

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

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 (資料No. 15)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年 年

検体純度：

供試動物：Crl：CD(SD)系ラット、5週齢、開始時体重 雄 135～157 g 雌 113～140 g、  
1群雌雄各10匹

投与期間：90日間( 年9月12日(雄)、13日(雌)～ 年12月11日(雄)、12日(雌))

なお、以下、投与開始日を投与1日として起算した。

試験方法：検体を湯煎により軟化させた後、試験濃度ごとにトウモロコシ油に溶解してブレミックス混合飼料を作製し、基礎飼料を加えて10～20倍に希釈混合して0、100、1000及び10000 ppmの濃度で投与飼料を調製した。90日間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は2～8日の間隔で計13回調製した。  
なお、トウモロコシ油の飼料中の濃度は5% (対照群の飼料を含む) とした。

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日、午前午後の2回観察した。

試験終了時の死亡率を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

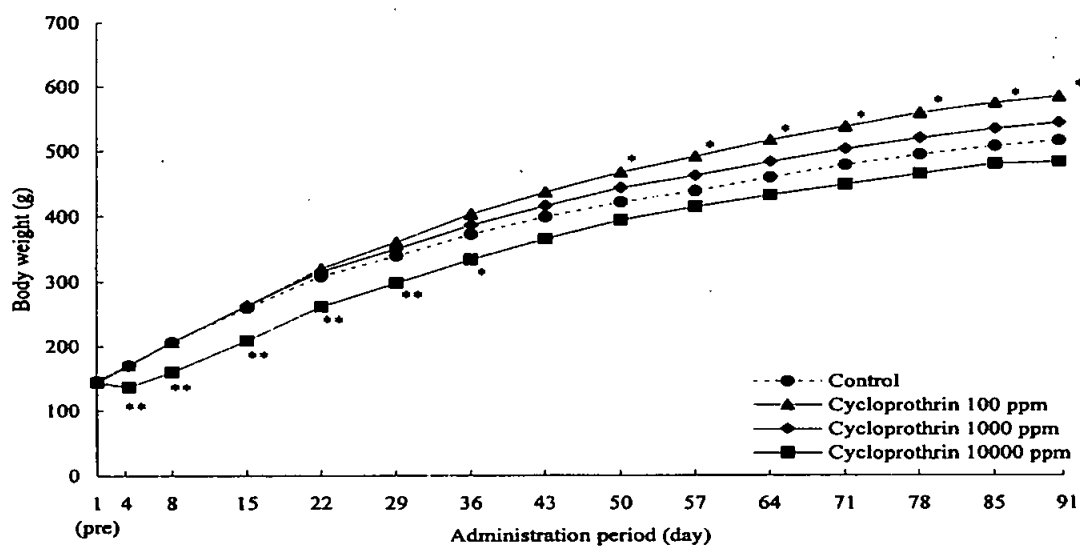
投与量 (ppm)		0	100	1000	10000
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0

試験期間中死亡した動物はなかった。

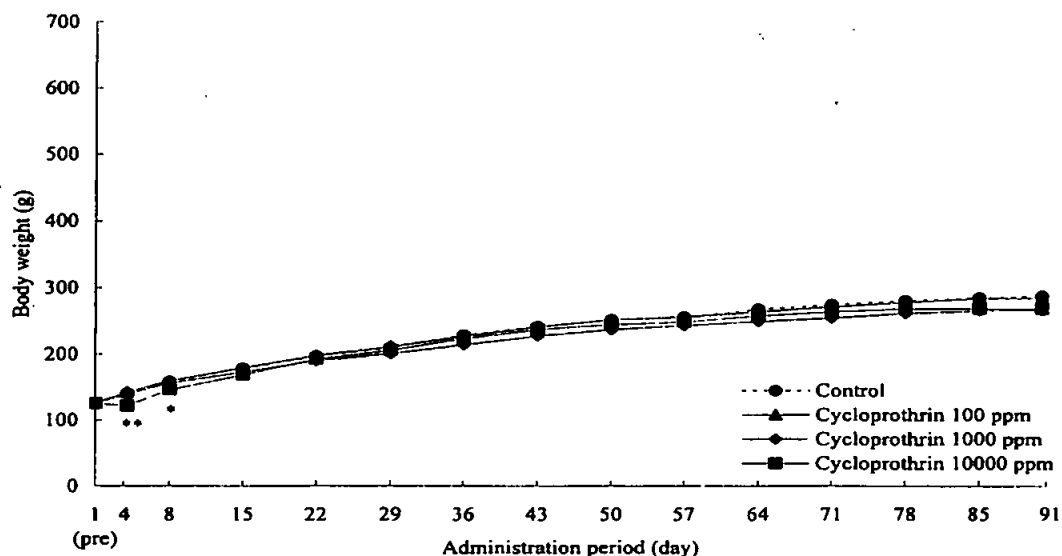
一般状態；一般状態を毎日、午前午後の2回観察した。

10000 ppm投与群の雌雄に投与10日以降投与終了まで、体外表の様々な部位（耳介、頸部、頸背部、眼周囲、頬部、尾根部、陰囊等）に外傷や痂皮形成がみられた。1000 ppm投与群では雌1例で投与26から36日にかけて左頸背部に痂皮形成がみられた。

体重変化；投与1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85及び91日にすべての動物の体重を測定した。



雄の体重変化 (Dunnett's検定 \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ )



雌の体重変化 (Dunnett's検定 \*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

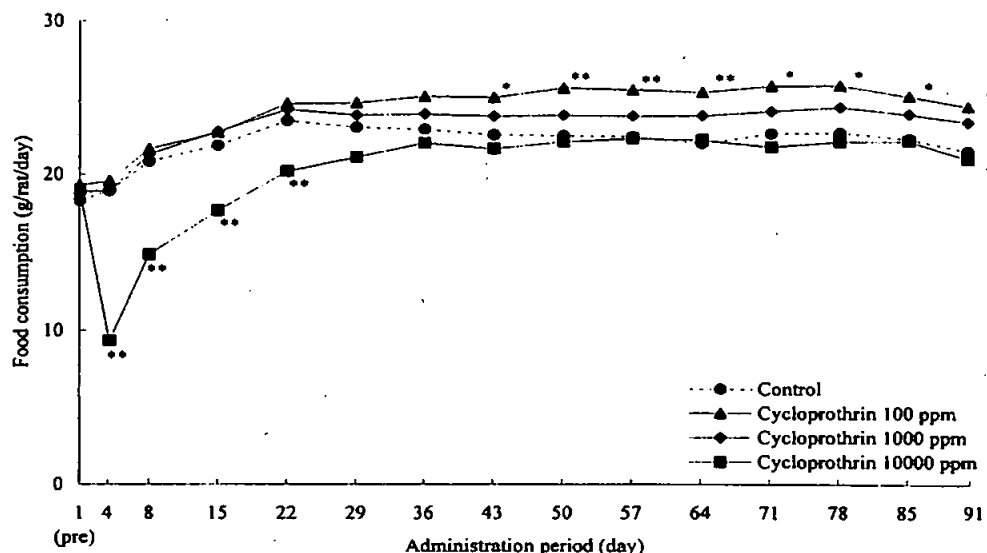
10000 ppm投与群では、雄で4日から36日にかけて、雌で投与4及び8日に有意な低値が認められた。

1000 ppm投与群では、雌雄ともに有意な変化は認められなかった。

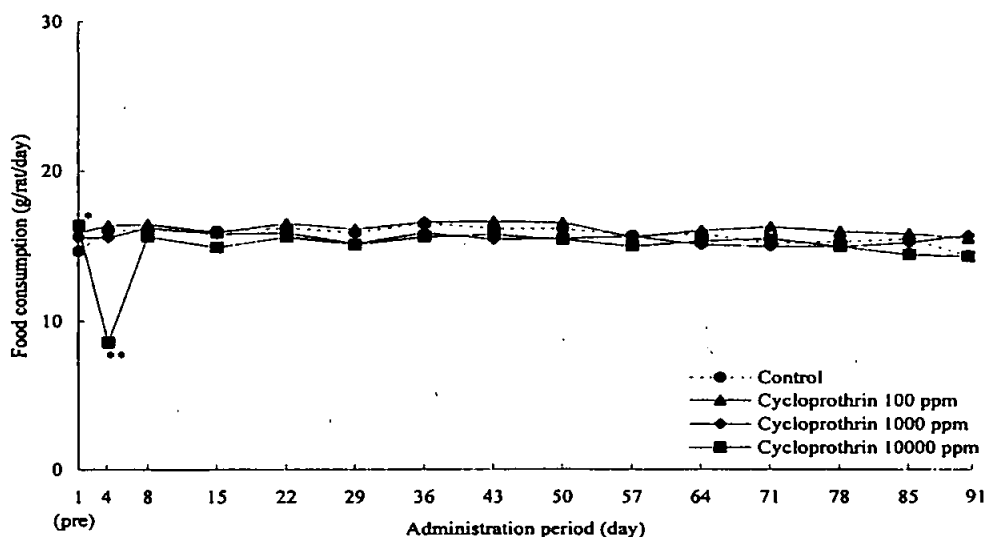
100 ppm投与群では、雄で投与50日以降に対照群と比較して有意な高値が認められた。雌には有意な変化は認められなかった。

摂餌量；ケージ毎に投与1、4、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85、及び91日の午前中に給餌量及び残量を測定した。

なお、投与開始前日に基礎飼料のみの摂餌量(投与0-1日)を求め、参考データとした。



雄の摂餌量 (Dunnett's検定 \*: $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ )



雌の摂餌量 (Dunnett's検定 \*: $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ )

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

10000 ppm投与群では、雄の投与1-4日から15-22日にかけて、雌で投与1-4日に有意な低値が認められた。なお、10000 ppm投与群の雌では投与0-1日（投与開始前の摂餌量）に有意な高値が認められた。

1000 ppm投与群では、雌雄ともに有意な変化は認められなかった。

100 ppm投与群では、雄で投与36-43日以降に対照群と比較して有意な高値が認められた。雌には有意な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とおりであった。

投与量 (ppm)		100	1000	10000
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	6.1	61.3	608.5
	雌	7.0	71.1	675.0

詳細な状態の観察；投与開始前、投与2、4、8及び13週時に、全例を対象として、以下の項目の測定を行なった。

ケージの外から、体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動（回転・旋回）、異常行動（自咬）について観察した。

ケージから取り出す際に、取り出し易さ、取り扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、皮膚、眼・眼球及び粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、その他の分泌物の有無について観察した。

オープンフィールド内で、歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動、排泄状態（排尿・排糞）、常同行動（身づくろい・くびふり）、異常行動（後ずさり・異常発声）、攻撃性について観察した。

各投与群の雌雄ともに、各検査のいずれにおいても、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

機能検査；投与開始前、投与2、4、8及び13週時に、全例を対象として、以下の項目の測定を行なった。

作業台の上で、視覚刺激（接近反応）、触覚刺激（接触反応）、聴覚刺激（音に対する反応）、痛覚刺激（尾根部を挟む）、固有受容器刺激（強制姿勢からの復帰）、空中正向反射について観察した。

また、握力、自発運動量について測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次頁の表に示す。

機能検査 測定結果

性別	雄														
	100					1000					10000				
投与量 (ppm)	100					1000					10000				
検査時期 (週)	前	2	4	8	13	前	2	4	8	13	前	2	4	8	13
前肢の握力												⇓ 77	⇓ 76	⇓ 83	⇓ 87
後肢の握力					↑ 109			↓ 93				⇓ 81	⇓ 83	⇓ 86	⇓ 87
自発運動量 (10-20分)												↓ 49			
自発運動量 (30-40分)												↓ 23			
自発運動量 (40-50分)															

性別	雌														
	100					1000					10000				
投与量 (ppm)	100					1000					10000				
検査時期 (週)	前	2	4	8	13	前	2	4	8	13	前	2	4	8	13
前肢の握力												⇓ 89	↓ 92	⇓ 90	⇓ 90
後肢の握力												⇓ 91			↓ 94
自発運動量 (0-10分)							⇓ 59					⇓ 47	↓ 59		
自発運動量 (10-20分)												⇓ 44	↓ 45	↓ 50	
自発運動量 (20-30分)												↓ 44	↓ 43	↓ 51	
自発運動量 (30-40分)												↓ 26			
自発運動量 (40-50分)														↓ 42	
自発運動量 (総運動量)												⇓ 41	⇓ 52	↓ 59	

Dunnett'sの多重比較検定 ↑, ↓ : P ≤ 0.05 ⇓ : P ≤ 0.01

Mann-WhitneyのU-検定 ○ : 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とした場合の数を示す

空欄は統計学的有意差の認められなかった項目

10000 ppm投与群では、雌雄の前肢の握力及び雄の後肢の握力について、いずれの検査項目においても、有意な低値が認められた。さらに、雌では後肢の握力について投与後2週時及び13週時の検査において、有意な低値が認められた。自発運動量でも雄で投与2週時、雌で投与2、4及び8週時に有意な低値が認められた。

1000 ppm投与群では、投与4週時の検査において、雄の後肢の握力について、対照群と比較して有意な低値が認められた。さらに、雌では投与2週時の検査において、測定開始後0-10分における自発運動量について、有意な低値が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

100 ppm投与群では、投与13週時の検査において、雄の後肢の握力について、対照群と比較して有意な高値が認められた。

10000 及び1000 ppm投与群で認められたこれらの変化は、用量依存的に認められており、検体投与による影響と考えられた。一方、100 ppm投与群の雄で投与13週時に後肢の握力の有意な高値が認められたが、この変化は、10000 ppm投与群とは逆の変化であることから、偶発的な変化と考えられた。

眼科学的検査；投与開始前(群分け前に実施)は全例、投与13週時は対照群及び10000 ppm投与群の全例について検査した。

検体投与に関連のある異常所見はみられなかった。

肉眼的病理検査；いずれの群においても、特に神経症状を示す動物が認められなかったため、各群の雌雄各5匹を灌流固定動物とした。灌流固定動物については、心臓全身灌流固定後に、病理組織学的検査用の器官・組織を摘出する際に肉眼的観察をした。また、灌流固定用以外の生存動物については、エーテル麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織について肉眼的に観察した。

10000 ppm投与群では、雄3例及び雌2例の体外表の様々な部位(右陰囊、左頸部、左陰囊、左耳介、左頸背部)に外傷がみられた。

1000 ppm投与群では、雄で左側の精巣及び精巣上体の小型、左腎臓の腎盂拡張及び回腸の憩室が各1例にみられた。これらの変化は用量相関性はなく、偶発的な変化と考えられた。雌には異常所見はみられなかった。

100 ppm投与群及び対照群では、雌雄とも、変化はみられなかった。

病理組織学的検査；各投与群の灌流固定動物の全例について、ペントバルビタールナトリウム(約40 mg/kg)による深麻酔下にて、前処理液としてヘパリン・亜硝酸ナトリウム添加ラクトリンゲル液、固定液として3%グルタルアルデヒド、3%パラホルムアルデヒド、0.1%ピクリン酸及び0.05%塩化カルシウムを含む0.1Mリン酸緩衝液を用いて灌流固定した後、以下の器官・組織についてパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色して病理標本を作成、検鏡した。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、  
視神経及び網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大及び腰膨大、脊髄神経節、  
神経線維の前根及び後根、近位の坐骨神経、  
近位の脛骨神経(膝部)及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋(腓腹筋)

検鏡した各群雌雄のいずれの器官・組織においても、検体投与に関連した異常所見はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

以上の結果から、検体のラットに対する90日間飼料混入投与による神経毒性試験における影響として、一般状態では10000 ppm投与群の雌雄及び1000 ppm投与群の雌で投与期間中に体外表の様々な部位に外傷や痂皮形成の消長、あるいは、その繰り返しがみられ、肉眼的病理検査でも10000 ppm投与群の雌雄に皮膚の外傷がみられた。また、機能検査では10000 ppm投与群の雌雄で投与2週以降に前肢及び後肢あるいは前肢のみに握力の低値が認められ、自発運動量でも雄で投与2週時、雌で投与2、4及び8週に有意な低値が認められた。また、1000 ppm投与群でも雄で投与4週に後肢の握力の有意な低値、雌で投与2週に自発運動量の有意な低値が認められた。摂餌量で10000 ppm投与群の雄の投与1-4日から15-22日にかけて、雌に投与1-4日に有意な低値が認められた。体重で10000 ppm投与群の雄に4日から36日にかけて、雌に投与4及び8日に有意な低値が認められた。しかし、病理組織学的所見では検体投与による神経系に対する毒性変化は認められなかった。このことから、機能検査で認められた変化は、神経毒性を示唆するものではなく、体重増加抑制等の一般毒性に付随した変化と考えられた。

