

(2) ジェトフェンカルブ原体のマウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 7-2)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1988 年

検 体 : ジェトフェンカルブ原体

検体純度 : (投与開始～投与 28 週)

(投与 29 週～投与終了)

供試動物 : ICR 系マウス、開始時約 7 週齢

主試験群 ; 1 群雌雄各 50 匹、体重 ; 雄 24.8～32.1 g、雌 18.6～25.9 g

副試験群 ; 1 群雌雄各 25 匹、体重 ; 雄 20.4～31.8 g、雌 17.2～26.5 g

副試験群の各群雌雄各 10 匹は投与 13 週、残りは投与 52 週に中間屠殺した。

投与期間 : 78 週間 (1985 年 11 月 4 日投与開始、1987 年 5 月 12 日最終屠殺)

投与方法 : 検体を 0、10、100、1000 または 10000 ppm の濃度で飼料中に混入し、78 週間に

わたって随時投食させた。飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目および結果 :

一般状態および生存率 ; 生死の確認を 1 日 2 回行い、毒性徴候の有無を毎日観察し、詳細な症状観察を週 2 回行った。

投与期間中、一般状態や行動には検体投与の影響は認められなかった。

主試験群における 78 週の生存率は次頁の表のとおりであり、雌について有意な傾向が認められ ($p < 0.0001$)、10000 ppm 群雌の生存率は対照群に比較して統

計学的に有意に低かった。

投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000
生存率 (%)	雄	57	54	67	49	49
	雌	66	64	74	60	↓33

対照群との有意差検定は、National Cancer Institute Package を用いて行った (↓: p = 0.0001)。

体重変化; 投与 14 週目までは毎週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、個体別体重を測定した。

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した。

項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)								
		雄				雌				
		10	100	1000	10000	10	100	1000	10000	
主試験群	体重増加量	0-13	91	↓83	↓79	86	96	101	100	106
		0-38	93	↓85	97	89	97	100	103	↑113
副試験群	体重	26	100	100	101	103	↓90	100	96	103
		38	99	100	102	102	↓93	103	101	105
	体重増加量	0-26	84	96	95	97	↓76	99	90	108

対照群との有意差検定は、Dunnett の t 検定を用いて行った (↑ ↓: P < 0.05)。表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

検体投与に関連した変化は認められなかった^{申請者注1}。

投餌量および食餌効率; 投与 14 週までは毎週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、個体別投餌量を測定した。

検体投与群の投餌量は、対照群とほぼ同程度であった。また、食餌効率についても、主試験群および副試験群とも対照群と検体投与群間に顕著な差異はなかった。

申請者注 1: 体重変化について

統計学的有意差が散見されたが、用量相関性および試験期間を通した一貫性がないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

平均検体摂取量；主試験群における投与期間中の平均検体摂取量は下表のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	100	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.63	16.47	163.78	1682.00
	雌	2.03	20.53	202.93	2107.76

摂水量；投与 14 週までは毎週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、個体別摂水量を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示した。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		10	100	1000	10000	10	100	1000	10000
主試験群	22	93	101	100	96	107	↑124	113	113
	54	93	↓80	↓84	99	94	91	90	115
	62	97	92	↓84	98	100	97	95	104
副試験群	12	102	101	109	98	81	↓80	101	91
	38	112	100	107	95	102	107	↑135	121
	46	104	111	125	95	99	102	↑131	120

対照群との有意差検定は、Dunnett の t 検定を用いて行った (↑ ↓ : P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

これらの統計学的に有意な変化は検体投与に関連したものではないと考えられた。
申請者注 2。

血液学的検査；投与 52 および 78 週に全生存動物を対象として、尾分節切断により血液を採取し、塗抹標本作製した。対照群および 10000 ppm 群の塗抹標本、または切迫屠殺した動物の塗抹標本について、下記の項目を調べた。

白血球分類 (芽球、後骨髄球、桿状核好中球、分葉核好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球)

血球形態 (不同赤血球、エキノサイト、多染性赤血球、Howell-Jolly 小体、標的赤血球、血色素減少赤血球*、有核赤血球*)

* : 切迫屠殺した動物のみ

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次頁の表にまとめた。

申請者注 2：摂水量について

用量相関性および試験期間を通した一貫性がないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)								
		雄				雌				
		10	100	1000	10000	10	100	1000	10000	
主 試 験 群	分葉核好中球数	52	—	—	—	96	—	—	—	100
		78	—	—	—	95	—	—	—	↓77
	リンパ球数	52	—	—	—	106	—	—	—	100
		78	—	—	—	106	—	—	—	↑122
副 試 験 群	分葉核好中球数	52	—	—	—	105	—	—	—	↓70
	リンパ球数	52	—	—	—	100	—	—	—	↑132

対照群との有意差検定は、Dunnett の t 検定を用いて行った (↑ ↓: P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

— : 検査せず。

副試験群雌の 52 週および主試験群雌の 78 週の検査で分葉核好中球比が若干ではあるが有意に減少し、リンパ球比率がわずかながら有意に増加した。しかし、その程度はわずかであり、雄動物および 52 週の主試験群雌では差異は認められなかったことから、検体投与に関連する変化とは考えられなかった。

臓器重量 ; 13 週に屠殺した全動物、52 週および投与終了時に屠殺した各群雌雄各 10 匹を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重量比を算出した。

肝臓 (胆嚢を含む)、脳 (脳幹を含む)、腎臓、精巣 (精巣上部を含む)、副腎、卵巣

対照群と比べて統計学的有意差の認められた項目を次頁の表にまとめた。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)								
		雄				雌				
		10	100	1000	10000	10	100	1000	10000	
肝臓	重量	13	95	97	97	↑113	105	108	100	↑122
	対体重比		99	105	102	↑117	105	105	100	↑118
	対脳重量比		96	97	101	↑113	110	107	102	↑124
	重量	52	99	97	107	↑118	↓84	97	99	112
	対体重比		100	96	103	↑118	93	95	101	↑112
	対脳重量比		99	96	108	↑119	↓82	94	100	110
	重量	78	97	101	100	107	105	99	99	↑123
	対体重比		102	108	105	119	103	101	100	↑121
	対脳重量比		99	104	103	107	104	100	100	↑123
副腎	重量	52	100	57	100	100	122	↑144	133	↑144
	対体重比		116	67	107	114	132	134	121	134
	対脳重量比		115	66	113	115	119	↑137	123	↑134
精巣	重量	78	112	103	97	↑127	-	-	-	-
	対体重比		119	107	101	↑137	-	-	-	-
	対脳重量比		112	105	99	↑125	-	-	-	-

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

10000 ppm 群では、13 および 52 週および 78 週 (雌のみ) の肝臓重量、対体重比または対脳重量比が有意に増加した。

その他に、100 および 10000 ppm 群雌で 52 週に副腎重量および対脳重量比が有意に増加し、10000 ppm 群雄では 78 週に精巣重量、対体重比および対脳重量比が有意に増加した^{申請者注 3}。

肉眼的病理検査；中間屠殺、途中死亡または切迫屠殺動物ならびに試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

検体投与に関連のある変化は観察されなかった。

病理組織学的検査；途中死亡および切迫屠殺した全動物および最終屠殺した対照群と 10000 ppm 群の全動物を対象として下記の臓器について病理標本を作製し、鏡検した。また、最終屠殺した主試験群の 10、100 および 1000 ppm 群の肺、肝臓、腎臓および肉眼病変部についても同様に病理標本を作製し、鏡検した。

肉眼病変部位、頸部脊髄、腰部脊髄、中胸部脊髄、脳 (延髄、橋、小脳皮質、大脳皮質)、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、唾液腺 (顎下腺)、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸骨、骨髄 (大腿骨)、膵臓、胆

申請者注 3：臓器重量について

用量相関性および試験期間を通した一貫性がないことから、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

囊、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、子宮頸、膣、乳腺（雌のみ）、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、直腸、膀胱、皮膚、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、坐骨神経、骨格筋、眼、胸部大動脈

〔非腫瘍性病変〕

主な非腫瘍性病変を表1に示した。

主試験群では、検体投与に関連した病変として、78週に最終屠殺した10000 ppm 群雄において肝細胞過形成の発現頻度の統計的に有意な増加がみられた。この発現頻度は背景値に比べても若干上回っていたことから申請者注⁴、投与の影響と考えられたが、後述のように催腫瘍に結びつく変化ではなかった。その他には検体投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった申請者注⁵。

〔腫瘍性病変〕

認められたすべての腫瘍性病変を表2に示した。

検体投与に関連した腫瘍性病変の発現頻度増加は認められなかった。

下表に示すように、主試験群では、最終屠殺した10000 ppm 群雄において肝細胞腺腫および肝細胞過形成の発現頻度が増加していた申請者注⁶。しかし、最終屠殺動物と死亡・切迫屠殺動物を併せると腺腫の発現頻度増加の有意性は明らかではなかった。また、最終屠殺動物と死亡・切迫屠殺動物を併せた肝臓の腺腫あるいは腺腫および癌の発現頻度には用量相関性を認めなかった。

申請者注4：肝細胞過形成について

試験実施機関における1980年から1990年に開始した本系統マウスの発癌性試験の背景値は0% (0/85例) から15.4% (10/65例) となっており、10000ppm 群での発現率18% (9例/50例) はこれを若干上回っていた。

申請者注5：非腫瘍性病変について

各病変の発現頻度について申請者が統計検定を行ったが、用量相関性を伴った一貫性のある発現頻度の統計的に有意な増加はいずれの所見にも認められなかった。

申請者注6：肝細胞腺腫および肝細胞過形成の発現頻度の増加について

試験実施機関における本系統マウスの発癌性試験の背景値は肝細胞腺腫の最大値13.3% (8/60例)、肝細胞癌の最大値14% (7/50例)、腺腫および癌の最大値21.7% (13/60例) であり、いずれも背景値の範囲内であった。

性別	雄									
	0		10		100		1000		10000	
投与量 (ppm)										
検査動物数 (合計)	D	T	D	T	D	T	D	T	D	T
	23	27	24	26	18	32	26	24	27	23
	(50)		(50)		(50)		(50)		(50)	
肝細胞過形成 (合計)	0	0	0	2	0	1	2	3	2	7**
	(0)		(2)		(1)		(5)		(9**)	
[%]	[0]		[4]		[2]		[10]		[18]	
肝細胞腺腫 (合計)	1	0	1	3	1	6*	2	4*	0	6**
	(1)		(4)		(7*)		(6)		(6)	
[%]	[2]		[8]		[14]		[12]		[12]	
肝細胞癌 (合計)	1	3	0	1	0	2	0	1	1	1
	(4)		(1)		(2)		(1)		(2)	
[%]	[8]		[2]		[4]		[2]		[4]	
腺腫および癌 (合計)	2	3	1	4	1	8	2	5	1	7
	(5)		(5)		(9)		(7)		(8)	
[%]	[10]		[10]		[18]		[14]		[16]	

D ; 死亡・切迫屠殺動物

T ; 最終屠殺動物

対照群との有意差検定は、申請者が Fisher 直接確率検定を用いて行った (* : P < 0.05, ** : P < 0.01)。

以上の結果から、ジエトフェンカルブ原体のマウスに対する飼料混入投与による発がん性試験における影響として、10000 ppm 群雄の生存率の低下、雌雄の肝臓重量増加の所見が認められた。また、10000 ppm 雄において、肝細胞過形成の発現が投与に関連して増加したが、腫瘍の発現頻度には検体投与の影響は認められなかった。

したがって、本試験における無毒性量は 1000 ppm (雄 164 mg/kg、雌 203 mg/kg) であると判断された。

また、催腫瘍性はないものと判断された。

表1〔非腫瘍性病変〕

検査 時期	性 別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000	
13 週	副腎 皮質	所見\検査動物数	7	0	0	0	6	10	0	0	0	10	
		被膜細胞増殖	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	
		単細胞壊死	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	
	肺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		血管/気管支周囲リンパ 球系細胞過形成	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	
		肺胞マクロファージ	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	肝臓	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		限局性肝細胞過形成	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		(多発性) 限局性壊死	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
	腎臓	限局性単核細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	
		所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
		限局性単核細胞浸潤	2	2	1	0	0	4	2	0	1	1	
		慢性進行性腎症	2	1	0	1	2	3	1	0	2	1	
		腎盂拡張	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		嚢胞	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
		(多発性) 限局性尿細管細 胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		尿細管上皮細胞空胞化	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	卵巣	限局性尿細管上皮細胞過 形成	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	-	-	-	-	-	10	1	2	0	10	
	副 試 験 群 の 死 亡 ・ 切 迫 殺	脳	卵巣嚢嚢胞	-	-	-	-	-	0	1	1	0	0
			所見\検査動物数	0	1	0	0	3	5	0	1	2	1
甲状腺		出血	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	0	1	0	0	2	5	0	1	2	1	
肺		アミロイド沈着	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
		所見\検査動物数	0	1	0	0	3	5	0	1	2	1	
心臓		死戦期吸引血液	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	0	1	0	0	3	5	0	1	2	1	
脾臓		アミロイド沈着	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	0	1	0	0	3	5	0	1	2	1	
肝臓		髓外造血増加	0	1	0	0	1	2	0	0	0	0	
		萎縮	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	
		所見\検査動物数	0	1	0	0	3	5	0	1	2	1	
副 試 験 群 の 死 亡 ・ 切 迫 殺		肝臓	(多発性) 限局性壊死	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
			限局性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	類洞内白血球増加症		0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	

- : 該当なし

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

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性 別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000	
副 試 験 群 の 死 亡 ・ 切 迫 殺	腎臓	所見\検査動物数	0	1	0	0	3	5	0	1	2	1	
		限局性単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	
		慢性進行性腎症	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	
		腎盂拡張	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
		アミロイド沈着	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		膿瘍	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	5	0	1	2	1	
		卵巣嚢嚢胞	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0	
		アミロイド沈着	-	-	-	-	-	1	0	0	1	1	
		血嚢胞	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0	
	52 週	副腎 皮質	所見\検査動物数	15	0	0	0	11	10	1	0	0	14
			被膜細胞増殖	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
			アミロイド沈着	6	0	0	0	5	3	0	0	0	3
		甲状腺	所見\検査動物数	15	0	0	0	12	10	0	0	0	14
アミロイド沈着			7	0	0	0	5	4	0	0	0	4	
肺		所見\検査動物数	15	14	15	15	12	10	15	14	13	14	
		血管/気管支周囲リンパ 球系細胞過形成	8	9	8	8	7	8	8	7	6	7	
		肺炎	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	
心臓		所見\検査動物数	15	0	0	0	12	10	0	0	0	14	
		アミロイド沈着	7	0	0	0	4	2	0	0	0	2	
		変性性心筋症	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		慢性動脈炎	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
脾臓		所見\検査動物数	15	0	0	0	12	10	0	1	0	14	
		髄外造血増加	2	0	0	0	0	0	0	1	0	2	
	アミロイド沈着	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
肝臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	12	10	15	14	13	14		
	限局性肝細胞過形成	1	0	0	3	2	1	0	0	0	0		
	(多発性) 限局性壊死	2	0	2	0	0	1	0	3	0	2		
	限局性単核細胞浸潤	3	2	3	2	3	2	3	1	4	3		
	アミロイド沈着	5	3	2	5	1	1	0	3	1	3		
	肉芽腫	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0		
	鉍質沈着	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	梗塞	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
	色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
限局性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1			

- : 該当なし

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

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
52 週	腎臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	12	10	15	14	13	14
		限局性単核細胞浸潤	12	6	9	8	10	9	12	4**	10	10
		慢性進行性腎症	7	8	6	7	9	3	4	3	4	4
		腎盂拡張	1	1	2	2	1	0	0	0	0	0
		嚢胞	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2
		尿管上皮細胞空胞化	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		限局性尿管上皮細胞過形成	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1
		アミロイド沈着	7	6	5	10	7	4	2	7	5	4
		色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	所見\検査動物数	15	0	0	0	12	-	-	-	-	-
		アミロイド沈着	9	0	0	0	4	-	-	-	-	-
		変性	9	0	0	0	5	-	-	-	-	-
	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	10	4	9	3	14
		卵巣嚢嚢胞	-	-	-	-	-	4	4	8	3	3
		アミロイド沈着	-	-	-	-	-	7	1	6	2	4
血嚢胞		-	-	-	-	-	0	0	1	0	0	
主試験群の死亡・切迫殺	副腎皮質	所見\検査動物数	23	24	16	26	27	17	18	14	20	33
		アミロイド沈着	19	20	10	24	19	12	11	10	12	27
		膿瘍	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	副腎髄質	所見\検査動物数	23	24	15	26	27	17	17	14	20	33
		膿瘍	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		髄外造血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	所見\検査動物数	23	22	18	26	26	18	18	14	20	33
		アミロイド沈着	16	13	11	20	15	14	11	10	14	25
		嚢胞状濾胞	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		動脈周囲炎	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	20	34
		血管/気管支周囲リンパ球系細胞過形成	14	16	12	11	14	12	9	9	15	23
		肺胞上皮過形成	2	2	0	0	1	1	1	0	2	0
		肺胞マクロファージ	2	4	0	3	2	4	2	2	2	3
肺炎		2	1	0	4	2	1	1	3	0	2	
出血		1	0	0	1	3	1	1	0	0	0	
膿瘍		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
胸膜炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		

