、1000及び10000ppmの濃度で飼料に混入し、1年間にわたって毎朝300gを給餌した。検体を混入した飼料は4週間に1回調製した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般症状及び死亡率; 一般症状及び生死を毎日観察した。

死亡は認められなかった。また、検体投与の影響は認められなかった。

詳細な状態の観察; 投与開始前と投与期間中1週間に1回、全例を対象として、以下の項目について観察した。

ケージ内: 自発運動、異常体位/姿勢、異常行動、振戦、痙攣

ケージ外での社交性

オープンフィールド: 自発運動、異常体位/姿勢、異常行動、振戦、痙攣、歩行状態、呼吸、皮膚/被毛の変化、眼球、眼瞼閉鎖、瞳孔の変化、流涎、流涙、分泌物、眼球結膜、口腔粘膜、異常発声、排便、排尿、聴覚驚愕反応、接触刺激に対する反応

触診: 外表の異常、筋肉の変化

検体投与による変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

体重変化；全動物について投与開始 1 週間前、投与直前及び投与期間中 13 週目までは毎週 1 回、以降は 4 週に 1 回、体重を測定した。さらに、全動物について剖検前に最終体重を記録した。

検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量； 全動物の摂餌量を馴化期間中及び投与期間中毎日測定した。

検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		50	150	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.29	4.07	27.2	259
	雌	1.47	4.20	27.6	288

血液学的検査；投与開始前、投与 13 週、26 週及び 52 週時に全ての生存動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。検査動物は採血前に一晩絶食させた。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、赤血球分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球(LUC))

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

10000 ppm 投与群において、52 週時に雄では LUC、雌では好塩基球の有意な増加がそれぞれ認められたが、いずれも末梢血中の絶対数が著しく少ない血球成分であり、わずかな変化で有意差が付くため、毒性学的な意義はないと判断した。その他に統計学的有意差の認められた検査項目は全て、用量との関連性や検査時期における一貫性を欠くこと、他の検査項目に関連する変動がみとめられないことから、検体投与と関連しない偶発的变化と考えられた。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン、尿素窒素(BUN)、総蛋白(TP)、アルブミン(Alb)、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖(Gluc)、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム(Na)、カリウム、塩素

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

10000 ppm 投与群の雌雄で認められた ALP の有意な上昇は、同群で肝臓重量の増加及び病理組織学的検査における小葉中心性肝細胞肥大の所見が認められたため、検体投与による毒性と判断した。ALP は 150 及び 1000 ppm 投与群でも有意な上昇または上昇傾向を認めたが、胆汁鬱滞 (γ -グルタミルトランスペプチダーゼおよび総ビリルビンの増加) や肝毒性 (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼおよび ALT の増加) の兆候及び病理組織学的検査で毒性所見が認められなかったため、検体投与の影響ではあるものの毒性学的意義はないと判断した。イヌにおける ALP 上昇は、糖質コルチコイド遊離もしくは肝酵素誘導に関連する可能性が考えられている

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

が、肝臓毒性との関連性は不明確である。

Alb と TP の減少が高用量群に認められ、被験物質投与に関連があると考えられたが、用量との明らかな関連はなく、経時的な変動も明らかでないことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。ALT、BUN、Gluc、Na の有意な変化は用量に関連がなく、毒性学的関連性もないため、被験物質投与に関連はないと考えられた。

尿検査； 投与開始前、投与 13 週、26 週及び 52 週時に、すべての生存動物の尿について、以下の項目を検査した。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検体投与による影響は認められなかった。

1000 ppm の投与群の雌において 52 週時に尿沈渣中の上皮細胞の減少が認められたが、用量との関連性がないため、検体投与と関連のない偶発的な変化と判断した。

眼科学的検査；投与開始前及び 52 週時に全生存動物について、検眼鏡を用いて以下の部位を検査した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体／硝子体、眼底

検体投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に計画殺した全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心臓、肝臓（胆のうを含む)*、

腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮

*胆のうから胆汁を排出した後に秤量

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

10000 ppm 投与群の雌雄において肝臓の絶対及び対体重比重量が有意に増加した。本投与量では病理組織学的検査において小葉中心性肝細胞肥大が認められたため、検体投与による毒性と判断した。雄の 1000 ppm 投与群及び雌の 1000 ppm 以下の投与群で認められた肝臓の対体重比の増加には病理組織学的変化が認められなかったため、検体投与の影響ではないと判断した。

10000 ppm 投与群の雌において、甲状腺の絶対重量及び対体重比が有意に増加したが、1 例で偶発性のリンパ球性甲状腺炎がみられたためであり、検体投与とは関連のない偶発的なものと考えられた。

1000 ppm 投与群の雄における副腎の絶対重量の増加には投与用量との関連性がないため、偶発的なものと判断した。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与の影響は認められなかった。

病理組織学的検査；すべての動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

脳 (大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄 (頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓(胸骨及び大腿骨)、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、咽頭、唾液腺 (顎下腺及び耳下腺)、食道、胃 (噴門部、胃底部及び幽門部)、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸 (パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺 (主要気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮 (角部、体部及び頸管

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

部)、膺、眼球 (網膜及び視神経を含む)、涙腺、骨格筋 (下腿三頭筋)、皮膚 (腰背部)、乳腺 (腹部)、肉眼的異常部位

検体投与に関連した病理組織学的変化を次表に示す。

10000 ppm 投与群において、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が雌雄各 1 例ずつ認められた。1000 ppm 以下の投与群においては、雌雄ともに検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する飼料混入による 1 年間反復経口投与毒性試験における影響として、10000 ppm 投与群の雌雄において ALP の上昇、肝臓重量の増加及び小葉中心性肝細胞肥大が認められた。従って、本試験における本剤の無毒性量は、雌雄ともに 1000 ppm (雄 27.2 mg/kg/day、雌 27.6 mg/kg/day) であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.2 ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-3.2)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物： Wistar Hannover 系ラット、1群雄雌各21匹、投与開始時5週齢

投与期間： 12カ月 (雄；2011年2月10日～2012年2月9日)
(雌；2011年2月18日～2012年2月19日)

試験方法： 検体を0、200、2000、6000及び20000 ppmの濃度で飼料に混入し、12カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料はほぼ1週間に1回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察し、腫瘤の触診を含む観察を毎週1回実施した。

投与期間中、人為的ミスで死亡した20000 ppm投与群の雌1例は、試験系から除外した。投与期間中に死亡した同群の雌1例については、総胆管結石が認められた。この変化は同系統のラットに自然発症するものであり、検体投与によるものではないと判断された。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

一般状態にて統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性 別	雄					雌				
	0	200	2000	6000	20000	0	200	2000	6000	20000
投与量 (ppm)	0	200	2000	6000	20000	0	200	2000	6000	20000
検査動物数	21	21	21	21	21	21	21	21	21	20
触毛脱毛	0	15	2	0	1	0	2	2	0	1
四肢：胼胝	0	2	0	3	15	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率計算法 ↑↓; $P \leq 0.05$.