本試験条件下における一般毒性の無毒性量は、雄で1000 ppm(61.3 mg/kg/日)、雌で100 ppm(7.0 mg/kg/日)であると考えられ、神経毒性の無毒性量は、雌雄とも10000 ppm(雄で608. mg/kg/日、雌で675.0 mg/kg/日)と考えられた。

申請者注：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(10) 反復投与遅発性神経毒性

(資料No. 16)

試験成績提出除外理由書 (試験未実施)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(11) 慢性毒性及び発がん性

1) ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性／発がん性併合試験 (資料No. 17)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

供試動物：F344系ラット、1群雌雄各70匹、開始時6.5週齢、  
投与52週後に各群雌雄各20匹を中間屠殺した。

投与期間：24カ月(104週) 年1月27日～ 年2月4日

投与方法：検体をアセトンに溶解して、0、20、200、2000 ppmの濃度になるよう飼料に  
混入し、24カ月間にわたって随時摂取させた。投与飼料は検体と基礎飼料とを  
毎週1回混合調製した。

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。

投与開始12～13週時に対照群を含む全群雌雄に唾液腺・涙腺炎(sialo-  
dacryoadenitis；SDA)の感染がみられたが、検体投与に関連したと思われる中  
毒症状は認められなかった。

死亡動物数は下表のようであった。

投与群(ppm)	0		20		200		2000	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
死亡動物 ／供試動物※	7／50	12／49	9／50	9／50	11／50	15／50	10／50	14／50

※：中間屠殺動物(雌雄各20匹)及び飼育管理上の事故死亡動物を除く。

検体投与による影響は認められなかった。なお、対照群雌1匹が投与開始8週  
時において飼育管理上の事故により死亡した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

体重変化；投与開始から14週間は毎週1回、その後は2週間に1回全ての生存動物の体重を測定した。

2000 ppm群雌雄において投与開始時の体重が有意に低値であった。

この有意な体重低値は、動物が自動給水装置に不慣れであったために起きたものと思われ、検体投与に起因したものとは考えられなかった。

2000 ppm群雄では投与開始78週時に、雌では52週時及び78週時にそれぞれ一時的な有意な体重増加抑制が認められた。その他の観察時期では、検体投与に伴う変化はなかった。

体重変化（開始時、1、2、13、26、52、78及び104週時の体重を対照群と比較し有意差を検討）

投 与 群 (ppm)		20		200		2000	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
試験開始時動物数		70	70	70	70	70	70
観 察 期 間	0週	—	—	—	—	94 ↓	95 ↓
	1週	—	—	—	—	—	94 ↓
	2週	—	—	—	—	—	—
	13週	—	—	—	—	—	—
	26週	—	—	—	—	—	—
	52週	—	—	—	—	—	98 ↓
	78週	—	—	—	—	96 ↓	96 ↓
	104週	—	—	—	—	—	—

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す  
一元分散分析またはDunnett'sのt検定

— : 対照群と比較して差なし

↓ : 対照群と比較してそれぞれ  $P < 0.05$  水準で有意差あり

成長率（13、26及び52週時の平均成長率を対照群と比較し有意差を検討）

投 与 群 (ppm)		20		200		2000	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
試験開始時動物数		70	70	70	70	70	70
	13週	—	—	—	—	—	107 ↑
	26週	—	98 ↓	—	—	—	—
	52週	—	—	—	—	—	—

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す  
一元分散分析またはDunnett'sのt検定

— : 対照群と比較して差なし

↑(↓) : 対照群と比較してそれぞれ  $P < 0.05$  水準で有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

摂餌量；食餌効率及び飲水量；摂餌量は投与開始から14週間は毎週、その後は2週間に1回全ての動物について測定した。また同時に食餌効率も算出した。飲水量は投与開始1～2、24～25、50～51、76～77及び102～103週時に各群雌雄各10匹について測定した。

摂餌量は2000 ppm群雌において試験期間中、対照群と比較して有意な減少が認められた以外、検体投与に関連する変化は認めなかった。

食餌効率及び飲水量は、検体投与群と対照群との間に差異は認められなかった。

期間内の平均総摂餌量 (g)

投与群(ppm)	0		20		200		2000	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0～13週	1652.3	1267.4	1656.0	1241.9	1698.8	1260.2	1610.4	1208.2 ↓
0～26週	2468.9	1874.6	2488.0	1841.9	↑ 2544.6	1882.3	2412.5	1815.5 ↓
0～52週	4044.7	3128.6	4095.7	3078.8	4143.5	3140.1	3977.3	3032.3 ↓
0～78週	5621.8	4462.0	5702.9	4360.4	5737.1	4468.7	5488.5	4270.0 ↓
0～104週	7195.7	5842.2	7351.6	5716.7	7377.0	5819.6	7053.9	5576.2 ↓

一元分散分析またはDunnett'sのt検定

— : 対照群と比較して差なし

↑(↓) : 対照群と比較してそれぞれP<0.05水準で有意差あり

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量は、20、200、2000 ppm投与群で雄がそれぞれ1.13、11.46、112.0 mg/kg、また雌が1.40、13.97、137.0 mg/kgであった。

血液学的検査；投与開始前、投与13、26、52、78及び104週後に各群雌雄各20匹を対象として、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について検査した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、

血小板数、網状赤血球数、\*白血球百分比、

\*白血球及び赤血球の形態

\*：対照群及び2000 ppm群について検査した。

その結果、検体投与群のすべての雌雄において投与13週後に赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少と、2000 ppm群雌において投与26週後に赤血球数及びヘマトクリット値の減少が認められたが、投与78及び104週後では検体投与に関連した差異は認められず、この一貫性のない、かつ一時的な軽度の貧血症状は毒性学的意義のないものであった。

主な血液学的検査結果

投与群 (ppm)	20												200												2000											
	雄						雌						雄						雌						雄						雌					
	13	26	52	78	104	104	13	26	52	78	104	104	13	26	52	78	104	104	13	26	52	78	104	104	13	26	52	78	104	104	13	26	52	78	104	104
白血球	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
赤血球	↓ 95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ヘモグロビン量	—	—	↓ 98	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ヘマトクリット値	↓ 93	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

一元分散分析またはDunnett'sのt検定

— : 対照群と比較して差なし

↑(↓) : 対照群と比較してそれぞれP<0.05水準で有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

血液生化学的検査；投与開始前、投与26、52、78及び104週後に各群雌雄各10匹を対象として眼窩静脈叢より採血し、その血清を用いて以下の項目について検査した。

A S T、A L T、総蛋白、アルブミン、グロブリン、  
 総ビリルビン、尿素窒素、血糖、クレアチニン、  
 クレアチンキナーゼ、総コレステロール、  
 電解質(Na、K、Cl、Ca、P)

なお、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼの測定は、投与開始前、投与52及び104週後に各群雌雄各10匹について検査した。

その結果、2000 ppm群雄において投与52週後に血漿コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。しかし、投与104週後の検査では異常は認められなかった。その他の検査項目において対照群と比較し、有意に変動した項目が認められたが、いずれの変動値も検体投与量や投与期間との相関性は認められなかった。

### 主な血液生化学的検査結果

投与群(ppm)	20								200								2000							
	雄				雌				雄				雌				雄				雌			
検査時期(週後)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
総蛋白	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
アルブミン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
グロブリン	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-
尿素窒素	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	-	-
血糖	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-
A S T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A L T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
総コレステロール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	↑	-
																					111		120	

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す  
 一元分散分析またはDunnett'sのt検定  
 - : 対照群と比較して差なし  
 ↑(↓) : 対照群と比較してそれぞれP<0.05水準で有意差あり

尿検査；投与開始前、投与13、26、52、78及び104週後に各群雌雄各10匹を対象として、代謝ケージを用い採尿し、以下の項目について検査した。

量、外観、比重、蛋白質、糖、ケトン体、潜血、沈査

その結果、2000 ppm雌雄において投与13週後に尿比重のわずかな高値傾向が認められた。この変化は尿量の減少に起因したものと考えられた。

また、投与52週後において2000 ppm群雌で同様に尿量の減少による尿比重の上昇がみられたが、正常範囲の変化と考えられた。そのほかの検査項目においては検体投与に関連したと考えられる変化は認められなかった。

眼検査；投与開始前、投与52及び104週後に全ての動物について検査した。

その結果、2000 ppm群雄において投与52週後に片眼性の白内障が、2000 ppm群雌において投与104週後に網膜・脈絡膜の変性が有意に認められた。そのほか

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

検体投与群雌雄において各検査時に白内障及び網膜・脈絡膜の変性を高頻度に認めたと、統計学的には有意な差ではなかった。

性	投与群 (ppm)	白内障発生頻度 <sup>1)</sup>	
		52週後	104週後
雄	0	2/70(2.9%)	3/44(6.8%)
	20	4/70(5.7%)	7/41(17.1%)
	200	3/70(4.3%)	5/40(12.5%)
	2000	7/70(10.0%)*	8/40(20.0%)
雌	0	3/69(4.3%)	9/37(24.3%)
	20	2/70(2.9%)	14/43(32.6%)
	200	4/69(5.8%)	4/35(11.4%)
	2000	5/69(7.2%)	9/40(22.5%)

Fisherの確率検定 \* : P < 0.05水準で有意差あり

1) 白内障発生頻度は、52週後及び104週後とも観察した全ての白内障を含め表示した。

#### 網膜・脈絡膜の変性発生頻度

性	投与群 (ppm)	片 眼		両 眼	
		52週後	104週後 <sup>2)</sup>	52週後	104週後 <sup>2)</sup>
雄	0	3/70(4.3%)	0/44(0.0%)	0/70(0.0%)	0/41(0.0%)
	20	2/70(2.9%)	1/41(2.4%)	0/70(0.0%)	0/36(0.0%)
	200	6/70(8.6%)	1/40(2.5%)	1/70(1.4%)	0/35(0.0%)
	2000	7/70(10.0%)	1/40(2.5%)	0/70(0.0%)	0/33(0.0%)
雌	0	4/69(5.8%)	2/37(5.4%)	0/69(0.0%)	2/32(6.3%)
	20	8/70(11.4%)	3/43(7.0%)	0/70(0.0%)	2/33(6.1%)
	200	2/69(2.9%)	1/35(2.9%)	0/69(0.0%)	4/28(14.3%)
	2000	6/69(8.7%)	5/40(12.5%)	0/70(0.0%)	8/32(25.0%)*

Fisherの確率検定 \* : P < 0.05水準で有意差あり

2) 分母は、片眼性及び両眼性の白内障、眼球ろう、壊死及び両眼性の散在性網膜出血を除いて修正した。

臓器重量；投与52週後に中間層殺動物として各群雌雄各20匹を、投与期間終了時に全ての生存動物を対象として、解剖の後以下の臓器について重量を測定し、同時に対体重比及び体脳重比を算出した。

脳、胸腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、精巢(合精巢上体)、

下垂体\*、甲状腺\*、副腎\*、卵巣\*

\* 固定後重量測定を行った。

その結果、2000 ppm群雄において腎臓及び精巢の重量、対体重比及び対脳重比の増加が認められた。2000 ppm群雌では副腎の重量、対体重比及び対脳重比の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

増加が認められた。肝臓及び心臓では投与52週後の検査項目で増加が見られたが、投与104週後では対照群と同等であった。

その他の臓器において対照群と比較し、有意な変動が散見されたが検体投与量との相関性は認められず検体投与に関連する変化とは考えられなかった。

主な臓器重量、対体重比及び対脳重比

検査時期 投与群 (ppm)	52週後												104週後																			
	20				200				20				200				20				200											
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌												
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肝臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
腎臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
副腎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
胸腺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
精巣(含精巣体)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
下垂体	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
甲状腺(含上皮小体)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

I : 臓器重量、 II : 対体重比、 III : 対脳重比

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

一元分散分析またはDunnett'sのt検定

- : 対照群と比較して差なし

↑(↓) : 対照群と比較してそれぞれP<0.05水準で有意差あり



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

肉眼的病理検査；投与52週後の中間屠殺動物、投与期間終了時の全ての生存動物、途中死亡及び瀕死状態で切迫屠殺した動物を対象として剖検、肉眼的病理検査を行った。

その結果、2000 ppm群雄において眼球の混濁を高頻度に認めた。その他、検体投与群及び対照群雌雄の諸臓器において肉眼的変化が散見されたが、検体投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器について病理組織学的検査を行った。

脳(延髄、橋、小脳皮質、大脳皮質)、下垂体、頸部脊髄、胸部脊髄、腰部脊髄、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、直腸、顎下リンパ節、眼(両眼含ハーダー腺)、唾液腺(下顎部)、気管、食道、甲状腺(含上皮小体)、胸腺、心臓、肺(全葉及び主気管支)、肝臓、胃、腸間膜リンパ節、膀胱、精巣と精巣上体、前立腺、卵巣、子宮体部及び頸部、乳腺を含む皮膚、大腿骨、骨髄(肋骨接合部)、坐骨神経、骨格筋、腫傷、肉眼的病変部

その結果は表「主な病理組織学的病変発生頻度」に示した。

投与52週後に中間屠殺した2000 ppm群雌雄において腎臓の色素沈着が認められた。その変化は雄において中度、雌において軽度であった。

その他に肝臓の胆管増生、副腎の色素沈着及び脾臓の色素沈着等が対照群を含む全群雌雄に散見されたが、いずれの変化も検体投与に起因したものとは考えられなかった。

投与104週後に屠殺した2000 ppm群雌においては両眼網膜の変性が有意に増加した。雄の2000 及び200 ppm群において網膜下石灰沈着の増加がみられたが、統計学的に有意差が認められたのは200 ppm群雄のみであった。

雄における網膜下石灰沈着の発生頻度

(動物数)

投与群 (ppm)	検査動物数	異常なし	微度	軽度	中度	中重度	重度	対照群に対する有意差検定
0	48	34	1	8	4	1	0	
20	50	37	2	4	4	2	1	—
200	50	26	4	9	7	3	1	*
2000	50	27	6	9	6	2	0	—

52週以後の検査動物に基づく。

—：有意差なし

Fisherの確率検定 \*：P<0.05水準で有意差あり

[眼の病変に関する再検討]

ラットを用いた24カ月間飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験では、対照群を含め各試験群で様々な変化が記録された。その中で検体投与に起因する変化の一つとして、眼に関する病変の発生頻度およびその程度の増加が、高用量(2000 ppm)群雌雄および中用量(200 ppm)群雄で認められたと、当該試験を実施したHazleton Lab. America社では評価した。特に網膜下石灰沈着(Subretinal mineralization)の発生頻度およびその程度の増加のみが検体投与に起因したものと、この変化から最大無作用量は中用量(200 ppm)以下であるものの、低用量(20 ppm)よりはるかに高い値であると結論している。しかし、本試験で認められた眼の病変に関し以下の通り考察される。

- ① 供試したF344 ラットは加齢に伴い白内障を主とする眼の病変(雌雄)が高頻度に発生することが文献としてよく知られていること。
- ② 飼育室の蛍光灯照明により網膜下の病変が増加するとの報告があること。
- ③ 当該試験では、投与開始12~13週時に対照群を含む全群雌雄に唾液腺・涙腺炎(sialo-dacryoadenitis; SDA)の感染がみられ、この唾液腺・涙腺炎の後遺症として網膜の病変が発生することが文献で報告されていること。
- ④ 当該試験の対照群においても眼の病変が高頻度に認められていることから、検体投与による影響か否か区別し難いこと。

これらの考察により、網膜下の石灰沈着について複数の病理学者により再検討した。その結果、網膜下石灰沈着の発生頻度およびその程度は投与用量に依存性なく、さらに雄の中用量群にのみ有意に増加している点から、SDAウイルスの感染において通常認められる後遺症と考えられ、検体投与に起因した変化と考えるのは適切ではないと結論した。

文献

- ・ Yin-Lok Lai et al : Age-related and light-associated retinal changes in Fischer rats. Invest. Ophthalmol Visual Sci., 17:634-638 (1978)
- ・ Yin-Lok Lai et al : Animal model of human disease : Peripheral retinal degeneration : Animal model : Peripheral retinal degeneration in rats. Am. J. pathology, 97:449-452 (1979)
- ・ Roy W Bellhorn : Lighting in the animal environment. Laboratory Animal Science, 30:440-448(1980)
- ・ Laboratory Animal Ophthalmology : Section III : Special ophthalmology : The rodent. 664-671

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

その他、検体投与群雄において肝臓の再生的過形成(regenerative hyperplasia)と好塩基性細胞巢の発生頻度が高まったが、対照群と比較して有意な差ではなかった。また対照群を含む全群雌雄において下垂体の嚢胞化、副腎皮質の空胞変性、甲状腺の明細胞過形成、肺胞及び気管支上皮の過形成、脾臓の髄外造血、肝臓の脂肪変性及び胆管線維症、慢性進行性腎症等が散見されたがいずれの変化も検体投与に起因したものととは考えられなかった。