- : 該当なし

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。

** : P < 0.01 Fisher 直接確率検定 (両側)

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)					投与量 (ppm)					
		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000	
主試験群の死亡・切迫殺	心臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	20	34
		アミロイド沈着	12	14	11	20	15	8	9	8	8	21
		動脈炎	1	2	2	3	1	2	2	1	0	0
		変性性心筋症	1	3	1	1	4	3	0	1	1	2
		心房血栓症	1	2	1	1	0	4	1	3	1	1*
		弁膜血栓	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0
		鉍質沈着	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
		膿瘍	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0
	脾臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	19	34
		髄外造血増加	5	7	6	5	11	5	4	4	2	8
		被膜線維化/癒着	0	1	1	0	2	1	1	0	1	0
		アミロイド沈着	7	8	7	12	8	8	3	5	7	16
		萎縮	3	1	0	0	6	2	2	1	2	7
		リンパ球系細胞過形成	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0
		膿瘍	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		色素沈着増加	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
	肝臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	16	18	14	19	32
		(多発性) 限局性壊死	0	2	2	1	2	0	2	2	2	2
		限局性リンパ球浸潤	2	6	3	2	3	3	2	5	3	5
		肉芽腫	0	0	1	2	3	1	3	0	0	2
		アミロイド沈着	17	17	9	21	21	12	9	10	15	25
		線維化を伴う血管拡張	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		髄外造血増加	0	1	1	0	2	1	2	0	0	1
		過形成	0	0	0	2	2	0	1	0	0	1
		小葉中心性変性	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		膿瘍	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1
		梗塞	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
		鉍質沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		単細胞壊死	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	色素沈着	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	腎臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	20	34
		アミロイド沈着	19	19	12	23	20	14	13	11	16	30
		慢性進行性腎症	16	18	9	19	19	10	13	11	15	28
限局性単核細胞浸潤		16	15	13	18	18	12	10	12	9	25	
嚢胞		2	1	2	3	4	3	1	1	0	1	
腎盂拡張		3	4	2	3	2	0	0	0	0	4	
尿細管微小結石		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
動脈炎	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		

—: 該当なし

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
主試験群の死亡・切迫殺	腎臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	20	34
		腎乳頭壊死	1	2	0	0	0	0	0	0	2	3
		萎縮	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		膿瘍	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
		梗塞	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		被膜線維素性化膿性炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	精巣	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	-	-	-	-	-
		アミロイド沈着	11	16	10	19	15	-	-	-	-	-
		変性	8	17*	11	19*	14	-	-	-	-	-
	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	18	17	14	19	33
		卵胞嚢胞	-	-	-	-	-	7	7	6	8	17
		アミロイド沈着	-	-	-	-	-	11	9	7	13	25
		卵巣嚢嚢胞	-	-	-	-	-	0	0	0	0	3
		血嚢胞	-	-	-	-	-	2	7	1	6	6
	最終屠殺	下垂体	所見\検査動物数	27	0	0	0	23	32	0	1	0
過形成			0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
血管拡張症			0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
副腎皮質		所見\検査動物数	27	0	0	0	23	32	0	0	0	16
		アミロイド沈着	9	0	0	0	3	15	0	0	0	2*
		過形成	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0
甲状腺		所見\検査動物数	27	0	1	0	23	32	0	1	0	16
		アミロイド沈着	8	0	1	0	3	18	0	1	0	2**
		単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
肺		所見\検査動物数	27	26	31	24	23	32	32	36	30	16
		血管/気管支周囲リンパ球系細胞過形成	21	21	24	17	17	30	24	29	25	11*
		肺胞上皮過形成	4	0	3	2	1	1	2	2	3	2
		肺胞マクロファージ	3	0	0	2	1	2	1	0	1	0
		肺炎	2	0	0	1	1	2	0	0	2	1
		出血	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	膿瘍	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
心臓	所見\検査動物数	27	0	1	1	23	32	0	0	1	16	
	アミロイド沈着	8	0	1	1	2	16	0	0	0	2*	
	動脈炎	5	0	0	0	1	3	0	0	0	0	
	変性性心筋症	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	
	心房血栓症	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	弁膜血栓	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	

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

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。ただし最終屠殺動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)					投与量 (ppm)					
		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000	
最終屠殺	脾臓	所見\検査動物数	27	0	3	5	23	32	9	5	1	16
		髓外造血増加	7	0	2	4	6	10	4	3	1	3
		被膜線維化/癒着	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		アミロイド沈着	0	0	1	1	0	9	0	2	0	1
		萎縮	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
		化膿性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		リンパ球系細胞過形成	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	27	26	32	24	23	32	32	36	30	16
		(多発性) 限局性壊死	3	1	4	1	1	0	0	0	0	0
		限局性リンパ球浸潤	11	10	13	9	6	19	5**	12	8*	11
		肉芽腫	7	7	5	6	0	9	9	13	13	3
		アミロイド沈着	8	12	15	8	2	11	13	12	10	2
		線維化を伴う血管拡張	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
		髓外造血増加	1	0	1	0	0	3	1	1	0	0
		被膜下線維化/鈣質沈着	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0
		過形成	0	2	1	3	7**	1	0	0	0	1
		小葉中心性変性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		膿瘍	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
		梗塞	0	0	1	0	0	0	1	2	0	0
	空胞化	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	腎臓	所見\検査動物数	27	26	32	24	23	32	32	36	30	16
		アミロイド沈着	10	12	17	11	7	22	19	22	20	4**
		慢性進行性腎症	15	20	21	11	13	21	18	25	16	12
		限局性単核細胞浸潤	22	18	29	18	18	29	20*	29	23	14
		嚢胞	7	9	7	7	4	1	2	1	1	0
		腎周囲膿瘍	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腎盂拡張	6	2	2	2	1	1	1	0	2	0
		尿細管微小結石	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		腎乳頭壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		出血	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	尿細管上皮過形成	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	精巣	所見\検査動物数	27	1	1	0	23	-	-	-	-	-
		アミロイド沈着	9	0	1	0	1*	-	-	-	-	-
変性		9	1	1	0	3	-	-	-	-	-	
卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	32	22	25	20	16	
	卵胞嚢胞	-	-	-	-	-	18	8	14	8	8	
	アミロイド沈着	-	-	-	-	-	15	8	8	3	1**	
	卵巣嚢嚢胞	-	-	-	-	-	7	5	2	8	5	
	血嚢胞	-	-	-	-	-	2	4	3	1	2	

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

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。ただし最終屠殺動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
全 動 物	下垂体	所見\検査動物数	49	23	17	25	50	50	18	15	20	49
		過形成	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
		血管拡張症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	副腎 皮質	所見\検査動物数	50	24	16	26	50	49	18	14	20	49
		アミロイド沈着	28	20	10	24	22	27	11	10	12	29
		過形成	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0
		腫瘍	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		肥大	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎 髄質	所見\検査動物数	50	24	15	26	50	49	17	14	20	49
		腫瘍	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		髄外造血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	所見\検査動物数	50	22	19	26	49	50	18	15	20	49
		アミロイド沈着	24	13	12	20	18	32	11	11	14	27
		嚢胞状濾胞	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		動脈周囲炎	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	所見\検査動物数	50	50	49	50	50	50	50	50	50	50
		血管/気管支周囲リンパ 球系細胞過形成	35	37	36	28	31	42	33	38	40	34
		肺胞上皮過形成	6	2	3	2	2	2	3	2	5	2
		肺胞マクロファージ	5	4	0	5	3	6	3	2	3	3
		肺炎	4	1	0	5	3	3	1	3	2	3
		出血	2	0	0	1	3	1	1	0	0	0
		腫瘍	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
		胸膜炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	心臓	所見\検査動物数	50	24	19	27	50	50	18	14	21	50
		アミロイド沈着	20	14	12	21	17	24	9	8	8	23
		動脈炎	6	2	2	3	2	5	2	1	0	0
		変性性心筋症	2	3	1	1	4	5	0	1	1	3
心房血栓症		1	2	1	1	0	4	1	3	2	1	
弁膜血栓		1	0	0	1	0	1	2	0	0	1	
鈣質沈着		0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	
腫瘍		0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	

申請者注：申請者が Fisher 直接確率検定 (両側) を実施したが、有意差は認められなかった。
ただし全動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で
母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別	雄					雌					
		投与量 (ppm)					投与量 (ppm)					
		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000	
全 動 物	脾臓	所見\検査動物数	50	24	21	31	50	50	27	19	20	50
		髄外造血増加	12	7	8	9	17	15	8	7	3	11
		被膜線維化/癒着	0	1	1	0	3	1	1	0	1	0
		アミロイド沈着	7	8	8	13	8	17	3	7	7	17
		萎縮	3	1	0	0	6	4	2	1	2	7
		化膿性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		リンパ球系細胞過形成	0	0	1	0	0	4	2	1	0	0
		膿瘍	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	色素沈着増加	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	
	肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	48	50	50	49	48
		(多発性)限局性壊死	3	3	6	2	3	0	2	2	2	2
		限局性リンパ球浸潤	13	16	16	11	9	22	7**	17	11*	16
		肉芽腫	7	7	6	8	3	10	12	13	13	5
		アミロイド沈着	25	29	24	29	23	23	22	22	25	27
		線維化を伴う血管拡張	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0
		髄外造血増加	1	1	2	0	2	4	3	1	0	1
		被膜下線維化/鉍質沈着	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0
		過形成	0	2	1	5	9**	1	1	0	0	2
		小葉中心性変性	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0
		膿瘍	0	2	1	1	0	1	0	1	0	1
		梗塞	0	0	1	0	0	0	1	3	1	0
		鉍質沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		空胞化	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		単細胞壊死	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	色素沈着	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	腎臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		アミロイド沈着	29	31	29	34	27	36	32	33	36	34
		慢性進行性腎症	31	38	30	30	32	31	31	36	31	40
		限局性単核細胞浸潤	38	33	42	36	36	41	30*	41	32	39
		嚢胞	9	10	9	10	8	4	3	2	1	1
		腎周囲膿瘍	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腎盂拡張	9	6	4	5	3	1	1	0	2	4
		尿細管微小結石	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
動脈炎		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
腎乳頭壊死		1	2	0	0	0	0	0	0	3	3	
萎縮	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
膿瘍	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0		

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

申請者注: 申請者が統計検定を行った。

ただし全動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表1〔非腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
全 動 物	腎臓	出血	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		梗塞	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
		被膜線維索性化膿性炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		尿管上皮過形成	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	所見\検査動物数	50	25	19	26	50	-	-	-	-	-
		アミロイド沈着	20	16	11	19	16	-	-	-	-	-
		変性	17	18	12	19	17	-	-	-	-	-
	卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	50	39	39	39	49
		卵胞嚢胞	-	-	-	-	-	25	15	20	16	25
		アミロイド沈着	-	-	-	-	-	26	17	15	16	26
		卵巣嚢嚢胞	-	-	-	-	-	7	5	2	8	8
		血嚢胞	-	-	-	-	-	4	11	4	7	8

- : 該当なし

申請者注：申請者が Fisher 直接確率検定 (両側) を実施したが、有意差は認められなかった。
ただし全動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表 2 (腫瘍性病変)

検査 時期	性 別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
13 週	肺	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		肺胞/細気管支腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
死亡・切 迫殺	血液	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		組織球性悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
52 週	肺	所見\検査動物数	15	14	15	15	12	10	15	14	13	14
		肺胞/細気管支腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
	肝臓	所見\検査動物数	15	14	15	15	12	10	15	14	13	14
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	前胃	所見\検査動物数	15	0	0	0	12	10	0	0	0	14
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	10	9	11	9	14
		子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	1	1	0	0
	ハーダ ー腺	所見\検査動物数	15	0	0	0	12	10	0	0	0	14
		腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
主試 験群 の死 亡・切 迫殺	副腎髄質	所見\検査動物数	23	24	15	26	27	17	17	14	20	33
		良性褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	肺	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	20	34
		肺胞/細気管支腺腫 (B)	2	0	2	1	2	2	2	2	0	2
		肺胞/細気管支癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	18	18	14	19	34
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	肝臓	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	16	18	14	19	32
		肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0
	腺胃	所見\検査動物数	22	22	17	25	27	15	18	14	20	31
		未分化型悪性腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	空腸	所見\検査動物数	20	18	14	20	21	9	15	12	5	26
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	膵臓	所見\検査動物数	22	24	18	24	26	18	18	14	20	32
		島細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	-	-	-	-	-
		良性間細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

a) 副試験群の死亡・切迫殺例

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

表2〔腫瘍性病変〕(続き)

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
主試験群の死亡・切迫殺	膀胱	所見\検査動物数	23	23	14	25	26	16	14	12	13	28
		大細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	子宮	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	18	18	14	20	32
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		血管肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	ハーダ腺	所見\検査動物数	23	24	18	26	27	15	18	14	18	32
		腺腫 (B)	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	18	17	14	19	34
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	その他皮膚	所見\検査動物数	4	5	4	4	5	3	4	0	2	4
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	血液	所見\検査動物数	1	1	0	2	1	0	2	0	1	0
		リンパ球性悪性リンパ腫 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
		組織球性悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
顆粒球性白血病 (M)		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	
未分化型悪性リンパ腫 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
最終屠殺	肺	所見\検査動物数	27	26	31	24	23	32	32	36	30	16
		肺胞/細気管支腺腫 (B)	4	4	6	2	5	0	3	7**	3	1
		肺胞/細気管支癌 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	27	0	3	5	23	32	9	5	1	16
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
		血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	27	26	32	24	23	32	32	36	30	16
		肝細胞癌 (M)	3	1	2	1	1	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	0	3	6*	4*	6**	1	0	1	0	1
		血管腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	2	0	1
	腎臓	血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
		所見\検査動物数	27	26	32	24	23	32	32	36	30	16
		尿細管細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱	所見\検査動物数	27	0	0	0	23	32	1	0	0	16
		大細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
卵巣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	32	22	25	20	16	
	悪性顆粒膜/莢膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
	嚢胞状腺腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし * : P < 0.05、** : P < 0.01 Fisher 直接確率検定 (片側)

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。ただし最終屠殺動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表2〔腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000	
最終 屠殺	子宮	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	32	28	29	26	16	
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	0	
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1	
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1	
		癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0	
		腺腫様ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1	
		子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	子宮 頸部	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	32	2	0	1	16	
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	陰	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	32	0	1	0	16	
		線維肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0	
	乳腺	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	32	0	0	1	16	
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
	その他 皮膚	所見\検査動物数	8	5	6	2	4	7	4	5	5	2	
		基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	血液	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	1	4	1	0	1	
		リンパ球性悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	
		組織球性悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
	その他 骨格筋	肥満細胞性白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	副腎髄質	骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	50	24	15	26	50	49	17	14	20	49	
	全 動物	肺	良性褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
			所見\検査動物数	50	50	49	50	50	50	50	50	50	50
肺泡/細気管支腺腫 (B)			6	4	8	3	7	2	5	9*	3	3	
脾臓		肺泡/細気管支癌 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	
		所見\検査動物数	50	24	21	31	50	50	27	19	20	50	
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	
肝臓		血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
		所見\検査動物数	50	50	50	50	50	48	50	50	49	48	
		肝細胞癌 (M)	4	1	2	1	2	0	1	0	0	0	
		肝細胞腺腫 (B)	1	4	7*	6	6	1	0	1	0	1	
血管腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	2	0	1			
	血管肉腫 (M)	0	0	1	2	0	0	0	1	0	1		

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし * : P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (片側)

申請者注 : 申請者が統計検定を行った。ただし最終屠殺動物および全動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表2〔腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
全 動 物	腎臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		尿細管細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺胃	所見\検査動物数	49	23	18	26	50	47	18	17	21	47
		未分化型悪性腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	空腸	所見\検査動物数	47	19	14	21	44	40	15	13	5	42
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	膵臓	所見\検査動物数	49	24	18	24	49	50	20	14	21	48
		島細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	50	25	19	26	50	-	-	-	-	-
		良性間細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	膀胱	所見\検査動物数	50	23	14	25	49	48	15	12	13	44
		大細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0
	卵巢	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	50	39	39	39	49
		悪性顆粒膜/莢膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		嚢胞状腺腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	子宮	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	50	46	43	46	48
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	1
		線維腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	1
		癌 (M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		腺腫様ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1
		血管肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	子宮頸部	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	50	20	14	21	50
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	膣	所見\検査動物数	-	-	-	-	-	50	18	15	20	49
		線維肉腫 (M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
	ハーダ ー腺	所見\検査動物数	50	25	19	28	50	47	19	14	18	48
腺腫 (B)		1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	
乳腺	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	50	17	14	20	50	
	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	
その他 皮膚	所見\検査動物数	12	10	10	6	9	10	8	5	7	6	
	基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

申請者注 : 申請者が Fisher 直接確率検定 (片側) を実施したが、有意差は認められなかった。ただし全動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

表2〔腫瘍性病変〕(続き)