20000 ppm投与群の雄で肢端の胼胝の発生頻度が統計学的に有意に増加した。本所見は同系統のラットに自然発症するものであり、検体投与によるものではないと判断した。200 ppm投与群の雄で統計学的有意な触毛脱毛の増加が認められたが、用量反応性を欠くことから偶発性のものと判断した。

詳細な状態の観察；投与開始前に 1 回および投与期間中毎週 1 回、全動物を対象として以下の項目の観察を行なった。

ケージ内： 興奮、鎮静、異常姿勢、異常行動
 ハンドリング： 取り扱い難さ、筋緊張の変化、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化、流涎、流涙、分泌物、眼球突出、体温変化、異常呼吸音、被毛の変化、皮膚及び粘膜の変化
 ケージ外： 跳躍、旋回、痙攣、歩行異常、自発運動、身づくろい動作、立ち上がり姿勢、呼吸、発声、立毛、排尿、排便、異常姿勢、異常行動

詳細な状態の観察項目のスコアで対照群と比べ統計学的有意差を示した変化を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与群の雌では統計学的に有意な立ち上がりの増加あるいは減少が散見されたが、用量との関連性はなく、偶発的な変化と考えられた。雄では有意な変化はなかった。

機能検査；投与 49 週時に原則として動物番号の小さい各群雌雄 10 匹を対象として自発運動量、握力（前肢、後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射）に関する機能検査を行った。

検体投与の影響と考えられる変化はなかった。

体重変化；投与直前に 1 回、投与開始時から 13 週までは毎週 1 回、16 週以降は 4 週に 1 回、さらに剖検直前にすべての生存動物の体重を測定した。

統計学的有意差が認められた変化を下表に示す。

性 別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	200	2000	6000	20000	200	2000	6000
16 週	99	100	98	99	↑106	102	99	100
24 週	99	99	96	98	↑108	101	100	101
52 週	100	99	96	98	↑113	103	100	103

Dunnett 検定 ↑↓； $P \leq 0.05$ 、

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

200 ppm 投与群の雌で統計学的に有意な増加が 16、24、52 週にて認められたが、用量との関連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。雄では有意な変化はなかった。

摂餌量及び食餌効率；投与直前に 1 回、投与開始時から 13 週までは毎週 1 回、16 週以降は 4 週に 1 回、連続した 4 日間の各ケージの摂餌量を測定した。各ケージの摂餌量及び生存動物数から各ケージにおける 1 日 1 匹あたりの平均摂餌量を算出した。13 週までは食餌効率も算出した。

統計学的有意差が認められた変化を下表に示す。

性 別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	200	2000	6000	20000	200	2000	6000
52 週	98	94	96	100	↑114	101	107	110

Dunnett 検定 ↑↓； $P \leq 0.01$ 、

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

200 ppm 投与群の雌で 52 週目に統計学的に有意な摂餌量の増加が認められたが、用量との関連性はないため、検体投与の影響とは考えなかった。雄では有意な変化はなかった。

食餌効率はいずれの投与群の雌雄ともに対照群と同等であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を下表に示す。

投与量 (ppm)		200	2000	6000	20000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	9.21	89.6	277	955
	雌	11.7	117	358	1213

血液学的検査；投与 14、26 及び 52 週時に、原則として動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 例ずつを対象として、14 及び 26 週時にはイソフルラン麻酔下で頸静脈より、また 52 週時にはイソフルラン麻酔下で後大静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。検査動物は採血前に一晩絶食させた。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、赤血球分布幅、赤血球血色素濃度分布幅、血小板数、網赤血球数、白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

52 週間投与終了後には血液凝固能に関する以下の項目を検査した。

プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

6000 ppm 投与群の雄で 14 週時に統計学的に有意な WBC とリンパ球の減少が認められた。しかし、これらの変化は用量との関連性がないため、偶発的な変化と判断した。

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

アルカリホスファターゼ、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)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン(Creat)、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム(Ca)、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素(Cl)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

全期間を通じ全ての投与群の雌雄において T.Bil の有意な減少が認められた。低ビリルビン血症は重度の貧血やヘム分解の阻害に関連して起こることが知られているが、本試験の血液検査で貧血の兆候は認められておらず、その他の血液生化学的検査や組織検査にて関連する変化は認められていないことから毒性学的意義はないと判断した。その他、20000 ppm 投与群の雌では T.Chol の有意な上昇が 14 週時、Ca の有意な上昇が 14 と 26 週時に認められ、AST の有意な減少が 14 週時、Cl の有意な減少が 26 週時に認められた。また、6000 ppm 投与群の雄では ALT の有意な減少が 52 週時に認められ、雌では T.Chol の有意な増加が 14 週時、Ca の有意な増加が 14 週時に認められ、Creat の有意な減少が 14 週時に認められた。2000 ppm 投与群の雄では ALT の有意な減少が 52 週時、雌で Creat の有意な減少が 14 週時、TG の有意な増加が 26 週時、Ca の有意な増加が 14、26 週時に認められた。200 ppm 投与群の雄では ALT の有意な減少が 14 週時に認められ、雌では Ca の有意な増加が 14 週時に認められた。これらの変化は一時的なもの、あるいは用量との関連性がないことがいずれも偶発的な変化であると判断した。

尿検査；投与 13、25 及び 51 週時に、原則として動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 例ずつを対象として、採取した尿について以下の項目を検査した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

20000 ppm 及び 2000 ppm 投与群の雌で 51 週目に統計学的に有意な潜血の減少が認められたが、毒性学的意義はないと判断した。

眼科学的検査；投与開始前には全動物、投与 52 週時には 0 及び 20000 ppm 群の全生存動物について以下の項目を検査した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体/硝子体、眼底

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量；最終計画殺時に、原則として尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査に用いた各群雌雄 10 匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた変化を下表に示す。

2000 ppm 投与群の雌で統計学的に有意な肝臓絶対重量の増加が認められた。また、200 ppm 投与群の雌で統計学的有意な対体重比での脳重量の減少が認められた。これらの変化は用量との関連性はなく偶発的な変化と判断した。

肉眼的病理検査；途中死亡例及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

20000 ppm 投与群の雄では膀胱の頻度が統計学的に有意に増加した。この変化は本系統のラットでは一般的に認められる変化であり、投与の影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査; 0 及び 20000 ppm 群の全動物と投与期間中の死亡・切迫殺動物について、以下の組織及び臓器について病理標本を作成し、検鏡した。さらに 200、2000 及び 6000 ppm 投与群の肉眼的異常部位についても標本を作成し検鏡した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、肺(気管支を含む)、気管、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺、卵巣、子宮(角部及び頸部を含む)、膾、眼球(網膜及び視神経を含む)、ハーダー腺、眼窩外涙腺、骨格筋(下腿三頭筋)、膝関節、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