腫瘍性病変としては、本系統で高率に発生する雄での精巣間細胞腫、雌雄での下垂体腺腫、甲状腺明細胞腺腫及び全身性の単球性白血病等が認められた。ただし、検体投与に関連した発生頻度の上昇及び早期化は認められなかった。

各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表のとおりであり、腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響は認められなかった。

腫瘍性病変の発生頻度

性	雄				雌				
	0	20	200	2000	0	20	200	2000	
投与群 (ppm)									
検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
腫瘍数	良性 <sup>a)</sup>	78	88	86	74	39	56	47	45
	悪性 <sup>b)</sup>	59	74	69	57	83	70	68	65
腫瘍総数	137	162	155	131	122	126	115	110	
腫瘍動物数	54	52	55	55	52	51	47	49	

a) 原発性良性腫瘍

b) 原発性悪性腫瘍及び転移腫瘍

統計解析未実施

以上の結果から、シクロプロトリンの24カ月(104週)間飼料混入投与による慢性毒性ならびに発がん性試験における影響として、2000 ppm群雌雄での一時的な体重増加量の抑制、雌での一時的な軽度の貧血\*、雄での腎臓重量及び精巣重量と雌での副腎重量の増加が認められた。当試験における

無毒性量 200 ppm(雄：11.46 mg/kg/日 雌：13.97 mg/kg/日)

と判断した。また、催腫瘍性はないものと判断した。

【\*：申請者の考察】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

主な病理組織学的病変発生頻度(1)

— 腫瘍性病変 —

(単位：病変を観察した動物数)

性 転 帰 投 与 群 (ppm) 動 物 数	雄												雌											
	52週後解剖				104週後解剖				切迫屠殺及び死亡				52週後解剖				104週後解剖				切迫屠殺及び死亡			
	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000
下垂体：腺腫	2	1	1	0	8	17	17	10	2	2	2	0	0	2	0	1	9	16	9	12	3	3	5	1
癌	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1
副 腎：皮質腺腫	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	2	0	1	1	0
褐色細胞腫	0	0	0	0	4	0	2	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
悪性褐色細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
甲状腺：明細胞腺腫	0	0	0	0	2	5	3	4	1	0	0	0	0	0	0	0	6	2	1	3	1	1	1	0
明細胞癌	0	0	0	0	0	5	4	1	0	2	1	0	0	0	0	0	1	4	1	4	1	1	2	1
ろ胞細胞腺腫	0	0	0	4	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
ろ胞細胞癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肝 臓：肝細胞腺腫	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
肝細胞癌	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
睪 臓：島細胞腺腫	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
島細胞癌	0	0	0	0	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
精 巣：間細胞腫	1	1	0	3	42	39	36	39	7	8	10	8												
悪性中皮腫	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1												
子 宮：内膜間質ポリープ													1	1	0	0	11	12	12	9	1	1	0	5
内膜間質肉腫													0	0	0	0	2	1	1	0	1	0	0	1
癌													0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
全 身：単球性白血病	0	0	0	0	29	36	29	27	5	8	10	7	0	0	0	0	36	36	29	30	9	8	9	10

統計解析未実施

主な病理組織学的病変発生頻度(2)

— 非腫瘍性病変 —

(単位：病変を観察した動物数)

性 転 船 投 与 群 (ppm) 動 物 数	雄												雌														
	52週後解剖				104週後解剖				切迫屠殺及び死亡				52週後解剖				104週後解剖				切迫屠殺及び死亡						
	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200	2000	0	20	200
下垂体：囊胞	1	1	1	2	15	11	13	10	1	3	2	2	9	6	6	5	27	23	17	22	4	2	6	8			
限局性過形成	0	1	2	3	12	14	9	11	0	1	1	2	3	1	0	1	12	15	11	8	1	0	1	2			
副腎：皮質空胞変性	20	19	20	19	19	17	22	11	3	6	5	7	1	1	1	1	30	30	31	30	5	3	11	11			
限局性皮質過形成	1	0	0	0	11	13	18	6	1	1	0	3	0	0	1	2	19	17	21	11	1	1	6	5			
色素沈着	14	20	19	18	12	4	9	5	0	1	3	2	19	19	20	20	18	14	13	10	3	0	8	8			
髓外造血	0	0	0	0	12	25	19	11	0	4	1	2	0	0	0	0	13	9	10	11	2	0	4	4			
甲状腺：明細胞過形成	0	0	1	0	41	35	39	37	4	5	6	5	0	0	0	0	34	31	27	33	3	2	9	8			
上皮小体：過形成	0	0	0	0	15	9	20	10	2	2	1	1	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	1			
肺：肺炎	4	1	2	4	15	10	3	13	0	1	1	0	0	2	1	0	7	9	7	17	1	1	0	0			
細気管支/肺胞上皮過形成	1	0	0	0	40	34	34	39	4	6	3	6	0	0	0	0	25	30	25	28	1	0	7	5			
脾臓：色素沈着	20	20	19	20	38	38	36	38	2	9	7	5	20	20	20	20	35	37	34	35	8	6	12	10			
髓外造血	0	1	1	0	36	36	38	35	5	7	6	7	15	10	9	12	36	41	32	34	7	4	12	10			
肝臓：胆管過形成	19	19	20	20	43	41	39	40	6	9	11	9	6	8	8	11	28	39	31	27	10	6	10	11			
胆管線維症	9	10	17	13	42	41	38	39	6	8	11	9	4	2	7	7	14	23	15	18	2	4	5	5			
好酸性細胞巢	0	0	0	0	26	30	29	24	4	5	4	5	0	0	0	0	7	11	9	9	1	2	2	2			
好塩基性細胞巢	0	0	0	0	38	40	32	38	3	8	8	7	0	0	0	0	29	36	27	25	3	6	5	6			
脂肪変性	0	0	0	0	13	25	23	17	4	4	5	5	0	0	0	0	22	26	16	20	5	5	8	8			
小葉中心性明調化	0	0	0	0	11	24	25	21	0	4	2	5	0	0	0	0	12	12	15	21	4	3	4	6			
再生的過形成	0	0	0	0	12	14	24	26	5	4	8	7	0	0	0	0	10	8	4	14	10	8	11	4			
腎臓：上皮細胞の色素沈着	20	20	20	20	42	40	39	39	7	8	9	7	20	20	20	20	37	41	33	35	7	6	15	14			
慢性進行性腎症	17	12	16	18	43	41	39	39	6	9	10	9	13	11	12	10	37	40	35	36	10	9	14	13			
石灰化	0	0	0	0	2	8	7	3	3	3	2	2	0	0	0	0	14	16	17	19	10	3	3	11			
移行上皮過形成	0	0	0	0	0	11	5	2	0	1	3	0	0	0	0	0	4	0	1	8	0	0	2	2			
膵臓：外分泌腺細胞萎縮	3	1	2	1	13	10	15	8	1	3	5	5	0	1	0	1	9	1	14	16	4	3	2	3			
慢性活動性膵炎	1	0	0	0	13	12	16	11	1	4	5	5	0	0	0	0	9	1	12	17	3	2	3	3			
精巣：間細胞過形成	12	12	11	16	3	1	4	3	1	1	1	3															
眼：白内障	1	1	1	2	33	25	17	22	1	2	4	4	2	1	1	3	27	30	23	29	2	2	5	6			
網膜の変性	1	1	2	3	21	28	21	30	2	3	3	2	0	0	0	0	32	35	33	31	5	2	6	9			
網膜下強膜の石灰化	0	0	0	0	13	12	22	20	1	1	2	3	0	0	0	0	19	21	20	16	2	1	3	4			
乳腺：乳腺のう胞	0	0	0	0	8	7	12	7	2	3	3	2	0	0	0	0	25	26	29	31	5	5	10	10			
乳腺過形成	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0			
卵巣：のう胞													8	9	7	2	3	1	1	3	0	1	0	1			
子宮：腔拡張													7	4	9	6	7	14	15	6	5	4	7	2			

統計解析未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2) マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性／発がん性併合試験 (資料No. 18)

試験機関：

報告書作成年 1985年

検体の純度：

供試動物：B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウス、1群雌雄各70匹、開始時6週齢  
投与12及び18カ月後に1群雌雄各10匹を中間屠殺した。

投与期間：24カ月(104週)1983年1月5日～1985年1月7日

投与方法：検体をアセトンに溶解して、0、50、500及び5000 ppmの濃度になるよう飼料に混入し、24カ月間にわたって随時摂食させた。投与飼料は検体と基礎飼料とを毎週1回混合調製した。

統計解析：体重、摂餌量、食餌効率、飲水量、臨床病理学的検査結果、臓器重量について、Bartlettの検定および分散分析により統計解析を行った。投与群と対照群との比較は雌雄別なt検定(等分散あるいは不等分散)、およびDunnettの多重比較表を用いて行った。非母数法が妥当な場合には順位変換法を用いた。生存率と腫瘍出現期間の解析は、生命表を用いた方法にて行った。

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。

500 ppm群で眼瞼の発赤腫脹が、また、5000 ppm群雄で27～52週に触知腫瘍がわずかに増加した。その他、脱毛、うずくまり姿勢及び異常呼吸が対照群を含めて全群で認められたが、いずれも検体投与によるものとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

主な一般症状

出現数(出現率%)

投与群 (ppm)		0		50		500		5000	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
期間(週)									
眼瞼発赤腫脹	40- 52	2( 3)	0( 0)	0( 0)	0( 0)	1( 1)	1( 1)	0( 0)	0( 0)
	66- 78	2( 4)	0( 0)	2( 4)	0( 0)	4( 8)	6(11)	1( 2)	0( 0)
	92-104	1( 3)	0( 0)	6(15)	0( 0)	5(14)	4(10)	5(15)	0( 0)
角膜混濁	40- 52	1( 1)	3( 4)	0( 0)	1( 1)	0( 0)	1( 1)	1( 1)	0( 0)
	66- 78	0( 0)	4( 7)	1( 2)	1( 2)	0( 0)	1( 2)	0( 0)	2( 4)
	92-104	0( 0)	3( 8)	2( 5)	1( 2)	0( 0)	3( 8)	0( 0)	3( 8)
触知腫瘤	27- 39	1( 1)	0( 0)	6( 9)	1( 1)	4( 6)	0( 0)	11(16)	0( 0)
	40- 52	8(12)	0( 0)	4( 6)	0( 0)	6( 9)	0( 0)	12(18)	1( 1)
	66- 78	9(18)	1( 2)	8(15)	0( 0)	4( 8)	1( 2)	12(23)	1( 2)
	92-104	11(34)	6(15)	14(32)	9(20)	8(22)	3( 8)	7(21)	4(11)

統計解析未実施

事故または採血に起因する死亡も含めて下表に最終屠殺時までの死亡状況を示した。

いずれの群においても投与による影響は認められなかった。

投与群 (ppm)	0		50		500		5000	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
死亡数/供試数 <sup>1)</sup>	15/42	15/49	4/44	9/48	9/44	13/46	17/46	14/46
事故、採血に起因する死亡数	8	1	6	2	6	4	4	4

<sup>1)</sup> 中間屠殺数(雌雄各20匹)及び事故、採血に起因する死亡数を除く。

体重変化；投与開始から14週間は毎週1回、その後は2週間に1回全ての生存動物の体重を測定した。

5000 ppm群雄では22週以後、また雌では28週以後対照群と比較して有意な低値が試験終了時まで続いた。500及び50 ppm群では雌雄ともに検体投与による一貫した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日本化薬株式会社にある。

平均体重の推移

(単位：g)

性	投与群(ppm)	0	50	500	5000
雄	測定時期(週) 1	21	21	21	21
	26	30	30	31	29(97)**
	52	32	32	31	30(94)**
	78	34	33	33	30(87)**
	104	32	32	31	29(87)**
雌	測定時期(週) 1	18	19(106)*	18	18
	26	27	27	27	27
	52	29	29	28	27(93)**
	78	31	30	30	28(90)**
	104	32	31	31	27(84)**

表中()内の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

Dunnettの多重比較法：

\*, \*\*；対照群と比較して、それぞれP<0.05、P<0.01水準で有意差あり

摂餌量、食餌効率及び飲水量；摂餌量は投与開始から14週間は毎週、その後は2週間に1回測定した。食餌効率は投与開始から14週までの測定値から算出した。飲水量は投与後26、50、76及び102週に測定した。

1匹当りの摂餌量は5000 ppm群雌で対照群と比較し、ほぼ一貫して低値であった。体重当りの摂餌量で比較すると、5000 ppm群雄で高値であった。食餌効率については、対照群と比較して投与群で有意な差異が散見されたが、検体投与による一貫した影響は認められなかった。

飲水量は投与50週に5000 ppm群雄にのみ対照群と比較して有意な低下が認められたが、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

投与群(ppm)	50					500					5000					
	1	26	52	78	104	1	26	52	78	104	1	26	52	78	104	
1匹当り摂餌量	雄	—	 96	 106	—	—	 104	 96	 109	—	—	—	 102	—	—	—
	雌	—	—	—	↑ 105	—	—	 104	—	—	—	—	 104	 89	 93	 89
体重当り摂餌量	雄	—	 97	↑ 105	—	—	 105	↓ 95	 108	—	—	—	 107	 107	 108	 109
	雌	 96	—	—	 109	—	—	 105	—	—	—	—	 106	 95	—	—

—：対照群と比較して差なし

Dunnettの多重比較法：

↑(↓)、||(||)；対照群と比較してそれぞれP<0.05、P<0.01水準で増加(減少)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量は、50、500

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

及び5000 ppm投与群で雄がそれぞれ8.57、86.6及び888 mg/kg、また、雌が10.30、102.4及び1014 mg/kgであった。

血液学的検査；投与12、18及び24カ月後に各群雌雄各10匹を対象として、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について検査した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、

血小板数、網状赤血球数、白血球百分比

また、全生存動物の血液塗抹標本を作成し、対照群と5000 ppm群については血球像の形態観察を行った。

その結果、5000 ppm群でヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均血球容積(MCV)及び平均血球血色素量(MCH)の減少が認められたが、他の群では認められず、また、検査時を通した一貫した変化ではないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

#### 主な血液学的検査結果

投与群(ppm)	50						500						5000					
	雄			雌			雄			雌			雄			雌		
検査時期(カ月)	12	18	24	12	18	24	12	18	24	12	18	24	12	18	24	12	18	24
ヘモグロビン量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—
ヘマトクリット値	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—
MCV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			↓		—	—
MCH	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		↓	—	—	—	—
													92	92	96	96	96	96
													96	96	96	96	96	96

—：対照群と比較して差なし

Dunnettの多重比較法：↓、||：対照群と比較してそれぞれP<0.05、P<0.01水準で増加(減少)  
表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

血液生化学的検査；血液学的検査と同様に眼窩静脈叢より採血した血清を用いて検査した。12及び18カ月時では血液学的検査に用いた動物とは異なる動物を用い、24カ月時では一部共通の動物を用いた。次の項目は検査前夜絶食させた動物から採血し、各群雌雄各10匹について検査した。

Na、K、Cl、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、

アルブミン、グロブリン、A/G比、コレステロール、血糖

また、次の項目は絶食させず、各群雌雄各10匹について検査した。

アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、AST、

ALT、乳酸脱水素酵素

各群雌雄各10匹について血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性を測定した。脳コリンエステラーゼ活性の測定は12及び24カ月時に実施した。なお、12及び18カ月時の測定には中間屠殺動物を用いた。

Na、K、及びClについては、十分なサンプル量が得られず18及び24カ月時の測定では欠測値が多かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

その結果、次の表に示すような変化が認められた。5000 ppm群雄におけるアルカリホスファターゼ活性の上昇は検体投与に関連した変化と考えられ、その他の変化はいずれも一時的なもの、もしくは生物学的な意味はない変化と考えられた。

主な血液生化学的検査結果

投与群 (ppm)	50						500						5000					
	雄			雌			雄			雌			雄			雌		
検査時期(カ月)	12	18	24	12	18	24	12	18	24	12	18	24	12	18	24	12	18	24
Na	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	-
K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	103	-	-
アルカリホスファターゼ	-	-	↓ 85	-	-	-	-	-	-	-	-	-				258	339	453
ALT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	-
尿素窒素	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	123	-	-
クレアチニン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	↑		-
総蛋白	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	-	130	125	-
アルブミン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑		↑	105		-
グロブリン	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑		↑	106	106	-
コレステロール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-			-
血糖	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	-	-
血漿コリンエステラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		↑	-	83	-	-
血球コリンエステラーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↑	-	↑	-	-	-