検査 時期	性別		雄					雌				
	投与量 (ppm)		0	10	100	1000	10000	0	10	100	1000	10000
全 動 物	血液	所見\検査動物数	1	1	0	2	1	1	6	1	1	1
		リンパ球性悪性リンパ腫 (M)	1	0	0	0	1	0	3	1	1	0
		組織球性悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	1	0	0	2	0	0	1
		顆粒球性白血病 (M)	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
		肥満細胞性白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		未分化型悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	骨格筋	所見\検査動物数	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
合 計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	9	8	17	11	14	5	8	14	5	8
		悪性	5	2	4	7	3	7	12	5	4	6
	腫瘍総数		14	10	21	18	17	12	20	19	9	14
	担腫瘍動物数	良性	9	7	16	11	13	5	7	13	5	6
		悪性	5	2	4	6	3	7	10	4	4	5
担腫瘍動物数		12	9	18	17	15	12	16	15	8	10	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

- : 該当なし

申請者注 : 申請者が Fisher 直接確率検定 (片側) を実施したが、有意差は認められなかった。ただし全動物については、肺、肝臓、腎臓のみ全群について実施した。その他の臓器は中間群で母集団が異なるため、対照群と 10000 ppm 群間でのみ実施し、中間群については実施していない。

(3) ジェトフェンカルブ原体のイヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験

(資料 7-3)

試験機関：Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

供試動物：純系ビーグル犬、1 群雌雄各 6 匹、投与開始時月齢：約 5~7 カ月齢、

投与開始時体重：雄 5.7~9.4 kg、雌 4.9~8.7 kg

投与期間：52 週間（1987 年 1 月 23 日~1988 年 1 月 27 日）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填して 10、50、250 および 1000 mg/kg の投与量で 52 週間にわたり毎日 1 回経口投与した。対照群には 1000 mg/kg 群と同数の空のゼラチンカプセルを同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；全動物について死亡および瀕死状態の有無、毒性症状を 1 日 2 回観察した。また、週 1 回、各動物をケージから出して、全ての開口部と体幹、四肢および頭部を検査した。

検体投与に関連した症状として、1000 mg/kg 群雄 3 匹において、食欲不振と、それに伴う自発運動の減少、るい瘦、脱水症状が認められた。その他、1000 mg/kg 群では雌雄各 5 匹で流涎が認められ、検体投与と関連があるものと考えられた。なお、食欲不振が認められた雄 3 匹には数週間、飼料と水を混ぜて粥状にしたものを与えた。

その他の症状は、当研究所のイヌでよくみられるもの（嘔吐、軟便、脱毛、流涙、便が少ないあるいはなし、瞬膜腺の腫脹および発情周期による症状など）であった。また、投与群全群で検体色を呈する糞便がみられたが、これは投与には関連するが毒性学的に意義はないものと考えられた。

その他、50 mg/kg 群雌 1 例に直腸脱 (2 週)、250 mg/kg 群雌 2 例に瞬膜腺の腫脹 (5 週) が認められ、外科的治療を施したが、これらの症状あるいは治療は評価に影響を及ぼすものではなかったと考えられた。

投与期間中、死亡例はなかった。

体重変化；全動物の体重を週 1 回測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を下表に示した。

項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		10	50	250	1000	10	50	250	1000
体重	13	92	93	87	↓76	106	98	102	90
体重増加量	0-4	71	71	↓29	↓7	67	67	33	22
	0-13	85	78	48	↓11	84	84	84	↓37
	0-26	81	66	44	↓34	90	81	71	62

一元配置分散分析後、Dunnett の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑ ↓ : P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

1000 mg/kg 群雌雄の体重および体重増加量は投与期間中、対照群を一貫して下回っていた。雄 13 週の体重、雄 0~4 週、0~13 週および 0~26 週および雌 0~13 週の体重増加量は対照群に比べて有意に下回った。1000 mg/kg 群の 52 週間の体重増加量は対照群に比べて雄では 39%、雌では 44%であった。また、250 mg/kg 群雌でも 0~4 週の体重増加量が有意に下回っていた。

摂餌量および食餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

250 および 1000 mg/kg 群雄の摂餌量および総摂餌量が、特に投与開始後最初の 13 週間においては対照群の値を概ね下回っていた。雌では試験期間中、摂餌量は対照群と検体投与群で同程度であった。総摂餌量において、対照群と検体投与群の間に統計学的有意差は認められなかった。

食餌効率のデータは一定ではなかったが、体重増加および摂餌パターンからみて異常ではなかった。

血液学的検査；投与開始前、投与開始後 13、26、39 および 52 週に一夜絶食・絶水したイヌの頸静脈から血液を採取し以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、白血球分類、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)、血球形態、補正白血球数、絶対網赤血球数

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した。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (mg/kg)								
		雄				雌				
		10	50	250	1000	10	50	250	1000	
赤血球数	13	102	95	96	90	99	98	87	↓85	
	39	102	97	96	91	97	96	↓89	↓88	
	52	108	97	101	93	102	94	92	↓88	
ヘモグロビン濃度	13	99	95	94	87	101	104	92	89	
	26	99	97	94	86	98	102	96	91	
	39	99	97	94	88	99	101	95	92	
ヘマトクリット値	13	100	94	94	↓85	101	103	91	↓86	
	-1	104	119	140	125	99	107	104	95	
	13	107	134	141	↑146	105	107	107	128	
血小板数	26	99	130	↑160	↑161	108	125	131	↑145	
	39	97	119	↑139	↑173	112	124	120	146	
	52	104	117	↑140	↑171	109	115	124	139	
APTT	-1	96	↓88	95	95	98	97	96	97	
	26	103	94	103	↑132	105	94	102	107	
	39	100	97	104	↑143	108	97	103	107	
	52	101	94	97	↑133	105	99	102	109	
白血球分類	分葉核好中球	13	105	135	143	↑148	84	129	110	125
	好酸球	13	40	↓20	60	120	75	75	50	75

一元配置分散分析後、Dunnettのt検定を用いて対照群との有意差検定を行った(↑↓: P < 0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値

250 mg/kg 群雌および1000 mg/kg 雌雄で赤血球系パラメーター(赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値)の軽度な減少がみられた。1000 mg/kg 群雄ではAPTTの有意な延長が26、39および52週に認められた。

250 および1000 mg/kg 群の雄で認められた血小板数の有意な高値については、これらの群の投与開始前の値が対照群より高く、かつ、対照群の値が投与開始後減少したこと(対照群(雄)の血小板数(平均値±標準偏差、単位 × 10³/μL); 342±25.9 (-1週)、246±57.3 (13週)、271±73.9 (26週)、288±47.7 (39週)、318±71.4 (52週))によるものであり、毒性学的意義はないものと考えられた。分葉核好中球、好酸球および1000 mg/kg 群の雌における血小板数の変動は用量相関性がないあるいは測定時期を通して一貫性がないことから、いずれも検体投与と関連がないものと考えられた。

血液生化学検査; 投与開始前、投与開始後13、26、39および52週に一夜絶食・絶水し

たイヌの頸静脈から血液を採取し以下の項目の測定を行った。

カルシウム、無機リン、クロール、ナトリウム、カリウム、グルコース、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、尿素窒素、アルブミン、グロブリン、総蛋白、総コレステロール、総ビリルビン、乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼ (ALP)、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、クレアチニン、クレアチンキナーゼ、トリグリセライド、リン脂質、ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP)

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した。

項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		10	50	250	1000	10	50	250	1000
ALP	13	116	137	↑163	↑177	102	119	121	↑196
	26	110	142	187	↑258	105	111	↑174	↑274
	39	113	150	↑217	↑297	128	115	155	↑268
	52	110	145	↑219	↑226	115	115	178	↑320
LAP	13	100	100	109	109	109	100	109	↑136
	26	100	100	110	110	100	100	110	↑140
	52	100	100	125	113	100	89	100	↑144
トリグリセライド	26	107	118	139	↑221	89	103	97	117
リン脂質	13	106	117	↑120	↑122	118	115	100	120
	52	113	110	↑125	108	93	99	99	90
ナトリウム	-1	101	↑102	101	101	99	99	99	100
カリウム	13	105	101	104	↑112	103	103	107	106
	52	105	106	108	↑113	99	103	106	102
グロブリン	13	96	100	100	96	110	105	110	↑119
A/G 比	13	108	100	104	102	90	92	86	↓75
	26	105	106	109	116	91	94	↓85	↓87
	52	106	113	106	↑126	94	95	91	↓84
カルシウム	13	100	99	101	98	100	97	96	↓95
尿素窒素	13	107	120	127	87	↑156	94	88	81
	52	112	106	112	82	90	81	↓62	↓57
グルコース	13	105	99	99	↓88	106	98	101	98
総コレステロール	13	106	↑126	↑134	↑134	135	122	120	133
	52	114	115	↑139	113	93	96	96	88

一元配置分散分析後、Dunnett の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑↓: $P < 0.05$)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

250 および 1000 mg/kg 群雌雄において ALP の上昇が認められ、検体投与に起因したものと考えられた。

その他にみられた変動は用量相関性がない、変動が小さい、測定時期を通して一貫性がない、あるいは投与開始前の測定値と同様な差であったことから、検

体投与と関連がないものと考えられた。

尿検査；血液学的検査と同時期に 15.5～17 時間尿を採取し、以下の項目を検査した。

還元物質、外観、pH、尿量、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、沈渣

統計検定は実施していないが、いずれの検査時期においても検体投与に関連した変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前、投与開始後 26 および 52 週に全動物について検査した。

統計検定は実施していないが、検体投与に関連した変化は認められなかった。

1000 mg/kg 群雄 1 例に限局性の網膜皺裂が認められたが、この所見は投与開始前からみられたものであった。その他に異常所見は認められなかった。

臓器重量；投与期間終了時、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。

肝臓（胆汁を除いた胆嚢を含む）、腎臓、脳（脳幹を含む）、精巣（精巣上体を含む）、心臓、甲状腺（上皮小体を含む）、下垂体、肺、卵巣、顎下腺、副腎、脾臓、膵臓、胸腺、前立腺、子宮

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した。

項目	投与量 (mg/kg)								
	雄				雌				
	10	50	250	1000	10	50	250	1000	
最終体重	88	87	85	78	103	95	92	87	
肝臓/ 胆嚢	重量	98	106	118	↑143	102	107	125	↑144
	対体重比	113	121	↑142	↑183	96	112	↑135	↑162
下垂体	重量	97	101	114	100	117	↑139	119	97
	対体重比	117	133	150	150	125	↑150	138	113
肺	重量	93	96	91	90	104	100	104	102
	対体重比	105	108	106	115	102	105	112	↑117
精巣/ 精巣上体	重量	91	106	95	105	—	—	—	—
	対体重比	100	118	112	↑135	—	—	—	—
副腎	重量	101	109	119	125	99	95	110	96
	対体重比	110	120	140	↑160	93	100	121	114
膵臓	重量	99	95	100	127	87	103	108	122
	対体重比	115	110	120	↑165	86	109	118	↑141
子宮	重量	—	—	—	—	53	96	45	↓27
	対体重比	—	—	—	—	51	100	46	↓31

一元配置分散分析後、Dunnett の t 検定を用いて対照群との有意差検定を行った (↑↓: P <

0.05)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

1000 mg/kg 群雌雄において肝臓重量および対体重比の有意な増加、250 mg/kg 群雌雄においても肝臓重量の対体重比の有意な増加が認められ、検体投与に起因するものと考えられた。

1000 mg/kg 群雌雄において、脾臓重量の対体重比の有意な増加が認められたが、病理組織学的検査において関連する異常所見は認められなかった（病理組織学的検査の項目参照）。また、脾臓重量に有意差はみられず、更に 1000 mg/kg 群の最終体重が低下していたことも併せて考えると検体投与との関連はないものと考えられた。

1000 mg/kg 群雌において、子宮重量および対体重比の有意な減少が認められたが、検体による直接影響ではなく、毒性学的意義はないと考えられた¹⁾。

その他に対照群との間に統計学的有意差がみられたものは、用量相関性がないか、あるいは最終体重が低下していたことによる見かけ上の変化であると考えられたため、いずれも毒性学的意義のない変化と考えられた。

肉眼的病理検査；投与期間終了後、全生存動物について剖検を行った。

性 別		雄					雌				
投与量 (mg/kg)		0	10	50	250	1000	0	10	50	250	1000
臓器	所見\検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
肝臓	暗色化	0	0	0	0	4	0	0	0	3	6

申請者注 1：1000 mg/kg 群の子宮重量の有意な減少について

子宮重量は発情周期に依存して増減することから、1000 mg/kg 群での子宮重量の有意な低値は解剖時期における発情動物数の減少を反映したのと考えられる。実際、同群では、解剖時期の症状観察において発情徴候を示した動物はおらず（下表）、病理組織学的検査においても子宮内膜肥厚など発情周期に関連した各所見の発現頻度は低下していた。この解剖時期における発情動物数の減少は性成熟遅延に起因したのと考えられる。すなわち、1000 mg/kg 群では性成熟遅延により投与期間中に発情を示した動物は半数例のみであり（下表）、これが結果として解剖時期に発情徴候を示した動物数の減少に反映されたのと考えられる。この性成熟遅延の原因については、同群における体重増加抑制を考慮すると、病理組織学的検査の項でも述べているように、検体による直接的な影響ではなく低栄養状態に起因したのと考えられる。以上のことから、1000 mg/kg 群の雌で認められた子宮重量の低値は検体による直接影響ではなく、低栄養状態（体重増加抑制）による性成熟遅延に起因したのと考えられた。

性別	雌				
投与量 (mg/kg)	0	10	50	250	1000
検査動物数	6	6	6	6	6
発情徴候を認めた動物数					
投与期間中	6	5	6	6	3
解剖時期（投与 51-52 週）	2	1	3	1	0

統計検定は実施しなかった。

統計検定は実施していないが、検体投与に関連すると考えられた所見は 1000 mg/kg 群雌雄および 250 mg/kg 群雌に認められた肝臓の暗色化のみであった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

皮膚、肉眼的病変部、脳（全体）、下垂体、甲状腺（上皮小体）、胸腺、肺（主気管支を含む）、気管、心臓、骨（大腿骨）、顎下腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、胸骨骨髓、舌、精巣および精巣上体、眼球、前立腺、卵巣、子宮、乳腺（雌のみ）、骨格筋（大腿部）、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、坐骨神経、頸髄、胸髄中間部、腰髄、胆嚢、大動脈（胸部）、視神経

認められた主要な病理組織学的所見を表 1 に示した。

検体投与に関連する変化が 250 および 1000 mg/kg 群の肝臓に認められた。250 および 1000 mg/kg 群雌雄において、肝細胞内の褐色顆粒状色素の増加が認められ、そのグレードは軽度ないし中等度であった。対照群においても、グレードが軽微である動物は認められたため、グレードが陰性あるいは軽微であるものは検体投与と関係なく認められると考えられた。50 mg/kg 群では平均グレードが対照群と比較してわずかに増加していたが、その差は 1 にも満たないため明らかな変化とは考えられなかった。250 および 1000 mg/kg 群と対照群との平均グレードの差は 1 を超えていた（次表参照）²。

申請者注 2：肝細胞の褐色顆粒状色素のグレードについて

褐色顆粒状色素については、その程度により 4 段階（軽微(minimal)、軽度(slight)、中等度(moderate)、高度(severe)）のグレードからなり、軽微は対照群にも認める程度である。変化なしを 0、軽微から順に 1, 2, 3, 4 と数値を当て、各群の平均値を平均グレードとした。

性 別	雄					雌				
	0	10	50	250	1000	0	10	50	250	1000
投与量 (mg/kg)										
肝細胞の褐色顆粒状色素の平均グレード	0.3	0.5	1.2	1.7	2.7	0.8	0.8	1.3	2.2	2.7

特殊染色（胆汁染色、鉄染色、リポスチン/セロイドの抗酸性を利用した染色、およびリポスチンのためのシュモール反応）を行ったところ、肝細胞内の褐色顆粒状色素は胆汁、鉄色素あるいはセロイドではないことが判明し、また、シュモール染色においても断定的な結果は得られなかった。また、1000 mg/kg 群雌雄各 5 例で細胞質の淡明化を伴う軽微～軽度のびまん性の肝細胞肥大（統計学的有意差あり）が認められた。

1000 mg/kg 群雌で発情周期に関連した変化の出現頻度の低下（黄体の未成熟あるいは未発達、子宮内膜肥厚の頻度減少、乳腺組織の肥大の減少および/あるいは乳汁分泌の減少）が認められたが、これらの変化は動物の栄養状態（1000 mg/kg 群では最終体重の概ね低下が認められた）と関係したものであり、直接的な毒性学的意義はないものと考えられた。

その他の変化は対照群と検体投与群にほぼ同様に観察され、検体投与の影響とは考えられなかった。

ジエトフェンカルブ原体のイヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験において、死亡例は認められなかったが、1000 mg/kg 群雄 3 匹において、食欲不振と、それに伴う自発運動の減少、るい瘦、脱水症状が認められた。その他、1000 mg/kg 群では雌雄各 5 匹で流涎が認められた。1000 mg/kg 群雌雄と 250 mg/kg 群雄で体重増加抑制が観察され、250 および 1000 mg/kg 群雄で投与初期に摂餌量の減少もみられた。また、血液学的検査では、250 mg/kg 群雌および 1000 mg/kg 群雌雄において赤血球系パラメーターの減少が認められ、1000 mg/kg 群雄では APTT の延長も認められた。また、血液生化学的検査では 250 および 1000 mg/kg 群雌雄において ALP の上昇が認められた。250 mg/kg 群雌および 1000 mg/kg 群雌雄では剖検時に肝臓の暗色化がみられ、1000 mg/kg 群で肝臓重量の増加、ならびに 250 および 1000 mg/kg 群雌雄において対体重比が増加した。病理組織学的検査では 250 および 1000 mg/kg 群雌雄の肝臓で肝細胞内褐色顆粒状色素の増加が観察され、1000 mg/kg 群雌雄でびまん性の肝細胞肥大が認められた。