雌雄いずれの投与群にも病理組織学的所見の発生頻度に統計学的に有意な変化はなかった。また、一般状態の観察および剖検において胼胝の認められた 20000 ppm 群の雄 5 例には、組織学的に一致した病変として皮膚(その他)の臍部肉芽腫が認められた。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による 1 年間反復投与毒性試験において、最高用量群である 20000 ppm 投与群においても検体投与の影響は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも 20000 ppm (雄: 955 mg/kg/day、雌: 1213 mg/kg/day)であると判断される。

8.5.3 ラットを用いた飼料混入投与による2年間発がん性試験(資料 No. T-3.3)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: Wistar Hannover 系ラット、1群雌雄各51匹、投与開始時5週齢

投与期間: 24カ月間(雄; 2011年2月10日~2013年2月12日)

(雌; 2011年2月18日~2013年2月19日)

試験方法: 検体を0、200、2000、6000及び20000 ppmの濃度で飼料に混入し、24カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は、1年目は1週間に1回、2年目は2週間に1回調製した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察し、週1回腫瘍の触診を含む状態の観察に加えて詳細な以下の項目について臨床症状観察を行なった。

ホームケージ: 興奮、鎮静、異常姿勢(腹臥、横臥など)、異常行動(後ずさり、常同行動、自傷行動など)

ハンドリング: 取り扱い難さ、筋緊張の変化(亢進、低下)、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化(散瞳、縮瞳)、流涎、流涙、分泌物(鼻孔、耳孔、膣など)、眼球突出、体温の変化(上昇、下降)、呼吸異常音、被毛の変化、皮膚および可視粘膜の変化

オープンフィールド: 跳躍、旋回、痙攣、歩様異常(よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など)、自発運動(亢進、低下)、呼吸(促迫、緩徐)、発声、立毛、異常姿勢(腹臥、横臥など)、異常行動(後ずさり、常同行動、自傷行動など)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた臨床症状を次表に示す。

性別	雄					雌				
	0	200	2000	6000	20000	0	200	2000	6000	20000
投与量 (ppm)	0	200	2000	6000	20000	0	200	2000	6000	20000
検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51	51	51
皮膚：痲癢	1	0	2	1	1	5	10	1	4	10
皮膚：腫瘤	23	↓14	↓14	24	15	35	34	29	35	27
被毛：触毛脱毛	4	0	2	0	4	6	9	2	10	1
被毛：脱毛	13	8	12	9	12	22	↑36	24	19	22
被毛：被毛の汚れ	11	9	8	6	13	9	7	4	7	9
被毛：立毛	3	0	1	1	1	1	1	2	↑7	3
口：不正咬合	0	↑6	0	0	4	1	1	1	2	1
口：切歯過長	5	12	3	1	3	9	5	↓2	7	6

Fisher の直接確率計算法 ↑↓; $P \leq 0.05$, ↑↓; $P \leq 0.01$

統計学的に有意な増減が散見されたが、用量との関連性のないもの、あるいは減少方向であることから、毒性学的意義はないものと判断した。

試験終了時の死亡率を次表に示す。

対照群と比較し統計学的に有意な死亡率の増減は認められなかった。

体重変化；全動物について、投与直前に1回、投与開始時から13週までは毎週1回、16週以降は4週に1回の頻度、さらに剖検直前に体重を測定した。

対照群と比べ差の認められた週を次表に示す。

性別	雄				雌			
	200	2000	6000	20000	200	2000	6000	20000
投与量 (ppm)	200	2000	6000	20000	200	2000	6000	20000
20週	98	↓95	96	↓94	99	101	102	103
24週	99	↓95	96	↓95	99	101	101	102

Dunnett 検定 ↑↓; $P \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

20及び24週時に20000 ppm投与群の雄で有意な低下が認められたが、一時的なものであることから検体投与の影響ではないと判断した。

2000 ppm投与群の雄でも20及び24週時に有意な低下が認められたが、用量との関連性はなく、偶発性のものと判断した。

摂餌量及び食餌効率；摂餌量は、投与開始時から13週までは毎週1回、16週以降は4週に1回の頻度で連続する4日間分を全ケージについて測定した。また、食餌効率は13週目までの週毎に算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた摂餌量の変化を次表に示す。

性別	雄				雌			
	200	2000	6000	20000	200	2000	6000	20000
投与量 (ppm)	200	2000	6000	20000	200	2000	6000	20000
3週	101	98	100	101	102	↑105	↑105	↑105
4週	99	97	100	100	102	↑108	103	104
8週	99	97	100	100	103	105	103	↑107
11週	97	↓96	99	100	105	104	104	107
12週	98	97	101	101	103	105	102	↑107
44週	97	97	99	99	102	101	102	↑108
48週	98	97	98	99	101	101	101	↑109
52週	94	96	99	99	104	103	107	↑109
摂餌量総平均	97	98	99	98	101	103	103	105
食餌効率総平均	100	97	97	96	96	99	101	100

Dunnett検定 ↑; $P \leq 0.05$, ↑↓; $P \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものを。

20000 ppm 投与群の雌で3、8、12、44、48及び52週時に有意な増加が認められたが、これらは一時的であり、増加方向であることから、毒性変化ではないと判断した。

6000 ppm 投与群の雌では3週時に、また2000 ppm 投与群の雌では3及び4週時に有意な増加が認められたが用量との関連性はなく、一時的かつ増加方向であることから、偶発性のものと判断した。

2000 ppm 投与群の雄で、11週時に有意な減少が認められたが、用量との関連性はなく、偶発性のものと判断した。

食餌効率に検体投与に関連する変動はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

群 (ppm)		200	2000	6000	20000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	7.93	82.5	249	834
	雌	10.3	103	306	1041

血液学的検査；投与後54及び78週時に全生存動物を対象としてイソフルラン麻酔下で尾の先端をカットして採血した。104週時の投与終了後に全ての動物を一晩絶食させた後イソフルラン麻酔下で開腹し、後大静脈から採血した。切迫殺動物についてはイソフルラン麻酔下で尾の先端をカットして採血し、白血球のディファレンシャルカウントのみ測定した。104週時及び切迫殺動物の血液については次の項目について測定した。また、採血前に死亡あるいは血液試料の凝固によって実施できなかった動物を除き、切迫殺動物も含めた全ての動物の血液試料から血液塗抹標本も作製した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球)