- : 対照群と比較して差なし

Dunnettの多重比較法:

↑(↓)、|| : 対照群と比較してそれぞれP<0.05、P<0.01水準で上昇(低下)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

尿検査 ; 前記項目と同時期に実施し、各群雌雄各10匹について検査前夜絶食させ、下記項目について検査した。12及び18カ月時の検査では絶食採血後に血液生化学的検査を行った動物が用いられており、24カ月時では一部血液学的検査に用いた動物も含んでいる。

色調、外観、沈渣、比重、尿量、pH、蛋白、潜血、糖、

亜硝酸塩、ビリルビン、ケトン体、ウロビリノーゲン

その結果、5000 ppm群雌で24カ月時にpHの低下が、また500 ppm群雌で12カ月時に尿量の増加が認められたのみで、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日本化薬株式会社にある。

臓器重量；投与12及び18カ月後の中間屠殺動物として各群雌雄各10匹を、投与期間終了時に全ての生存動物を対象として、解剖の後以下の臓器について重量を測定し、同時に対体重比を算出した。

脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、下垂体、副腎、

甲状腺及び上皮小体、精巣、卵巣

その結果、5000 ppm群雌雄において肝臓重量及び対体重比の増加が各検査時期で認められ、検体投与に関連した変化と考えられた。5000及び500 ppm群雌では腎臓の対体重比の増加がみられたが、投与量との関連性が明らかでなく体重の減少に起因したものと考えられた。

その他の臓器において対照群と比較し、有意な変動が散見されたが検体投与量及び投与期間との相関性は認められず、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

主な臓器重量及び対体重比

検査時期 投与群 (ppm)	12カ月						18カ月						24カ月											
	50		500		5000		50		500		5000		50		500		5000		50		500		5000	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
検査項目	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肝臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
腎臓	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
副腎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
下垂体	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

I : 重量 II : 対体重比 - : 対照群と比較して差なし  
 Dunnettの多重比較法 : ↑(↓)、II(I) ; 対照群と比較してそれぞれP<0.05、P<0.01水準で増加(減少)  
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

肉眼的病理検査；投与12及び18カ月後の中間屠殺動物、投与期間終了時の全ての生存動物、途中死亡及び瀕死状態で切迫屠殺した動物を対象として剖検、肉眼的病理検査を行った。

その結果、肝臓の腫瘍の発現頻度が5000 ppmの雄の投与0～12ヶ月および18～24ヶ月後、雌の18～24ヶ月後で対照群に比較し有意に高かった。これらは検体の影響によるものと考えられた。

また、5000 ppm群の雄の12～18ヶ月後では肝臓の色調変化が有意に認められたが、12～18ヶ月後のみの変化であることから偶発的な変化と考えられた。

#### 肝における主な肉眼的病理検査

性	雄				雌			
	0	50	500	5000	0	50	500	5000
(0～12カ月)	[17]	[16]	[16]	[17]	[14]	[11]	[16]	[17]
肝臓：腫瘍	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	9** (52.9)	0(0.0)	2(18.2)	0(0.0)	0(0.0)
色調変化(黒)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1 (6.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(5.9)
(12～18カ月)	[17]	[11]	[12]	[16]	[13]	[10]	[11]	[12]
肝臓：腫瘍	6(35.3)	2(18.2)	3(25.0)	6 (37.5)	1(7.1)	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)
色調変化(茶)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	8** (50.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(25.0)
(18～24カ月)	[36]	[43]	[42]	[37]	[43]	[49]	[43]	[41]
肝臓：腫瘍	10(27.7)	13(30.2)	11(26.2)	29** (78.4)	5(11.6)	2(4.1)	3(7.0)	13*(31.7)
色調変化(緑)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1 (27.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(2.4)

[ ]：期間内に計画屠殺、切迫屠殺及び死亡した観察動物数 ( )：発現率、%

Dunnettの多重比較法：\*，\*\*：対照群と比較してそれぞれ $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水準で有意差あり

その他、検体投与群及び対照群雌雄の諸臓器において肉眼的変化が散見されたが、検体投与に関連したと思われる変化は認めなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の臓器について病理組織学的検査を行った。

大動脈(胸部)、副腎、骨(大腿)、骨髓、骨髓塗沫、脳、  
 眼(含ハーダー腺)、食道、胃、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、  
 盲腸、結腸、直腸、卵巣、精巣(含精巣上体)、心臓、腎臓、  
 肝臓(含胆のう)、肺(含主気管支)、リンパ節(縦隔洞、腸間膜、  
 腫瘍周辺部)、乳腺部、膵臓、下垂体、前立腺及び精のう、  
 唾液腺(含顎下リンパ節)、坐骨神経、骨格筋(大腿部)、皮膚、  
 脊髄(頸部、胸部中央、腰部)、脾臓、胸腺部、甲状腺(含上皮小体)、  
 気管、膀胱、子宮(体部、頸部)、腫瘍、肉眼的病変部

その結果、各解剖時共通に、5000 ppm群雌雄で肝臓の中心性肝細胞肥大、胆汁色素または褐色色素の沈着が多くの動物に認められた。また、5000 ppm群雌で

は腎臓の尿細管上皮の肥大及び慢性腎炎を認めたが、雄では尿細管上皮の肥大は認められず、慢性腎炎は対照群と比較し有意に減少した。その他、脳の石灰沈着、涙腺炎、肺炎、唾液腺のリンパ球浸潤及び脾臓での髓外造血等が対照群を含む全群の雌雄に高率にまたは散発的に認められたが、いずれの変化も検体投与に関連したものとは考えられなかった。

腫瘍性病変としては5000 ppm群雄において、12カ月解剖時までには肝細胞腺腫(23.5%)及び肝細胞癌(35.3%)の発生を高率に認めた。12~18カ月解剖時までの上記腫瘍病変の発生頻度は、対照群と比較し有意でなかった。18~24カ月解剖時までには肝細胞腺腫(62.1%)の発生を高率に認めたが、肝細胞癌の発生は対照群と比較し有意な差でなく、試験期間が延長しても悪性化は認めなかった。雌では5000 ppm群において18~24カ月解剖時に肝細胞腺腫(29.3%)の高率発生を認めたが、肝細胞癌は対照群と同等であった。また、この雌におけるこれら肝臓の腫瘍性病変の発生頻度は、B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub>マウス雌の背景的データに報告<sup>1)</sup>されている発生率(0~20%)の範囲内のものであった。

肝における腫瘍性病変発生頻度

性	雄				雌			
	0	50	500	5000	0	50	500	5000
投与群(ppm)								
(0~12カ月)	[17]	[16]	[16]	[17]	[14]	[11]	[16]	[17]
肝細胞腺腫	1(5.9)	0(0.0)	0(0.0)	4(23.5)	0(0.0)	2(18.2)	0(0.0)	0(0.0)
肝細胞癌	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	6*(35.3)	0(0.0)	0(0.0)	1(6.3)	0(0.0)
肝細胞腺腫/肝細胞癌 <sup>#</sup>	1(5.9)	0(0.0)	0(0.0)	10**(58.8)	0(0.0)	2(18.2)	1(6.3)	0(0.0)
(12~18カ月)	[17]	[11]	[12]	[16]	[13]	[10]	[11]	[12]
肝細胞腺腫	6(35.3)	2(18.2)	1(8.3)	3(18.8)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
肝細胞癌	1(5.9)	0(0.0)	1(8.3)	4(25.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)
肝細胞腺腫/肝細胞癌 <sup>#</sup>	7(41.2)	2(18.2)	2(16.7)	7(43.8)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(8.3)
(18~24カ月)	[36]	[43]	[42]	[37]	[43]	[49]	[43]	[41]
肝細胞腺腫	3(8.3)	7(16.3)	7(16.7)	23**(62.1)	4(9.3)	2(4.1)	3(7.0)	12*(29.3)
肝細胞癌	6(16.6)	5(11.6)	5(11.9)	7(18.9)	2(4.6)	1(2.0)	1(2.3)	3(7.3)
肝細胞腺腫/肝細胞癌 <sup>#</sup>	9(25.0)	12(27.9)	12(28.6)	30**(81.1)	6(14.0)	3(6.1)	4(9.3)	15*(36.6)
(0~24カ月)	[70]	[70]	[70]	[70]	[70]	[70]	[70]	[70]
肝細胞腺腫	10(14.3)	9(12.9)	8(11.4)	30**(42.9)	4(5.7)	4(5.7)	3(4.3)	12(17.1)
肝細胞癌	7(10.0)	5(7.1)	6(8.6)	17*(24.3)	2(2.9)	1(1.4)	2(2.9)	4(4.7)
肝細胞腺腫/肝細胞癌 <sup>#</sup>	17(24.3)	14(20.0)	14(20.0)	47**(67.1)	6(8.6)	5(7.1)	5(7.1)	16*(22.9)

[ ] : 期間内に計画屠殺、切迫屠殺及び死亡した観察動物数 ( ) : 発現率、%  
 Fisher直接確率計算法 : \*, \*\* : 対照群と比較してそれぞれP<0.05、P<0.01水準で有意差あり  
<sup>#</sup> : 肝細胞腺腫、肝細胞癌のいずれか一方または両方の病変が観察された動物数の合計。  
 ただし、本試験では両方の病変が観察された個体はみられなかった。

500及び50 ppm群雌雄においては肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度は対照群と同等であった。  
 その他の腫瘍性病変は検体投与群と対照群との間に差異はなく、検体投与による影響はなかった。  
 各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表のとおりであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

腫瘍性病変の発生頻度

性		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	50	500	5000	0	50	500	5000
検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
腫瘍数	良性	27	22	17	38	18	18	16	24
	悪性	14	8	11	19	17	16	14	15
腫瘍総数		41	30	28	57	35	34	30	39
腫瘍動物数		31	25	22	50	26	27	22	32

統計解析未実施

当試験に用いた B<sub>6</sub>C<sub>3</sub>F<sub>1</sub> マウスの肝における自然発生腫瘍の発生頻度は一般的に高率であり、当試験のように雌雄のいずれかに限られていて、かつ他の動物種においてはその様な変化が認められず、各種変異原性試験においても陰性結果の場合は、当試験結果の5000 ppm群雄において認められたような肝臓の腫瘍性病変の意義について重要視されないのが一般的である。<sup>2)</sup>

要約すると、検体の24カ月間飼料混入投与による慢性毒性ならびに発がん性試験における影響として、5000 ppm群雌雄での体重増加抑制、肝臓の重量及び対体重比の増加、肝臓の腫瘍の発現頻度の増加、雄でのアルカリホスファターゼ値の上昇、雌での摂餌量の減少がみられた。腫瘍性変化としては、5000 ppm群雌雄での肝細胞腺腫、雄での肝細胞癌発生頻度の増加がみられた。以上の結果から当試験における

最大無作用量 500 ppm(雄：86.6 mg/kg/日、雌：102.4 mg/kg/日)

確実中毒量(最小中毒量) 5000 ppm(雄：888 mg/kg/日、雌：1014 mg/kg/日)

と判断した。

1) B6C3F1マウスにおける肝腫瘍発生背景データ

著者名 試験機関	報告年	肝細胞腺腫発生率(%)		肝細胞がん発生率(%)		文献
		雄	雌	雄	雌	
Ward J・M.	1984	(21.8)	(1.8)	(18.0)	(6.9)	1
	1979	201/2,543 (7.9)	40/2,522 (1.6)	349/2,543 (13.7)	58/2,522 (2.3)	2
Reuber M.D.	1980	1/19(5.2)	0/19(0)	8/19(42.1)	1/19(5.2)	3
Sher S.P.	1982	(11)	(2)	(13)	(1)	4
		(2)	(1)	(20)	(2)	
Gupta B.N.	1983	2/25(8)	0/13(0)	12/25(48)	0/19(0)	5
Melnick R.L.	1983	0/49(0)	—	9/49(18)	—	6
		15/44(34)	—	16/44(36)	—	
Ito N.	1984	—	9/49(18)	—	10/49(20)	7
		11/47(23.4)	2/48(4.8)	8/47(17.0)	2/48(4.2)	
Hagiwara A.	1984	16/49(32.7)	5/49(10.2)	4/49(8.2)	4/49(8.2)	8

1. : Historical control tumor incidence (%) : B6C3F1 mice. (1984)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

2. Ward J.M., et al : Neoplastic and nonneoplastic lesions in aging (C57BL/6N x C3H /HeN)F1 (B6C3F1) mice. J. Natl. Cancer Inst., 63:849 - 854 (1979)
3. Reuber H.D. : Histopathology of carcinomas of liver in mice fed perthane. Tumor, 66:277 - 283 (1980)
4. Sher S.P., et al : Spontaneous tumors in control F344 and charles river - CD rats and charles river CD-1 and B6C3F1 mice. Toxicology Letters, 11:103 - 110 (1982)
5. Gupta B.N., et al : Effects of a polybrominated biphenyl mixture in rat and mouse: II Lifetime study. Toxicol. Appl. Pharmacol., 68:19 - 35 (1983)
6. Melnick R.L., et al : Chronic effects of agar, guar gum, gum arabic, locustbean gum, or tara gum in F344 rats and B6C3F1 mice. Fd. Chem. Toxic., 21:305-311 (1983)
7. Ito N., et al : Carcinogenicity of captafol in B6C8F1 mice. Gann, 75:853 - 865 (1984)
8. Hagiwara A., et al : Long-term toxicity and carcinogenicity study of sodium-o-phenylphenate in B6C3F1 mice. Fd. Chem. Toxic., 22:809-814 (1984)

## 2) 根拠文献

- ・ Ward J.M., et al : Neoplastic and nonneoplastic lesions in aging (C57BL/6N x C3H /HeN)F1 (B6C3F1) mice. J. Natl. Cancer Inst., 63:849 - 854 (1979)
- ・ Maslansky C.J., Williams G.H. : Evidence for an epigenetic mode of action in organochlorine pesticide hepatocarcinogenicity: A lack of genotoxicity in rat, mouse, and hamster hepatocytes. J. Toxicol. Environ Health, 8:121 - 130 (1981)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

主な病理組織学的病変発生頻度(1)

—腫瘍性病変—

(病変を観察した動物数)

性	雄								雌							
	0		50		500		5000		0		50		500		5000	
投与群(ppm)	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
動物数	47	23	60	10	55	15	49	21	54	16	59	11	53	17	52	18
肝臓 : 肝細胞腺腫	7	3	9	0	7	1	24**	6	4	0	4	0	2	1	10	2
肝臓 : 肝細胞癌	3	4	3	2	3	3	11*	6	0	2	1	0	2	0	3	1
血管腫	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
血管肉腫	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
肺 : 腺腫	5	3	8	0	5	0	3	2	1	1	2	1	0	0	2	0
肺 : 癌	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
下垂体 : 皮質腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0	4	0	3	0	2	0	1	0
副腎 : 腺腫	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
ハート腺 : 腺腫	1	1	3	0	0	0	0	0	2	0	3	0	2	1	1	2
膵臓 : 外分泌腺細胞腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾臓 : 血管腫	1	1	1	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
脾臓 : 血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
甲状腺 : ろ胞細胞腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
リンパ球 : 悪性リンパ腫	0	2	0	2	0	2	0	1	8	5	4	5	5	5	1	5

A : 計画屠殺

B : 切迫屠殺及び死亡

X<sup>2</sup>およびkruskal-wallisの検定 :

\*, \*\* ; 対照群と比較し、それぞれP < 0.05、P < 0.01水準で有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

主な病理組織学的病変発生頻度(2)

—非腫瘍性病変—

(病変を観察した動物数)

性	雄								雌							
	0		50		500		5000		0		50		500		5000	
投与群(ppm)	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
動物数	47	23	60	10	55	15	49	21	54	16	59	11	53	17	52	18
副腎 : 変性	0	0	1	0	0	0	0	0	9	0	13	1	9	1	3	0
過形成	4	0	3	0	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
脳 : 石灰沈着	3	4	8	0	4	1	8	4	4	1	6	0	5	1	3	1
眼 : 白内障	0	0	0	0	3	0	1	0	0	1	1	0	0	0	2	0
石灰沈着	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ハート腺 : 炎症	0	0	1	0	0	0	0	1	2	0	4	0	3	0	4	0
涙腺炎	17	0	17	0	15	1	17	2	12	0	13	0	12	1	18	0
腎臓 : 尿細管上皮の肥大	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	47**	12
慢性腎炎	31	4	38	4	26	2	16**	2	12	2	8	1	14	2	26*	2
石灰沈着	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓 : 好酸性細胞出現	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
好塩基性細胞出現	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肝細胞の肥大	0	1	4	1	14**	3	49**	11	0	0	2	0	2	0	52**	13
<sup>1)</sup> 胆汁/褐色色素沈着	0	1	0	0	0	0	26**	9	0	0	0	0	0	0	6**	2
肺 : 間質性肺炎	3	3	3	0	1	1	3	2	13	4	11	3	4	2	6	0
唾液腺 : リンパ球浸潤	15	2	13	2	13	1	11	2	20	4	20	1	19	4	18	2
皮膚 : 皮膚炎	4	2	0	0	0	0	2	0	8	1	2	0	3	0	2	0
脾臓 : 髄外造血	3	1	0	2	1	3	3	2	5	2	2	3	4	3	1	5
膀胱 : リンパ球浸潤	0	0	4	0	4	0	6	0	36	4	37	2	30	5	30	2
卵巣 : のう胞									6	2	7	0	3	0	2	1
子宮 : のう胞過形成									47	6	53	5	48	8	41	6
精巣 : 精細胞の変性	5	5	6	3	7	0	3	3								

A : 計画屠殺

B : 切迫屠殺及び死亡

X<sup>2</sup>およびkruskal-wallisの検定 :

\*, \*\* ; 対照群と比較し、それぞれP < 0.05、P < 0.01水準で有意差あり

【申請者注】<sup>1)</sup> 「胆汁/褐色色素沈着」は原文において、「胆汁色素沈着」と「褐色色素沈着」との別所見で報告されているが、報告書の確認において同一の病変を別々の所見名に分類し判定したものと推測できるため、ここでは統一所見とした。

3) イヌを用いた経口投与による慢性毒性試験

(資料No. 19)

試験機関：

[G L P 対応]

報告書作成年 1998年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬、1群雌雄各4匹、投与開始時月齢6カ月齢  
投与開始時体重(雄、8.6～10.3 kg；雌、7.5～9.7 kg)

投与期間：12カ月間(1995年12月21日～1996年12月22日または23日)

投与方法：直近の体重に基づいて秤量した検体をゼラチンカプセルに封入し、0、1、10  
または100 mg/kg/日の用量で12カ月間にわたって毎日経口投与した。  
検体を封入したゼラチンカプセルは週1回の頻度で調製した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡；全動物について、一般状態及び死亡を毎日観察した。

全投与期間をとおり死亡動物は認められなかった。

100 mg/kg/日投与群で、対照群及び他の投与群に比べて嘔吐頻度が上昇した。

体重変化；投与開始前に2回、投与開始時から投与第13週までは毎週1回、それ以降は毎月1回及び投与終了時に全生存動物の体重を測定し、平均体重を算出した。

体重及び体重増加に及ぼす検体投与の明瞭な影響は認められなかった。

1 mg/kg/日投与群雄で投与開始2週後に対照群雄に比べ有意な体重増加抑制が認められたが、これは1動物の体重減によるものであった。

100 mg/kg/日投与群雄で投与開始3～8週後に体重増加抑制傾向を示し、検体の影響が示唆されたが、用量相関性がなかった。

摂餌量；投与開始前及び投与第13週までは毎週1回、それ以降は月に1回の頻度で全生存動物の摂餌量を測定した。

投与期間中の投与群の摂餌量は対照群の値と同等もしくはそれより高かった。

眼検査；投与開始前及び投与終了後全動物の眼検査を行った。

検体投与の眼に及ぼす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日本化薬株式会社にある。

血液学的検査；投与開始前、投与開始3カ月後、6カ月後及び投与終了時に、全生存動物を一晩絶食させた後、頸静脈穿刺により血液を採取し、以下の項目に関する血液学的検査を実施した。

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、血小板数、  
プロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間、  
総白血球数及び白血球百分率、網状赤血球数  
統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

主な血液学的検査成績

検査 時期	性別	雄			雌		
	投与用量(mg/kg/日)	1	10	100	1	10	100
3カ月	総白血球数		↓78				
	好中球数	72	70				
12カ月	総白血球数			↑141			
	好中球数			141			

Dunnettの多重比較法 ↑・↓；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とした場合の数を示す  
空欄は統計学的有意差の認められなかった項目

100 mg/kg/日投与群雌の血色素量、ヘマトクリット値及び総赤血球数の平均値が測定時期により上下したが、いずれも正常範囲内にあり、かつ一貫した変化でなかった。投与終了時の総白血球数及び好中球の絶対値が対照群に比べ有意に高かったが、個体別の値は正常範囲内であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

血液生化学的検査；投与開始前、投与開始3カ月後、6カ月後及び投与終了時に、血液学的検査を兼ねて採取した血液を用いて以下の項目に関する血液生化学的検査を実施した。

A S T、A L T、アルカリフォスファターゼ(A L P)、  
 尿素窒素、クレアチニン、グルコース(空腹時)、  
 クレアチンキナーゼ、総タンパク、アルブミン、グロブリン、  
 アルブミン/グロブリン比、総ビリルビン、ナトリウム、  
 カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、G G T P  
 統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

主な血液生化学的検査成績

検査 時期	性 別 投与用量(mg/kg/日)	雄			雌		
		1	10	100	1	10	100
6 月	尿素窒素				↓ 82	76	↓ 81
	無機リン						68
12月	グルコース		↑ 113	↑ 115			
	アルブミン		↓ 90	↓ 92			
	無機リン			79			
	A S T						↑ 154

Dunnettの多重比較法 ↑・↓ ; 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とした場合の数を示す  
 空欄は統計学的有意差の認められなかった項目

100 mg/kg/日投与群雌雄の無機リン濃度は対照群の値より全般的に低く、投与開始6カ月後の雌及び投与終了時の雄で統計学的に有意であったが、毒性学的意義は明らかでない。その他の検査項目において少数の統計学的有意差が認められたが、一貫性がなく、検体投与によるものとは考えられなかった。

尿検査；投与開始前、投与開始3カ月後、6カ月後及び投与終了時に、新鮮尿を用いて以下の項目について検査した。

外観、比重、pH、タンパク質、ブドウ糖、ケトン体、  
 ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣  
 また、自然排泄尿を用いて以下の項目について検査した。  
 尿量(16時間)

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

臓器重量；試験終了時(12カ月間投与終了時)に全供試動物について、以下の臓器の重量(絶対重量)を測定し、剖検時の体重及び脳重量に対する相対重量を算出した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心臓、肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎、精巣(精巣上体を含む)、卵巣、前立腺、胸腺  
統計学的有意差の認められた項目及び統計学的有意差は認められないが検体投与の影響に関し考察を行った項目に関して下表に示す。

主な臓器重量

性別		雄			雌		
投与用量 (mg/kg/日)		1	10	100	1	10	100
最終体重(kg)		13.8	12.9	11.6	11.6	11.8	9.9
前立腺	絶対重量	93	83	66			
	相対重量(体重)	87	83	75			
肝臓	絶対重量	111	109	116	103	106	116
	相対重量(体重)	104	108	129	89	92	118
甲状腺/ 上皮小体	絶対重量	109	123	148	109	132	135
	相対重量(体重)	102	123	↑161	98	117	141
腎臓	相対重量(体重)					↓83	

パラメトリックなDunnettの多重比較法 .↑・↓ : 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とした場合の数を示す

100 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群雄で、統計学的に有意ではなかったが、前立腺の絶対重量及び相対重量が対照群の値より低い傾向が認められた。また、病理組織学的検査において重量変化と関連する変化が認められた。

100 mg/kg/日投与群雌雄において肝臓の絶対重量及び相対重量が対照群より高い傾向が認められたが、統計学的に有意であったのは雄の相対重量のみであった。病理組織学的検査において、肝臓の重量変化と関連する肝細胞のグリコーゲン量の変動が示されたが、これは代謝の変動によるもので、検体投与に関連した毒性とは考えられなかった。

100 mg/kg/日及び10 mg/kg/日投与群雌雄において、甲状腺の絶対重量及び相対重量が高い傾向が認められたが、病理組織学的検査では関連する変化は認められず、検体投与による毒性とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

肉眼的病理検査；試験終了時(12カ月間投与後)に全供試動物の剖検を行い、認められた異常所見を記録した。

病変の認められた臓器の肉眼所見及びその発生頻度を下表に示す。

肉眼的病変発生頻度

性 別		雄				雌			
投与用量 (mg/kg/日)		0	1	10	100	0	1	10	100
所見	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
肺	嚢胞				1				
	退色				1				1
乳腺	腫大					2	1	2	1
卵巣	腫大					1		1	1
	嚢胞						1		
脾臓	退色巣							1	
	表面粗造					1			
結腸	退色							1	
子宮	腫大					2		1	1
膣	肥厚					1			

統計解析未実施、空欄は発生がなかったことを示す。

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；試験終了時(12カ月間投与後)に剖検した全供試動物を対象とし、以下の臓器及び組織について病理組織学的検査を行った。

脳(大脳、小脳、橋/延髄)、脊髄(頸部)、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾臓、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、縦隔洞)、心臓、大動脈(腹部)、唾液腺(顎下腺)、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、大腸(盲腸、結腸、直腸)、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮(角部、体部及び頸部)、眼球(視神経を含む)、筋肉(大腿二頭筋)、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

主な臓器及び組織における病変の発生頻度を次頁表に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

主な臓器の病理組織学的病変発生頻度

性別		雄				雌			
投与用量 (mg/kg/日)		0	1	10	100	0	1	10	100
所見	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
前立腺	腺拡張	2	3	1	2				
	分泌物減少				3				
	萎縮	1		1	2				
	線維化	1		1	2				
	リンパ球集合	1	1						
肝臓	血管周囲性/胆管周囲性 リンパ様細胞	4	4	4	4	4	4	4	4
	混合型炎症性細胞	3	4	3	2	2	3	2	4
	網状内皮細胞：褐色色素				2			2	
	肝細胞細胞質： 小胞形成(中心小葉)	4	4	4	4	4	4	4	4
	肝細胞：細胞内色素沈着	2	2	1		1		1	1
甲状腺	甲状舌嚢胞				1		2	1	
	嚢嚢遺残	2			1				
	異所性胸腺	1							
	脂肪浸潤	1	1						1
	リンパ様細胞浸潤	1							

統計解析未実施、空欄は発生がなかったことを示す

検体投与の影響として、100 mg/kg/日投与群雄に前立腺の腺房崩壊による分泌物の減少が認められ、前立腺に機能低下を示した。前立腺におけるその他の変化は投与に関連するものでなかった。

肝臓では、対照群を含むすべての動物において中心小葉肝細胞細胞質に小胞形成が認められた。対照群と100 mg/kg/日投与群の雄の肝細胞切片を用いた過沃素酸シッフ(PAS)反応により、細胞質内にグリコーゲンの存在が示され、小胞形成はグリコーゲンによることを確認した。この所見には毒性学的意義はなく、動物の代謝状態を示すものである。

肝臓におけるその他の変化及びその他の臓器ならびに組織における所見は、いずれも偶発的所見であり、検体投与との関連性は考えられなかった。

以上の結果より、本試験条件下における検体の影響として、100 mg/kg/日投与群の雌雄における嘔吐頻度の増加、及び同群雄における前立腺の機能低下を示唆する病理組織学的所見が得られた。10 mg/kg/日及び1 mg/kg/日投与群では、検体投与に関連した作用は示されなかった。

したがって、本試験条件下において、シクロプロトリンのイヌに対する無毒性量は、10 mg/kg/日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日本化薬株式会社にある。

4)

(資料No. 19-2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年 1998年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖性に及ぼす影響

ラットを用いた繁殖試験

(資料No. 20)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

供試動物： S D系ラット、1群雄28匹、雌28匹、投与開始時6週齢

投与期間： P世代；投与開始からF 1 B離乳時までの26～29週間

F 1 A世代；離乳時から剖検までの12週間

F 1 B世代；離乳時からF 2 B離乳までの26～29週間

F 2 B世代；離乳時から剖検までの13週間

年12月6日～ 年4月11日)

投与方法： 検体を0、62.5、250及び1000 ppm含有した飼料を自由に摂取させた。飼料に添加する際、アセトンに溶かして行った。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

6週齢からP世代親動物の育成を開始し、16週齢から交配を開始した。得られた児動物(F 1 A)の一部を離乳時にF 1世代予備群として選抜し、育成し、その他の児動物は屠殺した。

母動物は約10日間の休養の後交配を行い、児動物(F 1 B)を得た。離乳時にF 1 Bの中から各群雌雄それぞれ24匹を選抜して、F 1世代親動物とした。

F 1 B哺育児を離乳した後、P世代親動物を屠殺した。F 1世代親動物もP世代と同様に育成と繁殖を行い、F 2 A及びF 2 Bを得た。F 2世代の離乳後の発育観察用の動物として、母動物当り雌雄各1匹のF 2 B児動物を選抜し、更に13週間育成し、屠殺、剖検を行い、試験を終了した。

一般状態及び死亡率：全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び交尾の確認：交配は雌雄1対1で同居させ、毎日膣垢を検査した。

膣栓または、精子の確認日を妊娠0日とした。

試験方法及び試験項目の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週)		体重、摂餌量を週1回測定し、検体摂取量、食餌効率を求める。
	交配(20日)	雌雄1対で交配 (交尾確認日を妊娠0日として妊娠日齢を起算)	膣垢検査 雌の体重を2日に1回測定
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14、17、20日に体重測定。
	出産	(F1A)	出産状況の観察；新生児数、死産児数、性別、外表異常及び新生児体重測定。
	哺育(3週)		母動物体重を哺育0、7、14及び21日目に測定。 児動物体重を哺育4、8、12及び21日目に測定。
F1	離乳	F1世代予備群として雌雄各24匹/群を選抜。a)	残余の児動物については1母動物当り雌雄各1匹の臓器重量を測定し、全臓器を保存。その他の児動物を屠殺し、外表異常検査及び剖検。  F1A選抜動物は、更に12週間育成し、屠殺、剖検、臓器重量測定。
	休養(10日) 交配(20日) 妊娠(3週)	} 上記F1Aを得るための手順、観察・検査項目に準ずる。 ----- (F1B) -----	
	出産 哺育(3週) 離乳		
	離乳	F1世代親動物として雌雄各24匹/群を選抜。a)	親動物(P)屠殺、剖検、臓器重量測定、全臓器を保存。不妊の雄では生殖器系臓器の重量を測定し病理組織学的検査を行う。不妊の雌では着床の有無を確認し、生殖器系臓器の病理組織学的検査を行う。
	生育(10週)		P世代に準ずる。
F2	交配(20日) 妊娠(3週)	} 兄妹交配を避ける。 その他、上記F1Aを得るための手順、観察・検査項目に準ずる。 ----- (F2A) -----	
	出産 哺育(3週) 離乳		
	離乳		児動物(F2A)については、1母動物当り雌雄各1匹の臓器重量を測定し、全臓器を保存。その他は屠殺し、外表異常検査及び剖検。
	休養(10日) 交配(20日) 妊娠(3週)	} 兄妹交配を避ける。 その他、上記F1Aを得るための手順、観察・検査項目に準ずる。 ----- (F2B) -----	
	出産 哺育(3週) 離乳		
離乳	雌雄各1匹/腹をF2世代動物として選抜。b)	残余の児動物(F2B)をF1Aの残余動物と同様に屠殺し検査する。 親動物(F1B)を屠殺し、P世代に準じて検査を行う。全臓器を保存し、対照群及び1000 ppm群について、病理組織学的検査を行う。	
生育(13週)		P世代に準ずる。  F2世代動物(F2B)を屠殺。剖検、臓器重量測定。	

- a) ; 全群もしくは群内の平均離乳日に近いものから1群当り24腹を選抜する。  
次いで同腹児の雌雄それぞれの平均体重に近いものを1腹当り各1匹選抜する。
- b) ; 同腹児の雌雄それぞれの平均体重に近いものを1腹当り各1匹選抜する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

重量測定臓器；以下の臓器について重量を測定した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺(雌では子宮、卵巣)

[申請者注]

臓器重量対体重比については、試験機関において解析行われていなかったため、申請者にて、下垂体、甲状腺及び肝臓について算出し、有意差検定を実施した。

病理組織学的検査；F1世代親動物の対照群及び1000 ppm群の全動物について下記の臓器を検査した。更に妊娠の成立しなかった親動物については生殖器系臓器を中心に行い、また、剖検時に病理組織学的検査が必要と認められた組織・臓器について行った。

副腎、骨髄、大腿骨、脳、盲腸、十二指腸、眼、心臓、回腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、骨格筋、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮及び陰

繁殖能に関する指標；交配、妊娠、出産及び哺育の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{生存児を出産した動物数}}{\text{妊娠した動物数}} \times 100$$

$$\text{4日後生存率} = \frac{\text{生後4日生存児数}}{\text{分娩時生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳時生存率} = \frac{\text{離乳時生存児数}}{\text{生後4日生存児数}} \times 100$$

$$\text{性比} = \frac{\text{雄児動物数}}{\text{全児動物数}} \times 100$$

結果：概要を表1～4に示した。

[親動物]

一般状態及び死亡率；2匹(P世代1000 ppm群の雌1匹…2回目出産時難産、F1B世代対照群の雄1匹(30週時)…鼻骨骨折及び呼吸促迫)を切迫屠殺した以外に死亡動物は認められなかった。また検体投与に起因すると思われる症状は全く認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

体重変化；62.5 ppm群のP、F 1 A、F 1 Bの雄で対照群と比較して高値傾向が認められたが、いずれの測定時でも統計学的に有意な差異は認められなかった。

食餌効率及び繁殖能に関する指標；食餌効率及び交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間等の繁殖能についても検体投与に起因する影響は認められなかった。

剖検所見；検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

#### [児動物]

同一腹児の全死亡及び児動物死亡率；同一腹児の全死亡例は少なく、P世代の2回目の出産時に、対照群及び62.5 ppm群で各1例に出産4日後までに全児動物の死亡が認められたのみであった。離乳時までの死亡率については検体投与に起因する増加は認められなかった。

児動物数及び児動物体重；対照群と比較して統計学的に有意な差異が散見されたが、投与量に相関した変化はなく、検体投与に起因する影響は認められなかった。

性比；出産時及び離乳時の性比については、対照群と検体投与群間に差異は認められなかった。

剖検所見；F 1及びF 2世代残余児動物の剖検時に投与量に相関した異常は認められなかった。

#### [最終検査]

臓器重量；肝臓重量が1000 ppm群のP世代親動物の雌、F 1 B世代親動物の雄、F 1 B世代離乳児の雌雄で対照群と比較して有意に増加した。また、有意ではないが、P世代親動物の雄、F 1 A世代離乳児の雌で増加傾向が認められた。62.5及び250 ppm群については、それぞれの対照群と比較して一貫した増加を示さなかったが、F 1 B世代離乳児の雌についてのみ有意な増加がみられただけで、一定の増加傾向は認められなかった。

腎臓重量については、1000 ppm群のP世代及びF 1世代親動物の雄で対照群と比較して有意に増加した。また、有意ではないが、F 2 B世代親動物の雄、P世代親動物の雌及びF 2 A世代離乳児の雌雄で増加傾向が認められた。

甲状腺及び下垂体重量については、統計学的に有意な差異が認められ、対照群と比較し明らかな増加又は減少が認められたが、雌雄もしくは世代間を通して投与量と相関した一定の傾向は認められなかった。その他の臓器については、対照群と比較して有意な増加もしくは減少が散見されたが、いずれも、性別もしくは世代間に共通し、投与量に相関した一定の傾向は認められなかった。

#### [申請者注]

病理組織学的検査； F 1 世代親動物の対照群と1000 ppm群について病理組織学的検査を行ったが、検体投与に起因する変化は認められず、重量変化の認められた臓器についても、検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果より、3世代にわたって検体を飼料中に混入して投与した場合、1000 ppm群の親動物及び離乳時児動物で肝及び腎重量の増加が認められた。一方、P世代親動物及びF 1 世代親動物の繁殖能については何ら影響が認められなかった。

したがって、本試験条件下において、シクロプロトリンのラットに対する無毒性量は、一般毒性的影響については親動物及び児動物ともに250 ppm(P：雄 13.5 mg/kg/日、雌 15.4 mg/kg/日； F 1：雄 12.4 mg/kg/日、雌 15.4 mg/kg/日)と判断された。繁殖能については最高投与量の1000 ppm(P：雄 51.7 mg/kg/日、雌 67.7 mg/kg/日； F 1：雄 54.2 mg/kg/日、雌 66.3 mg/kg/日)でも影響はなかった。

[申請者注]

表1 P世代、F1世代親動物及び児動物に関する試験結果要約

世代		親：P 児：F1A、F1B				親：F1 児：F2A、F2B				
投与量 (ppm)		0	62.5	250	1000	0	62.5	250	1000	
動物数	雄	28	28	28	28	24	24	24	24	
	雌	28	28	28	28	24	24	24	24	
親動物	一般状態	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
	死亡率	雄	0/28	0/28	0/28	0/28	1/24 (ke)	0/24	0/24	0/24
		雌	0/28	0/28	0/28	1/28 (ke)	0/24	0/24	0/24	0/24
	体重変化	雄	NAD	高値傾向	NAD	NAD	NAD	高値傾向	NAD	NAD
		雌	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	妊娠期間増体重	雌	NAD	高値傾向	高値傾向	高値傾向	NAD	NAD	NAD	NAD
	哺育期間増体重	雌	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	摂餌量		NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0	4.5 (3.2~6.8)	18.1 (13.5~27.3)	70.8 (51.7~107.3)	0	5.5 (3.3~9.6)	21.3 (12.4~36.8)	88.6 (54.2~154)
		雌	0	5.2 (4.3~6.7)	20.0 (15.4~26.1)	82.5 (67.7~103/5)	0	6.1 (4.0~9.3)	23.7 (15.4~37.2)	99.5 (66.3~154)
	肉眼的病理検査	雄,雌	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	病理組織学的検査	雄,雌	-	-	-	-	NAD	-	-	NAD
	交尾率 (%)	A	96.4 (27/28)	100 (28/28)	92.9 (26/28)	92.9 (26/28)	87.5 (21/24)	95.8 (23/24)	95.8 (23/24)	95.8 (23/24)
		B	85.7 (24/28)	96.4 (27/28)	89.3 (25/28)	96.4 (27/28)	75.0 (18/24)	100 (24/24)	95.8 (23/24)	95.8 (23/24)
	妊娠率 (%)	A	92.6 (25/27)	96.4 (27/28)	92.3 (27/28)	96.2 (25/26)	90.5 (19/21)	100 (23/23)	91.3 (21/23)	100 (23/23)
		B	100 (24/24)	96.3 (26/27)	92.0 (23/25)	96.3 (26/27)	83/3 (15/18)	83.3 (15/18)	91.3 (21/23)	82.6 (19/23)
	出産率 (%)	A	100	100	100	100	100	100	100	100
		B	100	100	100	96.2 (25/26)	100	100	100	100
妊娠期間 (日)	A	22.0	22.0	22.1	21.9	22.1	22.1	21.9	21.9	
	B	21.8	22.0	22.0	21.7	21.9	22.0	21.9	22.1	

ke : 切迫屠殺      NAD : 特記すべき異常なし      \* : 対照群と比較して P < 0.05 水準で有意差あり (Kruskal-wallis、Jonckheere または Fisher の検定)



表1 P世代、F1世代親動物及びF1世代動物に関する試験結果要約(続き)

動物数	世代	親: P 児: F1A、F1B				親: F1 児: F2A、F2B			
		0	62.5	250	1000	0	62.5	250	1000
雄	投与量 (ppm)	28	28	28	28	24	24	24	24
雌		28	28	28	28	24	24	24	24
平均産児数	A	11.1	10.8	12.9	12.2	12.2	12.4	12.2	11.5
	B	12.6 a)	12.0 a)	11.5	13.2	11.0	13.0	10.2	11.3
性比	A	49.0	49.4	48.9	52.2	53.4	50.5	48.7	47.8
	B	45.9 a)	48.7 a)	50.4	49.2	45.2	53.9	50.1	47.8
出産時生存率 (%)	A	99.7	98.4	98.5	98.8	98.0	98.8	98.9	100
4日後生存率 (%)	A	97.3	100	95.3	97.5	99.2	98.4	99.2	98.3
離乳時生存率 (%)	A	99.1	98.1	99.2	100	99.2	99.2	96.6	97.3
出産時生存率 (%)	B	98.2 a)	98.8 a)	97.5	96.7	97.2	96.8	97.6	97.9
4日後生存率 (%)	B	90.2 a)	96.6 a)	97.3	96.9	98.1	99.2	100	99.1
離乳時生存率 (%)	B	97.3	99.1	94.4	98.4	96.2	97.6	98.0	98.2
生存児体重 (g) 出産時	A	5.8	6.0*	5.8	5.7	5.8	5.8	6.0	5.9
4日後	A	8.9	9.1	8.7	8.8	8.8	8.6	9.1	9.2
8日後	A	14.5	14.7	14.0	14.2	13.9	13.8	14.2	14.9
12日後	A	21.3	21.7	20.5	21.0	19.9	19.9	20.5	21.6
離乳時	A	39.8	41.1	38.4	38.5	35.7	34.7	36.7	38.9
出産時	B	5.8 a)	6.0 a)	5.9	6.0	5.9	5.5	6.1	5.9
4日後	B	7.6	8.3	8.6*	8.0	9.0	8.1*	9.4	9.0
8日後	B	12.7	13.7	14.1	13.0	14.5	13.2	14.9	14.2
12日後	B	19.3	21.1	21.1	19.8	21.8	20.0	21.9	21.0
離乳時	B	37.9	40.0	40.4	36.4	42.7	38.6	42.7	40.9
肉眼的病理検査	雄, 雌	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD

\* : 対照群と比較して  $P < 0.05$  水準で有意差あり (Kruskal-wallis, JonckheereまたはFisherの検定)  
a) : 1母動物で全児動物が生後4日までに死亡したことから、これを除いて表記した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

表 2 離乳後 F 2 世代動物に関する発育観察

投与量 (ppm)		0	62.5	250	1000
動物数	雄	15	19	21	19
	雌	15	19	21	17
一般状態	雄、雌	NAD	NAD	NAD	NAD
死亡率	雄	0/15	0/19	0/21	0/19
	雌	0/15	0/19	0/21	0/17
体重変化	雄、雌	NAD	NAD	NAD	NAD
摂餌量 (g)	雄、雌	NAD	NAD	NAD	NAD
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0	3.2~8.4	13.4~32.3	53.6~133.9
	雌	0	4.2~7.8	16.6~31.8	66.0~127.2
肉眼的病理検査		NAD	NAD	NAD	NAD

NAD : 特記すべき異常なし 統計解析未実施

表3-1 臓器重量測定結果要約(絶対重量)

世代	親動物												離乳時児動物															
	P				F1B				(F2B)				F1A				F1B				F2A				F2B			
	62.5	250	1000		62.5	250	1000		62.5	250	1000		62.5	250	1000		62.5	250	1000	62.5	250	1000		62.5	250	1000		
投与量(ppm)																												
下垂体	雄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	
	雌	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↓
		120	107	117																							82	87
甲状腺	雄	-	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	-
	雌	-	-	-	115	126	121	115	115	121	115	115	115	121	115	115	115	115	115	115	115	115	115	115	115	115	115	-
胸腺	雄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	雌	-	-	↓	74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肺	雄	-	-	-	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	-
	雌	-	-	-	-	-	109	109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	↓	90
肝臓	雄	-	-	△	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	-
	雌	-	-	↑	109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脾臓	雄	-	-	-	-	-	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	-
	雌	-	-	-	-	-	110	110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
腎臓	雄	△	△	↑	111	△	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	△
	雌	-	-	△	111	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	△	-
子宮(膈を含む)	雄	-	-	↓	88	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	-
	雌	-	-	91	91	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

- : 対照群と比較して差なし

△ : 対照群と比較して、有意ではないが、増加傾向が認められる

↑・↓・↑↑・↓↓ : 対照群と比較して有意 (P<0.05, P<0.01) に増加もしくは減少(Williams' Test)

表 3-2 臓器重量対体重比結果要約 【申請者にて有意差検定とりまとめ】

世代	親動物												離乳時児動物														
	P				(F 1 B)				(F 2 B)				F 1 A			F 1 B			F 2 A			F 2 B					
	62.5	250	1000	↓	62.5	250	1000	↑	62.5	250	1000	↑	62.5	250	1000	↓	62.5	250	1000	↑	62.5	250	1000	↓	62.5	250	1000
投与量 (ppm)																											
下垂体	雄	-	-	↓	91	111	117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	雌	118	107	111	117	111	111	↑	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111
甲状腺	雄	-	-	-	114	124	123	↑	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111	111
	雌	-	↓	89	-	-	↑	112	117	119	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117	117
肝臓	雄	-	-	-	-	-	↓	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92	92
	雌	-	-	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110	110

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

- : 対照群と比較して差なし(T-検定)

↑、↓、↑↓、↑↑、↓↓ : 対照群と比較して有意 (P < 0.05, P < 0.01) に増加もしくは減少 (T-検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

病理組織学的検査結果

性別	雄		雌	
	0	1000	0	1000
投与群 (ppm)	0	1000	0	1000
検査動物数	23	24	24	24
肺 : 肺泡マクロファージの凝集	1	0	0	3
わずかな血管のうっ血	2	1	0	0
肺炎の病巣	0	2	2	2
心臓 : 心筋の線維症/心筋炎の病巣/病域 (シデロサイトを伴う又は伴わない)	5	4	1	0
胸腺 : わずかな血管のうっ血	0	1	0	0
リンパ節 : わずかな赤血球食細胞増加症	0	1	2	1
肝臓 : わずかな小葉中心部肝細胞の空胞化	4	8	0	0
中程度の小葉中心部肝細胞の空胞化	2	2	0	0
中程度の全般的肝細胞の空胞化	0	0	1	0
中央裂 (median cleft) 肝細胞の空胞化領域	1	1	0	0
うっ血した類洞	1	3	0	0
単核球巣	1	2	1	0
わずかな門脈周辺炎症	0	1	0	0
胆管 : 拡張	0	1	0	0
脾臓 : 癒着、被膜の線維化	0	0	1	0
膵臓 : 偶発的な膵島の線維化	4	4	0	0
外分泌腺房の委縮領域	1	0	0	1
わずかなシデロサイトの数	0	2	0	0
中程度の浮腫と死亡壊死巣を伴った炎症の領域	0	1	0	0
腎臓 : 早期の進行性糸球体ネフローゼ	2	2	0	0
片側の腎盂拡張の増大	2	0	1	0
石灰化巣	0	0	0	1
精巣 : 中程度の片側/両側 精子形成の停滞	1	1		
子宮 : 炎症反応関連を伴った壊死胎盤残骸の領域			0	1
膣 : 内腔に膿			0	1
子宮頸部 : 通常の発情活性化に関連した変化			0	1
甲状腺 : 角質嚢胞	1	0	0	0
胃 : 非腺部上皮の異所性病巣	0	5	2	1
わずかな有棘層肥厚の領域	1	0	0	0
粘膜腺の拡張領域	1	0	0	0
尾 : 疥癬	1	0	0	0
皮膚 : 表層封入嚢胞	0	1	0	0
脂肪組織 : 脂肪壊死の結節	0	1	0	0

統計解析未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

## 2) 催奇形性

### ① ラットにおける催奇形性試験

(資料No. 21)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

供試動物：SD系ラットを4週齢で入手し、11週齢で交配し、妊娠母動物を1群当り30匹用いた。(胎児観察用20匹/群、分娩・生後観察用10匹/群)

投与期間：1980年1月～1980年9月

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し、20、200及び2000 mg/kgの投与レベルで妊娠7日目から妊娠17日目までの11日間、毎日1回経口投与した。

なお、陰性対照群にはコーンオイルのみを、陽性対照群にはエチレンチオウレア(ETU)を蒸留水に溶解し、50 mg/kgを同様に投与した。

各群30匹の妊娠母動物の内、20匹を妊娠末期の胎児検査に供し、残りの10匹を自然分娩させ、出生児の生後発育に及ぼす影響を観察した。

観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

交尾確認；雌雄1対を同居交配し、膣栓の有無により交尾を確認し、この日を妊娠0日として妊娠日令を起算した。

繁殖能に関する指標；

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{分娩率} = \frac{\text{産児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

生後発育に関する指標；

$$\text{4日後生存率} = \frac{\text{生後4日の同腹児数調整前の生存児数}}{\text{分娩時の生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳時哺育率} = \frac{\text{離乳児数}}{\text{生後4日の同腹児数調整後の生存児数}} \times 100$$

発育分化観察項目；耳介開展、腹部被毛発生、切歯萌出、開眼及び精巣下垂もしくは膣開口の所要日数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

感覚機能検査項目；視覚(視覚性置き直し反射)、痛覚(疼痛反射)、聴覚(Preyer反射)、  
平衡感覚(正向反射、自由落下反射)

重量測定臓器(主要臓器)；心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓、精巣もしくは卵巣、脳

試験方法及び試験項目の概要；

世代	期間、週齢	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	11週齢 妊娠7日  妊娠17日 (11日間)	交配 検体投与 (30匹/群)	一般状態の観察(毎日) 体重、摂餌量、飲水量測定(投与開始より 分娩後2週までは毎日、その他は1回/2~ 3日)
	妊娠20日	帝王切開(20匹/群)	母動物(P)剖検・主要臓器重量測定 子宮重量、黄体数、着床数、生存及び 死亡・吸収胚数検査 生存胎児；体重、胎盤重量、性別、 外表異常、骨格異常検査(2/3)、内蔵異常 検査、(1/3)
	分娩	(10匹/群)	妊娠期間、児動物(F <sub>1</sub> )の生死数、体重、 性別、外表異常検査
F <sub>1</sub>	生後4日	性比を考慮し、同腹児動 物数調整(9匹~10匹/腹)	残余の児動物は屠殺し、骨格検査、児動 物体重測定(生後4、7、14、21日)、 哺育状態、発育分化観察
	生後20日		感覚機能検査
	生後21日 (離乳)	機能・学習能検査用 児動物(雌雄各1匹/腹) 繁殖能検査用児動物 (雌雄各1匹/腹)を選抜	母動物；剖検、主要臓器重量測定 残余の児動物；剖検、主要臓器重量測定 骨格検査 選抜児動物；発育分化観察(生殖器)
	生後4週  生後5週 生後6週		機能・学習能検査 情緒(Open field test) 運動協調性(回転棒法) 学習能(Water field multiple T-maze) 学習能検査終了後剖検、主要臓器重量 測定、骨格検査
	生後11週	兄妹交配を避け群内交配 (雌雄各10匹/群)	交配(2週間以内)、妊娠観察 雄、交尾確認後剖検 雌、妊娠確認後体重測定(3日毎)
F <sub>2</sub>	分娩		妊娠期間、児動物(F <sub>2</sub> )の生死数、体重、 性別、外表異常検査 母動物(F <sub>1</sub> )、剖検、子宮内着床痕数検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

結 果 :

投与群(mg/kg/日)		陰性対照群	20	200	2000	陽性対照群 (E T U 50)		
1 群当り動物数		30	30	30	30	30		
親	一般状態	NAD		投与後期軽度 流涎(2/30) 摂餌量増加*** (妊娠1~7日目) 飲水量増加*** (妊娠15~20日目)	投与後期軽度 流涎(4/30) 摂餌量増加* (妊娠20日目) 飲水量増加** (妊娠10~20日目)	被毛失沢、立毛 摂餌量増加*** (妊娠1~17日目) 飲水量増加*** (妊娠8~20日目)		
	体重変化	妊娠期間 授乳期間	NAD NAD	NAD NAD	初回投与翌日軽度な減少傾向 NAD	NAD		
	妊娠率		100%	100%	100%	100%		
	母動物数		20	20	20	20		
動	着床所見							
	黄体数		14.2	14.0	14.8	14.1		
	着床数		14.1	13.9	14.2	13.3		
	生存胎児数		13.4 (94.9%)	13.5 (97.0%)	12.9 (91.2%)	12.6 (94.9%)	13.4 (97.6%)	
	死亡・吸収胚数(率)		0.70 (5.1%)	0.40(3.0%)	1.25 (8.8%)	0.65 (5.1%)	0.35 (2.4%)	
物	胎児所見	体重(g)	雄 3.41 雌 3.18	3.33 3.16	3.42 3.2	3.43 3.24	2.80** 2.69**	
		骨盤重量(g)	0.40	0.40	0.43	0.41	0.38	
	性比(雄/雌)	0.96 (131/137)	1.20 (147/123)	1.10 (135/123)	1.00 (126/126)	0.91 (128/140)		
	外表異常数(率)	0/268 (0%)	0/270 (0%)	0/258 (0%)	0/252 (0%)	258/268 (96.3%)		
	骨格検査胎児数	179	180	174	166	179		
	化骨遅延	NAD	NAD	増加 [胸骨核* 舌骨**]	増加(胸骨核*)	明らかに増加**		
	変異(率)	10(5.4%)	15(8.0%)	15(9.8%)	26(16.4%)**	169(93.8%)**		
	奇形(率)	1(0.6%)	0(0%)	2(1.3%)	0(0%)	107(58.2%)**		
	内臓異常(率)	2/89(2.3%)	3/90(3.3%)	2/84(2.7%)	11/86(13.6%)	89/89(100%)		
	尿管蛇行	1/89(1.1%)	0/90(0%)	0/84(0%)	8/86(9.3%)*	64/89(71.9%)**		
胎児・ 動物 (F <sub>1</sub> )	分娩・ 出生 所見	母動物数	10	10	10	10	10	
		妊娠期間(日)	21.5	21.1	21.1	21.2	21.7	
		着床数	13.5	14.1	13.3	14.1	13.5	
		分娩率	94.9%	96.5%	95.7%	95.7%	66.7%**	
		生存産児数(率)	12.8(100%)	13.6(100%)	12.7(100%)	13.5(100%)	0.9(17%)**	
		性比(雄/雌)	0.8(58/70)	1.1(71/65)	0.9(60/67)	1.5(81/54)	3.5(7/2)	
		4日後生存率	98.4%	98.7%	97.1%	94.4%	a) 0%**	
		離乳時哺育率	雄	98.0%	94.0%	100%	94.0%	-
			雌	100%	96.0%	100%	96.0%	-
		児動物体重(g)	雄	5.5	5.5	5.4	5.5	5.4
			雌	5.3	5.2	5.1	5.2	4.9
		4日後	雄	7.8	7.9	7.3	7.3	-
			雌	7.3	7.6	6.8	7.0	-
		21日後	雄	33.3	35.2	32.2	33.0	-
			雌	32.3	34.0	31.4	31.9	-
外表異常(率)	0/128(0%)	0/136(0%)	0/127(0%)	0/135(0%)	9/9(100%)**			
骨格異常(率)	0/59(0%)	0/55(0%)	0/59(0%)	0/55(0%)	-			
内臓異常(率)	0/59(0%)	0/55(0%)	0/59(0%)	0/55(0%)	-			

\* , \*\* : 陰性対照群と比較して、それぞれ<0.05、P<0.01水準で有意差あり  
(平均値及び標準偏差で表わされた測定値はt-検定、発現頻度で表わされた測定値は順位和検定で解析)

NAD : 特記すべき異常なし

a) 陽性対照群では、9匹の生存産児全てが分娩翌日に死亡した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

(続 き)

投与群(mg/kg/日)		陰性対照群	20	200	2000	陽性対照群 (E T U50)	
1 群当り動物数		30	30	30	30	30	
児動物 (F <sub>1</sub> )	生後発育所見	離乳後死亡率	0%	0%	0%	0%	—
		体重(g) 雄	188	190	174	181	—
		生後49日 雌	142	140	131	141	—
		生後77日 雄	337	335	319	330	—
		生後77日 雌	206	206	193*	209	—
		発育分化	NAD	NAD	腹部被毛発生遅延	NAD	—
		感覚機能	NAD	NAD	NAD	NAD	—
		情緒、運動、協調性	NAD	NAD	NAD	NAD	—
		学習能	NAD	NAD	NAD	NAD	3日目エラー数高値
		児動物 (F <sub>2</sub> )	繁殖能検査所見	交尾率(雄・雌)	100%	100%	100%
妊娠率	100%			100%	100%	100%	—
妊娠期間中体重増加	NAD			NAD	低値	NAD	—
妊娠期間(日)	21			21	21	21	—
黄体数	14.4			13.8	13.0	13.3	—
着床数	14.3			13.8	12.8*	12.6	—
分娩率	93.9%			96.7%	95.3%	96.8%	—
生存産児数(率)	13.4(100%)			13.3(100%)	12.1(99%)	10.9(91.3%)	—
死産児総数(率)	0(0%)			0(0%)	1(1.0%)	b) 13(8.7%)	—
性比(雄/雌)	1.1(71/63)			0.7(56/77)	1.0(60/61)	1.1(57/52)	—
分娩時 雄	5.6			5.5	5.3*	5.7	—
児動物体重(g) 雌	5.3			5.2	4.9*	5.2	—
外表異常	0%			0%	0%	0%	—

\* : 陰性対照群と比較して、それぞれ<0.05水準で有意差あり

(平均値及び標準偏差で表わされた測定値はt-検定、発現頻度で表わされた測定値は順位和検定で解析)

NAD : 特記すべき異常なし

b) 1母動物に集中

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

胎児(F<sub>1</sub>)の化骨検査結果(陰性対照群と差が認められた検査項目)(出現率)

項 目	陰性対照群	20	200	2000	陽性対照群 (E T U50)
胸骨核化骨遅延	37.9%	52.7%	60.3%*	52.9%*	33.6%
舌骨化骨遅延	0%	0%	6.9%**	2.9%	10.1%**

\*,\*\* : 陰性対照群と比較して、それぞれ  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水準で有意差あり(順位和検定)。

胎児(F<sub>1</sub>)の骨格変異検査結果

(胎児数)

項 目	陰性対照群	20	200	2000	陽性対照群 (E T U50)
検査胎児数	179	180	174	166	179
変異胎児総数(%)	10(5.4)	15(8.0)	15(9.8)	26(16.4)**	169(93.6)**
(内訳) 頸肋骨	4	5	6	11	0*
腰肋骨	3	5	7	10	16*
椎体分離	1	3	2	7	127**
その他	3	3	2	3	314**

\*,\*\* : 陰性対照群と比較して、それぞれ  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水準で有意差あり(順位和検定)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

主要臓器重量測定結果(陰性対照群と差が認められた測定項目) (g)

項 目	臓器	陰性対照群	20	200	2,000	陽性対照群 (E T U50)
母動物(P)帝王切開群	肝臓	13.1	12.9	13.7	15.2*	12.3
児動物(F <sub>1</sub> )雄3週齢	腎臓	0.355	0.399*	0.359	0.375	—
児動物(F <sub>1</sub> )雌7週齢	腎臓	1.45	1.53	1.36	1.65*	—

\* : 陰性対照群と比較して、 $P < 0.05$ 水準で有意差あり(t-検定)。

母動物に及ぼす影響；200及び2000 mg/kg群で飲水量の増加と流涎及び一過性の体重減少が軽度に認められた。2000 mg/kg群では帝王切開群で肝臓重量の増加が認められた。しかし、投与終了後約25日で剖検した離乳時の母体では肝臓重量の増加は認められないことから、この変化は投与休止によって回復する可逆的変化であると考えられた。

胎児に及ぼす影響；骨格検査において変異が20 mg/kg以上の投与群で用量依存的に増加し、2000 mg/kg群で有意であった。しかし、2000 mg/kgは本検体の投与可能最大量であり、かつ、他の項目には催奇性を疑わせる所見は全く得られないことから、もし、本検体が催奇性をもつ可能性があるとしても、極めて弱く、實際上問題にならないと判断された。化骨遅延の観察指標の内一部で陰性対照群と比較して、検体投与群で有意な差が認められたが、用量相関性がなく、他の指標では全く差がないことから、検体投与に起因するものとは考えられなかった。内臓異常観察において尿管の蛇行が、陰性対照群では1例(1.1%)であったのに対し、2000 mg/kg群では8例(9.3%)観察され、有意に増加した。しかし、本異常は当試験機関において、ほぼ同時期に実施した他の生殖試験の溶媒(0.5%CMC)投与群で14.7%発現していることから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

出生児に及ぼす影響；学習能検査で2000 mg/kg群において、3日目のエラー数が、陰性対照群と比較して有意に増加したが、特に異常値を示す個体はなく、むしろ本試験における陰性対照群の値が特に低値を示した結果と考えられる。離乳以後、200 mg/kg投与群の雌雄の体重が、陰性対照群と比較して低値を示したが、2000 mg/kg群では順調な体重増加を示したことから、検体投与の影響とは考えられなかった。また、200 mg/kg群の妊娠期間中の増体重が低値を示し、着床数の減少及び出生児(F<sub>2</sub>)の体重の低値が認められた。この原因は明らかでないが、母動物(F<sub>1</sub>)の育成期間中の体重が他の群と比較して低かったことに起因していると考えられた。2000 mg/kg群で死産児の増加が認められたが、1母動物に集中していることから、検体投与の影響とは考えられなかった。剖検時の主要臓器重量測定において、腎臓重量の増加が散見されたが、表面及び断面に肉眼的変化は認められず、変動も用量依存的ではなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

陽性対照 E T U による影響；胎児に対し軽度の発育抑制と、明らかな催奇形性作用が認められ、自然分娩群では死産児数の増加及び分娩率の低下が明らかに認められた。

以上の結果より、検体を妊娠ラットに投与した場合、母動物に対しては、200 mg/kg/日以上の投与用量で流産及び飲水量の増加が、さらに2000 mg/kg/日では肝臓重量の増加も認められた。したがって、母動物における無毒性量は20 mg/kg/日であると判断された。

一方、胎児に対しては、最高投与用量の2000 mg/kg/日でも催奇形性作用を及ぼさず、また、分娩、出生児の生後発育、繁殖能を含めた機能発達にも何ら影響を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. 22)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ(5カ月令)、1群12匹

試験期間：1980年10月～1981年2月

投与方法：可溶化剤(ニューカルゲンD-212)1容に検体3容を加え、更に滅菌蒸留水で希釈して投与溶液を調製し、22.5、225及び2250 mg/kgの投与用量で妊娠6日目から妊娠18日目までの13日間、毎日1回経口投与した。陰性対照群には12.5%ニューカルゲンD-212溶液を同様に投与した。陽性対照群にはエンドキサンを生理食塩水に溶解し、15 mg/kgを耳静脈内に投与した。

試験項目：

母体；一般状態を毎日観察し、体重及び摂餌量、飲水量を投与期間中は毎日、投与終了後は2～3日毎に測定した。妊娠29日に帝王切開し、内部臓器の肉眼的検査、心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓、卵巣の重量測定を行い、ついで、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重、胎盤重量及び外表異常の観察を行った。各同腹胎児の約1/3については内臓異常の有無を検査した。残りの胎児については温度37℃、湿度60%のインキュベーター内に収容し、6及び24時間後の生存率を求めた後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：

投 与 群 (mg/kg/日)		陰性対照群	22.5	225	2250	陽性対照群 (エンドキサン 15)
1 群当り動物数		12	12	12	12	12
親動物	一般状態	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	死亡率	0%	0%	0%	0%	0%
	体重変化(交尾日の 体重を100%として 増減比を算出)	NAD	妊娠 8、9 日に増加抑制* (対照群 104.9~105.3%に 対し、101.5~102.6%)	妊娠 7 日に増加抑制* (対照群 104.8%に 対し、101.0%)	妊娠 7 日に増加抑制* (対照群の 104.8%に 対し、102.3%)	妊娠 7~14 日に増加抑制* (対照群 104.8~118.2%に 対し、99.3~101.3%) 観察期間中、低値で推移 (対照群 103.6~114.8%に 対し、100.9~109.0%)
	摂餌量	NAD	妊娠 8 日に減少* (対照群に比して 72%)	NAD	妊娠 7 日に減少** (対照群に比して 69%)	妊娠 7 日に減少** (対照群に比して 66%) 妊娠 23 日に増加** (対照群に比して 118%)
	飲水量	NAD	NAD	妊娠 14 日に増加* (対照群に比して 133%)	妊娠 7 日に減少** (対照群に比して 49%)	妊娠 19 日に増加* (対照群に比して 141%)
	剖検所見(臓器重量)	NAD	NAD	NAD	NAD	腎臓 絶対/相対重量増加** (対照群に比して 120%/128%) 肺 絶対/相対重量増加** (対照群に比して 116%/125%) 心臓 相対重量増加** (対照群に比して 119%)
	妊娠率	100%	100%	100%	100%	100%
着床所見	黄体数	8.8	9.3	8.8	9.3	7.5
	着床数	8.3	8.9	8.1	7.8	7.1
	生存胎児数(率)	7.9 (94.9%)	0.58 (6.2%)	7.4 (91.6%)	6.9 (88.4%)	5.3 (76.9%)*
	死亡・吸収胚数(率)	0.42 (5.1%)	0.58 (6.2%)	0.67 (8.4%)	0.92 (11.6%)	1.83 (23.1%)

\*, \*\* : 対照群と比較してそれぞれ  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 水準で有意差あり  
(平均値及び標準偏差で表わされた測定値はt-検定、発現頻度で表わされた測定値は順位和検定で解析)  
NAD : 特記すべき異常なし

結 果：(続き)

投 与 群 (mg/kg/日)		陰性対照群	22.5	225	2250	陽性対照群 (エンドキサン 15)
胎 児 動 物	体重 (g)	37.9	35.5	39.3	38.4	27.1**
	胎盤重量 (g)	5.97	5.17	5.30	5.34	4.68**
	性比 (雄/雌)	0.83 (43/52)	1.56 (61/39)	1.34 (51/38)	0.73 (35/48)	0.91 (30/33)
	生存率 6時間	95.2%	82.6%	82.5%	87.2%	27.7%**
	24時間	90.0%	76.4%	81.5%	76.4%	10.3%**
	外表異常 (率)	0/95 (0%)	4/100 (4.0%)	6/89 (6.7%)	4/83 (4.8%)	56/63 (88.9%)**
	骨格検査胎児数	63	68	58	55	44
	化骨遅延	N A D	仙尾椎骨数低値 (遅延増)* (対照群20.4に対し、19.9)	N A D	N A D	仙尾椎骨数の低値 (遅延増)** (対照群20.4に対し、19.0) 胸骨核数の低値 (遅延増)** (対照群6.0に対し、5.7) 胸骨核骨化遅延数の高値* (対照群6に対し、13)
	変異 (率)	49 (77.8%)	55 (80.9%)	46 (79.3%)	47 (85.5%)	41 (93.2%)
	奇形 (率)	3 (4.8%)	1 (1.5%)	5 (8.6%)	0 (0%)	39 (88.6%)
内臓異常 (率)	3/32 (9.4%)	0/32 (0%)	1/31 (3.2%)	2/28 (7.1%)	8/19 (42.1%)	

\*, \*\* : 対照群と比較してそれぞれ  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$  水準で有意差あり  
 (平均値及び標準偏差で表わされた測定値はt-検定、発現頻度で表わされた測定値は順位和検定で解析)  
 N A D : 特記すべき異常なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

### 外表異常検査結果

投与群(mg/kg/日)	陰性対照群	22.5	225	2250
検査胎児数	95	100	89	83
異常胎児数(率)	0(0%)	4(4.0%)	6(6.7%)	4(4.8%)
検査母体数	12	12	12	12
異常胎児が認められた母体数	0	2	1	2
異常タイプ別出現数				
口蓋裂	0	0	5	0
合指症	0	0	1	0
眼瞼裂	0	0	4	0
胸水・腹水症を伴う腹部膨満	0	3	0	0
臍帯ヘルニア	0	1	0	0
軽度な臍帯ヘルニア	0	0	0	4

順位和検定：有意差なし

母動物に及ぼす影響；22.5 mg/kg以上の投与群で検体投与初期に一過性の体重増加抑制と摂餌量減少が、そして、2250 mg/kg群では飲水量減少が認められたが、その後回復した。試験期間中検体投与に起因すると考えられる症状は認められず、また、帝王切開時の剖検においても肉眼的変化は認められなかった。

胎児に及ぼす影響；外表異常は陰性対照群では1例も認められなかったが、検体投与群では4.0～6.7%の胎児に認められた。検体投与群における外表異常は母体集中的であり、母体別また胎児別発現率にも用量依存性はなかった。更に、それぞれの異常の型に一定の傾向がみられず、内臓及び骨格異常ならびに骨格変異の発生頻度が増加しなかったことから、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。化骨遅延の観察指標の内一部で、陰性対照群と比較して22.5 mg/kg群に有意な差が認められたが、用量依存性がなく、他の指標では全く差がないことから検体投与に起因するものとは考えられなかった。

陽性対照、エンドキサンによる影響；母体に対して、体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。また、胎児に対しては、軽度の胚致死作用と発育抑制作用及び明らかな催奇形性作用が認められた。

以上の結果より、検体を妊娠ウサギに投与した場合、22.5 mg/kg/日以上投与用量で、母動物に対して一過性の体重増加抑制と摂餌量減少を誘発することが明らかとなった。したがって、母動物に対する無毒性量は、22.5 mg/kg/日未満と判断された。

一方、胎児に対しては最高投与量の2250 mg/kg/日でも影響が認められず、催奇形性は陰性であると判断された。



(13) 変異原性

1) 遺伝子突然変異原性

① 細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 23)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

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

検体を溶解させるため、DMSOを用いた。5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高濃度とした。

試験結果：次頁表に示した。

検体シクロプロトリンは、代謝活性化法を含め、最高濃度5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方陽性対照として用いた2-アミノアントラセン(2AA)、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)、 $\beta$ -プロピオラクトン( $\beta$ -PL)、9-アミノアクリジン(9AA)、2-ニトロフルオレン(2NF)では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、シクロプロトリンは代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 <i>hcr</i>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)	-	-	14 (12) 9	8 (7) 5	118 (112) 106	8 (6) 4	7 (11) 14	22 (24) 25
シクロプロトリン	10	-	10 (11) 11	8 (8) 8	108 (114) 120	4 (4) 4	9 (9) 9	17 (21) 24
	50	-	15 (12) 8	4 (6) 7	127 (121) 115	3 (2) 0	7 (9) 11	23 (23) 23
	100	-	10 (11) 11	12 (11) 7	124 (123) 121	4 (6) 7	4 (5) 5	23 (18) 12
	500	-	10 (11) 11	6 (8) 10	134 (132) 129	3 (2) 1	8 (7) 6	21 (21) 20
	1000	-	8 (12) 16	9 (8) 6	112 (113) 114	3 (6) 9	8 (8) 8	17 (18) 18
	5000	-	14 (16) 17	4 (7) 9	132 (119) 105	4 (3) 1	13 (9) 4	22 (17) 12
対照(DMSO)	-	+	8 (8) 8	13 (10) 6	136 (132) 127	1 (3) 4	9 (13) 16	22 (24) 25
シクロプロトリン	10	+	4 (7) 10	6 (8) 9	135 (133) 130	6 (6) 5	16 (14) 12	20 (20) 20
	50	+	7 (6) 5	7 (8) 9	103 (122) 140	5 (4) 2	12 (15) 17	16 (21) 25
	100	+	7 (10) 12	11 (10) 8	140 (137) 134	5 (6) 7	10 (10) 9	21 (20) 18
	500	+	8 (7) 6	10 (8) 6	149 (149) 149	6 (7) 7	14 (16) 17	22 (18) 13
	1000	+	9 (10) 11	8 (6) 4	136 (136) 136	9 (8) 7	12 (15) 18	25 (20) 14
	5000	+	10 (8) 5	9 (7) 5	133 (131) 129	6 (6) 5	14 (16) 18	17 (19) 21
陽性対照	2AA	10	16 (13) 10	13 (14) 14	164 (145) 126	14 (15) 16	19 (20) 21	34 (31) 27
	2AA	10	105 (101) 96	308 (297) 285	>3000 (>3000) >3000	577 (505) 433	>3000 (>3000) >3000	>3000 (>3000) >3000
	(脚注)		988 (932) <sup>a</sup> 876	531 (552) <sup>b</sup> 572	1038 (1109) <sup>c</sup> 1180	>10000 (>10000) <sup>d</sup> >10000	>3000 (>3000) <sup>e</sup> >3000	292 (261) <sup>f</sup> 230

2AA : 2-アミノアントラセン

<sup>a</sup> 0.25  $\mu\text{g}/\text{plate}$  2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド <sup>b</sup> 50  $\mu\text{g}/\text{plate}$   $\beta$ -7'ピオラクトン

<sup>c</sup> 0.05  $\mu\text{g}/\text{plate}$  2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド <sup>d</sup> 200  $\mu\text{g}/\text{plate}$  9-アミノアクリン

<sup>e</sup> 50  $\mu\text{g}/\text{plate}$  2-ニトロフルoren <sup>f</sup> 0.1  $\mu\text{g}/\text{plate}$  2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

( )内の数値は2反復の平均を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② チャイニーズ・ハムスターの培養細胞(V79)を用いた体細胞突然変異試験

(資料No. 24)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

試験方法：チャイニーズ・ハムスター由来のV79細胞を用い、検体処理後に6-チオグアニン(6TG)耐性突然変異出現率を調べた。

突然変異検出用には1シャーレ当り $1 \times 10^5$ 細胞を播種し、細胞生存率検定用には100細胞を播種した。24時間後に4時間検体を処理した。直接法と代謝活性化法の両方法を行い、代謝活性化法ではラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)を同時に処理した。

シクロプロトリンの処理濃度は物理的な処理限界濃度である $2000 \mu\text{g/ml}$ を最高濃度とし、以下1000、500、100、50および0(溶媒対照) $\mu\text{g/ml}$ とした。

陽性対照にはN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)とジメチルニトロソアミン(DMN)を用いた。

細胞生存率算定用シャーレは6日間培養後に固定、染色し、コロニー数を算定した。突然変異検出用シャーレは3日間培養後に継代培養を行い、さらに、3日間培養後に1シャーレ当り $1 \times 10^5$ 細胞を再播種(10枚/1処理区)し、最終濃度で $10 \mu\text{g/ml}$ の6TGを加えた培養液で1週間選択培養を行い、固定、染色し、6TG耐性細胞のコロニー数を算定した。

細胞生存率は溶媒対照群を100%として、検体処理区の細胞生存率は百分率で求め、細胞毒性の指標とした。

突然変異出現率は $10^5$ 細胞当りの6TG耐性コロニー数出現数を算定した。

試験結果：本試験に用いたシクロプロトリンの濃度は水に対する溶解度以上であり、 $50 \mu\text{g/ml}$ 以上の濃度ではシクロプロトリンの微少な粒子が観察された。細胞生存率はS-9 Mixを加えた場合、 $2000 \mu\text{g/ml}$ でわずかに低下する傾向が認められたが、S-9 Mixを加えない場合も含め、明らかな低下は認められなかった。また、シクロプロトリン処理による突然変異出現率の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたMNNGおよびDMNでは明らかな突然変異出現率の増加が認められた。

以上の結果から、チャイニーズ・ハムスターの培養細胞(V79)を用いた体細胞突然変異試験において、シクロプロトリンの変異原性は陰性と判断された。

細胞生存率と突然変異出現率

検体	薬量 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	細胞生存率 (%)	突然変異出現率 ( $\times 10^{-5}$ )
<u>直接法</u>			
溶媒対照	0	100.0	1.1
シクロプロトリン	50	105.4	0.5
	100	115.8	0.3
	500	100.8	1.9
	1000	98.9	0.5
	2000	95.6	1.3
MNNG	0.5	85.0**	21.4**
<u>代謝活性化法</u>			
溶媒対照	0	100.0	1.7
シクロプロトリン	50	95.4	0.2
	100	110.0	1.8
	500	75.6**	0.5
	1000	95.4	0.7
	2000	76.3**	<0.2
DMN	50	59.0	52.1**

\*\* : 溶媒対照と比較して  $P < 0.01$  水準で有意差あり (細胞生存率: t-検定、突然変異出現率: Kastenbaum法)

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

DMN : ジメチルニトロソアミン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

## 2) 染色体異常誘発性

- ① チャイニーズ・ハムスターの培養細胞(CHL)を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験  
(資料No. 25)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年 年

検体の純度：

試験方法：チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺線維芽細胞(CHL)を用いた。

試験前に濃度設定のため細胞増殖に及ぼす影響を調べ、本試験の濃度を非活性化法(24時間および48時間処理)で82.5、165、330、660  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、活性化法(6時間処理)で156、313、625、1250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。各濃度で200個の分裂中期像を観察した。

染色体の構造異常をギャップ、切断、交換、環状形成、細片化およびその他(多動原体等)に分類し、計測した。異常を有する細胞の出現頻度は5%未満を陰性、5%以上10%未満を疑陽性、10%以上を陽性とした。

また、染色体の数的異常については、倍数体細胞の出現数を計測した。

試験結果：次頁の表に示した。

シクロプロトリン処理群では細胞毒性を示したレベルの濃度を含め、染色体異常の発生頻度は陰性対照群と同等であった。

一方、陽性対照として用いたN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)、1,2-ベンゾ[a]ピレン(B(a)P)では顕著な染色体異常の増加が認められた。

以上の結果から、シクロプロトリンにおけるチャイニーズ・ハムスターの肺線維芽細胞株を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験での変異原性は陰性であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

代謝活性化の有無	薬物	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	処理時間 (hrs)	構造異常							出現率 (%)	倍数体細胞 出現率 (%)	判定
				タイプ別異常細胞出現数( /200)						出現率 (%)			
				ギャップ	切断	交換	環状形成	細片化	その他				
非活性化	溶媒対照 (DMSO)	—	24	1	2	2	0	0	0	2.5	1.0	—	
	シクロプロトリン	82.5	24	4	0	1	0	0	0	2.5	0	—	
		165	24	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	—	
		330	24	1	0	0	0	0	0	0.5	0	—	
		660	24	0	0	0	0	0	1	0.5	1.0	—	
	溶媒対照 (DMSO)	—	48	0	1	0	0	0	0	0.5	0	—	
	シクロプロトリン	82.5	48	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	—	
		165	48	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	—	
		330	48	0	0	1	0	0	0	0.5	1.0	—	
		660	48	0	2	0	0	0	1	1.5	0	—	
陽性対照 (MNNG)	2	48	17	43	59	4	0	4	44.5	0.5	+		
活性化	溶媒対照 (DMSO)	—	6	1	0	0	0	0	0	0.5	0	—	
	シクロプロトリン	156	6	1	0	0	1	0	0	1.0	0.5	—	
		313	6	0	0	0	0	0	0	0	1.0	—	
		625	6	1	0	1	0	0	1	1.5	1.0	—	
		1250	6	2	0	0	0	0	0	1.0	2.0	—	
陽性対照 (B(a)P)	30	6	14	45	86	8	0	7	58.0	1.0	+		

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、

B(a)P : 1,2-ベンゾ [a] ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

② マウスを用いた小核試験

(資料No. 26)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

供試動物：Std:ddY 系マウス(7週令)、1群雄6匹

試験方法：シクロプロトリンをオリーブオイルに溶解し、1回投与試験では0、1250、2500、5000 mg/kg、また、陽性対照としてシクロホスファマイド10 mg/kgを経口投与した。5日間連続投与試験では、シクロプロトリン投与量を0、625、1250、2500および5000 mg/kgとした。なお、最高投与量5000 mg/kgは、1回の投与のほぼ限界量である。最終投与24時間後に大腿骨の骨髓細胞を採取し、塗抹標本を作製した。

観察・検査項目：検体投与期間の体重変化および中毒症状を観察した。

ギムザ染色を行った塗抹標本を光学顕微鏡を用いて、1000倍で観察し、骨髓赤血球中の多染性赤血球の比率と多染性赤血球および正染性赤血球における小核出現率を算定した。

試験結果：シクロプロトリン投与に起因する体重変化、中毒症状は認められなかった。

5日間連続投与試験の2500 mg/kg以上の投与群で多染性赤血球の比率が増加する傾向が認められたが、シクロプロトリン投与による小核出現率の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたシクロホスファマイドでは小核出現率の明らかな増加が認められた。

以上の結果から、シクロプロトリンのマウスにおける小核誘発性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

1回投与試験における小核出現率および多染性赤血球比率

試験群	検 体	薬 量 mg/kg	小核出現率(%)		多染性赤血球 の比率(%)
			多染性赤血球	正染性赤血球	
1	溶媒対照	0	1.0±0.89	0.5±0.62	45± 6.8
2	シクロプロトリン	1250	0.8±0.75	1.1±1.77	56± 4.3
3	"	2500	1.7±1.21	1.6±1.02	51± 9.2
4	"	5000	0.8±0.75	0.9±1.27	43±12.2
5	シクロホスファミド	10	13.3±6.25**	1.4±1.21	39± 9.3

\*\*：対照群と比較して、P<0.01水準で有意差あり。(Kastenbaum法)

5日間連続投与試験における小核出現率および多染性赤血球比率

試験群	検 体	薬 量 mg/kg	小核出現率(%)		多染性赤血球 の比率(%)
			多染性赤血球	正染性赤血球	
1	溶媒対照	0	1.5±0.55	1.4±1.98	46±4.4
2	シクロプロトリン	625	1.5±1.05	1.3±0.84	49±7.0
3	"	1250	1.0±1.10	1.5±1.53	54±6.6
4	"	2500	1.2±1.17	1.9±0.79	57±4.8**
5	"	5000	1.7±1.21	1.5±1.50	58±3.0**

\*\*：対照群と比較して、P<0.01水準で有意差あり。(Kastenbaum法)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本化薬株式会社にある。

### 3) DNA損傷誘発性

細菌を用いたDNA修復試験

(資料No. 27)

試験機関：

報告書作成年 年

検体の純度：

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、DNAの損傷の誘発性を調べた。

検体の溶解にはDMSOを用いた。

試験結果：

薬 物	濃 度 ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	阻止帯長(mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
対 照 (DMSO)		0	0	0
シクロプロトリン	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
陰性対照(カナマイシン)	10	6	5	1
陽性対照(マイトマイシンC)	0.1	9	1	8

検体シクロプロトリン処理群では最高濃度2000  $\mu\text{g}/\text{disk}$ においても両株に生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照のマイトマイシンCでは、両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果から、シクロプロトリンはDNA損傷の誘発性はないものと判断された。