以上の結果から、ジエトフェンカルブ原体の本試験における無毒性量は 50 mg/kg/日と結論した³。

申請者注 3：無毒性量については報告書中に明確な記載はないが、以上の結果より雌雄ともに 50 mg/kg であると考えられた。

表1 病理組織学的所見

性別		雄					雌				
投与量 (mg/kg)		0	10	50	250	1000	0	10	50	250	1000
臓器	所見\検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
脳	血管周囲性単核細胞浸潤	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
下垂体	嚢胞	1	1	1	0	2	1	0	1	0	2
	亜急性炎症	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
副腎	皮質細胞、空胞変性	0	0	0	1	0	1	2	1	0	0
	皮質細胞、変性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
甲状腺	C細胞過形成	3	2	1	1	1	4	6	5	3	1
	慢性炎症	1	0	2	1	1	0	0	1	1	2
	鉍質沈着	0	0	1	1	0	1	2	1	0	1
	嚢胞状濾胞	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
肺	気管支周囲性/ 血管周囲性リンパ球浸潤	3	1	1	1	3	0	1	0	3	1
	色素沈着した大食細胞	1	0	0	2	1	1	1	0	1	1
	慢性炎症	1	1	0	0	2	2	2	2	3	3
	うっ血/出血	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	寄生虫、線虫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	活動性慢性炎症	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
	うっ血	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
	肺胞マクロファージ集簇	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	細気管支滲出物	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺胞/気管支上皮過形成	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
心臓	動脈、限局性鉍質沈着	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	脂肪組織、炎症	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
脾臓	褐色色素沈着	6	6	5	5	6	6	6	6	6	5
	辺縁、うっ血/出血	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	鉄色素斑	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
肝臓	肝細胞、褐色色素増加	2	3	6	6	6	5	5	6	6	6
	肝細胞肥大	0	0	0	1	5*	0	0	0	0	5*
	肝細胞、小葉中心性細胞 質淡明化	5	6	3	4	6	5	5	5	4	5
	クッパー細胞、色素沈着	2	4	2	0	3	5	4	4	3	4
	限局性活動性慢性炎症	6	4	5	4	4	5	6	5	5	4
	うっ血	3	1	0	0	0	0	1	0	1	0
	単細胞壊死	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
膵臓	慢性炎症	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	限局性腺房細胞空胞化	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	単細胞壊死	0	0	0	0	0	1	0	2	1	1

申請者注：申請者が統計検定を行った。

*: P < 0.05 Fisher 直接確率検定 (両側)

表1 病理組織学的所見(続き)

性別		雄					雌				
投与量 (mg/kg)		0	10	50	250	1000	0	10	50	250	1000
臓器	所見\検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
腎臓	尿細管上皮、空胞変性	2	1	2	1	3	5	6	6	6	5
	尿細管上皮、鉍質沈着	4	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	慢性炎症	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0
	再生性尿細管	1	0	0	0	2	0	1	0	0	1
	尿細管上皮、褐色色素沈着	2	3	4	3	4	3	1	1	1	2
	うっ血	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	糸球体脂質症	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣	嚢胞変性/萎縮	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-
	萎縮/変性	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-
卵巢	黄体、成熟期	-	-	-	-	-	3	2	4	3	1
	黄体、増殖期	-	-	-	-	-	2	1	1	0	0
	黄体、退行期	-	-	-	-	-	1	4	3	3	1
子宮	子宮内膜肥厚	-	-	-	-	-	2	1	4	1	0
乳腺	肥大/過形成	-	-	-	-	-	3	2	4	6	1
	腺房、乳汁分泌	-	-	-	-	-	2	2	2	6	1
	隣接リンパ節/洞組織球症	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0

- : 該当臓器なし

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

8. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

(1) ジェトフェンカルブ原体のラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 8-1)

試験機関: Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体: ジェトフェンカルブ原体

検体純度:

供試動物: Sprague-Dawley 系ラット、1 群雌雄各 26 匹、投与開始時約 8 週齢、
体重; 雄 258.6~283.6 g、雌 166.0~198.6 g

投与期間: P 世代; 投与開始から F₁ 児離乳時までの約 23 週間、F₁ 世代; 4 週齢から F₂
児離乳時までの約 26 週間 (1985 年 7 月 3 日~1986 年 6 月 5 日)

投与方法: 検体を 0、200、1000、5000 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。

[投与量設定根拠]

交配・調整・選抜および観察・検査項目: 概要を次頁の表にまとめた。

一般状態および死亡; すべての親動物について、生死および一般状態を毎日観察した。
さらに、週 1 回個体別に詳細な臨床観察を行った。

体重および摂餌量; すべての親動物について、体重を週 1 回の頻度で測定し、安楽殺
する日にも測定した。交尾成立雌については妊娠 0、7、14 および 20 日に、
児動物を出産した母動物については哺育 0、4、7、14 および 21 日に体重を測
定した。また、摂餌量は、全動物について交配期間中を除き週 1 回の頻度で

測定した。

児動物については、生後 0、4、7、14 および 21 日に体重を測定した。

交配および妊娠の確認；少なくとも 14 週間投与した後、雌を同群の雄と 1 対 1 で交尾が認められるまで最長 21 日間同居させて交配を行った。膣垢中に精子が確認されるか膣栓が認められた場合に交尾成立と判断し、妊娠 0 日とした。

試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (14 週間)		一般状態の観察を毎日、詳細な臨床観察を週 1 回 体重、摂餌量を週 1 回測定
	交配 (最長 21 日間)	雌雄 1 対 1 で交配。膣垢中の精子または膣栓で交尾確認 (妊娠 0 日)	交尾成立までの日数を記録、交尾率を算出
	妊娠 (3 週間)		妊娠 0、7、14 および 20 日に体重、摂餌量測定
	出産		妊娠期間、産児数 (生存および死亡) を記録、受胎率、出産率を算出
	哺育 (3 週間)	雄親動物の安楽殺 哺育 4 日に各同腹児数を雄 4 匹雌 4 匹に調整	雄親動物の肉眼的病理検査、肝臓重量測定、病理組織学的検査 母動物; 体重を哺育 0、4、7、14 および 21 日、摂餌量を週 1 回測定 児動物; 生後 0、4、7、14 および 21 日に生存児数、体重、臨床所見を記録 (生後 4 日に生後 4 日生存率を算出)
F ₁	離乳	F ₁ 離乳児から継代用の各群雄 26 匹雌 26 匹を無作為に選抜 次世代親動物に選抜されなかった F ₁ 離乳児の安楽殺 雌親動物を安楽殺	離乳率の算出 選抜されなかった F ₁ 離乳児の肉眼的検査 雌親動物の肉眼的病理検査、肝臓重量測定、病理組織学的検査
	生育 (14 週間)		(P 世代に準ずる)
	交配 (最長 21 日間)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間)		(P 世代に準ずる)
	出産	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
F ₂	哺育 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	離乳	F ₂ 離乳児の安楽殺 F ₁ 世代雌親動物の安楽殺	離乳率の算出 F ₂ 児動物の肉眼的検査 雌親動物の肉眼的病理検査、肝臓重量測定、病理組織学的検査

繁殖性に関する指標; 交配、妊娠および哺育の各期間に以下の指標について調べた。

交尾成立までの日数; 同居開始から交尾成立日 (妊娠 0 日) までの期間

妊娠期間; 妊娠 0 日から出産日 (哺育 0 日) までの日数

交尾率 (%) = (交尾成立雌動物数 / 同居させた雌動物数) × 100

受胎率 (%) = (妊娠動物数* / 交尾成立動物数) × 100

出産率 (%) = (生存児動物を出産した妊娠動物数 / 妊娠動物数*) × 100

生後 4 日生存率 = (生後 4 日の生存児数 / 出産時生存児数) × 100

離乳率 = (生後 21 日の生存児数 / 生後 4 日の調整後生存児数) × 100

*) 着床が確認された雌を妊娠動物とした。

病理学的検査；雄親動物は児動物出生後、母動物は児動物の離乳後に安楽殺し、肉眼病理検査を行い、肝臓重量を測定した。対照群と 5000 ppm 群の全動物ならびに交配しなかった動物全例を対象として、以下の臓器の病理標本を作成し、検鏡した。また、肝臓および肉眼的異常病変については、200 および 1000 ppm 群の全例も対象として、同様に検査した。

膈、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、下垂体、肝臓、肉眼的異常病変

F₁ 世代親動物に選抜されなかった F₁ 児動物および全ての F₂ 児動物は哺育 21 日の離乳後に安楽殺し、頸部、胸部および腹部臓器の異常を肉眼的に検査した。

結 果：概要を表 1 に示した。

親動物；検体投与に関連した臨床所見はいずれの世代においても認められなかった。

生育期間中の平均体重および体重増加量は、5000 ppm 群では両世代ともに対照群を下回った。1000 ppm 群は、P 世代では雄のみ、F₁ 世代では雌のみで対照群を下回った。また、摂餌量は、5000 ppm 群では両世代の雄で、1000 ppm 群では P 世代の雄で対照群を下回った^{申請者注 1}。

5000 ppm 群では両世代ともに、肝臓重量が対照群を上回った。しかしながら、病理組織学的検査では、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、いずれの世代においても検体投与に関連した変化は認められなかった。P 世代の 200 および 1000 ppm 群雄では肝臓重量の対体重比が軽度増加したが、これらの肝臓重量の絶対値は対照群に比べて有意差が認められなかったことから、検体投与によるものとは考えられなかった^{申請者注 2,3}。

申請者注 1：P 世代動物にみられた妊娠および哺育期間中の平均体重の低値は体重増加量の低下を伴っていないことから毒性学的に意義がないと考えられた。その他の平均体重及び摂餌量における統計学的有意差は投与期間を通した一貫性がない、または用量相関性がない (Terpstra-Jonckheere 傾向検定) ことから、偶発的な変化であり、検体投与に関連しないと考えられた。

申請者注 2：200 および 1000 ppm 群の肝臓重量の対体重比の軽度増加に関して、絶対値に有意差がみられないことに加え、F₂ 児動物で同様の変化が認められないことから、検体投与の影響ではないと判断した。

申請者注 3：肉眼的病理検査について、申請者が対照群との有意差検定を実施したところ、P 世代の 5000 ppm 群雌で皮膚脱毛の発現頻度に差が生じたが、脱毛の発現頻度が低下したことによる統計学的な差であり、毒性学的意義のない変化と考えられた。

繁殖能は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、いずれの世代においても検体投与に関連した変化は認められなかった。

児動物；F₁およびF₂児動物のいずれでも、哺育期間における臨床所見、生存率および性比は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、検体投与に関連した変化はみられなかった^{申請者注4}。

F₁児動物の平均体重は哺育期間を通して群間で差がなく、哺育0日におけるF₂児動物の平均体重も群間で差がなかったが、5000 ppm群のF₂児動物の平均体重は哺育4日、7日、14日および21日に対照群に比べて低下し、哺育4日、14日および21日には有意差が認められた。

以上の結果より、ラット2世代にわたってジエトフェンカルブ原体を飼料中に混入して投与した場合、1000および5000 ppm群では親動物の平均体重、体重増加量および摂餌量の低下がみられた。しかしながら、いずれの投与量、いずれの世代においても繁殖に及ぼす影響は認められなかった。F₂児動物については5000 ppmで体重の軽度低下がみられたが、生存率の低下はなかった。

したがって、無毒性量は親動物に対して200 ppm (P:雄13.1 mg/kg/日、雌16.0 mg/kg/日、F₁:雄16.6 mg/kg/日、雌19.4 mg/kg/日)、児動物に対して1000 ppm (P:雄65.5 mg/kg/日、雌88.0 mg/kg/日、F₁:雄84.8 mg/kg/日、雌104.8 mg/kg/日)と判断された^{申請者注5,6}。繁殖については最高用量の5000 ppmでも影響がなかった。

申請者注4:性比について、申請者が対照群との有意差検定を実施したところ、F₂児動物の200 ppm群の哺育0日の値が低値であったが、用量相関性のない変化であることから、検体投与の影響とは考えられなかった。

申請者注5:検体摂取量は申請者が各週の平均体重と平均摂餌量から算出した。

申請者注6:本試験から得られた親動物の無毒性量は200 ppm (P:雄13.1 mg/kg/日、雌16.0 mg/kg/日、F₁:雄16.6 mg/kg/日、雌19.4 mg/kg/日)であったが、これは1000 ppm群 (P:雄65.5 mg/kg/日、雌88.0 mg/kg/日、F₁:雄84.8 mg/kg/日、雌104.8 mg/kg/日)のP世代雄とF₁世代雌で体重増加抑制およびP世代雄で摂餌量低下が認められたためである。同系統のラットに、より長期間投与した慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)の無毒性量は、1000 ppm (雄42.74 mg/kg/日、雌54.50 mg/kg/日)であり、その上の用量の5000 ppm (雄218.95 mg/kg/日、雌288.19 mg/kg/日)で体重増加量低下、総コレステロール上昇、肝臓重量増加(雄のみ)および甲状腺腫瘍出現頻度増加が認められている。従って、本試験から得られた無毒性量は、用量設定間隔の差違により最小値となっているものであり、ADIの根拠としては、生涯にわたり被験物質を摂取するラット慢性毒性・発癌性試験の無毒性量を選択するのが妥当と判断した。

表1 結果概要

世代		親 : P				親 : F ₁				
投与群 (ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
動物数	雄	26	26	26	26	26	26	26	26	
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26	
死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	
	雌	0	1 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	
一般状態		検体投与に起因した異常なし				検体投与に起因した異常なし				
平均体重	雄 生育期	—	有意差なし	↓: 1, 2, 7~10週	↓: 1~3, 7~10, 12, 13週	—	有意差なし	有意差なし	↓: 2~14週	
	雌 生育期	—	有意差なし	↓: 11週	↓: 9, 11週	—	有意差なし	低値傾向	低値傾向	
	妊娠中	—	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠14日	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	哺育期	—	有意差なし	↓: 哺育0日	↓: 哺育0, 4, 7日	—	↑: 哺育14日	有意差なし	有意差なし	
親動物 体重増加量	投与 0-10週	雄	245.9	250.2	↓224.1	↓210.1	402.3	405.8	398.8	↓374.0
		雌	99.5	96.7	90.8	87.2	202.7	210.3	194.6	194.9
	投与 0-14週	雄	261.5	283.4	261.4	245.8	461.8	466.5	455.0	↓428.3
		雌	116.0	121.4	112.5	↓101.6	229.2	231.4	216.3	↓213.5
	妊娠中	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
哺育期	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし		
摂餌量	雄 生育期	—	↑: 4, 11週	↓: 1週 ↑: 3, 11週	↓: 1週 ↓: 6, 10週	—	↑: 7, 8週	↑: 9週	↓: 3, 5, 6週	
	雌 生育期	—	↓: 6~8週	↓: 6週	↓: 6, 10週	—	↓: 14週	有意差なし	↓: 14週	
	妊娠中	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	哺育期	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	

太枠は検体投与による影響であることを示す。

— : 対照群

a) 哺育21日目に死亡した。死因は不明。

対照群との有意差の検定 (↑ ↓ : p < 0.05)

Dunnett の t 検定 : 体重、体重増加量、摂餌量

表1 つづき

世代		親 : P				親 : F ₁					
投与群 (ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000		
親動物	検体摂取量 ^{b)} (生育期)	雄	—	13.1	65.5	327.7	—	16.6	84.8	420.3	
		雌	—	16.0	88.0	426.7	—	19.4	104.8	509.6	
	最終体重	雄	585.2	591.0	566.9	559.3	589.8	597.7	585.8	560.4	
		雌	326.6	331.0	317.5	↓309.7	320.6	323.7	310.4	304.6	
	絶対肝臓重量	雄	18.26	19.66	19.55	↑21.81	20.58	21.33	21.27	22.94	
		雌	11.47	11.97	11.27	12.27	11.89	12.81	12.43	13.29	
	相対肝臓重量	雄	3.107	↑3.319	↑3.443	↑3.904	3.481	3.559	3.632	↑4.091	
		雌	3.507	3.633	3.554	↑3.961	3.757	3.994	4.004	↑4.348	
	肉眼的病理検査 雌 : 皮膚脱毛		8	3	8	↓0	検体投与に起因した異常なし				
	病理組織学的検査		検体投与に起因した異常なし				検体投与に起因した異常なし				
	同居動物数		25 ^{c)}	26	26	26	26	26	26	26	
	交尾成立までの日数		3.0	3.3	2.5	2.0	3.7	5.1	3.7	5.2	
	交尾率 (%)		96	88	81	100	92	96	92	96	
	受胎率 (%)		88	100	86	85	92	88	88	96	
	出産率 (%)		100	100	100	100	96	91	100	100	
	妊娠期間 (日)		21.9	21.9	21.7	22.0	22.1	21.8	21.9	21.9	
児動物	平均死産児数	雄	0.2	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	
		雌	0.1	0.2	0.5	0.4	0.1	0.2	0.1	0.1	
	平均生存産児数	雄	6.2	5.9	6.5	4.7	6.7	5.2	6.2	7.1	
		雌	5.9	5.5	5.6	5.9	6.2	7.7	6.6	6.9	
	生後4日生存率 (%)		98.47	93.93	93.02	94.18	98.25	97.81	96.20	96.84	
	離乳率 (%)		98.61	100.00	99.26	92.86	99.40	99.34	98.81	96.88	
	性比	哺育0日		50.32	50.22	53.28	46.56	50.94	↓39.96	48.96	51.55
		哺育4日 ^{d)}		50.34	51.02	54.84	45.78	50.92	44.02	50.43	52.83
哺育21日			49.63	50.40	53.95	48.79	50.03	48.18	50.12	51.56	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

b) 申請者が各週の平均体重と平均摂餌量から算出。

c) 半陰陽の1例を除く。

d) 児動物数調整前。

対照群との有意差の検定 (↑ ↓ : p < 0.05、↓ : p < 0.01)