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。

統計学的に有意な増減が散見されたが、いずれも用量との関連性はなく、いずれも偶発性のものと判断した。

検体投与の影響がみられなかったため、52週時及び78週時の標本に関しては鏡検しなかった。

臓器重量；最終計画殺時に、生存動物の原則として動物番号の若い順に選抜した各群雌雄 10 匹ずつについて、以下の臓器重量を測定し対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣及び子宮

いずれの臓器においても有意な変動は認められなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。
対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

20000 ppm 投与群において、雌の最終屠殺動物で子宮の腫瘍の発生頻度が有意に増加したが、全動物では有意差は認められなかった。また病理組織学的検査において、関連する異常所見の増加が認められないことから偶発性のものと判断した。

その他の変動はいずれも、用量反応性のないもの、あるいは減少方向へのものであり、毒性学的意義はないものと判断した。

病理組織学的検査; 0 及び 20000 ppm 投与群の全動物と投与期間中の死亡・切迫殺動物について、以下の組織及び臓器について病理標本を作成し、検鏡した。さらに 200、2000 及び 6000 ppm 投与群の雄の甲状腺及び雌雄の肉眼的異常部位検査を実施した組織および臓器について病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髓(胸骨及び大腿骨)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮(角部及び頸部)、膺、眼球(網膜及び視神経を含む)、ハーダー腺、眼窩外涙腺、骨格筋(下腿三頭筋)、膝関節、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、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別表 1 に示す。

20000 ppm 投与群の雄では、甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度が最終屠殺動物と全動物でいずれも有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。

その他、20000 ppm 投与群では、雄の全動物で膀胱の腔拡張、最終屠殺動物で甲状腺の C 細胞過形成と眼窩外涙腺のハーダー腺化、雌の全動物と最終屠殺動物で副腎のペリオシスの発生頻度が有意に減少した。また、6000 及び 2000 ppm 投与群の雄においても、死亡・切迫殺動物で膀胱の腔拡張の発生頻度が有意に減少した。これらはいずれも減少方向への変動であり、毒性学的意義はないものと判断した。

6000 ppm 以下の投与群の雌、及び 200 ppm 投与群の雄では有意な変動は認められなかった。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を別表 2 に示す。

200 ppm 投与群の雄の死亡・切迫殺動物で悪性リンパ腫の発生頻度が有意に増加したが、総発生頻度は対照群と同等で、用量との関連性もないことから偶発性のものと判断した。

その他の腫瘍性病変は本系統のラットに通常認められるものであり、対照群との間に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本剤の Wistar Hannover 系ラットに対する飼料混入投与による 2 年間発がん性試験における影響として、20000 ppm 投与群の雄で甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度の増加を認めたので、無毒性量は、雄は 6000 ppm (249 mg/kg/day)、雌では 20000 ppm (1041 mg/kg/day) と判断される。

また、催腫瘍性はないものと判断される。

別表 1 (非腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-1 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-2 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-3 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-4 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-5 (腫瘍性病変)

別表 2-6 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-7 (腫瘍性病変)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-8 [腫瘍性病変]

8.5.4 マウスを用いた飼料混入投与による 78 週間発がん性試験 (資料 No. T3.4)

試験機関

報告書作成年 2013 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ICR 系マウス、1 群雌雄各 51 匹、投与開始時 5~6 週齢

投与期間： 78 週間 (2011 年 9 月 21 日~2013 年 4 月 2 日)

投与方法： 検体を 0、200、1250 及び 8000 ppm となるように飼料に混合し、78 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察し、週 1 回触診を含む詳細な身体検査も行った。
動物の外見や行動に対して、投与の影響はなかった。
試験終了時の死亡率を下表に示す。

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化；投与開始 1 週間前、投与開始から 14 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、78 週目及び剖検前に全ての生存動物の体重を測定した。

最終体重及び体重増加量を下表に示す。

性別	雄			雌		
	200	1250	8000	200	1250	8000
投与量 (ppm)						
最終体重 (78 週)	96	104	102	98	100	97
体重増加量 (0-78 週)	94	109	104	100	102	98

Williams または Shirley 検定：有意差なし

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

摂餌量； ケージ毎の摂餌量を投与開始から 14 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回記録し、78 週目にも測定した。また、ケージ毎に 1 匹あたりの 1 日摂餌量を算出した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		200	1250	8000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	22.7	140	884
	雌	31.6	186	1316

血液学的検査； 投与後 52 週及び 78 週時の全生存動物並びに切迫殺した全動物を対象として尾静脈から採血し、血液塗抹標本を作成した。対照群及び 8000 ppm 投与群の全動物について以下の項目に関して検査した。

白血球ディファレンシャルカウント (好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球)、
血液形態異常

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。

8000 ppm 投与群の雄で、52 週時に単球が有意に減少した。また、78 週時に好中球及び単球が有意に減少し、リンパ球が有意に増加した。雌では 78 週時に好中球が有意に減少し、リンパ球が有意に増加した。78 週で認められた変化は 52 週では雄の単球を除き認められなかった。血液塗抹検査は主として造血器腫瘍の増加について評価するためのものであり、検体が造血器腫瘍発現率に影響を及ぼさないことは明らかであった。

臓器重量； 試験終了時の全生存動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、子宮及び子宮頸部

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

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。

8000 ppm 投与群の雄において、肝臓の対体重比が有意に増加したが、対応する病理組織学的変化が認められなかったため、毒性ではないと判断した。また同群で脳の絶対重量が有意に増加したが、組織学的変化が認められなかったため、検体投与との関連がない偶発的変動と判断した。

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

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す。

認められた全ての肉眼所見は一般的にICR系マウスで認められる所見であり、検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査：試験終了時に生存していた対照群及び8000 ppm 投与群の全動物並びに切迫殺及び途中死亡の全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、胸部大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼球、大腿骨、胆のう、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺、リンパ節（顎下、腸間膜、左腋窩）、食道、視神経、卵巣、膵臓、パリエル板、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下腺、舌下腺）、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚及び乳腺（鼠径部）、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、陰、肉眼的異常部位

〔非腫瘍性病変〕

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見の発生頻度を別表1に示す。

認められた非腫瘍性病変は全て自然発生または加齢性に一般的に認められる所見であり、明らかな用量との関連性を示さなかったため、検体投与との関連はないと考えられた。

〔腫瘍性病変〕

肺の増殖性病変の発生頻度を以下の表に、認められた全ての腫瘍性病変を別表 2 に示す。

全ての投与群の雌において、細気管支・肺胞腺腫の発生頻度が高値を示したが、投与用量との関連性がなく、関連する増殖性病変の発生頻度は対照群との間に差が認められなかった。投与群の細気管支・肺胞腺腫発生頻度は 10 から 14% の間で、以下に示す試験実施施設の背景対照データの範囲内であった。一方で対照群は 3.9% で背景値を逸脱して低頻度であった。従って、細気管支・肺胞腺腫の増加傾向は投与との関連のない、偶発的なものと判断した。投与に起因する腫瘍の発生頻度の増加は認められなかった。

HLS の背景データ：CD-1 (Crl:CD1(ICR)) 雌、78 週間飼育
細気管支・肺胞腺腫の発生頻度を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以上の結果から、本剤のマウスに対する78週間飼料混入投与による発がん性試験における影響は、雌雄ともに8000 ppm 投与群でも認められなかった。したがって無毒性量は雌雄ともに8000 ppm (雄 884 mg/kg/day、雌 1316 mg/kg/day)と判断される。

また、催腫瘍性は無いものと判断される。

別表1〔非腫瘍性病変〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-1 (腫瘍性病変：途中死亡・切迫殺動物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-1〔腫瘍性病変：途中死亡・切迫殺動物〕（前頁の続き）

別表 2・2 (腫瘍性病変：最終屠殺動物)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-2 (腫瘍性病変：最終屠殺動物) (前頁表続き)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-3 (腫瘍性病変：全動物)

別表 2-3 (腫瘍性病変：全動物) (前頁表続き)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

別表 2-3 (腫瘍性病変：全動物) (前頁表続き)

8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

8.6.1 ラットにおける二世代繁殖毒性試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: SD系ラット、1群雌雄各24匹、
投与開始時5週齢、体重; 雄 142~164 g、雌 123~142 g

投与期間: P世代; 雄親動物; 投与開始から15~16週間
雌親動物; 投与開始からF₁児離乳時までの17~19週間
離乳児; 離乳後5日間
F₁世代; 雄親動物; 離乳時から15~16週間
雌親動物; 離乳時からF₂児離乳時までの17~20週間
離乳児; 離乳後5日間
(2012年7月25日~2013年4月6日)

投与方法: 検体を0、500、3000及び20000 ppmの濃度で含有する飼料を自由に摂取させた。
投与量設定根拠;

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表1にまとめた。

一般症状及び死亡; 全動物を投与期間中毎日観察した。体重測定時には触診にて詳細な観察を行った。

体重; 雄親動物: 投与開始日、投与期間中は週1回及び剖検日に測定した。
雌親動物: 投与開始日、生育期間中は週1回、妊娠期間中は妊娠0、7、14及び20日、
哺育期間中は哺育0、4、7、14、21日及び剖検日に測定した。
安楽死させた動物については、安楽死させた日の体重を測定した。

体重増加量; 雄親動物: 投与期間中の各測定日の体重値ならびに剖検日の体重値から投与開始日の体重値を減じて算出した。
雌親動物: 交配前期間、妊娠期間及び哺育期間の各測定日の体重値についてそれぞれ投与開始日、妊娠0日及び哺育0日の体重値を基準として算出した。

摂餌量; 体重測定日に測定した。ただし、哺育4日及び剖検日については測定しなかった。

発情周期; P及びF₁親世代の雌動物について、同居2週間前から交尾確認まで、膣垢を採取し、

性周期を確認した。

交配及び妊娠の確認；雌雄の投与第10週終了後、雌雄1対1で同居させ、膣栓又は膣垢塗抹標本中の精子の観察によって交尾を確認し、その日を妊娠0日とした。最大交配期間を3週間とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、分娩及び哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

雄または雌の交尾率 (%) = (交尾動物数 / 交配動物数) × 100

雄または雌の受胎率 (%) = (妊娠動物数 / 交尾動物数) × 100

出産率 (%) = (生存児出産動物数 / 妊娠動物数) × 100

分娩率 (%) = (産児数 / 着床数) × 100

分娩時観察；P及びF₁親世代の妊娠雌は妊娠21日から25日まで分娩状態を観察し、自然分娩させ、分娩完了を確認した日を哺育0日とした。分娩後、性別を検査し、死亡及び生存児数を記録した。また、個体ごとに妊娠期間を算出した。

児動物に関する指標；一般状態及び死亡について毎日観察した。体重測定は哺育0、4、7、14及び21日に実施した。臓器重量を測定する離乳児については、剖検日にも体重を測定した。生後4日に1腹8匹（原則雌雄各4匹）となるように児動物数を調整した。以下の指標を算出した。

性比 = 総雄産児数 / 総産児数

哺育0日生存率 (%) = (哺育0日の生存児数 / 産児数) × 100

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

哺育7日生存率 (%) = (哺育7日の生存児数 / 哺育4日に選抜した児数) × 100

哺育14日生存率 (%) = (哺育14日の生存児数 / 哺育7日の生存児数) × 100

哺育21日生存率 (%) = (哺育21日の生存児数 / 哺育14日に選抜した児数) × 100

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

発育分化の指標として哺育3日に耳介開展、哺育11日に切歯萌出及び哺育14日に眼瞼開裂が完了している児動物数を記録した。

反射反応性検査として、各腹雌雄1例について哺育5日に正向反射、哺育8日に背地走性、哺育18日に空中正向反射を検査した。

また、性成熟を評価するため、F₁親動物の包皮分離及び膣開口をそれぞれ哺育35日あるいは25日から毎日観察し、完了日齢と体重を記録した。

精子検査；P及びF₁雄親動物について、屠殺直後、全群を対象として精巢の精子頭部数、精巢上体の精子数、運動性並びに形態を検査した。

肉眼的病理検査；親動物：雄は交配相手の雌の分娩終了後に、雌は児動物離乳後に屠殺し、肉眼病理学的検査を実施した。雌親動物については、発情間期または後期の動物を剖検し、着床数を記録した。

児動物：継代用に選抜されなかったF₁離乳児及びF₂離乳児、間引き児及び死亡児について外表及び内臓を肉眼的に検査した。

臓器重量；親動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣
上体、精嚢（凝固腺を含む）、前立腺（腹側葉）、卵巣、子宮
児動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮

病理組織学的検査；対照群及び20000 ppm投与群の親動物全例、500及び3000 ppm投与群においては性周期の異常が認められた雌、精子検査で異常が認められた雄、交尾または妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組及び哺育児全例が死亡した雌ならびに試験途中で安楽死させた動物を対象として、以下の組織について病理組織学的検査を実施した。さらに500 ppm投与群のF₁雌親動物1例については肉眼的異常が認められた臓器及び組織について組織学的検査を実施した。

精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺、卵巣、子宮（角部及び頸部）及び膈

表 1 試験手順

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
P	生育 (10 週)	雌雄 1 対 1 で交配 交配は膣栓または膣垢中の精子で確認 (妊娠 0 日)	一般状態及び生死について毎日観察 体重及び摂餌量を週 1 回測定 同居 2 週間前から発情周期を観察 交配状況の観察
	交配 (3 週)		妊娠 0、7、14、20 日に雌親動物の体重及び摂餌量を測定
	妊娠 (3 週)		出産状況の観察 生存及び死亡児数の記録、性別及び外表異常の検査
	出産	(分娩完了日=哺育 0 日)	一般状態及び生死について毎日観察 哺育 0、4、7、14、21 日に雌親動物の体重、摂餌量 (哺育 4 日を除く)、生存児数及び性別の記録、生存児動物の体重測定途中死亡及び哺育 4 日に選抜されなかった児動物の肉眼的病理検査
	哺育 (21 日)	出産後 4 日目に、同腹児数を雌雄各 4 匹に調整 (不可能な場合、雌雄計 8 匹)	
F ₁	離乳	継代用に各腹雌雄各 1 または 2 匹の児動物を無作為に選抜	親動物(雄動物は交配相手の分娩終了後、雌動物は児動物離乳後)及び継代用以外の F ₁ 児動物の剖検、体重及び臓器重量測定、病理組織学的検査を実施 包皮分離及び膣開口の観察
	生育 (10 週)		(P 世代に準ずる)
	交配 (3 週)	(P 世代に準ずる) 同腹児の交配は避けた	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週)		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
	哺育 (21 日)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
F ₂	離乳		全ての親動物(雄動物は交配相手の分娩終了後、雌動物は児動物離乳後)及び児動物の剖検、体重及び臓器重量測定、病理組織学的検査を実施

結 果： 概要を表2に示した。

親動物

一般状態及び死亡；検体投与に関連した一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

500 ppm投与群のF₁世代において不正咬合を呈した雄1例が、著しい体重減少のため一般状態が悪化し、投与12週に切迫殺された。原因はケージ内の事故に起因すると考えられる鼻骨骨折であり、検体投与との関連はないと判断した。また500 ppm投与群のP世代雌1例が哺育1日に衰弱が著しいため切迫殺された。肉眼所見として腎臓の皮質黄褐色化・髓質暗赤色化、子宮の暗赤色化・壁肥厚・脂肪組織との癒着、脾臓と胸腺の小型、並びに副腎の大型・脂肪組織との癒着が認められたが、同様の所見は3000及び20000 ppm投与群で認められなかったことから、検体投与の影響とは考えなかった。

体重； 雄親動物：いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

雌親動物：P世代3000及び20000 ppm投与群の哺育21日、F₁世代3000 ppmの妊娠0日、哺育0及び4日、20000 ppm投与群の投与7週の体重が統計学的有意に高値であった。これらの変動は一時的であり、検体投与の影響とは考えなかった。

体重増加量；雄親動物：いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

雌親動物：P世代3000 ppm投与群の哺育0～21日、F₁世代20000 ppm投与群の投与0～4、0～5、0～6、0～7、0～9及び0～10週で統計学的有意に高値であった。これらは増加方向への変動であることから、検体投与との関連はないと判断した。

摂餌量； 雄親動物：P世代500 ppm投与群の投与8、10及び12週、20000 ppm投与群の投与5及び12週、F₁世代500 ppm投与群の投与14週で統計学的有意な高値が認められた。雌親動物：P世代20000 ppm投与群の妊娠7～14日、F₁世代20000 ppm投与群の投与4週で統計学的有意に高値であった。

雌雄親動物で認められたこれらの変動は、いずれも一過性の高値であり、検体投与との関連はないと判断した。

発情周期；いずれの投与群においても検体投与に関連した異常は認められなかった。

繁殖性に関する指標；交尾率、受胎率、出産率、着床数及び分娩率はいずれの投与群においても対照群と同等であった。

妊娠期間についてはP世代の500及び3000 ppm投与群において有意な延長が認められたが、20000 ppm投与群及びF₁世代では同様の変化は認められなかったため、偶発的な変動と判断した。

精子検査；P世代は全てのパラメーターについて検体投与群と対照群に有意差は認められなかった。F₁世代3000 ppm投与群において、精子の遊泳パターンの一つである頭部の横切り回数 (BCF)が統計学的有意に低値であったが、用量との関連がないことから、検体投与に起因した変化ではないと判断した。

肉眼的病理検査；いずれの投与群においても検体投与に起因した異常の増加は認められなかった。

臓器重量；雄動物については、P世代及びF₁世代500 ppmではいずれの臓器重量についても統計学的有意差は認められなかった。F₁世代3000 ppm投与群では甲状腺の絶対重量の有意な高値及び副腎の対体重比の有意な低値、20000 ppmでは肝臓の相対重量に有意な高値が認められた。

雌動物については、P世代の3000及び20000 ppm投与群において体重の有意な高値及び脳の対体重比の有意な低値が認められた。また、20000 ppm投与群では肝臓の絶対重量に有意な高値が認められたが、対体重比には統計学的有意差は認められなかった。F₁世代では、500 ppm投与群において甲状腺の絶対重量及び対体重比ならびに肝臓の対体重比に有意な高値が認められた。また、3000 ppm投与群では甲状腺及び肝臓の絶対重量に有意な高値が認められた。いずれの変化にも用量との関連性及び世代間の一致がないため、検体投与に起因した変化ではないと判断した。

病理組織学的検査；いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

20000 ppm投与群の原始卵胞数は対照群と同等であった。

児動物

一般状態及び死亡；検体投与に起因すると考えられる一般状態の変化および死亡は認められなかった。

児動物に関する指標；産児数、哺育期間中の生存率、性比、臍開口・包皮分離完了日齢及び完了時体重、反射反応性検査については全ての検体投与群で対照群と同等であった。F₁世代3000 ppm投与群の離乳率が統計学的有意に低値であったが、20000 ppm投与群及びF₂世代で同様の変化が認められないことから、偶発的な変動と考えられた。身体発達の指標において、F₂世代500 ppm投与群雄児動物の耳介開展の完了率が有意に高値であったが、用量との関連性はないため、身体発達の指標に検体投与の影響はないと判断した。

体重； いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

3000 ppm投与群のF₂世代雌雄児動物で哺育0日の体重が対照群より有意に高い値であったが、用量との関連性及び世代間の一致がないため、偶発的な変動と判断した。

肉眼的病理検査；検体投与に関連した影響は認められなかった。

F₂世代20000 ppm投与群の雌児動物において、肉眼的病理所見が認められた合計が統計学的有意に低値であったが、低下方向であることから検体投与とは関連しない偶発的な変動だと判断した。

臓器重量；F₂世代雌児動物の胸腺絶対重量で認められた統計学的有意な高値は、今回の対照群の胸腺絶対重量 (326.8 mg) が試験実施施設の背景データ (335~383 mg) を下回っていること、検体投与群の胸腺対体重比には統計学的有意差が認められていないことから、検体投与群の体重が対照群よりもやや高かったことに起因した偶発的な変化と考えられた。その他にも統計学的有意差が散見されたが、用量との関連性及び世代間の一致がないため、検体投与に起因した変化ではないと判断した。

以上の結果より、本剤をラットに二世世代にわたって飼料中に混入して投与した場合、いずれの投与群においても検体投与の影響は認められなかった。

よって、親及び児動物に関する無毒性量は、共に20000 ppm (P世代：雄 1311 mg/kg/day、雌 1658 mg/kg/day、F₁世代：雄 1543 mg/kg/day、雌 1829 mg/kg/day

)であり、最高投与量の20000 ppmにおいても繁殖能に影響を及ぼさないと判断された。

表2-1 結果の概要（親動物）

表 2-2 結果の概要（親動物：続き）

表 2-3 結果の概要 (繁殖能力)

表 2-4 結果の概要 (児動物)

8.6.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物： Wistar Hannover系性成熟未経産雌ラット、交配開始時14または15週齢、
1群24匹、投与開始時体重 204~270 g

投与期間： 妊娠6~19日の14日間 (2012年3月19日~2012年4月4日)

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁させ、0、100、300
及び1000 mg/kgの投与量で妊娠6~19日 (膈垢中の精子の存在または膈栓が確認さ
れた日を妊娠0日として起算)の14日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群に
は溶媒の1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液のみを投与した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18及び20日目
に体重及び摂餌量を測定した。妊娠20日目に帝王切開を行い、妊娠子宮重量測定、
肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数ならびにその子宮
内位置を記録した。

生存胎児； 胎児体重及び胎盤重量測定、性別判定を実施し、外表検査を行った。各同腹児群の
約1/2の胎児については内臓異常の有無を検査し、残りの胎児について骨格標本作
製して骨格異常の有無を検査した。

結 果： 概要を次表に示した。

親動物； いずれの投与群においても死亡の発生はなく、一般状態、体重、摂餌量及び肉眼的
病理検査において検体投与の影響は認められなかった。

100 mg/kg/day投与群の妊娠6~18日目の体重増加量は対照群と比較して統計学的
有意に低下したが、100 mg/kg/day投与群のその他の体重増加量ならびに300及び
1000 mg/kg/day投与群の体重増加量は対照群と同等であったことから、この変動は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体投与に関連したものではないと考えられた。

妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、着床前胚死亡率及び胚・胎児死亡率については、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

胎児動物；全ての検体投与群の胎児体重、胎盤重量及び性比に投与に起因した影響は認められなかった。

外表、内臓及び骨格検査において、いずれの投与群においても奇形及び変異の出現頻度に検体投与に関連した増加は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに0、100、300及び1000 mg/kgの投与量で経口投与した結果、母動物及び胎児の無毒性量は1000 mg/kg/dayであり、最高投与量の1000 mg/kg/dayにおいても催奇形性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：親動物・胎児動物

表 結果の概要：胎児動物（続き）

8.6.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. T4.3)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物： 日本白色種ウサギ (Kbl:JW)、性成熟未経産雌、交配開始時18~19週齢、1群25匹、投与開始時体重2.870~4.404 kg

投与期間： 妊娠6~27日の22日間 (2012年5月28日~2012年6月26日)

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁させ、0、100、300及び1000 mg/kgの投与量で、妊娠6~27日 (人工授精した日を妊娠0日とした)の22日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日目に体重を測定した。摂餌量は妊娠 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日目に測定した。

妊娠 28 日目に帝王切開を行い、妊娠子宮重量測定、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数ならびにその子宮内位置を調べた。

生存胎児； 胎児体重及び胎盤重量測定、性別判定を実施し、外表異常の観察を行った。頭部検査は各腹半数の胎児については頭部の皮膚を除去し眼球を検査後、冠状縫合に沿ってカミソリで割を入れて脳を観察した。残りの半数の胎児については頭部を口裂に沿って切断してブアン液で固定後、粗大切片法により眼球、脳、鼻腔及び舌を観察した。全胎児について胸腹部の内臓異常の有無を検査し、その後、骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。認められた所見は奇形及び変異に分類した。

結 果： 概要を次表に示した。

親動物； いずれの投与群においても死亡の発生はなく、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量及び肉眼的病理検査において検体投与の影響は認められなかった。

妊娠子宮重量、黄体数、着床数、着床前胚死亡率、生存胎児数については、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

300 mg/kg/day投与群の胚・胎児死亡率は対照群よりも有意に高値であったが、1000 mg/kg/day投与群は対照群と同等であり、偶発的な変動であると考えられた。

胎児動物； 全ての検体投与群において胎児体重及び胎盤重量は対照群と同等であった。

300 mg/kg/day投与群の性比が対照群と比較して有意に高値であったが、100及び1000 mg/kg/day投与群は対照群と同等であり、300 mg/kg/day投与群で認められた有意差は偶発的な変動であると考えられた。

外表、内臓及び骨格検査において、いずれの投与群においても、検体投与に起因する奇形または変異の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに0、100、300及び1000 mg/kg/dayの投与量で経口投与した結果、いずれの投与群においても母動物及び胎児に検体投与の影響は認められなかったことから、母動物及び胎児の無毒性量は1000 mg/kg/dayであり、最高投与量の1000 mg/kg/dayにおいても催奇形性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：親動物・胎児動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要：胎児動物（続き）

8.7 変異原性

8.7.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関

報告書作成年 2011年 [GLP 対応]

検体純度: %

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いてプレインキュベーション法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、61.7~5000 µg/プレートの 5 用量で試験した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

用量設定根拠;

結果: 結果を次表に示した。

本試験において、検体の析出が S9 Mix の非存在下では 313 µg/プレート以上の用量で、S9 Mix の存在下では 1250 µg/プレート以上の用量で認められたが、生育阻害は S9 Mix の有無に関わらず、いずれの菌株においても認められなかった。代謝活性化系の有無に関わらず、すべての用量及び菌株において復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃ 及び 9-AA では S9 Mix の非添加で、また 2-AA では S9 Mix の添加によりすべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験Ⅱ

8.7.2 チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. T-5.2)

試験機関

報告書作成年 2011年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の株化細胞である CHL 細胞を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

試験は 2 連制とし、1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察した。

用量設定根拠；

結 果： 結果を次表に示した。

検体は代謝活性化の有無に関わらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC) 及びベンツ[a]ピレン (B[a]P) では染色体異常を示す分裂中期細胞の割合の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

染色体異常試験結果（短時間処理法）

染色体異常試験結果 (24 時間及び 48 時間連続処理法)

8.7.3 マウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.3)

試験機関

報告書作成年 2011年[GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ICR 系雄マウス (7 週齢、体重 30.3~38.7 g)、1 群 5 匹

試験方法： 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。なお、陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与し、陽性対照群にはマイトマイシン C を 0.5 mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与した。陰性対照群及び 2000 mg/kg 投与群については投与 24 及び 48 時間後の 2 回、500 及び 1000 mg/kg 投与群、陽性対照群については投与 24 時間後の 1 回、骨髓塗沫標本を作製した。

各標本について、2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。また、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

用量設定根拠；

結 果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

またすべての検体投与群において小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

観察結果

結 論： 以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髄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る。

8.7.4 ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (資料 No. T-5.4)

試験機関

報告書作成年 2012年[GLP 対応]

検体純度： %

試験方法： マウスリンパ腫細胞由来の L5178Y TK^{+/+}細胞を用いて、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、96 穴プレートを用いたマイクロウェル法によって遺伝子突然変異誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解し、代謝活性化系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で 3 時間 (3 時間処理) 及び S9 mix の非存在下で 24 時間 (24 時間処理) 細胞に処理した。試験には以下の用量を設定した。

3 時間処理 (±S9 mix)： 20、40、80、160 及び 320 µg/mL (公比 2)

24 時間処理： 31.6、47.4、71.1、106.7 及び 160 µg/mL (公比 1.5)

24 時間処理 (追加試験)： 40、50、60、70、80 及び 90 µg/mL

用量設定根拠；

結 果： 結果を次表に示した。

3 時間処理において、代謝活性化の有無に関わらず、すべての処理群で突然変異誘発率の有意な増加は認められなかった。

24 時間処理において突然変異誘発率に統計学的有意な増加は認められなかったが、高用量で強い細胞毒性が認められ、分析可能な 4 用量が得られなかったことから追加試験を実施した。追加試験の 80 及び 90 µg/mL の突然変異誘発率が統計学的有意に増加していたが、総体細胞増殖率は 1 または 2% であった。一般的に相対細胞増殖率が 10% 以下の用量で観察された突然変異誘発率の有意な増加は陽性反応とはみなさないため、これらの用量における統計学的有意差に生物学的意義はないと判断した。

当該試験条件下において、陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチルまたはシクロホスファミド処理群では、突然変異誘発率の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無に関わらず、L5178Y TK^{+/+}細胞に対し変異原性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

遺伝子突然変異試験結果

8.8 生体機能影響

8.8.1 生体機能への影響に関する試験 (資料 No. T-6.1)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP対応]

検体純度： %

1) 一般症状及び行動

① マウスにおける一般症状及び行動

供試動物： ICR系マウス、6週齢、体重 雄 31.8～34.8 g、雌 21.8～24.4 g、1群雌雄各5匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して0、500及び2000 mg/kgを単回経口投与し、投与後1、2、4、6及び24時間に一般症状及び行動観察を多次元観察法で観察した。なお、投与後2及び3日は概略的に一般症状及び体重を測定した。

結 果： 検体投与による影響は認められなかった。

② ラットにおける一般症状及び行動

供試動物： SD系ラット、6週齢、体重 雄 174～201 g、雌 132～154 g、1群雌雄各5匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して0、500及び2000 mg/kgを単回経口投与し、投与後1、2、4、6及び24時間に一般症状及び行動観察を多次元観察法で観察した。なお、投与後2及び3日は概略的に一般症状及び体重を測定した。

結 果： 検体投与による影響は認められなかった。

2) 呼吸・循環器系に対する作用

① ラットの呼吸器系に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 226～258 g、1群雄5匹

投与方法： 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、0、500 及び

2000 mg/kg を単回経口投与し、呼吸数を覚醒下で測定した。測定は、検体投与前日、投与 1、4、6 時間及び 1 日後に行った。

結 果： 検体投与による影響は認められなかった。

② ラットの循環器系に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 227～282 g、1群雄5匹

投与方法： 検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、0、500 及び 2000 mg/kg を単回経口投与し、収縮期血圧及び心拍数を測定した。測定は、検体投与前日、投与 1、4、6 時間及び 1 日後に行った。

結 果： 検体投与による影響は認められなかった。

3) 消化器系に対する作用

① マウスの炭末輸送能に及ぼす影響

供試動物： ICR系マウス、6週齢、体重 23.9～28.4 g、1群雄8匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、一晩絶食したマウスに0、500及び2000 mg/kgを単回経口投与し、2時間後に5%炭末懸濁液を10 mL/kgで経口投与した。炭末懸濁液投与30分後に屠殺し、速やかに消化管（胃から直腸まで）を摘出して伸展した。幽門から回盲口に至る小腸の全長及び幽門から炭末先端までの長さ（炭末移動長）を測り、移動率を求めた。

結 果： 検体投与による影響は認められなかった。

4) 腎機能に及ぼす影響

供試動物： SD系ラット、8週齢、体重 226～264 g、1群雄8匹

投与方法： 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、一晩絶食したラットに0、500及び2000 mg/kgを単回経口投与し、直ちに生理食塩水を経口負荷し、6時間後まで及び6時間から24時間後までの蓄尿を代謝ケージで採取した。尿量、比重、pH及び尿中電解質を測定した。

結 果： 検体投与による影響が認められた検査項目を次表に示す。

投与後 6 時間までの蓄尿において、500 及び 2000 mg/kg 投与群の比重が統計学的に有意に高かったが、尿 pH 及び尿中電解質の排泄量に影響がみられず、尿量に軽度の減少傾向がみられたことから、尿の濃縮による影響であり、検体投与の影響ではないと考えられた。投与後 6 時間から 24 時間までの蓄尿では、2000 mg/kg 投与群に有意な尿量の減少及び比重の上昇が認められ、検体投与の影響と考えられた。500 mg/kg 投与群では、検体投与による影響は認められなかった。

以上の試験結果より、本剤はマウス及びラットの生体機能に対して、2000 mg/kg 投与でラットの腎機能における尿量減少及び比重の上昇作用を認めた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数 / 群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般症状及び行動 [多次元観察]	マウス	経口※1	0, 500, 2000	雌雄各 5 匹	なし	2000	影響なし
	ラット	経口※1	0, 500, 2000	雌雄各 5 匹	なし	2000	影響なし
呼吸器系に及ぼす影響	ラット (覚醒下)	経口※1	0, 500, 2000	雄 5 匹	なし	2000	影響なし
循環器系に及ぼす影響	ラット	経口※1	0, 500, 2000	雄 5 匹	なし	2000	影響なし
消化管系に及ぼす影響	マウス	経口※1	0, 500, 2000	雄 8 匹	なし	2000	影響なし
腎機能に及ぼす影響	ラット	経口※1	0, 500, 2000	雄 8 匹	2000	500	投与後 6 時間から 24 時間に尿量減少及び比重上昇

※1：媒体は、1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9 その他の毒性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。