Dunnett の t 検定 : 臓器重量、生後4日生存率、離乳率

申請者注 : 申請者が対照群との有意差検定を行った。

Fisher の直接確率検定 : 肉眼的病理検査、病理組織学的検査

カイ二乗検定 : 交尾率、受胎率、出産率

Dunnett の t 検定 : 交尾成立までの日数、妊娠期間、死産児数、生存産児数

Steel 検定 : 生後4日生存率、離乳率、性比

表1 つづき

世代		親 : P				親 : F ₁				親 : F ₁				児 : F ₂				
投与群 (ppm)		0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	0	200	1000	5000	
児動物	哺育 0日	雄	6.78	6.51	6.57	6.37	6.44	6.30	6.22	6.26								
		雌	6.32	6.14	6.01	6.03	5.99	6.06	5.90	5.93								
	哺育 4日 ^{d)}	雄	9.78	9.95	9.95	9.47	9.39	8.99	9.11	↓8.51								
		雌	9.53	9.60	9.58	9.13	8.82	8.73	8.72	↓8.05								
	哺育 7日	雄	15.19	15.71	15.83	14.92	15.07	14.36	14.47	13.52								
		雌	14.69	14.89	15.24	14.53	14.17	13.84	13.90	12.93								
	哺育 14日	雄	26.19	27.60	27.80	26.61	27.99	28.21	27.35	↓24.94								
		雌	25.50	26.61	27.12	25.87	26.79	27.43	26.43	↓24.19								
	哺育 21日	雄	39.33	40.12	41.64	39.02	43.90	44.37	41.80	↓37.24								
		雌	38.57	38.16	40.27	37.87	41.32	42.98	40.23	↓36.39								
	一般状態		検体投与に起因した異常なし								検体投与に起因した異常なし							
	肉眼的病理検査		検体投与に起因した異常なし								検体投与に起因した異常なし							

太枠は検体投与による影響であることを示す。

d) 児動物数調整前

e) 同腹児数を共変数として補正した体重

対照群との有意差の検定 (↓ : p < 0.05)

Dunnett の t 検定 : 児動物体重

申請者注 : 肉眼的病理検査については、申請者が Fisher の直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(2) ジェトフェンカルブ原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 8-2)

試験機関: Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年

検体: ジェトフェンカルブ原体

検体純度:

供試動物: Sprague-Dawley 系妊娠ラット、1 群 25 匹、

交配開始時約 10~12 週齢、体重 207.9~250.9 g

投与期間: 妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間

投与方法: 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、100、300 および 1000 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日^{*}から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

*): 陰栓の観察された日を妊娠 0 日として起算した。

[投与量設定根拠]

観察・検査項目:

母動物: 一般状態および生死を毎日観察した。体重は妊娠 0、6、8、12、16 および 20 日に測定し、摂餌量は体重測定と同じ間隔で記録した。妊娠 20 日に安楽死させ、肉眼的病理検査を実施した。子宮は摘出後、重量を測定し、着床部位の数および位置、早期および後期吸収胚数、生存胎児数および死亡胎児数を調べた。また、卵巣について黄体数を検査した。

生存胎児: 性別判定、体重測定および外表検査を行った。各同腹児の約 1/2 の胎児についてはブアン液で固定後に内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については 95%エチルアルコール中で脱水した。その後 1.0%および 1.5%KOH 溶液で侵軟処理し、アリザリンレッド S 染色により骨格標本を作成して骨格異常の有無を検査した。

結果：概要を表1に示した。

母動物；妊娠20日の帝王切開時まで、動物全例が生存していた。投与期間中、検体投与に関連した臨床症状は観察されなかった。妊娠6～8日の平均体重増加量は、対照群と比較して1000 mg/kg群で有意に低値であったが、その他の投与期間中の体重増加量は群間で差がなかった。また、妊娠0～20日の体重増加量および妊娠子宮重量を差し引いた正味の体重増加量には群間で有意な差がなかった。妊娠6～8日の平均摂餌量が1000 mg/kg群で有意に低値であった。肉眼的病理検査では、検体投与に関連した所見は認められなかった^{申請者注1}。

生存胎児；胎児生存率、胎児体重または性比には群間で差はなかった。内臓検査によると、尿管拡張の認められる胎児数が、対照群と比較して1000 mg/kg群で有意ではないが軽度増加した。骨格検査では、舌骨未骨化を有する胎児の発現頻度が300 mg/kg群で、14肋骨を有する胎児の発現頻度が100 mg/kg群で、それぞれ対照群と比較して有意に増加したが、用量相関性がないことから検体投与に関連しないと考えられた^{申請者注2}。異常胎児を有する母動物数または異常胎児数は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、投与に関連した変化はなかった。

以上の結果より、ジエトフェンカルブ原体を妊娠ラットに投与したときの母動物および胎児動物における無毒性量は300 mg/kg/日であった。また、最高用量の1000 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形作用を及ぼさないと判断された。

申請者注1：有意差検定は実施していないが、いずれの所見も最大1例のみの発現であり、検体投与群に用量相関性のみられる変化はなかった。

申請者注2：骨格検査について、申請者が有意差検定を実施したところ、変異を有する胎児数および頭蓋骨不完全骨化の出現頻度が1000 mg/kg群で低値を示したが、所見の頻度が減少したことにより生じた統計学的な差であり、毒性学的意義のない変化と考えられた。

表1 結果の概要

投与群 (mg/kg/日)	0	100	300	1000		
1群当たり動物数	25	25	25	25		
母動物	妊娠動物数	24	24	24	24	
	妊娠率 (%)	96	96	96	96	
	死亡数	0	0	0	0	
	流早産数	0	0	0	0	
	一般状態	検体投与に起因した異常なし				
	平均体重	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	体重増加量	—	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠6~8日	
	摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠6~8日	
	妊娠0~20日体重増加(g)	143	144	143	143	
	妊娠子宮重量(g)	78.2	75.5	77.6	80.8	
	正味体重増加量(g)	64.6	68.1	65.2	62.3	
	着床所見	検査母動物数	24	24	24	24
		平均黄体数	17.3	16.3	17.6	16.8
		平均着床数	15.3	14.6	14.9	15.0
着床効率 (%)		88.2	90.3	86.1	89.8	
早期吸収胚率 (%)		8.4	8.1	5.7	5.2	
後期吸収胚率 (%)		0.0	0.0	0.9	0.0	
死亡胎児率 (%)		0.0	0.0	0.0	0.0	
胎児動物	着床後損失率 (%)	8.4	8.1	6.6	5.2	
	平均生存胎児数	14.0	13.4	13.9	14.3	
	性比 (雄%)	46.0	48.4	49.9	46.2	
	体重 (g)	雄	3.6	3.6	3.7	3.7
雌		3.4	3.4	3.5	3.5	

太枠は検体投与による影響であることを示す。 —: 対照群

正味体重増加量 = 妊娠0~20日間体重増加量 - 妊娠子宮重量

着床効率 (%) = (着床数 / 黄体数) × 100

吸収胚率 (%) = (吸収胚数 / 着床数) × 100

死亡胎児率 (%) = (死亡胎児数 / 着床数) × 100

着床後損失率 (%) = (総吸収胚数 / 着床数) × 100

性比 (雄%) = (雄生存胎児数 / 全生存胎児数) × 100

対照群との有意差の検定 (↓: p < 0.05)

Dunnett 検定: 体重、体重増加量、摂餌量、胎児体重

申請者注: 申請者が対照群との有意差検定を実施したが、有意差は認められなかった。

Dunnett 検定: 妊娠子宮重量、正味体重増加量、黄体数、着床数、生存胎児数

Steel 検定: 着床効率、早期吸収胚率、後期吸収胚率、死亡胎児率、着床後損失率、性比

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	
胎 児 動 物	外 表 検 査	検査胎児 (腹) 数	337 (24)	322 (24)	333 (24)	343 (24)
		異常を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		口蓋裂	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		小顎症	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		外脳症	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	変異を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	内 臓 検 査	検査胎児 (腹) 数	171 (24)	160 (24)	168 (24)	172 (24)
		異常を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		口蓋裂	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		外脳症	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		変異を有する胎児 (腹) 数	10 (6)	5 (5)	7 (6)	12 (7)
		腎乳頭低形成	6 (4)	1 (1)	4 (3)	2 (2)
		腎乳頭欠損	1 (1)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
		中等度尿管拡張	4 (3)	3 (3)	3 (3)	10 (6)
	骨 格 検 査	重度尿管拡張	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		精巣下降不全	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		検査胎児 (腹) 数	166 (24)	162 (24)	165 (24)	171 (24)
		異常を有する胎児 (腹) 数	1 (1)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
		肋骨異常を伴う椎骨異常	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
鎖骨彎曲/ねじれ		1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
胸骨分節異常配列		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
肋骨癒合		0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	
変異を有する胎児 (腹) 数		85 (24)	86 (23)	75 (21)	↓66 (23)	
舌骨未骨化		1 (1)	2 (1)	↑9 (4)	2 (1)	
頭蓋骨不完全骨化		6 (5)	6 (4)	1 (1)	↓0 (0)	
仙椎前椎骨数 27	2 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
椎体二分	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)		

表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)。

太枠は検体投与による影響であることを示す。

対照群との有意差の検定 (↑ ↓: $p < 0.05$)

Cochran-Armitage 検定および Fisher-Irwin 直接法: 尿路拡張および舌骨未骨化が認められた胎児数

申請者注: 尿路拡張および舌骨未骨化以外の外表検査、内臓検査、骨格検査の各所見については、申請者が Cochran-Armitage 検定を実施し、差がみられた項目に Fisher の直接確率検定を実施した。

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	椎体未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		半椎体	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		仙椎骨化数 4 未満	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		尾椎骨化数 4 未満	34 (16)	27 (11)	20 (9)	29 (13)
		第 5 胸骨分節未骨化	50 (20)	49 (19)	51 (20)	39 (14)
		第 6 胸骨分節未骨化	4 (4)	4 (2)	4 (3)	3 (3)
		他の胸骨分節未骨化	1 (1)	2 (2)	1 (1)	2 (2)
		第 5 / 第 6 胸骨分節二分	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		他の胸骨分節二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		胸骨不完全骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		13 肋骨片側完全片側痕跡状	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
		13 肋骨痕跡状	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		14 肋骨片側完全片側痕跡状	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		14 肋骨痕跡状	10 (7)	↑21 (10)	7 (5)	10 (7)
		頸肋	1 (1)	0 (0)	2 (2)	2 (2)
		波状 / 弯曲肋骨	0 (0)	2 (1)	3 (2)	1 (1)
		中手骨骨化数 3 未満	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		中足骨骨化数 4 未満	1 (1)	1 (1)	2 (2)	2 (2)
恥骨未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)		
坐骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)		

表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)。

対照群との有意差の検定 (↑: $P < 0.05$)

Cochran-Armitage 検定および Fisher-Irwin 直接法: 14 肋骨が認められた胎児数

申請者注: 14 肋骨以外の骨格検査の各所見については、申請者が Cochran-Armitage 検定を実施し、差がみられた項目に Fisher の直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(3) ジェトフェンカルブ原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 8-3)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1986 年

検体 : ジェトフェンカルブ原体

検体純度 :

供試動物 : New Zealand White 種妊娠ウサギ、1 群 18 匹、人工受精時 5~6 ヲ月齡、
体重 2.93~4.26 kg

投与期間 : 妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間

(1985 年 11 月 11 日人工受精開始~1985 年 12 月 13 日帝王切開完了)

投与方法 : 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、50、125、300 および 750 mg/kg
の投与量で妊娠 7 日*) から妊娠 19 日までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。な
お、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

*) 人工受精日を妊娠 0 日として起算

[投与量設定根拠]

観察・検査項目 :

母動物 ; 一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、7、10、14、20、24 および 29 日に
体重を測定した。摂餌量は妊娠 0 日を除き、体重測定日に記録した。妊娠 29 日
に安楽死させ、肉眼的病理検査を実施した。子宮は摘出後、重量を測定し、着
床部位の数および位置、早期および後期吸収胚数、生存胎児数および死亡胎児
数を調べた。また、卵巣について黄体数を検査した。

生存胎児 ; 体重測定および外表異常検査を行った。各同腹児の約 1/2 の胎児については
頭部をブアン液で固定後に眼、耳、口蓋、鼻中隔および脳の検査を行った。全
生存胎児について性別判定、胸腔および腹腔の内臓異常の有無を検査し、固定
した頭部を除く全身を 95%エチルアルコール中で脱水した。その後 1.0%および

1. 5%KOH 溶液で侵軟処理し、アリザリンレッド S 染色により骨格標本を作成して骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次頁の表に示した。

母動物；750 mg/kg 群の 1 例は妊娠 28 日に、125 mg/kg 群の 2 例は妊娠 29 日に早産したため屠殺した。125 mg/kg 群と対照群の各 1 例は事故死した。また、対照群の 1 例、50 mg/kg 群の 2 例、125 mg/kg 群の 1 例および 750 mg/kg 群の 2 例は妊娠 26 日までに流産したため屠殺した。

食欲不振が全群で高頻度にみられ、発現動物数に用量相関性はなかったが、750 mg/kg 群では投与期間を含む妊娠 0～29 日間の摂餌量が対照群に比べて有意に減少した。50 mg/kg 群でも妊娠 7～10 日間の摂餌量が対照群に比べて統計学的に有意に減少したが、一過性であり、用量相関性もなかった。

また、750 mg/kg 群では対照群に比べて妊娠 7～10 日および 7～14 日の体重増加量が有意に減少した。投与期間中の体重増加量に用量相関性のある低下がみられ、750 mg/kg 群では妊娠 10、14、20 および 24 日の平均体重が対照群に比べて有意に減少した。

全体の妊娠率が 74%と非常に低かったが、用量相関性はなかった。着床効率に群間で差はなく、生存胎児を有する母動物数の平均は、0、50、125、300 および 750 mg/kg 群でそれぞれ 10、13、8、10 および 11 匹であった。

生存胎児；胎児生存率、胎児体重および性比には検体投与の影響は認められなかった^{申請者注 1}。外表、内臓および骨格の各検査は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、胎児異常および変異の型および発現頻度に検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果より、ジエトフェンカルブ原体を妊娠ウサギに投与したときの母動物における無毒性量は 300 mg/kg/日、胎児動物における無毒性量は 750 mg/kg/日であった。また、最高用量の 750 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形作用を及ぼさないと判断された^{申請者注 2}。

申請者注 1: 性比 (雄%) について、申請者が有意差検定を実施したところ、125mg/kg で低値を示したが、用量相関性のない変化であることから、検体投与の影響とは考えられなかった。

申請者注 2: 全体の妊娠率が 74%と非常に低かったため、再試験 (資料 8-4) を実施した。

表1 結果の概要

投与群 (mg/kg/日)	0	50	125	300	750		
1群あたり動物数	18	18	18	18	18		
母動物	妊娠動物数	15	16	12	10	14	
	妊娠率 (%)	83	89	67	56	78	
	死亡数	1	0	1	0	0	
	流早産数	1	2	3	0	3	
	一般状態; 食欲不振 ^{a)}	9	4	5	5	12	
	平均体重	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠 10、14、20、24 日	
	体重増加量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠 7-10、7-14 日	
	摂餌量	—	↓: 妊娠 7-10 日	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠 7-10、7-14、7-20、7-24、7-29、0-29 日	
	最終体重 (kg)	3.97	3.96	3.93	3.97	3.78	
	妊娠子宮重量 (kg)	0.4225	0.4080	0.4177	0.3971	0.3846	
	補正最終体重 (kg)	3.5455	3.5513	3.5111	3.5729	3.3981	
	肉眼的病理検査	検体投与に起因した異常なし					
	着床所見	検査母動物数	13 ^{b)}	14 ^{c)}	8	10	11
		平均黄体数	11.0	12.5	12.6	12.7	14.5
平均着床数		6.4	7.0	7.4	7.5	7.4	
着床効率 (%)		58	57	57	61	55	
早期吸収胚率 (%)		26.6	16.0	0.0	8.1	15.5	
後期吸収胚率 (%)		2.3	0.9	5.0	11.5	0.0	
平均死亡胎児数		0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

—: 対照群

a) 表中の数値は投与期間中の発現例数。

b) 全胚吸収の3例を含む。

c) 全胚吸収の1例を含む。

補正最終体重 = 最終体重 - 妊娠子宮重量

着床効率 (%) = (着床数 / 黄体数) × 100

吸収胚率 (%) = (吸収胚数 / 着床数) × 100

対照群との有意差の検定 (↓: P < 0.05)

Dunnett 検定: 体重、体重増加量、摂餌量

申請者注: 申請者が対照群との有意差検定を実施したが、有意差は認められなかった。

Dunnett 検定: 妊娠子宮重量、補正最終体重、黄体数、着床数、死亡胎児数

Steel 検定: 着床効率、早期吸収胚率、後期吸収胚率

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	125	300	750
生存胎児数 ^{d)}		5.4	6.3	6.9	6.0	6.2
体重 (g)	雄	41.2	41.3	43.4	43.1	43.1
	雌	38.1	41.2	40.4	38.0	39.9
性比 (雄%)		69	40	↓39	64	49
外表 検査	検査胎児 (腹) 数	70 (10)	88 (13)	56 (8)	60 (10)	68 (11)
	異常を有する胎児 (腹) 数	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	二分脊椎	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	変異を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
	チアノーゼ	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓 検査	検査胎児 (腹) 数	70 (10)	88 (13)	55 (8)	60 (10)	68 (11)
	異常を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	心血管異常	0 (0)	2 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	異所性腎	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	異所性異常腎	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	変異を有する胎児 (腹) 数	14 (8)	8 (5)	7 (5)	9 (4)	12 (6)
	肺中葉欠損/低形成	12 (7)	8 (5)	7 (5)	9 (4)	12 (6)
肺中葉以外欠損	2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	
骨格 検査	検査胎児 (腹) 数	70 (10)	88 (13)	55 (8)	60 (10)	68 (11)
	異常を有する胎児 (腹) 数	5 (5)	6 (4)	1 (1)	0 (0)	3 (2)
	頭頂間骨/上後頭骨異常	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肋骨異常を伴う/伴わない 椎骨異常	3 (3)	5 (4)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
	尾椎異常配列および癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	二分脊椎	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	胸骨分節異常配列および癒 合	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肋骨癒合	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)

d) 全胚吸収の腹を除く。

外表、内臓および骨格検査の表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)。

性比 = (雄生存胎児数 / 全生存胎児数) × 100

対照群との有意差の検定 (↓: p < 0.01)

Dunnett 検定: 胎児体重

申請者注: 申請者が対照群との有意差検定を行った。

Dunnett 検定: 生存胎児数

Steel 検定: 性比

Cochran-Armitage 検定および Fisher の直接確率検定: 外表検査、内臓検査、骨格検査

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	50	125	300	750	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	変異を有する胎児 (腹) 数	55 (10)	59 (13)	40 (8)	50 (10)	57 (11)
		頭蓋骨不完全骨化	1 (1)	1 (1)	2 (1)	0 (0)	0 (0)
		頭蓋過剰骨	0 (0)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
		舌骨翼角状	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		舌骨体二分	2 (2)	1 (1)	1 (1)	4 (3)	1 (1)
		舌骨体未骨化	1 (1)	2 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		舌骨体不完全骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		仙椎前椎骨数 26	10 (3)	15 (6)	6 (3)	15 (6)	16 (6)
		椎体二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		尾椎骨化数 16 未満	6 (5)	3 (2)	2 (2)	8 (3)	5 (4)
		仙椎前椎骨数 27	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第 5 胸骨分節未骨化	10 (4)	16 (7)	3 (3)	11 (5)	19 (7)
		第 6 胸骨分節未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
		第 5 / 第 6 胸骨分節二分	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		胸骨分節癒合	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		13 肋骨両側完全	21 (8)	25 (8)	17 (7)	23 (8)	21 (7)
		13 肋骨片側完全片側痕跡状	3 (2)	5 (5)	1 (1)	4 (3)	8 (6)
		13 肋骨痕跡状	18 (8)	15 (9)	16 (8)	15 (8)	11 (5)
		13 肋骨片側完全	4 (3)	3 (3)	1 (1)	3 (3)	4 (3)
		肋骨分岐	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
頸肋	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
肋骨肥厚	1 (1)	1 (1)	2 (1)	0 (0)	0 (0)		
骨化中断肋骨	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)		
前肢基節骨未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
踵骨未骨化	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	0 (0)		
後肢基節骨未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		

骨格検査の表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)。

申請者注：骨格検査については、申請者が Cochran-Armitage 検定を実施し、差がみられた項目に Fisher の直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(4) ジェトフェンカルブ原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 8-4)

試験機関: Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年

試験目的: ウサギにおける催奇形性試験 (資料 8-3) では、全体の妊娠率が低かったため、再試験を実施した。

検体: ジェトフェンカルブ原体

検体純度:

供試動物: New Zealand White 種妊娠ウサギ、1 群 16 匹、人工受精時約 6 ヶ月齢、
体重 2.77~3.56 kg

投与期間: 妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間

投与方法: 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、125、300 および 750 mg/kg/
日の投与量で妊娠 7 日* から妊娠 19 日までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。
なお、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

*) 人工受精日を妊娠 0 日として起算

[投与量設定根拠]

観察・検査項目:

母動物; 一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、7、9、10、11、15、20、24 および 29 日に体重を測定した。摂餌量は妊娠 0 日を除き、体重測定日に記録した。妊娠 29 日に安楽死させ、肉眼的病理検査を実施した。子宮は摘出後、重量を測定し、着床部位の数および位置、早期および後期吸収胚数、生存胎児数および死亡胎児数を調べた。また、卵巣について黄体数を検査した。

生存胎児; 体重測定および外表異常検査を行った。全生存胎児について性別判定、胸腔および腹腔の内臓ならびに頭蓋内部を検査し、95%エチルアルコール中で脱水した。その後 1.0%KOH 溶液で侵軟処理し、0.5%KOH 溶液中でアリザリンレッド S 染色により骨格標本を作成して骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次頁の表に示した。

母動物；300 および 750 mg/kg 群の各 1 例が途中死亡した。これら 2 例の死因は検体投与によるものとも誤投与によるものとも確定できなかった。臨床症状では対照群を含む全群で食欲不振がみられたが、用量相関性はみられなかった。妊娠中の体重増加量はいずれの群も同程度であった。摂餌量でも表の脚注に示した統計処理を行ったところ、検体投与との関連した変化はみられなかった。妊娠率は 81%~100%の間で、試験全体の妊娠率は 91%であった。着床効率はいずれの群もほとんど差がなかった。子宮内所見では、統計学的有意差はなかったが、750 mg/kg 群の母動物 15 例中 6 例が全胚吸収であり、着床後損失率 (45%) が対照群 (20%) に比べて増加していた。

生存胎児；胎児体重および性比は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、検体投与の影響による変化は認められなかった。外表または内臓の異常または変異出現頻度ならびに骨格の異常または変異出現頻度は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、検体投与による変化は認められなかった^{申請者注¹}。

以上の結果より、ジエトフェンカルブ原体を妊娠ウサギに投与したときの母動物における無毒性量は 750 mg/kg/日以上、胎児動物における無毒性量は 300 mg/kg/日であった。また、最高用量の 750 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形作用を及ぼさないと判断された^{申請者注²}。

申請者注 1: 骨格検査について、申請者が有意差検定を実施したところ、750 mg/kg 群で変異を有する胎児および仙椎前椎骨数 26 の発現頻度が高かったが、ほぼ同様の投与量を設定した前試験 (資料 8-3) ならびに、本試験の投与量を上回る 800 および 900 mg/kg を投与した試験 (資料 8-5) において、同様の変化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。

申請者注 2: 前試験 (資料 8-3) で認められなかった吸収胚率の高値が 750 mg/kg 群の母動物で認められたが、統計学的な差はなく、対照群でも 20% という高値が認められた。本所見の検体投与による影響の有無について確認するために追加試験 (資料 8-5) を実施した。なお、報告書では 750 mg/kg 群でみられた吸収胚率の高値は親動物への影響ではなく、児に対する毒性と判断している。

表1 結果の概要

投与群 (mg/kg/日)		0	125	300	750	
1群あたり動物数		16	16	16	16	
母動物	妊娠動物数	14	13	15	16	
	妊娠率 (%)	88	81	94	100	
	死亡数	0	1	1 ^{a)}	1	
	流早産数	0	0	0	0	
	一般状態; 食欲不振 ^{b)}	5	3	4	6	
	体重変化	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	摂餌量	—	↑: 妊娠 20~29日	有意差なし	有意差なし	
	妊娠子宮重量 (kg)	0.349	0.325	0.349	0.277	
	正味体重増加量 (kg)	0.01	0.18	0.05	0.15	
	肉眼的病理検査		検体投与に起因した異常なし			
	着床所見	検査母動物数 ^{c)}	14	12	14	15
		生存胎児を持つ母動物数	13	11	12	9
		平均黄体数	12.3	10.8	10.7	10.5
		平均着床数	6.9	5.8	6.0	5.8
着床効率 (%)		62	57	61	64	
早期吸収胚率 (%)		20	23	19	45	
後期吸収胚率 (%)		0	0	0	0	
着床後損失率 (%)		20	23	19	45	
胎児動物	死亡胎児数	0	0	0	0	
	平均生存胎児数 ^{c)}	5.9	4.7	5.5	4.0	
	体重 (g)	雄	42.7	47.2	44.1	43.6
		雌	41.1	46.7	43.8	45.0
性比 (雄%)		51	56	53	58	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

— : 対照群

a) 足の外傷のため切迫屠殺した。

b) 表中の数値は投与期間中の発現例数

c) 全胚吸収動物を含む。

正味体重増加量 = 妊娠 0~29 日間体重増加量 - 妊娠子宮重量

着床効率 (%) = (着床数 / 黄体数) × 100

吸収胚率 (%) = (吸収胚数 / 着床数) × 100

着床後損失率 (%) = (総吸収胚数 / 着床数) × 100

性比 (雄%) = (雄生存胎児数 / 全生存胎児数) × 100

対照群との有意差の検定 (↑ ↓: P < 0.05)

Dunnett 検定: 体重、体重増加量、摂餌量、胎児体重

χ² 検定: 生存胎児数、早期吸収胚数

Cochran-Armitage 傾向検定: 妊娠率

申請者注: 申請者が対照群との有意差検定を行ったが、有意差は認められなかった。

Dunnett 検定: 妊娠子宮重量、正味体重増加量、黄体数、着床数、死亡胎児数、生存胎児数

Steel 検定: 着床効率、早期吸収胚率、後期吸収胚率、着床後損失率、性比

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	125	300	750	
胎児動物	外表検査	検査胎児 (腹) 数	82 (13)	56 (11)	77 (12)	60 (9)
		異常を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		短尾	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		変異を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	内臓検査	検査胎児 (腹) 数	82 (13)	56 (11)	77 (12)	60 (9)
		異常を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		変異を有する胎児 (腹) 数	10 (6)	6 (3)	4 (4)	7 (5)
		主要血管の変異	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	骨格検査	検査胎児 (腹) 数	82 (13)	56 (11)	77 (12)	60 (9)
		異常を有する胎児 (腹) 数	6 (5)	2 (2)	5 (5)	3 (3)
		頭蓋骨癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
		肋骨異常を伴う/伴わない 椎骨異常	3 (3)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
腰椎骨異常配列		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
尾椎骨異常配列および癒合		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
胸骨分節異常配列		1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
肋骨癒合		0 (0)	2 (2)	1 (1)	0 (0)	
変異を有する胎児 (腹) 数		52 (13)	44 (10)	59 (12)	↑48 (9)	
舌骨体未骨化		0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)	
舌骨体二分		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
舌骨翼角状		6 (4)	0 (0)	3 (2)	8 (6)	
頭蓋過剰骨		1 (1)	0 (0)	3 (3)	3 (3)	
舌骨体不完全骨化		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
仙椎前椎骨数 24	2 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
仙椎前椎骨数 26	14 (6)	9 (6)	20 (9)	↑20 (7)		
椎体二分	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
尾椎骨化数 16 未満	5 (3)	2 (2)	7 (5)	4 (4)		
半椎体	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)		

表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)

対照群との有意差の検定 (↑ ↓: $P < 0.05$)

Cochran-Armitage 傾向検定: 頭蓋骨癒合が認められた胎児および腹の出現頻度

申請者注: 外表検査、内臓検査、骨格検査については、申請者が Cochran-Armitage 検定を実施し、差がみられた項目に Fisher の直接確率検定を実施した (↑: $p < 0.05$)。

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	125	300	750	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	第5胸骨分節未骨化	5 (3)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
		第6胸骨分節未骨化	1 (1)	0 (0)	4 (1)	2 (2)
		第5/第6胸骨分節二分	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		他の胸骨分節二分	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		胸骨分節点癒合	3 (3)	2 (2)	4 (2)	3 (3)
		胸骨分節数7	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		13肋骨両側完全	21 (8)	23 (9)	30 (11)	23 (9)
		13肋骨片側完全片側痕跡状	8 (7)	6 (6)	8 (7)	8 (4)
		13肋骨片側完全	1 (1)	2 (2)	3 (3)	3 (3)
		13肋骨痕跡状	9 (6)	7 (5)	14 (9)	8 (6)
		肋骨分岐	0 (0)	3 (3)	0 (0)	0 (0)
		肋骨肥厚	2 (2)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
		恥骨未骨化	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)

表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)

申請者注：骨格検査については、申請者が Cochran-Armitage 検定を実施し、差がみられた項目に Fisher の直接確率検定を実施したが、有意差は認められなかった。

(5) ジェトフェンカルブ原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 8-5)

試験機関：(株)イナリサーチ

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

試験目的：ウサギにおける催奇形性試験（資料 8-4）では、ほぼ同様の投与量を設定した前試験（資料 8-3）の結果と異なり、母動物に検体投与の影響は認められず、また、胚・胎児の発生に対して、統計学的な差はないものの吸収胚率の高位が 750 mg/kg/日で認められたことから、この点を確認する目的で本試験を実施した。

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

供試動物：New Zealand White 種妊娠ウサギ、1 群 28 匹、

投与開始時約 19 週齢、試験開始時体重 3.32~4.05 kg

投与期間：妊娠 7 日目から 28 日目までの 22 日間

投与方法：検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、800 および 900 mg/kg/日の投与量で妊娠 7 日* から妊娠 28 日までの 22 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

*) 交尾成立日を妊娠 0 日として起算

[投与量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物；一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、2、4、6~29 日の体重、妊娠 0 日を除く体重測定日の前日に給餌量、当日に残餌量を測定し、その値から 1 日分の摂餌量を計算して、それぞれ残餌量測定日の摂餌量とした。妊娠 29 日に安楽死させ、肉眼的病理検査を実施した。子宮は摘出後、重量を測定し、着床数、早期および後期吸収胚数、生存胎児数および死亡胎児数を調べた。また、卵巣について黄体数を検査した。

生存胎児；体重および胎盤重量測定ならびに外表異常検査を行った。全生存胎児について

て性別判定、内臓ならびに頭蓋内部を肉眼的に検査した後、Dawson 法に準じてアリザリンレッド S 染色を施し、骨格標本を作成して骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次頁の表に示した。

母動物；900 mg/kg 群の 1 例が妊娠 22 日に死亡した。800 mg/kg 群の 2 例および 900 mg/kg 群の 7 例が妊娠 22～27 日の間に流産し、900 mg/kg 群の 1 例が妊娠 29 日の帝王切開前に分娩した。流産または分娩例のほとんどは無摂餌および排便または排尿の減少が連続して認められたことから、栄養不良に伴い誘発されたものと推察された。

母動物における一般状態の変化として、排便または排尿の減少が検体投与群において多発した。800 および 900 mg/kg 群において、投与期間を通じて摂餌量の減少および体重増加抑制が認められた。肉眼的病理検査において、妊娠 29 日に帝王切開された母動物では異常は認められなかったが、死亡、流産または分娩例では心臓および腎臓の褪色、肺の暗赤色化、胃の暗赤色斑、肝臓の褪色、胆嚢の暗赤色斑および陥凹または暗褐色化などの変化が観察された。

妊娠子宮重量の有意な低値が 800 および 900 mg/kg 群において認められたが、これは着床数が有意な差は無いが対照群に比べて少なく、それに伴い生存胎児数も少なかったことによると考えられ、検体投与との関連はないと判断された。

生存胎児；胎児体重、性比、生存胎児数および胚・胎児死亡率ならびに外表、内臓および骨格形態は、表の脚注に示した統計処理を行ったところ、検体投与による変化は認められなかった。

骨化仙尾椎数が 800 mg/kg 群において対照群よりも有意な低値を示したが、900 mg/kg 群では有意差は認められなかった。両群の骨化仙尾椎数とも、背景データ (19.3～19.8) の範囲内であることから、毒性学的に意義のない軽微な変動と判断した。

以上の結果より、ジエトフェンカルブ原体を妊娠ウサギに投与したときの母動物における無毒性量は 800 mg/kg/日未満、胎児動物における無毒性量は 900 mg/kg/日であった。また、最高用量の 900 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形作用を及ぼさないと判断された^{申請者注 1}。

申請者注 1：先に実施した 2 試験 (資料 8-3 および 8-4) の最高投与量である 750 mg/kg/日を若干上回る 800 mg/kg/日において、母動物の平均体重、体重増加量および摂餌量の低値などの毒性がみられた。また、資料 8-4 の 750 mg/kg/日投与群において、吸収胚率の高値がみられたが、資料 8-3 の全投与群 (50～750 mg/kg 日) および本試験の 800 mg/kg/日以上の投与群で影響がみられなかったことから資料 8-4 でみられた吸収胚の高値は検体投与の影響ではないと考えられた。従って 3 試験の結果を考え合わせ、妊娠ウサギの母動物に対する無毒性量は 300 mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は 900 mg/kg/日と判断した。

表1 結果の概要

投与群 (mg/kg/日)	0	800	900
1群あたり動物数	28	28	28
妊娠動物数	25	26	25
死亡数	0	0	1
流産数	0	2	8
一般状態 ; 無授餌	0	0	2
排便減少	6	13	18
排尿減少	3	8	12
平均体重	—	↓ : 妊娠 8 日 ↓ : 妊娠 9~29 日	↓ : 妊娠 11、12、29 日 ↓ : 妊娠 13~28 日
体重増加量	—	↓ : 妊娠 8~29 日	↓ : 妊娠 8、28~29 日 ↓ : 妊娠 9~27 日
摂餌量	—	↓ : 妊娠 2、15、19、 20、22 日 ↓ : 妊娠 8~14、18 日	↓ : 妊娠 16、19、20 日 ↓ : 妊娠 9~15、17、 23、24 日
体重増加量 (kg)	0.34	↓ 0.20	↓ 0.21
妊娠子宮重量 (g)	491.02	↓ 393.57	↓ 408.60
補正体重増加量 (kg)	-0.16	-0.19	-0.20
肉眼的病理検査 ^{a)} ;			
心臓褪色	0	1	5
肝臓褪色	0	0	1
腎臓褪色	0	0	1
着床所見			
検査母動物数	25	24	16
黄体数 ^{b)}	10.9	10.7	10.6
着床数 ^{b)}	9.2	7.9	7.9
着床前損失率 (%)	15.6	25.6	25.0
着床後損失率 (%)	7.5	8.8	6.9
早期吸収胚率 (%)	0.0	0.0	0.0
後期吸収胚率 (%)	5.6	7.0	5.3
死亡胎児率 (%)	1.9	1.7	1.6

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

— : 対照群

a) 主な所見の発現例数。いずれも死亡、流産または分娩例で認められた。

b) 一腹当たりの平均値

補正体重増加量 = 妊娠 7-29 日間体重増加量 - 妊娠子宮重量

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

着床後損失率 (%) = (総死亡胎児数 / 着床数) × 100

対照群との有意差の検定 (↓ : P < 0.01, ↓ : P < 0.05)

Dunnett 検定 : 体重、体重増加量、摂餌量、黄体数、着床数、妊娠子宮重量、着床前損失率、着床後損失率

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	800	900	
胎児動物	平均生存胎児数	8.6	7.1	7.4	
	性比	47	47	51	
	体重 (g)	雄	40.3	38.1	39.0
		雌	39.0	38.8	38.3
	胎盤重量 (g)	雄	3.57	3.41	3.53
		雌	3.32	3.36	3.34
	外表検査	検査胎児 (腹) 数	214 (25)	171 (24)	118 (16)
		異常を有する胎児 (腹) 数	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		短尾	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		臍帯ヘルニア	1 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓検査	検査胎児 (腹) 数	214 (25)	171 (24)	118 (16)	
	異常を有する胎児 (腹) 数	14 (8)	6 (5)	8 (6)	
	心室中隔膜性部欠損	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	拡張大動脈弓	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	肺低形成	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	横隔膜ヘルニア	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	胸腺頸部残留	12 (6)	6 (5)	7 (5)	
	水腎	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
骨格検査	尿管拡張	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	検査胎児 (腹) 数	214 (25)	171 (24)	118 (16)	
	異常を有する胎児 (腹) 数	5 (4)	3 (2)	5 (5)	
	胸椎弓欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	胸椎体癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	腰椎体癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	腰半椎	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	尾椎弓癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
骨格検査	尾椎体癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	胸骨分節癒合	2 (1)	3 (2)	4 (4)	
	肋骨癒合	2 (2)	0 (0)	0 (0)	

表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)

対照群との有意差の検定

Dunnett 検定: 生存胎児数、性比、胎児体重、胎盤重量、胎児の異常発現率

χ^2 検定: 異常を有する胎児が認められた母動物の発現率

表1 結果の概要 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	800	900	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	変異を有する胎児 (腹) 数	140 (25)	131 (24)	76 (16)
		頭蓋過剰骨化部位	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		過剰腰椎	31 (13)	39 (15)	21 (9)
		腰椎化	5 (4)	7 (6)	4 (3)
		胸骨分節二分	4 (4)	↓ 0 (0)	0 (0)
		胸骨分節配列異常	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		頸肋	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		完全過剰肋骨	99 (24)	110 (23)	52 (14)
		短小過剰肋骨	55 (23)	32 (16)	31 (15)
		骨化数 ; 仙尾椎数	19.5	↓ 19.3	19.4

表中の数値は異常または変異が認められた胎児数 (腹数)

対照群との有意差の検定 (↓: $P < 0.05$)

Dunnett 検定: 胎児の異常発現率、骨化数

χ^2 検定: 変異を有する胎児が認められた母動物の発現率

9. 変異原性

(1) ジェトフェンカルブ原体の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 9-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* TA100、TA98、TA1535、TA1537、TA1538 株) およ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) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。
検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、試験は 2 連制とし、プレインキュベーション法で 2 回実施した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

2 回の本試験において、S9 mix の存在の有無にかかわらず、1000 µg/プレート以上の濃度で検体の析出が認められた。S9 mix 存在下、2000 µg/プレートの濃度では検体の著しい析出のため復帰変異コロニー数の計数が困難であった。しかし、試験した全ての条件下で、検体処理群の復帰変異コロニー数が溶媒対照群の 2 倍を越えて濃度依存的に増加することはなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、2-ニトロフルオレン、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン、*N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、ベンツ (α) ピレンおよび 2-アミノアントラセンでは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、ジェトフェンカルブ原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断された。

本試験 1

表中の数値は2連の平均値

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)	0	-	121	12	21	30	12	30
ジエトフェンカルブ 原体	50	-	123	13	19	29	6	25
	100	-	106	8	20	31	14	21
	200	-	107	13	21	32	7	24
	500	-	110	17	21	22	7	37
	1000 #	-	136	12	21	27	10	32
	2000 #	-	131	12	23	24	8	32
陽性対照		-	322 ^{a)}	333 ^{b)}	201 ^{c)}	262 ^{d)}	1443 ^{e)}	577 ^{f)}
溶媒対照 (DMSO)	0	+	94	13	20	48	21	51
ジエトフェンカルブ 原体	50	+	117	12	21	52	26	45
	100	+	122	13	28	42	25	37
	200	+	118	16	32	43	16	33
	500	+	109	11	21	44	19	30
	1000 #	+	98	18	31	52	19	30
	2000 #	+	P	P	P	P	P	P
陽性対照		+	908 ^{g)}	293 ^{h)}	631 ⁱ⁾	691 ^{g)}	256 ^{g)}	234 ^{g)}

陽性対照

- a) 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド 0.01 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- b) アジ化ナトリウム 0.5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- c) *N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン 2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- d) 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド 0.1 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- e) 9-アミノアクリジン 80 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- f) 2-ニトロフルオレン 2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- g) ベンツ (α) ピレン 5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- h) 2-アミノアントラセン 2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- i) 2-アミノアントラセン 20 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

: 検体の析出が認められた

P : 著しい検体析出のため復帰変異コロニー数の計数不可

本試験 2

表中の数値は2連の平均値

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (DMSO)	0	-	133	14	16	30	9	15
ジエトフェンカルブ 原体	50	-	135	14	19	25	9	21
	100	-	121	13	19	28	7	19
	200	-	134	19	18	31	7	19
	500	-	122	16	25	30	7	19
	1000 #	-	137	13	20	26	7	13
	2000 #	-	141	9	22	30	6	17
陽性対照		-	357 ^{a)}	378 ^{b)}	258 ^{c)}	346 ^{d)}	1752 ^{e)}	538 ^{f)}
溶媒対照 (DMSO)	0	+	102	14	22	54	27	48
ジエトフェンカルブ 原体	50	+	107	16	20	47	28	44
	100	+	131	13	23	49	26	26
	200	+	142	18	27	40	18	26
	500	+	121	22	25	44	23	34
	1000 #	+	124	20	24	41	18	28
	2000 #	+	P	P	P	P	P	P
陽性対照		+	965 ^{g)}	292 ^{h)}	714 ⁱ⁾	669 ^{g)}	251 ^{g)}	234 ^{g)}

陽性対照

- a) 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド 0.01 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- b) アジ化ナトリウム 0.5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- c) *N*-エチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン 2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- d) 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド 0.1 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- e) 9-アミノアクリジン 80 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- f) 2-ニトロフルオレン 2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- g) ベンツ (α) ピレン 5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- h) 2-アミノアントラセン 2 $\mu\text{g}/\text{プレート}$
- i) 2-アミノアントラセン 20 $\mu\text{g}/\text{プレート}$

: 検体の析出が認められた

P : 著しい検体析出のため復帰変異コロニー数の計数不可

(2) ジェトフェンカルブ原体のチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 (CHO-K1) を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 9-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検 体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの卵巣由来の培養細胞 (CHO-K1) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S9 mix 存在下では 6 時間、非存在下では 24 時間および 48 時間細胞を処理した。観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行った。また倍数体については 400 個の分裂中期像を観察した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

S9 mix 存在下および非存在下ともに、いずれの濃度においても、溶媒対照群と比較して染色体異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。倍数体細胞も、いずれの試験条件下でも増加しなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (S9 mix 非存在下) およびベンツ (α) ピレン (S9 mix 存在下) では、染色体異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加が認められた。

以上の結果から、ジェトフェンカルブ原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下でチャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO-K1) に対して染色体異常を誘発しないと判断された。

薬物	濃度 (M)	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	観察細胞数	S9 mixの有無	構造異常								数的異常 倍数体 ^{d)} (%)	
						異常細胞 (%)		異常数							
						+G ^{a)}	-G ^{b)}	ギャップ	切断	染色分体交換	染色体交換	細粉化	その他 ^{c)}		
溶媒対照 (DMSO)	0	6	24	100	+	6	4	2	1	3	0	0	0	3.0	
ジエトフェンカルブ 原体	10 ⁻⁴			100	+	2	1	1	1	0	0	0	0	0	2.0
	2 × 10 ⁻⁴			100	+	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3.3
	5 × 10 ⁻⁴			100	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.8
	10 ⁻³			100	+	2	2	0	2	0	0	0	0	0	3.0
陽性対照 (ベンツ (α) ビルソ)	5 × 10 ⁻⁵			100	+	40**	36**	14	18	36	1	0	0	0	1.8
溶媒対照 (DMSO)	0	24	24	100	-	1	1	0	0	1	0	0	0	5.5	
ジエトフェンカルブ 原体	5 × 10 ⁻⁵			100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.3
	10 ⁻⁴			100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5
	2 × 10 ⁻⁴			100	-	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2.5
	5 × 10 ⁻⁴			100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0
陽性対照 (マイトマイシンC)	3 × 10 ⁻⁷			100	-	42**	40**	8	8	38	0	0	0	3	3.8
溶媒対照 (DMSO)	0	48	48	100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	2.5	
ジエトフェンカルブ 原体	5 × 10 ⁻⁵			100	-	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2.0
	10 ⁻⁴			100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.3
	2 × 10 ⁻⁴			100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.3
	5 × 10 ⁻⁴			100	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.0
陽性対照 (マイトマイシンC)	3 × 10 ⁻⁷			100	-	56**	50**	17	27	55	0	0	0	2	4.3

a) +G : ギャップを含む異常細胞の割合、 b) -G ; ギャップを除く異常細胞の割合
c) 10 個以上の異常を持つ細胞
d) 観察細胞数 : 400 個
** : χ^2 検定、 $p < 0.01$

(3) ジェトフェンカルブ原体の細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 9-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構野生株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、賀田らの Rec-assay 法を用いて DNA 損傷誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、溶液 0.01 mL を添加した直径 8 mm のディスクを孢子プレート上に置き、生じた菌の生育阻止円径を測定した。各濃度 2 枚のディスクを用いて、本試験を 2 回行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

いずれの試験においても、検体は S9 mix の有無にかかわらず、いずれの濃度においても、M45、H17 両株に対し全く生育阻止円径を示さなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C (S9 mix 非存在下) およびステリグマトシスチン (S9 mix 存在下) では両株の間に著明な生育阻止円径の差を生じ、陰性対照のカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止円径を認めた。

以上の結果より、ジェトフェンカルブ原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下で DNA 損傷誘発性を有しないと判断された。

本試験

表中の数値は2連の平均値

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 mix の有無	試験 1			試験 2		
			阻止円径 (mm) ^{a)}		差 ^{b)} (mm)	阻止円径 (mm) ^{a)}		差 ^{b)} (mm)
			M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)	0	—	<8	<8	0	<8	<8	0
ジ・エトフェナルブ* 原体	100	—	<8	<8	0	<8	<8	0
	200	—	<8	<8	0	<8	<8	0
	500	—	<8	<8	0	<8	<8	0
	1000	—	<8	<8	0	<8	<8	0
	2000	—	<8	<8	0	<8	<8	0
	5000	—	<8	<8	0	<8	<8	0
陰性対照 (カナマイシン)	3	—	20.3	21.5	-1.2	20.9	22.5	-1.6
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.3	—	51.9	34.7	17.2	53.5	33.6	19.9
溶媒対照 (DMSO)	0	+	<8	<8	0	<8	<8	0
ジ・エトフェナルブ* 原体	100	+	<8	<8	0	<8	<8	0
	200	+	<8	<8	0	<8	<8	0
	500	+	<8	<8	0	<8	<8	0
	1000	+	<8	<8	0	<8	<8	0
	2000	+	<8	<8	0	<8	<8	0
	5000	+	<8	<8	0	<8	<8	0
陰性対照 (カナマイシン)	3	+	16.8	17.6	-0.8	18.2	20.7	-2.5
陽性対照 (ステリク*マシチン)	3	+	13.1	<8	5.1	15.7	<8	7.7

a) 8 mm のペーパーディスクを使用。<8 は生育阻止円径のないことを示す。

b) 差 = (M45 株における阻止円径) - (H17 株における阻止円径)

(4) ジェトフェンカルブ原体のチャイニーズハムスター肺由来の培養細胞 (V79) を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 9-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1989年

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来細胞 (V79) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、6-チオグアニン耐性コロニーの増殖を指標とするヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) の突然変異誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、S9 mix 存在下および非存在下ともに細胞を検体で5時間処理した。試験はS9 mix 存在下で2回、S9 mix 非存在下で3回行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

S9 mix 非存在下の試験1の200 µg/mLの濃度において、陽性基準 (溶媒対照群の3倍) を超える突然変異率の増加が認められた。しかしながら、試験2および試験3では、200 µg/mL を含むいずれの濃度においても、突然変異率の増加は全く認められず、試験1の結果は再現されなかった。従って、この増加は偶発的なもので生物学的意義はなく、検体との関連性はないと考えられた。

S9 mix 存在下では、2回の試験を通じて検体処理群の突然変異率の増加は認められなかった。

一方、陽性対照であるエチルメタンサルホン酸 (S9 mix 非存在下) および9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン (S9 mix 存在下) では突然変異率の顕著な増加が認められた。

以上の結果から、ジェトフェンカルブ原体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において突然変異を誘発しないものと判断された。

試験 1

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix の有無	相対細胞 生存率 ^{a)} (%)	コロニー 形成率 ^{b)} (%)	突然変異率 ^{c)} ($\times 10^{-6}$)
溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	80.2 \pm 10.3	7.9 \pm 5.0
ジエトフェニカルブ 原体	20	—	74	83.8 \pm 8.0	5.2 \pm 3.8
	50	—	69	75.4 \pm 4.2	10.2 \pm 7.2
	100	—	63	86.0 \pm 14.9	4.3 \pm 4.3
	200 #	—	58	74.8 \pm 10.7	36.1 \pm 18.8*
陽性対照 (EMS)	200	—	83	87.8 \pm 14.9	183.0 \pm 20.2*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	77.0 \pm 7.7	3.9 \pm 3.8
ジエトフェニカルブ 原体	20	+	92	80.8 \pm 9.0	5.0 \pm 2.6
	50	+	95	82.4 \pm 4.6	4.9 \pm 4.2
	100	+	80	73.4 \pm 5.4	5.4 \pm 6.0
	200 #	+	70	76.8 \pm 5.0	5.6 \pm 5.0
陽性対照 (DMBA)	5	+	90	79.0 \pm 3.1	224.1 \pm 29.4*

EMS : エチルメタンサルホン酸、DMBA : 9, 10-ジメチル-1, 2-ベンズアントラセン

a) : 相対細胞生存率 = (生存コロニー数 / 溶媒対照群の生存コロニー数) \times 100、5 反復の平均値

b) : コロニー形成率 = (コロニー形成数 / 接種細胞数) \times 100、5 反復の平均値 \pm SD

c) : 突然変異率 = (6-チオグアニン耐性コロニー数 / 接種細胞数 (3×10^5) \times コロニー形成率) \times 100、10 反復の平均値 \pm SD

: 検体の沈殿が認められた。

* : 溶媒対照の突然変異率の 3 倍を超えて増加

試験 2

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix の有無	相対細胞 生存率 ^{a)} (%)	コロニー 形成率 ^{b)} (%)	突然変異率 ^{c)} ($\times 10^{-6}$)
溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	85.0 \pm 10.0	5.1 \pm 4.5
ジエトフェナルブ 原体	20	—	84	85.8 \pm 12.1	2.7 \pm 3.2
	50	—	77	81.8 \pm 8.2	4.1 \pm 4.3
	100	—	80	81.6 \pm 7.2	7.4 \pm 5.0
	200 #	—	66	81.4 \pm 5.9	2.5 \pm 3.5
陽性対照 (EMS)	200	—	91	76.0 \pm 7.9	232.9 \pm 25.3*
溶媒対照 (DMSO)	0	+	100	87.6 \pm 5.3	8.4 \pm 5.9
ジエトフェナルブ 原体	20	+	108	82.8 \pm 3.7	6.4 \pm 4.7
	50	+	87	76.6 \pm 5.9	9.1 \pm 5.2
	100	+	91	93.0 \pm 8.1	8.2 \pm 3.8
	200 #	+	83	78.0 \pm 7.7	4.3 \pm 2.8
陽性対照 (DMBA)	5	+	98	79.4 \pm 5.3	212.8 \pm 29.8*

EMS : エチルメタンサルホン酸、DMBA : 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン

a) : 相対細胞生存率 = (生存コロニー数 / 溶媒対照群の生存コロニー数) \times 100、5 反復の平均値

b) : コロニー形成率 = (コロニー形成数 / 接種細胞数) \times 100、5 反復の平均値 \pm SD

c) : 突然変異率 = (6-チオグアニン耐性コロニー数 / 接種細胞数 (3×10^5) \times コロニー形成率) \times 100、10 反復の平均値 \pm SD

: 検体の沈殿が認められた。

* : 溶媒対照の突然変異率の 3 倍を超えて増加

試験 3

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix の有無	相対細胞 生存率 ^{a)} (%)	コロニー 形成率 ^{b)} (%)	突然変異率 ^{c)} ($\times 10^{-6}$)
溶媒対照 (DMSO)	0	—	100	78.6 \pm 9.1	9.3 \pm 7.2
ジエトフェンカルブ 原体	20	—	90	80.4 \pm 3.0	6.6 \pm 4.5
	50	—	77	78.4 \pm 7.5	9.8 \pm 5.3
	100	—	81	71.2 \pm 5.4	2.3 \pm 3.3
	200 #	—	73	69.6 \pm 7.1	7.7 \pm 6.5
陽性対照 (EMS)	200	—	97	74.6 \pm 4.5	178.3 \pm 29.7*

EMS : エチルメタンサルホン酸

a) : 相対細胞生存率 = (生存コロニー数 / 溶媒対照群の生存コロニー数) \times 100、5 反復の平均値

b) : コロニー形成率 = (コロニー形成数 / 接種細胞数) \times 100、5 反復の平均値 \pm SD

c) : 突然変異率 = (6-チオグアニン耐性コロニー数 / 接種細胞数 (3×10^5) \times コロニー形成率) \times 100、10 反復の平均値 \pm SD

: 検体の沈殿が認められた。

* : 溶媒対照の突然変異率の 3 倍を超えて増加

- (5) ジェトフェンカルブ原体のチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 (CHO-K1) を用いた *in vitro* 姉妹染色分体交換試験

(資料 9-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 (CHO-K1) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、姉妹染色分体交換誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、細胞を S9 mix 存在下および非存在下ともに 2 時間処理した。

培地を交換後、5-プロモデオキシウリジンを加えて 28 時間培養し、染色体標本を作製した。観察は 1 濃度あたり 50 個の分裂中期像について行った。試験は予備試験と本試験をそれぞれ 1 回実施した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示した。

予備試験の細胞を用いて姉妹染色分体交換頻度を観察した結果、S9 mix 非存在下、 3×10^{-5} M でのみ溶媒対照と比較して統計学的に有意な姉妹染色分体交換頻度の軽微な増加が認められたが、用量依存性は認められず、この増加には生物学的意義はないと考えられた。本試験でも、S9 mix 存在下および非存在下ともに、いずれの濃度においても姉妹染色分体交換頻度に統計学的に有意な増加は認められなかった。

なお、陽性対照であるマイトマイシン C およびシクロホスファミドで処理した細胞は、姉妹染色分体交換頻度を顕著に増加させた。

以上の結果から、ジェトフェンカルブ原体は、代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下でチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 (CHO-K1) に対して姉妹染色分体交換を誘発しないと判断された。

予備試験

薬物	濃度 (M)	相対細胞生存率 (%)		観察 細胞数	姉妹染色分体交換頻度 (細胞数)	
		S9 mixの有無			S9 mixの有無	
		-	+			-
溶媒対照 (DMSO)	1%	100	100	50	11.2 ± 3.3	13.0 ± 3.6
ジエトフェンカルブ 原体	10 ⁻⁶	99.4	111	50	10.9 ± 3.8	12.9 ± 3.9
	3 × 10 ⁻⁶	91.8	118	50	11.6 ± 4.0	11.1 ± 4.0
	10 ⁻⁵	95.5	100	50	10.4 ± 4.1	12.7 ± 4.1
	3 × 10 ⁻⁵	98.1	116	50	12.7 ± 3.6 *	12.1 ± 3.7
	10 ⁻⁴	89.1	111	50	12.3 ± 3.4	10.2 ± 3.4
	3 × 10 ⁻⁴	88.5	113	50	11.9 ± 3.4	11.4 ± 3.3
	10 ⁻³ #	55.4	54.0	50	10.2 ± 2.7	11.5 ± 3.5
陽性対照 (マイトマイシンC)	10 ⁻⁷	91.6	NA	50	57.3 ± 9.8 **	NA
陽性対照 (シクロホスファミド)	3 × 10 ⁻⁵	NA	102	50	NA	74.0 ± 13.1 **

: 検体の沈殿が認められた。

* : t-検定、p < 0.05; ** : t-検定、p < 0.01

NA : 試験実施せず

本試験

薬物	濃度 (M)	相対細胞生存率 (%)		姉妹染色分体交換頻度 (細胞数)		
		S9 mixの有無		観察 細胞数	S9 mixの有無	
		-	+		-	+
溶媒対照 (DMSO)	1%	100	100	50	11.7 ± 3.7	14.8 ± 4.6
ジエトフェンカルブ 原体	10 ⁻⁴	99.2	98.3	50	11.7 ± 3.6	12.5 ± 2.6
	2 × 10 ⁻⁴	95.4	98.1	50	13.0 ± 3.5	13.9 ± 3.6
	5 × 10 ⁻⁴	41.0	83.4	50	12.1 ± 3.8	12.9 ± 3.8
	10 ⁻³ #	57.6	54.5	50	11.6 ± 4.0	12.5 ± 3.5
陽性対照 (マイタisinC)	10 ⁻⁷	88.4	NA	50	37.6 ± 6.2 **	NA
陽性対照 (シクロホスファミド)	10 ⁻⁵	NA	93.0	50	NA	37.2 ± 7.3 **
	3 × 10 ⁻⁵	NA	87.8	50	NA	61.7 ± 10.0 **

: 検体の沈殿が認められた。

** : t-検定、p < 0.01

NA : 試験実施せず。

(6) ジェトフェンカルブのラット肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 9-6)

試験機関 : Hazleton Laboratories America, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1989 年

検体 : ジェトフェンカルブ原体

検体純度 :

供試動物 : Fischer 344 系雄ラット、12~14 週齢

試験方法 : ラットの初代培養肝細胞を用いて、Williams および Butterworth らの方法に従って不定期 DNA 合成を測定することにより、DNA 損傷性を検定した。

検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、細胞を ^3H -チミジン存在下、検体で 18.4 時間 (試験 1) あるいは 18.8 時間 (試験 2) 処理した。細胞を洗浄し、酢酸 : エタノール (1 : 3) で固定後、オートラジオグラム用標本作製した。各標本について少なくとも 50 個の細胞を観察し、各細胞について核内総粒子数から核に隣接する核と同じ面積の細胞質粒子数を差し引いて、正味の核内粒子数を求めた。試験は 3 連制とし、2 回行った。

各濃度で以下の基準を考慮し、かつ、連続した 2 濃度以上で用量依存性が認められる場合に陽性と判定した。

1. 正味の核内粒子数の平均値が陰性対照群より 5 個以上増加した場合。
2. 正味の核内粒子数 5 個以上の核の割合 (%) が陰性対照群より 10% 以上増加した場合。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示した。

試験 1 ではいずれの濃度においても、溶媒対照群と比較して、正味の核内粒子数の平

均値および正味の核内粒子数 5 個以上の核の割合 (%) のいずれにおいても陽性基準を上回る増加は認められなかった。

試験 2 では 12.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度においてのみ、正味の核内粒子数 5 個以上の核の割合 (18.7%) が陽性基準 (16.7%) をわずかに上回った。しかし、他の濃度では陽性基準を超える増加は認められず、用量相関性も認められなかった。また試験 1 においても陽性基準を超える増加は全く認められず、この増加は単発的なものと考えられた。従って、12.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で観察された増加は検体に起因したものではないと考えられ、検体は 2 回の試験において陰性であると判定された。

一方、陽性対照である 2-アセチルアミノフルオレンは、正味の核内粒子数の平均値および正味の核内粒子数 5 個以上の核の割合 (%) のいずれにおいても陽性基準を上回る明らかな増加が認められた。

以上の結果から、ジェットフェンカルブ原体は本試験条件下でラット初代培養肝細胞に不定期 DNA 合成を誘発せず、DNA 損傷性を有しないと判断された。

観察結果

	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	細胞 生存率 ^{a)} (%)	正味の核内 粒子数 ^{b)} (平均値 \pm SD)	正味の核内粒子 数 5 個以上の核 の割合 (%) ^{b)} (平均値 \pm SD)	細胞質 粒子数 ^{b)} (平均値 \pm SD)
試験 1	溶媒対照 (DMSO)	1%	100.0	-0.07 \pm 0.75	8.0 \pm 0.0	10.91 \pm 2.55
	ジエトフェン カルブ原体	0.507	103.6	-0.16 ^{c)} \pm 0.69	5.4 ^{c)} \pm 3.7	10.11 ^{c)} \pm 0.21
		1.01	98.7	-0.60 ^{c)} \pm 1.82	11.4 ^{c)} \pm 6.6	14.32 ^{c)} \pm 2.61
		2.53	95.4	-0.69 \pm 1.36	4.7 \pm 3.1	11.32 \pm 1.62
		5.07	80.4	-0.46 ^{c)} \pm 1.55	8.0 ^{c)} \pm 9.5	10.67 ^{c)} \pm 1.02
		10.1	66.9	-0.48 ^{c)} \pm 0.18	9.4 ^{c)} \pm 1.9	10.69 ^{c)} \pm 3.76
		25.3	64.5	0.95 \pm 1.36	17.3 \pm 5.0	8.55 \pm 2.48
	陽性対照 (2-AAF)	0.1	90.9	12.79 \pm 6.45	90.7 \pm 8.1	7.36 \pm 2.78
試験 2	溶媒対照 (DMSO)	1%	100.0	-0.43 \pm 1.51	6.7 \pm 5.8	9.72 \pm 1.01
	ジエトフェン カルブ原体	6.32	100.4	0.01 \pm 0.06	4.7 \pm 3.1	10.76 \pm 1.10
		12.6	102.3	1.12 \pm 1.27	18.7 \pm 12.9	11.49 \pm 0.82
		25.3	99.5	-0.77 \pm 0.27	4.7 \pm 3.1	9.19 \pm 1.99
		50.6	97.0	0.32 \pm 1.98	13.3 \pm 16.3	11.54 \pm 0.43
		101	78.8	-0.05 \pm 1.00	6.0 \pm 5.3	9.23 \pm 1.57
		202	67.7	1.01 \pm 1.37	12.7 \pm 7.0	8.85 \pm 0.95
	陽性対照 (2-AAF)	0.1	92.5	9.90 \pm 0.49	88.0 \pm 5.3	11.49 \pm 1.28

2-AAF : 2-アセチルアミノフルオレン

a) : 試験 1 は処理開始 21.3 時間後、試験 2 は処理開始 19.0 時間後の溶媒対照群に対する相対細胞生存率

b) : 3 標本 (正味の核内粒子数については合計 150 個の細胞) の平均値

c) : 1 標本観察不可能であったため、2 標本 (正味の核内粒子数については合計 150 個の細胞) における平均値

[申請者注] : 報告書の表 (22 頁、Table 1) では、正味の核内粒子数の平均値は 0.07 と記載されているが、本文中 (17 頁) では試験 1 の陽性基準として、溶媒対照の値+5.00 を 4.93 (-0.07 + 5.00) と記載されていることから表の誤記と判断し、-0.07 と記載した。

(7) ジェトフェンカルブ原体のマウスを用いた小核試験

(資料 9-7)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1987 年

検体：ジェトフェンカルブ原体

検体純度：

供試動物：ICR 系雄マウス、8 週齢、体重：33~40 g、1 群 6 匹

試験方法：経時変化試験および用量依存性試験を行った。

検体をコーンオイルに懸濁し、単回腹腔内投与した。投与液量は 20 mL/kg の割合で行った。

投与後、各動物から大腿骨の骨髓を採取して、スライドグラス上にメタノールで固定後、5%ギムザ溶液で染色して骨髓標本を作製した。

各個体あたり 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞の出現頻度を調べた。また、骨髓に対する毒性を調べるため、各個体あたり 1000 個の全赤血球（多染性赤血球および正染性赤血球）を観察し、多染性赤血球の割合を求めた。

(経時変化試験)

検体の投与量は 5000 mg/kg とし、投与 24、48 および 72 時間後の骨髓標本を作製した。

陽性対照にはシクロホスファミドの食塩水溶液 (80 mg/kg)、溶媒対照にはコーンオイルを同様に投与し、投与 24 時間後の骨髓標本を作製した。

(用量依存性試験)

検体の投与量は 1250、2500 および 5000 mg/kg とし、投与 48 時間後の骨髓標本を作製した。

陽性対照には 9, 10-ジメチル-1, 2-ベンズアントラセンのコーンオイル溶液 (50 mg/kg)、溶媒対照にはコーンオイルを同様に投与し、投与 48 時間後の骨髓標本を作製した。

投与量設定根拠：

試験結果：結果を次表に示した。

用量依存性試験では、検体は骨髓細胞に対して用量依存的に毒性作用を示したが、いずれの検体処理濃度においても溶媒対照と比較して小核を有する多染性赤血球の

有意な増加は認められなかった。最高投与量である 5000 mg/kg の 48 時間処理群の小核出現頻度が、対応する溶媒対照群と比較して統計学的に有意に減少した。しかし、この減少は偶発的な要因によるものであり、毒性学的に意義あるものとは考えられなかった。

なお、シクロホスファミドおよび 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセンを投与した陽性対照は、多染性赤血球に小核を顕著に誘発した。

以上の結果から、ジエトフェンカルブ原体は本試験条件下において、マウス骨髄細胞に対して小核を誘発しないと判断された。

試験	薬物	投与量 (mg/kg)	採取時間 (hr)	観察 動物数	観察 細胞数	PCE ^{a)} / (PCE ^{a)} + NCE ^{b)} % (平均値±SD)	(MN-PCE ^{c)} / PCE ^{b)} % (平均値±SD)
経時変化 試験	溶媒対照 (コーンオイル)	20 mL/kg	24	6	6000	52.8 ± 2.3	0.10±0.13
	ジエトフェンカルブ 原体	5000	24	6	6000	51.4 ± 9.9	0.15±0.10
		5000	48	6	6000	30.2 ± 2.8**	0.08±0.08
		5000	72	6	5000	41.0 ± 10.6*	0.13±0.15
	陽性対照 (シクロスファミド ^{d)})	80	24	6	6000	41.2 ± 7.0**	5.52± 1.82**
用量依存性 試験	溶媒対照 (コーンオイル)	20 mL/kg	48	6	6000	56.8 ± 4.9	0.18 ± 0.13
	ジエトフェンカルブ 原体	1250	48	6	6000	48.9 ± 4.1*	0.13 ± 0.12
		2500	48	6	6000	44.6 ± 4.3**	0.07 ± 0.05
		5000	48	6	6000	32.0 ± 10.1**	0.05 ± 0.05*
	陽性対照 (DMBA) ^{d)}	50	48	6	6000	32.4 ± 6.3**	1.87 ± 0.43**

全赤血球に対する多染性赤血球の割合についてはt検定、小核を有する赤血球の出現頻度についてはKastenbaum-Bowmanの方法を用いて溶媒対照群との有意差検定を行った (* : p < 0.05, ** : p < 0.01)。

a) PCE : 多染性赤血球

b) NCE : 正染性赤血球

c) MN-PCE : 小核を有する多染性赤血球

d) DMBA : 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン