

1-8 慢性毒性及び発がん性

1-8-1 イヌを用いた 52 週間の飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 14)

試験機関：インバリス・リサーチ・インターナショナル(英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時約 5~6 週齢、体重範囲：雄 9.2~10.3kg、雌 7.3~8.6kg、投与 52 週後に生存動物を屠殺した。

試験期間：52 週間(1987 年 11 月 11 日~1988 年 11 月 11 日)

投与方法：検体を 0、150、450 及び 1350ppm の濃度で直接飼料に混入し、52 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。

一般状態については、150 及び 1350ppm 群の雄各 1 例で試験の後期に痙攣発作が、又、対照群を含め糞の硬度の変化および嘔吐等が認められたが、いずれも自然発生的なもので検体投与との関連性はないと考えられた。

死亡は認められなかった。

体重変化：投与開始 2 週間前から投与期間の終了時まで週 1 回測定した。

体重は全群を通して数例で一次の変動がみられたが、投与に関連のある変動はなかったと考えられる。

体重増加は 150ppm 群雌で対照群と比べて有意に高かったが、他の群では体重増加の軽度な抑制が認められた。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		0	150	450	1350	0	150	450	1350
体重 (kg)	52 週時	13.0	12.1	11.7	12.1	10.8	12	10.4	10.6
	%	100	93	90	93	100	111	96	98
体重増加 (kg)	0-52 週	3.1	2.2	2.1	2.5	2.9	4.1	2.5	2.6
	%	100	71	68	81	100	141↑	86	90

Student の t 検定：↑；P<0.05

摂餌量：投与開始 2 週間前から投与期間の終了時まで毎日測定した。

検体投与に関連のある影響は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量、体重及び設定濃度から算出した 1 日当りの群別平均値は、以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		150	450	1350
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	4.9	14.7	44.6
	雌	5.0	15.7	47.0

血液学的検査；投与開始前と投与開始後 13、26 及び 51 週時に全群の動物を対象として、一夜絶食後、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

ヘモグロビン量、総赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、網状赤血球数、総白血球数、白血球百分比、血小板数、プロトロンビン時間

次表に対照群と比べて統計学的有意差の見られた項目を示す。

投与群 (ppm)	150			450			1350					
	試験前	13	26	51	試験前	13	26	51	試験前	13	26	51
雄												
ヘマトクリット値	109↑								110↑			
平均赤血球血色素濃度			103↑				103↑				102↑	
網状赤血球数												
単球比												
好酸球比											25↓	
雌												
網状赤血球数						163↑						
単球比						233↑						

統計学的方法：Student の t 検定、↑：P<0.05、↑↓：P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率%を表す。

上表のように各検査項目に変動がみられたが、検体投与に起因する変動は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査に使用した血液と同じ血液の血漿を用いて、以下の項目について検査した。

尿素窒素、糖、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、コレステロール、クレアチニン、無機リン、総ビリルビン。

次表に対照群と比べて統計学的に有意差の見られた項目を示す。

1350ppm 群雌雄で試験期間をとおしてアルカリホスファターゼの有意な増加が認められた。これ以外に次表のように種々の変動がみられたが、検体投与に起因する変動は認められなかった。

投与群 (ppm)	150			450			1350					
検査時期 (週)	試験前	13	26	51	試験前	13	26	51	試験前	13	26	51
雄												
アルカリホスファターゼ ^a										168↑	245↑	244 ^c
塩素	98↓											
AST	141↑											
ALT						72↓						
雌												
アルカリホスファターゼ ^a										199 ^c	231↑	330 ^c
塩素		98↓										
総蛋白		105↑				107↑						
A/G 比						87↓		85↓		87↓		69↑

統計学的方法：Student の t 検定、↑ ↓：P<0.05、↑↓：P<0.01、^c：P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率%を表す。

眼科学的検査：投与開始前と投与開始後 26 及び 51 週時に全群の動物を対象として、前眼房、水晶体及び眼底を検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

尿検査：投与開始前、投与 13、26 及び 51 週時に、全動物を対象として、代謝ケージに個別に収容し 21 時間絶食及び絶水下で、収容 3 時間後から 17 時間にわたって採尿し、以下の項目について検査を行った。

尿量、pH、比重、蛋白、糖、ケトン体、血色素、ビリルビン、ウロビリノーゲン、沈渣(上皮細胞、結晶、白血球、赤血球、微生物、円柱、異常な物質)。

検体投与に関連する変化は認められなかった。

糞便検査：採尿時に糞を採取し、潜血の有無を検査した。

全ての動物で陰性であった。

臓器重量：試験終了時に全動物を対象として、以下の臓器重量を測定した。

副腎、卵巣、甲状腺(上皮小体を含む)、下垂体、脳、心臓、肝臓、膀胱、腎臓、肺、脾臓、膵臓、前立腺、子宮、胸腺、精巣(精巣上体)

対照群と比べて統計学に有意差のみられた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		150	450	1350	150	450	1350
肝臓	絶対重量			117↑			
	調整重量 ^a			118↑			147↑
前立腺	絶対重量			52↓	-	-	-
	調整重量 ^a	122	84	59	-	-	-
精巣	絶対重量	101	110	119	-	-	-
	調整重量 ^a		124↑	129↑	-	-	-

統計学的方法：Student の t 検定、↑ ↓：P<0.05 矢印のない数値は有意差なし。

^a 最終体重で調整後に共分散分析

表中の数値は対照群に対する変動率%

1350ppm 群において、肝臓の重量は雄で絶対重量及び調整重量とも有意に高く、雌では調整重量のみ有意に高かった。前立腺の絶対重量は有意に低かったが、調整重量は有意ではなかった。

精巣重量は 1350 及び 450ppm 群ともに調整重量のみ有意に高かった。この有意な高値は軽度な体重の抑制がみられたことの反映と考えられ、又病理組織学的に特記すべき異常も認められていないことから検体に起因する影響とは申請者は判断しなかった。

肉眼的病理検査：供試全動物を対象として検査を行った。

検体投与に起因する肉眼的病変は認められなかった。

病理組織学的検査：供試全動物を対象として、以下の組織の病理組織学的検査標本を作製して検鏡した。

副腎、甲状腺(上皮小体を含む)、下垂体、胸腺、脳、心臓、肝臓(胆嚢)、腎臓、肺、気管、脾臓、膵臓、舌、胃(体部及び幽門部)、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、盲腸、膀胱、精巣(精巣上体)又は卵巢、前立腺、子宮、脊髓(頸部及び腰部)、坐骨神経、筋肉(大腿部)、大動脈弓、リンパ節(顎下及び腸管膜)、唾液腺、皮膚及び乳腺、胸骨

主要な病理組織学的変化の発現頻度を次表に示す。

主要な病理組織学的検査所見

性別		雄				雌					
投与群 (ppm)		0	150	450	1350	0	150	450	1350		
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4		
腎臓 (H&E 染色)											
(腎臓 1) 乳頭上皮過形成		1	2	2	2	0	1	2	2		
(腎臓 2) 乳頭上皮過形成		0	2	1	1	0	1	3	2		
腎臓 (ORO 染色)											
尿管脂肪滴増加		軽微	1	2	0	3	0	0	0		
		軽度	3	1	4	1	4	4	3	4	
		中程度	0	0	0	0	0	0	1	0	
肝臓 (ORO 染色)		肝細胞脂肪滴増加	軽微	4	4	4	1	3	4	2	2
		軽度	0	0	0	3	1	0	2	2	
肺		細気管支慢性炎症	2	0	1	2	1	0	0	0	
		帯状線維症	2	1	0	2	3	1	0	2	
		慢性肺炎	0	1	0	1	1	1	2	0	
乳腺		乳汁分泌	0	0	0	0	2	2	3	0	
		腺房過形成	0	0	0	0	2	1	2	1	
食道		粘膜下織慢性炎症	0	1	0	0	0	0	2	1	
卵巣		(卵巣 1) 二次卵胞	—	—	—	—	1	2	0	1	
		黄体	—	—	—	—	3	1	4	3	
		三次卵胞	—	—	—	—	0	1	0	0	
		(卵巣 2) 二次卵胞	—	—	—	—	1	2	1	1	
		黄体	—	—	—	—	3	1	3	3	
		三次卵胞	—	—	—	—	0	1	0	0	
下垂体		頭蓋咽頭嚢胞	1	0	1	2	3	1	0	1	
脾臓		屠殺による充血	4	4	4	4	4	4	4	3	
胸骨		髓質脂肪化	4	4	4	4	4	4	4	4	
子宮		子宮内膜絨毛化	—	—	—	—	4	3	4	4	
		コイル状子宮腺	—	—	—	—	3	4	4	3	
前立腺		間質線維化	4	4	4	4	—	—	—	—	
		腺房肥大	4	4	4	4	—	—	—	—	

注) 申請者が行った Fischer の直接確率法において、 $P < 0.05$ で有意差は認められなかった。

検体投与に関連すると考えられた病変は、1350ppm 群の雄 4 匹中 3 匹で認められた肝脂肪滴の軽度の増加であった。この所見は雌でも認められたが、投与との関連性は雄におけるほど明確なものではなかった。

前立腺については亜急性毒性試験(資料 10)の結果も踏まえて特に注意して検査したが、投与に関連のある一定の変化は認められなかった。

その他の全ての所見は、通常の病理学的背景所見の典型的なものであった。

以上の結果から、本剤の 52 週間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、1350ppm で雌雄におけるアルカリホスファターゼの有意な増加、肝重量の有意な増加及び雄における肝脂肪滴の軽度の増加が認められた。また、前立腺の絶対重量の有意な減少が認められた。450ppm では特記すべき所見が認められないことから、最大無作用量は 450ppm(雄: 14.7mg/kg/day、雌: 15.7mg/kg/day)と判断する。

1-8-2 ラットを用いた 104 週間の飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 15)

試験機関：インバレスク・リサーチ・インターナショナル(英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

ラットを用いた 104 週の慢性毒性試験(資料 15)及び発がん性試験(資料 16)は、同時に並行して実施された。

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley CD(SD)Cr1：CD(SD)BR ラット、1 群雌雄各 20 匹、開始時約 6 週齢、投与 104 週後に生存動物を屠殺した。

試験期間：104 週間(1986 年 9 月 23 日～1988 年 9 月 27 日)

投与方法：検体を 0、200、750 及び 2000ppm の濃度で直接飼料に混入し、104 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

一般状態については、検体投与との関連性は認められず、また、一般状態の発現頻度及び程度に群間の差は認められなかった。

試験終了時の死亡動物数を次に示す。

投与量 (ppm)		0	200	750	2000
死亡動物数 /検査動物数	雄	11/20	7/20	6/20↓	5/20
	雌	10/20	9/20	6/20	10/20

統計学的方法：生存期間について補正した Wilcoxon の検定、↓：P<0.05

検体投与群雄の死亡率は対照群と比べて低い傾向を示し、750ppm 群雄の生存期間は有意に長かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。D:\a11\h300\p1

体重変化；投与開始前 1 週間から投与 13 週間までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回全ての生存動物の体重を測定した。

投与量 (ppm)		0	200	750	2000
0-104 週の 体重増加量 (g)	雄	511 (100)	439 (86)	452 (88)	344 (67)
	雌	272 (100)	342 (126)	266 (98)	226 (83)

体重データは Student の t 検定により、2 群間の比較を行った。

()内は対照群の値を 100 とした比率%

雄では、2000ppm 群の体重は、試験開始後 4 週間は有意 ($P < 0.05$) な体重増加がみられたが、その後 12 週頃から対照群より低くなり、65~104 週時まで一貫して有意 ($P < 0.01$) な減少がみられた。総体重増加は対照群に比し顕著に抑制 (33%) された。750 及び 200ppm 群の体重は最後の 4 週間を除き、対照群に比し一貫して僅かに高く経過し、散発的に有意な増加がみられたが、総体重増加は軽度な抑制がみられた。これは投与期間の最後の 4 週間における体重の低下によるものであったことから、投与による影響ではないと考えられた。

雌では、750 及び 2000ppm 群の体重は、試験開始当初から一貫して低く、2000ppm 群ではほとんどの測定時点で有意 ($P < 0.01$) な低下がみられ、総体重増加は 17%抑制された。750ppm 群では多くの測定時点で有意 ($P < 0.05$) な低下がみられたが、総体重増加に対照群との差はみられなかった。

200ppm 群の体重は試験開始後 11 週間は有意 ($P < 0.05$) な低下がみられ、前半では対照群に比し僅かに低く、後半では高く経過した。総体重増加の増加 (26%) がみられたが、投与期間の後期の変動に起因していることから、偶発的なものであると考えられた。

摂餌量；投与開始前 1 週間から投与 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回測定した。

雌雄とも群間に差はみられず、投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量、体重及び設定濃度から算出した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)		200	750	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	9.4	36.3	99.9
	雌	11.9	57.7	157.7

* 申請者が計算した。

飲水量；投与期間を通して目視により検査した。

雌雄とも群間に明らかな差はみられなかった。

眼科学的検査；試験前、51 及び 102 週時に、最初に各群から無作為に選択した雌雄各 10 匹を対象として行った。

次表に眼科学的所見の発生頻度を示した。眼科学的所見の発現頻度は、全群で試験期間を通して高かったが、眼窩からの採血中に惹起された損傷に関連したものであると考えられた。

	性別 投与群 (ppm)	雄				雌			
		0	200	750	2000	0	200	750	2000
右眼	変性		2/0	1/0	1/2	1/0			
	角膜 軽度角質化			1/0					
	瞳孔 欠如		1/0						
	水晶体 混濁		0/1	0/1	2/2				0/1
	水晶体 混濁点			0/1					
	角膜 瘢痕			0/1					
	損傷/充満			0/1					
左眼	変性						1/1		
	角膜 角質化		0/1			0/1		1/0	
	角膜 瘢痕	0/1					1/0		2/1
	損傷								1/0
	水晶体 白内障		0/1						
	水晶体 混濁点	0/2							0/1
	水晶体 くもり								0/1
	水晶体 translucent				0/1				
血管新生/角膜混濁/血涙							0/1		
両眼	水晶体 白内障		0/1			1/0			
	水晶体 混濁点				0/1				
	管 角質化		0/1						
	角膜 瘢痕		0/1						
	損傷								0/1

表中の数値 (**/**) : 分子は試験 51 週時、分母は試験 102 週時の異常発生動物数

血液学的検査；投与開始後 11、25/26、51/52、77/78 及び 102/103 週時に全群の生存動物を対象としてエーテル軽麻酔下で眼窩洞から採血し、以下の項目について検査した。

ヘモグロビン量、総赤血球数、ヘマトクリット値、総白血球数、白血球百分率、血小板数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)

また、25/26、51/52、77/78 及び 102/103 週時 (雄/雌) に全群の生存動物を対象として、尾切断により血液試料を採取してヘパトクイックテストを行なった。

次表に対照群と比べて統計学的に有意差の見られた項目を示す。

血液学的検査結果

(雄)

投与量	200ppm					750ppm					2000ppm				
	11	25	51	77	102	11	25	51	77	102	11	25	51	77	102
ヘモグロビン量								95↓				97↓	97↓		
赤血球数			98↓					95↓			96↓	96↓	95↓	93↓	
ヘマトクリット値								96↓							
MCV				106↓								102↑			
MCHC	99↓														
好酸球							33↓					33↓			

(雌)

投与量	200ppm					750ppm					2000ppm				
	11	26	52	78	103	11	26	52	78	103	11	26	52	78	103
ヘモグロビン量											96↓	92↓	92↓	85↓	
赤血球数											94↓	92↓	90↓	83↓	
ヘマトクリット値											97↓	95↓	93↓	86↓	
MCH													103↑		
MCV											103↑	104↑			
白血球数											139↓				
リンパ球											119↓				
好酸球*	(0.11)														

統計学的手法：Student の t 検定、↓：P<0.05、↑↓：P<0.01、↑↑↓：P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率%

MCV：平均赤血球容積、MCHC：平均赤血球色素濃度

* 対照値が 0 であったため、対照群に対する変動率は計算できなかった。() 内の数値は検査値である。

2000ppm 群の雌雄で 102/103 週を除き、ヘモグロビン量、総赤血球数、ヘマトクリット値の有意な軽度減少が継続的にみられ、又平均赤血球容積、平均赤血球色素量の有意な軽度増加が散見され、軽度の貧血を示唆していた。特に、雌における胸骨骨髓の細胞密度の増加は貧血に関連する補償作用であると考えられる。

750ppm 以下の群では上表のように有意な減少が一過性に散見されたが、投与に関連はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。D:\test\honori\pph

血液生化学的検査；無作為に選択した各群雌雄 10 匹ずつの動物の眼窩洞からエーテル軽麻酔下で試験前に採血した。投与 25/26、51/52 及び 77/78 週時に同様にして同じ動物から採血したが、それらの動物が死亡した場合には各時点で各群の他の動物を補充して採血した。102/103 週時には、各群の全ての生存動物から採血を行なった。次の項目について血漿を用いて測定した。

尿素窒素、糖、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素、総蛋白、アルブミン、A/G 比、アルカリホスファターゼ、無機リン、クレアチニン、総ビリルビン。

対照群と比べて統計学的に有意差の見られた項目を次表に示す。

雄において、次表に示したように種々の検査項目に一過性的変化がみられたが、投与に起因する一貫性のある変化はみられなかった。

血液生化学的検査結果（雄）

投与量	200ppm					750ppm					2000ppm				
	試験前	25	51	77	102	試験前	25	51	77	102	試験前	25	51	77	102
アラニンアミノトランスフェラーゼ														54↓	
アルカリホスファターゼ		143↑													
ナトリウム										95↓					
カリウム				110↑											
カルシウム					108↓										
総蛋白	105↑														
アルブミン									95↑					95↓	
A/G 比									82↓					82↓	
総ビリルビン	191↑	164↑				164↑					186↑	159↑			

統計学的手法：Student の t 検定、↑ ↓：P<0.05、↑↓：P<0.01、↑↓：P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率%

雌において、2000ppm 群で 52 週時以降にアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼの減少、又、103 週時にアルカリホスファターゼの減少がみられたが、低値であることからその毒性学的意義は明確ではない。これ以外に、表に示したように種々の検査項目に一過性的変化がみられたが、投与に起因する一貫性のある変化はみられなかった。

血液生化学的検査結果（雌）

投与量	200ppm					750ppm					2000ppm				
	試験前	26	52	78	103	試験前	26	52	78	103	試験前	26	52	78	103
尿素窒素									79↓						
糖												84↓			
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ									50↓			70↓	46↓	60↓	
アラニンアミノトランスフェラーゼ								80↓	68↓					74↓	46↓
アルカリホスファターゼ															63↓
ナトリウム												99↓	102↑		
カリウム		114↑			117↑		114↑					111↑			
塩素												98↓	96↓	97↓	
総蛋白												107↑			
アルブミン												106↑			
無機リン															83↓
総ビリルビン												61↓			

統計学的手法：Student の t 検定、↑ ↓：P<0.05、↑↓：P<0.01、↑↓↓：P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率%

尿検査：投与前に無作為に選択した各群雌雄各 10 匹の動物について、投与 10/11、25、51、77 及び 102 週時に 4 時間尿を採取して、尿量、pH、比重、蛋白、糖、血色素、ビリルビン、ウロビリノーゲン、ケトン体、沈渣について検査を行った。

投与期間を通して、投与に起因する一貫性のある変化は認められなかった。

臓器重量：試験終了時の全生存動物を対象として、副腎、脳、肝臓、肺、心臓、腎臓、卵巢、下垂体、脾臓、精巣及び胸腺の重量を測定した。

対照群と比較して有意差が認められた項目を次表に示す。

雄で、表のように 2000ppm 群の心臓及び腎臓の絶対重量の減少が認められたが、最終体重で調整した場合には有意な変化が認められなかったことから、これらの臓器重量の減少はこの群で見られた低体重に関連があると考えられる。

雌では、2000ppm 群の腎臓の調整重量に増加が認められた。また、200ppm 群で調整脳重量の軽度の増加が認められたが、その変化の程度は小さく、高用量群では認められなかったことから、偶発的なものと考えられた。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		200	750	2000	200	750	2000
脳	絶対重量 ^a						
	調整重量 ^b				104↑		
心臓	絶対重量 ^a			87↓			
	調整重量 ^b						
腎臓	絶対重量 ^a			87↓			
	調整重量 ^b						118↑

統計学的手法：^a Student の t 検定、^b 最終体重で調整後に共分散分析

↑ ↓ : P<0.05、↑ ↓ : P<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率%

肉眼的病理検査：全ての途中死亡動物及び試験終了時の屠殺動物を対象として検査を行った。

途中死亡動物については、2000ppm 群の雄で肝の退色と小葉像明瞭の発現頻度の減少が認められたほかは、投与に関連した変化は認められなかった。

性別			雄				雌			
投与群 (ppm)			0	200	750	2000	0	200	750	2000
途中死亡	肝臓	退色	7/11	1/7	1/6	0/5	1/10	0/9	0/6	1/10
		小葉像明瞭	4/11	2/7	3/6	0/5	1/10			
	血管	拡張				2/5				1/10
最終屠殺	肝臓	退色			2/14					
		小葉像明瞭	3/9	1/13	3/14	1/15	4/10	1/11	1/14	2/10
	血管	拡張	1/9		2/14	5/15			1/14	2/10
合計	肝臓	退色	7/20	1/20	3/20	0/20	1/20			1/20
		小葉像明瞭	7/20	3/20	6/20	1/20	5/20	1/20	1/20	2/20
	血管	拡張	1/20		2/20	7/20			1/20	3/20

試験終了時の屠殺動物については、2000ppm 群の雄で腸間膜血管の拡張の発現頻度の増加と肝の退色及び小葉像明瞭の発現頻度の減少が認められたほかは、投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：対照群及び高用量群の全ての動物ならびに途中死亡動物を対象として、以下の組織の病理標本を作製し、検鏡した。また、低用量群及び中間用量群の雌雄の脾臓、雌の胸骨、雄の精巣、及び剖検で四肢に腫脹/潰瘍のみられた全動物の四肢についても検査を行った。

副腎、大動脈弓、膀胱、骨(胸骨及び肋骨)、脳、盲腸、眼、心臓、卵巣(輸卵管を含む)、脾臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、精のう、皮膚、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、脾臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸及び直腸)、腎臓、肝臓、肺、乳腺、腸管膜リンパ節、筋肉(大腿部)、食道、胃(腺部及び非腺部)、顎下唾液腺、顎下リンパ節、精巣、胸腺、甲状腺/上皮小体、舌、気管、子宮、膣及び肉眼的病変部

非腫瘍性病変：認められた主要な非腫瘍性病変を別表 1 に示す。

肝臓において、有意差のみられた所見は 2000ppm 群雌における小葉周辺性肝細胞の黄褐色色素沈着及び軽度肥大のみであった。この色素はリポフスチンの外観を有しており、細胞成分の代謝回転の軽度増加を表わしていると考えられた。又、くもり硝子様変異細胞巣が、2000ppm 群雌雄で多く発生していた。これらは退色した顆粒状の好酸性細胞質を含みグリコーゲンに差がみられた。これらの所見に有意差はなかったが、調整肝重量の増加(雌で対照群の 127%)もみられ、ある種の適応反応であると考えられた。750ppm 以下の群では雌雄ともに有意な所見はみられなかった。

腸間膜において、腹部動脈炎(特に脾臓)が有意に高かった。この所見はこの系統の雄ラットで一般的に見られる年齢及びストレスに関連した原因不明の病変と考えられる。

胸骨骨髓において、2000ppm 群雌の骨髓細胞密度は有意に高い方向に移動しており、軽度の貧血に対する代償性反応と考えられた。

その他に対照群に比し有意な増加を示した所見(途中死亡例における副腎髓質過形成、最終屠殺動物における卵巣の両側性セルトリ様細胞管状過形成)が 2000ppm 群雌でのみ認められたが、供試動物全例では有意差がなかった。又、750ppm 群で限局性肺炎(雌)、精細管萎縮(雄)が供試動物全例で有意に多かったが、2000ppm 群では対照群との差がなかった。これらの所見はいずれも偶発性の変化と考えられた。

腫瘍性病変：腫瘍性病変の発現頻度を別表 2 に示す。

腫瘍性病変については、2000ppm 群雄の精巣間細胞腫が高い傾向にあったが、統計学的に有意水準 0.05 で有意ではなかった。従って、この通常よくみられる腫瘍は検体の投与に関連はないと考えられる。

その他の腫瘍性病変は、この年齢及び系統のラットに一般的に認められる腫瘍性病

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF 770 株式会社にある。 (11/2018)

変と一致したものであった。

以上の結果から、本剤を 104 週間ラットに混餌投与した慢性毒性試験における影響として、2000ppm で雌雄における体重増加の抑制及び軽度の貧血(赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少)、雄における血管の拡張及び動脈炎の発現頻度の増加、雌における骨髄細胞密度の増加並びに肝の色素沈着及び肥大が、750ppm で雌における体重増加の抑制が認められたので、最大無作用量は雄 750ppm(36.3mg/kg/日)及び雌 200ppm(11.9mg/kg/日)と判断された。

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
途中死亡・切迫殺例	副腎	検査動物数	11	7	6	5	9	9	5	10
		髓質過形成	3	2	2	1	0	1	1	5†
	肝臓	検査動物数	11	7	6	5	9	9	6	10
		小葉周辺性肝細胞色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	6♣
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	2
		くもり硝子様変異細胞巣	1	1	0	3	0	2	2	4
		好塩基性変異細胞巣	1	1	3	3	2	5	4	6
		小葉中心性肝細胞脂肪変性	1	2	2	1	1	0	1	2
		検査動物数	11	7	6	5	10	9	6	10
	肺	限局性肺炎	2	1	0	0	1	3	1	1
		検査動物数	11	7	6	5	9	9	6	10
	胸骨	骨髄の細胞密度増加								
		グレード1	0	3	1	0	—	—	—	—
		グレード2	1	1	2	1	3	5	4	1
		グレード3	6	3	1	1	4	4	0	2
		グレード4	3	0	2	3	2	0	1	7
	精巣	検査動物数	10	7	6	5	—	—	—	—
		片側性精細管萎縮	0	1	4	1	—	—	—	—
		限局性間質細胞過形成	1	1	1	2	—	—	—	—
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	9	9	5	10
セルトリ様細胞管状過形成										
片側性		—	—	—	—	1	0	1	2	
	両側性	—	—	—	—	3	3	1	1	
腸間膜血管	検査動物数	11	7	6	5	10	9	6	10	
	動脈炎	0	0	0	3	0	0	0	2	

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、† : P<0.05、♣ : P<0.01、

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
最終解剖例	副腎	検査動物数	9	7	6	15	10	11	7	10
		髓質過形成	4	1	3	7	1	1	1	2
	肝臓	検査動物数	9	13	14	15	10	11	14	10
		小葉周辺性肝細胞色素沈着	0	0	0	0	0	0	3	10*
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	2	6*
		くもり硝子様変異細胞巣	6	6	10	11	1	2	4	2
		好塩基性変異細胞巣	7	3	8	10	7	9	10	4
		小葉中心性肝細胞脂肪変性	0	0	2	3	3	2	3	3
		検査動物数	9	13	14	15	10	11	14	10
	肺	検査動物数	9	13	14	15	10	11	14	10
		限局性肺炎	3	4	4	6	2	4	9	7
	胸骨	検査動物数	9	0	0	15	10	11	13	10
		骨髄の細胞密度増加								
		グレード 2	0	0	0	3	1	0	2	0
		グレード 3	7	0	0	8	6	9	9	4
		グレード 4	2	0	0	4	3	2	2	6
	精巣	検査動物数	9	13	14	15	—	—	—	—
		片側性精細管萎縮	2	4	6	4	—	—	—	—
		限局性間質細胞過形成	1	4	5	5	—	—	—	—
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	10	6	7	10
		セルトリ様細胞管状過形成								
		片側性	—	—	—	—	1	2	1	1
	両側性	—	—	—	—	0	0	2	7*	
腸間膜血管	検査動物数	9	13	14	15	10	11	14	10	
	動脈炎	1	0	2	5	0	0	1	1	

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、* : P<0.01、

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
全動物	副腎	検査動物数	20	14	12	20	19	16	12	20
		髓質過形成	7	4	5	8	1	2	2	7†
	脳	検査動物数	20	7	6	20	19	9	5	20
		水頭症	1	5‡	3†	2	2	2	0	2
		前方圧迫	2	4†	3	1	3	2	2	3
	肝臓	検査動物数	20	20	20	20	19	20	20	20
		小葉周辺性肝細胞色素沈着	0	0	0	0	0	0	3	16‡
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	2	8‡
		くもり硝子様変異細胞巣	7	7	10	14†	1	4	6	6
		好塩基性変異細胞巣	8	4	11	13	9	14	14	10
		小葉中心性肝細胞脂肪変性	1	2	4	4	4	2	4	5
	肺	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		限局性肺炎	5	5	4	6	3	7	10†	8
	胸骨	検査動物数	20	7	6	20	19	20	19	20
		骨髄の細胞密度増加								
		グレード 1	0	3	1	0	—	—	—	—
		グレード 2	1	1	2	4	4	5	6	1
		グレード 3	13	3	1	9	10	13	9	6
	グレード 4	5	0	2	7	5	2	3	13†	
	甲状腺	検査動物数	19	7	6	20	19	10	7	20
		C細胞過形成	1	2	0	4	6	1	0	0‡
	精巣	検査動物数	19	20	20	20	—	—	—	—
		片側性精細管萎縮	2	5	10‡	5	—	—	—	—
		限局性間質細胞過形成	2	5	6	7	—	—	—	—
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	19	15	12	20
		セルトリ様細胞管状過形成								
		片側性	—	—	—	—	2	2	2	3
		両側性	—	—	—	—	4	3	3	8
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	20	20	20	20
		子宮留水症	—	—	—	—	0	3†	1	0
腸間膜血管	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	
	動脈炎	1	0	2	8‡	0	0	1	3	

統計学的手法: Fischer の直接確率計算法、†: p<0.05 ‡: P<0.01、

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
途 中 死 亡 切 迫 殺 例	副腎	検査動物数	11	7	6	5	9	9	5	10
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		髓質褐色細胞腫 (B)	1	3	0	0	0	0	0	1
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	脳	検査動物数	11	7	6	5	9	9	5	10
		顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		乏突起膠腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	検査動物数	11	7	6	5	9	9	5	10
		血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	空腸	検査動物数	10	5	5	5	8	8	5	9
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	11	7	6	5	10	9	6	10
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	11	7	6	5	9	9	6	10
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜リンパ節	検査動物数	11	7	5	5	9	9	5	10
		血管肉腫 (M)	0	1	1	0	0	0	0	0
	膵臓	検査動物数	10	7	6	5	9	9	6	10
		島細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体	検査動物数	11	6	5	4	9	9	6	9
		前葉腺腫 (B)	4	5	4	4	8	5	6	3
前葉腺癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000
途 中 死 亡 切 迫 殺 例	皮膚・乳腺 検査動物数	11	7	6	5	9	9	6	10
	乳腺：								
	線維腫(B)	0	0	0	0	3	1	1	3
	腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	1	2
	皮下織：								
	線維腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	0
	脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫(M)	1	0	0	0	1	1	0	0
	皮膚：								
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣・精巣上体 検査動物数	10	7	6	5	—	—	—	—
	間細胞腫(B)	1	1	1	1	—	—	—	—
	甲状腺 検査動物数	10	7	6	5	9	9	5	10
	C細胞腺腫(B)	1	1	1	0	0	1	0	0
	C細胞腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	ろ胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱 検査動物数	11	6	5	5	8	9	4	10
	移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0
	子宮 検査動物数	—	—	—	—	9	9	5	10
血管腫(B)	—	—	—	—	0	0	0	0	
内膜ポリープ(B)	—	—	—	—	1	0	0	0	
内膜肉腫(M)	—	—	—	—	0	0	1	0	
腹腔 検査動物数	11	7	6	5	—	—	—	—	
悪性神経鞘腫(M)	0	0	1	0	—	—	—	—	
全身性 検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	
腫瘍 組織球肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
骨髄性白血病(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	

註 (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別	雄				雌					
	0	200	750	2000	0	200	750	2000		
投与群 (ppm)										
最終解剖例	副腎	検査動物数	9	7	6	15	10	7	7	10
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	1
		髓質褐色細胞腫 (B)	3	2	2	1	0	0	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳	検査動物数	9	0	0	15	10	0	0	10
		顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		乏突起膠腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	検査動物数	9	5	0	15	10	2	0	10
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	空腸	検査動物数	9	0	0	15	10	0	0	10
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	9	13	14	15	10	11	14	10
		管状腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		管状腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	9	13	14	15	10	11	14	10
		肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	検査動物数	9	0	0	15	10	0	0	10
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	膵臓	検査動物数	9	13	14	15	10	11	13	10
		島細胞腺腫 (B)	0	2	0	1	0	0	2	0
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	下垂体	検査動物数	9	9	7	15	10	7	12	10
前葉腺腫 (B)		4	9	7	8	7	5	7	7	
前葉腺癌 (M)		0	0	0	0	0	0	1	1	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000
最終解剖例	皮膚・乳腺 検査動物数	9	5	4	15	10	9	3	10
	乳腺：								
	線維腫(B)	0	0	0	0	3	7	3	3
	腺癌(M)	0	0	0	0	1	1	0	2
	皮下織：								
	線維腫(B)	1	2	2	1	0	0	0	0
	脂肪腫(B)	0	0	1	1	0	1	0	0
	線維肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	1
	皮膚：								
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	2	0	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫(B)	0	1	1	1	0	0	0	0
	精巣・精巣上体 検査動物数	9	13	14	15	—	—	—	—
	間細胞腫(B)	1	4	3	5	—	—	—	—
	胸腺 検査動物数	8	0	1	14	8	0	0	10
	胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺 検査動物数	9	0	0	15	10	1	2	10
	C細胞腺腫(B)	0	0	0	4	0	0	0	1
	C細胞腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	ろ胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱 検査動物数	9	0	1	15	10	0	0	10
移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
子宮 検査動物数	—	—	—	—	10	2	2	10	
血管腫(B)	—	—	—	—	0	0	0	1	
内臓ポリープ(B)	—	—	—	—	1	0	2	0	
内臓肉腫(M)	—	—	—	—	0	0	0	0	

註 (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
全 動 物	副腎	検査動物数	20	14	12	20	19	16	12	20
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	1
		髓質褐色細胞腫 (B)	4	5	2	1	0	0	0	1
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳	検査動物数	20	7	6	20	19	9	5	20
		顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		乏突起膠腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	検査動物数	20	12	6	20	20	11	5	20
		血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	空腸	検査動物数	19	5	5	20	18	8	5	19
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		管状腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		管状腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	20	20	20	20	19	20	20	20
		肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜リンパ節	検査動物数	20	7	5	20	19	9	5	20
		血管肉腫 (M)	0	1	1	1	0	0	0	0
	膵臓	検査動物数	19	20	20	20	19	20	19	20
		島細胞腺腫 (B)	0	2	0	1	1	1	2	0
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	下垂体	検査動物数	20	15	12	19	19	16	18	19
		前葉腺腫 (B)	8	14 ⁺	11 ⁺	12	15	10	13	10
前葉腺癌 (M)		0	0	0	0	0	0	1	2	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、⁺ : P<0.01、

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
全動物	皮膚・乳腺 検査動物数	20	12	10	20	19	18	9	20	
	乳腺：									
		線維腫(B)	0	0	0	0	6	8	4	6
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	2	1	4
	皮下織：	線維腫(B)	2	2	3	1	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	0	0	1	1	0	1	0	0
		線維肉腫(M)	2	0	0	0	1	1	0	1
	皮膚：	扁平上皮乳頭腫(B)	0	2	0	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	1	1	1	1	0	0	0	0
		精巣・精巣上体 検査動物数	19	20	20	20	—	—	—	—
		間細胞腫(B)	2	5	4	6	—	—	—	—
		胸腺 検査動物数	18	5	7	19	18	9	5	19
		胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		甲状腺 検査動物数	19	7	6	20	19	10	7	20
		C細胞腺腫(B)	1	1	1	4	0	1	0	1
		C細胞腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	1	0
		ろ胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		膀胱 検査動物数	20	6	6	20	18	9	4	20
		移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		子宮 検査動物数	—	—	—	—	19	11	7	20
		血管腫(B)	—	—	—	—	0	0	0	1
		内膜ポリープ(B)	—	—	—	—	2	0	2	0
		内膜肉腫(M)	—	—	—	—	0	0	1	0
		腹腔 検査動物数	20	20	20	20	—	—	—	—
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	1	0	—	—	—	—
		全身性腫瘍 検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
		組織球肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨髄性白血病(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
合計	検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20	
	腫瘍数	良性	19	32	23	30	26	22	21	23
		悪性	5	3	5	2	2	4	5	7
	腫瘍総数	24	35	28	32	28	26	26	30	
	担腫瘍動物数	良性	13	18	16	17	17	14	16	12
		悪性	7	3	3	2	2	4	6	6
担腫瘍動物総数	16	18	17	17	17	16	17	16		

註 (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

1-8-3 ラットを用いた 104 週間の飼料混入投与による発がん性試験 (資料 16)

試験機関：インバレスカ・リサーチ・インターナショナル(英国)
[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley CD(SD)Cr1：CD(SD)BR ラット、1 群雌雄各 50 匹、開始時約 6 週齢、
投与 104 週後に生存動物を屠殺した。

試験期間：104 週間(1986 年 9 月 23 日～1988 年 9 月 27 日)

投与方法：検体を 0、200、750 及び 2000ppm の濃度で飼料に直接混入し、104 週間にわたって
随時摂取させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

最初の 12 週間に高用量群の雌 5 匹で後肢の高度腫脹が認められた。その他の一般状態については、検体投与との関連性は認められなかった。

試験終了時までの死亡動物数を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		0	200	750	2000
死亡動物数/ 検査動物数	雄	28/50	20/50	16/50	23/50
	雌	20/50	19/50	20/50	24/50

統計学的方法：生存期間について補正した Wilcoxon の検定

死亡パターンは、全ての群で統計学的に有意差は認められなかった。

体重：投与開始前 1 週間から投与 13 週間までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回全ての生存動物の体重を測定した。

雄では、2000ppm 群で対照群と比較して体重増加の軽度な抑制(14%)が認められ、体重は投与期間の最初の 13 週間と後期で有意($P < 0.05$)に低値であった。他の投与群の体重増加は対照群と比べて若干高かった。

雌では、750ppm 及び 2000ppm 群で体重増加の抑制(それぞれ 23%及び 38%)が認められた。これらの投与群の体重は試験期間を通して統計学的に有意であった($P < 0.05$)。200ppm 群で体重増加の軽度抑制(9%)が認められたが、体重の推移は対照群とほとんど同じであり、又投与期間の最後の 8 週間においてのみ認められたこ

とから、検体投与に関連があるとは考えられなかった。

投与量 (ppm)		0	200	750	2000
0-104 週の 体重増加量 (g)	雄	488 (100)	524 (107)	521 (107)	418 (86)
	雌	358 (100)	327 (91)	274 (77)	221 (62)

体重データは Student の t 検定により、2 群間の比較を行った。

()内は対照群の値を 100 とした比率%

摂餌量；摂餌量は投与開始前 1 週から投与後 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回測定した。

雄では群間に差はなく、投与による影響は認められなかった。

雌では 2000ppm 群で軽度の低下(6%)が認められたが、他の投与群では対照群と比べて差は認められなかった。

投与量 (ppm)		0	200	750	2000
0-104 週の 総摂餌量 (g)	雄	18754 (100)	19009 (101)	19784 (105)	18931 (101)
	雌	14688 (100)	14211 (97)	14415 (98)	13738 (94)

()内は対照群の値を 100 とした比率%

検体摂取量；摂餌量、体重及び設定濃度から算出した投与期間中の検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		200	750	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	8.8	33.8	94.6
	雌	11.3	46.3	132.5

* 申請者が計算した。

飲水量；投与期間を通して目視により検査した。

雌雄ともに群間に差はみられず、投与による影響は認められなかった。

白血球百分比；投与 52/53、78/79 及び 103/104 週に全ての動物を対象として尾切断により血液塗抹標本を作製し、高用量及び対照群の動物についてのみ検査した。

全ての検査時期において、雌雄とも群間に明らかな差は認められなかった。

肉眼的病理検査；全ての途中死亡動物及び試験終了時の屠殺動物を対象として検査を行った。

途中死亡動物については、2000ppm 群の雌で後肢の腫脹の発現頻度が高かった。

試験終了時の屠殺動物では、2000ppm 群の雄で腰部リンパ節のう胞及び腸間膜血管の拡張の発現頻度が高かった。2000ppm 群の雌で卵巣のう胞、脾臓の腫瘍及び腸間膜リンパ節の腫大の発現頻度が高く、これは途中死亡動物においても見られた。

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
途中死亡	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24	
	肝臓	退色	5	5	3	3	0	3	4	1
		小葉像明瞭	7	6	2	3	4	1	4	1
		中葉のクリーム色の病巣	4	2	2	1	2		1	1
	血管	拡張				2				1
	後肢	腫脹(足)	3	5	1	6	1	1	1	10
		腫脹(肢)								4
		病変	6	4	2	1	1	2	1	3
	リンパ節	嚢胞	1			2			2	
		腫大(腸管膜)	1		1	1		1	2	3
	脾臓	腫瘤	1	1				1		3
	下垂体	腫大	16	13	7	12	15	12	14	10
	卵巢	嚢胞	-	-	-	-	3		1	5
	精巣	腫大			1	2	-	-	-	-
最終屠殺	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26	
	肝臓	退色	3	0	1	0	2	4	1	1
		小葉像明瞭	5	5	5	2	5	10	1	2
		中葉のクリーム色の病巣	8	9	6	6	8	4	5	
	血管	拡張	1		4	11		1	1	3
	後肢	腫脹(足)	8	10	11	13	3	3	5	5
		腫脹(肢)			1	1	1			
		病変	7	6	2	3	8	8	2	1
	リンパ節	嚢胞	1	4	4	7			2	
		腫大(腸管膜)	2			5				3
	脾臓	腫瘤						1	1	5
	下垂体	腫大	6	13	8	9	21	22	21	13
	卵巢	嚢胞	-	-	-	-	5	2	8	10
	精巣	腫大	2	4	6	4	-	-	-	-
合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	肝臓	退色	8	5	4	3	2	7	5	2
		小葉像明瞭	12	11	7	5	9	11	5	3
		中葉のクリーム色の病巣	12	11	8	7	10	4	6	1
	血管	拡張	1		4	13		1	1	4
	後肢	腫脹(足)	11	15	12	19	4	4	6	15
		腫脹(肢)			1	1	1			4
		病変	13	10	4	4	9	10	3	4
	リンパ節	嚢胞	2	4	4	9	6	6	2	8
		腫大(腸管膜)	3		1	6	0	1	2	6
	脾臓	腫瘤	1	3	1	5		2	1	8
	下垂体	腫大	22	26	15	21	36	34	35	23
	卵巢	嚢胞	-	-	-	-	8	2	9	15
	精巣	腫大	2	4	7	6	-	-	-	-

病理組織学的検査；対照群及び高用量群の全ての動物ならびに全ての途中死亡動物を対象として次の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、大動脈弓、膀胱、骨(胸骨及び肋骨)、脳、眼、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、肝臓、肺、乳腺、腸間膜リンパ節、筋肉(大腿部)、食道、卵巣(輸卵管を含む)、脾臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、精のう、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃(腺部及び非腺部)、顎下唾液腺、精巢(精巢上体を含む)、胸腺、甲状腺(上皮小体、存在する場合)、気管、子宮、膈及び肉眼的病変部。

また、低用量群及び中間用量群の雌雄の肝臓、腎臓、肺及び脾臓、雌の胸骨ならびに雄の精巢についても検査を行なった。

認められた主要な非腫瘍性病変及び腫瘍性病変の発現頻度を別表 1 及び 2 に示す。

非腫瘍性病変：2000ppm 群の雌雄で肝臓におけるくもり硝子様の病巣、雌で肝臓における小葉周辺性肝細胞の色素沈着及び軽度の肥大がみられ、これらは肝臓におけるある種の適応反応であると考えられた。さらに、雌では胸骨骨髓の細胞増生がみられ、造血細胞の回転の増大を反映していると考えられた。雄では腰部リンパ節の嚢胞、腸間膜の血管の拡張、動脈炎(特に脾臓)もみられ、脾臓における動脈炎はこの系統の雄ラットで一般的に見られる年齢及びストレスに関連したものであった。

腫瘍性病変：2000ppm 群の雄の精巢間細胞腫の発現頻度(対照群 10%、2000ppm 群 20%)が高い傾向にあったが、統計学的に有意水準 0.05 で有意ではなかった。従って、この通常よくみられる腫瘍の発現頻度は検体の投与に関連はないと考えられる。その他の腫瘍性病変は、この年齢及び系統のラットに一般的に認められるもので、投与に関連性のあるものはみられなかった。

以上の結果から、本剤の 104 週間飼料混入試験による発がん性試験における主な影響として、2000ppm の雌雄における体重増加の抑制及び肝のくもり硝子様病巣の出現頻度の増加、雄における腰部リンパ節の嚢胞、腸間膜血管の拡張及び動脈炎(特に脾臓)の出現頻度の増加、雌における肝臓小葉周辺性肝細胞の色素沈着、軽度の肥大及び胸骨骨髓の細胞増生の出現頻度の増加、さらに 750ppm の雌で統計学的に有意な体重増加抑制がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFファーマ株式会社にある。Dimethylmorph

したがって、本試験における最大無作用量は雄 750ppm(33.8mg/kg/日)及び雌 200ppm(11.3mg/kg/日)であると判断される。

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数)

性別	雄				雌					
	0	200	750	2000	0	200	750	2000		
投与群 (ppm)										
途 中 死 例	副腎	検査動物数	28	19	16	23	20	18	20	24
		被膜下紡錘系細胞巢	5	6	5	6	6	5	7	6
		皮質限局性のう胞変性	3	2	1	5	7	7	8	10
		髓質過形成	6	3	1	5	1	0	3	1
		皮質肥大細胞巢	4	2	2	1	6	6	5	4
		限局性類洞拡張	0	0	0	0	5	0	4	5
	心臓	検査動物数	28	19	16	23	20	19	20	24
		慢性心筋炎	10	10	5	9	2	3	2	3
	腎臓	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
		慢性進行性腎症	22	13	10	9	7	11	8	3
		皮髄境界部鉍質沈着	4	4	1	6	12	12	14	10
		腎盂炎症細胞浸潤	3	2	2	6	2	0	5	4
	肝臓	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
		小葉周辺性肝細胞色素沈着	0	0	0	1	1	0	2	10*
		くもり硝子様変異細胞巢	2	0	1	4	0	1	4	3
		好塩基性変異細胞巢	7	2	0	7	10	7	8	4
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	1	4
	小葉中心性肝細胞脂肪変性	6	3	2	0	3	3	2	3	
	肺	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
		血管周囲性単核細胞浸潤	14	3	5	10	9	11	11	8
		限局性肺炎	7	3	1	4	2	1	2	4
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	20	19	20	24
		卵胞のう胞								
		片側性	—	—	—	—	5	2	3	7
		両側性	—	—	—	—	0	0	0	1
	セルトリ一様細胞管状過形成	片側性	—	—	—	—	4	7	1	4
		両側性	—	—	—	—	3	5	3	3
	脾臓	検査動物数	28	20	16	23	19	19	20	24
腺胞萎縮		6	4	1	6	4	3	1	3	
動脈炎		0	0	0	8*	0	1	0	2	
皮膚、乳腺部	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24	
	乳腺導管拡張	4	6	1	3	14	8	10	9	
	乳腺腺房び慢性過形成	0	0	0	0	9	6	9	6	
脊髄	検査動物数	28	19	16	23	20	19	20	24	
腰部	軸索変性	12	4	3	2*	0	2	2	2	
脾臓	検査動物数	28	19	16	23	20	19	20	24	
	ヘモジデリン沈着	44	13*	16	47	47	20	18	48	
	グレード1	2	1	1	4	3	1	3	6	
	グレード2	3	2	3	4	2	2	3	4	
	グレード3	11	8	9	7	8	6	6	10	
グレード4	9	1	0	6	7	9	6	2		

統計学的手法: Fischer の直接確率計算法、* : P<0.01、

別表1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000
途中死亡・ 切迫殺例	胸骨	検査動物数							
		28	19	16	23	19	19	20	24
		造血細胞増生							
		グレード2							
		13	4	1	7	6	11	8	3
		グレード3							
		8	6	5	5	8	5	4	6
		グレード4							
		6	8	9	9	5	3	8	14
		腺胃							
		検査動物数							
		27	17	16	23	19	18	20	24
		胃底腺拡張							
	5	3	5	5	5	8	3	5	
	精巣								
	検査動物数								
	28	19	16	23	—	—	—	—	
	片側性精細管萎縮								
	6	1	1	2	—	—	—	—	
	限局性間細胞過形成								
	0	1	2	3	—	—	—	—	
	腸間膜血管								
	検査動物数								
	28	20	16	23	20	19	20	24	
	動脈炎								
	1	0	0	5	0	0	0	2	

別表1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別	雄				雌					
	0	200	750	2000	0	200	750	2000		
投与群 (ppm)										
最終解剖例	副腎	検査動物数	22	9	9	27	30	19	19	26
		被膜下紡錘系細胞巢	15	7	7	19	21	13	13	18
		皮質限局性のう胞変性	0	1	3	1	21	14	13	19
		髓質過形成	12	3	4	7↓	4	3	5	9
		皮質肥大細胞巢	9	4	1	9	15	10	14	9
		限局性類洞拡張	0	0	0	1	12	6	6	10
	心臓	検査動物数	22	3	2	27	30	0	2	26
		慢性心筋炎	15	1	2	19	6	0	0	2
	腎臓	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		慢性進行性腎症	21	29	33	24	19	23	23	14
		皮髓境界部鉍質沈着	6	2	10	8	21	24	24	19
		腎盂炎症細胞浸潤	2	4	6	5	3	4	3	4
	肝臓	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		小葉周辺性肝細胞色素沈着	0	0	0	1	0	0	2	16↑
		くもり硝子様変異細胞巢	15	18	20	23	12	8	12	16
		好塩基性変異細胞巢	11	11	11	16	25	28	20	17
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	11↑
		小葉中心性肝細胞脂肪変性	2	3	2	1	3	6	5	0
	肺	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		血管周囲性単核細胞浸潤	14	21	20	19	18	19	22	19
		限局性肺炎	8	13	14	12	13	11	9	8
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	30	2	8	26
		卵胞のう胞								
		片側性	—	—	—	—	5	2	6	5
		両側性	—	—	—	—	1	0	0	3
		セルトリ一様細胞管状過形成								
	片側性	—	—	—	—	6	1	3	5	
	両側性	—	—	—	—	7	1	0	9	
膵臓	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26	
	腺胞萎縮	7	10	5	11	9	5	7	3	
	動脈炎	3	2	0	16↑	0	2	2	4↑	
皮膚、乳腺部	検査動物数	22	11	13	27	30	13	15	26	
	乳腺導管拡張	1	1	0	3	14	4	5	15	
	乳腺腺房び慢性過形成	0	0	0	0	14	4	2	16	
脊髄	検査動物数	22	0	0	27	30	0	1	26	
	腰部 軸索変性	8	0	0	11	6	0	0	9	
脾臓	検査動物数	22	4	4	27	30	5	1	26	
	ヘモジデリン沈着									
	グレード1	1	0	0	2	2	0	0	0	
	グレード2	8	1	3	6	5	2	0	2	
	グレード3	9	0	0	18	18	0	0	17	
グレード4	1	0	0	0	2	0	0	7		

統計学的手法：Fischer の直接確率計算法、↑↓：P<0.05、↑：P<0.01、

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
投与群 (ppm)										
最終解剖例	胸骨	検査動物数	22	0	0	27	30	31	30	26
		造血細胞増生								
		グレード 2	0	0	0	1	6	7	5	2
		グレード 3	14	0	0	15	19	20	20	13
	グレード 4	7	0	0	10	5	4	5	11	
	腺胃	検査動物数	22	4	5	27	30	1	2	26
		胃底腺拡張	13	1	3	18	17	0	0	16
	精巣	検査動物数	22	30	34	27	—	—	—	—
		片側性精細管萎縮	6	6	9	6	—	—	—	—
		限局性間細胞過形成	6	5	8	7	—	—	—	—
	腸間膜血管	検査動物数	22	30	34	27	30	1	2	26
		動脈炎	1	0	4	9 ⁺	0	1	1	5 [†]

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、† : P<0.05、⁺ : P<0.01、

別表1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
全動物	副腎	検査動物数	50	28	25	50	50	37	39	50
		被膜下紡錘系細胞巢	20	13	12	25	27	18	20	24
		皮質限局性のう胞変性	3	3	4	6	28	21	21	29
		髄質過形成	18	6	5	12	5	3	8	10
		皮質肥大細胞巢	13	6	3	10	21	16	19	13
		限局性類洞拡張	0	0	0	1	17	6	10	15
		皮質限局性空胞化	3	2	1	2	7	1	3	0↓
	心臓	検査動物数	50	22	18	50	50	19	22	50
		慢性心筋炎	25	11	7	28	8	3	2	5
	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		慢性進行性腎症	43	42	43	33↓	26	34	31	17
		皮髄境界部鉅質沈着	10	6	11	14	33	36	38	29
		腎盂炎症細胞浸潤	5	6	8	11	5	4	8	8
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		小葉周辺性肝細胞色素沈着	0	0	0	2	1	0	4	26↑
		くもり硝子様変異細胞巢	17	18	21	27↑	12	9	16	18
		好塩基性変異細胞巢	18	13	11	23	35	35	28	21↓
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	1	15↑
		小葉中心性肝細胞脂肪空胞化	8	6	4	11	6	9	7	3
		緊張性リピドーシス巢	10	5	6	5	9	4	6	1↓
	肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管周囲性単核細胞浸潤	28	24	25	29	20	20	20	20
		限局性肺炎	15	16	15	16	27	30	33	27
		肺泡マクロファージ巢	5	2	4	5	2	4	4	10↑
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	50	21	28	50
		卵胞のう胞								
		片側性	—	—	—	—	10	4	9	12
		両側性	—	—	—	—	1	0	0	4
		セルトリ一様細胞管状過形成								
		片側性	—	—	—	—	10	8	4	9
		両側性	—	—	—	—	10	6	3	12
	膵臓	検査動物数	50	50	50	50	49	50	50	50
		腺胞萎縮	13	14	6	17	13	8	8	6
動脈炎		3	2	0	24↑	0	3	2	6↑	
皮膚、乳腺部	検査動物数	50	31	29	50	50	32	35	50	
	乳腺導管拡張	5	7	1	6	28	12	15	24	
	乳腺腺房び慢性過形成	1	0	0	2	23	10	11	22	
脊髄腰部	検査動物数	50	19	16	50	50	19	21	50	
	軸索変性	20	4	3	13	6	2	2	11	
脾臓	検査動物数	50	23	20	50	50	24	21	50	
	ヘモジデリン沈着									
	グレード1	3	1	1	6	5	1	3	6	
	グレード2	11	3	6	10	7	4	3	6	
	グレード3	20	8	9	25	26	6	6	27	
	グレード4	10	1	0	6	9	9	6	9	

統計学的手法: Fischer の直接確率計算法、↑ ↓: P<0.05、↑↓: P<0.01、

別表1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
全動物	胸骨	検査動物数	50	19	16	50	49	50	50	50
		造血細胞増生								
		グレード2	13	4	1	8	12	18	13	5
		グレード3	22	6	5	20	27	25	24	19
		グレード4	13	8	9	19	10	7	13	25
	腺胃	検査動物数	49	21	21	50	49	19	22	50
		胃底腺拡張	18	4	8	23	22	8	3	21
	精巣	検査動物数	49	49	50	50	—	—	—	—
		片側性精細管萎縮	12	7	10	8	—	—	—	—
		限局性間細胞過形成	6	6	10	10	—	—	—	—
	脳	検査動物数	50	20	16	50	50	19	21	50
		前方圧迫	20	9	7	14	19	10	7	10↓
	腸間膜	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		動脈炎	2	0	4	14↑	0	1	1	7↑
	リンパ節	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		嚢胞	5	7	7	17↑	4	2	3	2
	膣	検査動物数	—	—	—	—	50	19	21	50
		管腔炎症性浸出物	—	—	—	—	0	2	5↑	0

統計学的手法：Fischer の直接確率計算法、↑：P<0.01、

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）

性別		雄				雌				
投与群(ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
途 中 死 ・ 切 迫 殺 例	副腎	検査動物数	28	19	16	23	20	18	20	24
		髓質褐色細胞腫(B)	1	3	0	2	1	0	0	1
		皮質腺腫(B)	0	0	0	0	1	1	0	1
		皮質腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	1
	脳	検査動物数	28	19	16	23	20	19	20	24
		顆粒細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		星状膠細胞腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0
	心臓	検査動物数	28	19	16	23	20	19	20	24
		悪性神経鞘腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
		肝細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	膵臓	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
		島細胞腺腫(B)	1	1	1	0	0	1	0	1
	下垂体	検査動物数	28	19	15	22	20	19	20	24
		前葉腺腫(B)	20	14	8	14	14	14	14	11
		前葉腺癌(M)	0	0	0	0	2	0	1	0
	皮膚・乳腺	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
	乳腺	線維腺腫(B)	0	1	1	0	6	6	3	5
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	3	1
	皮下織	線維腫(B)	1	2	0	0	0	0	0	1
		脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		肉腫(NOS)(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚	基底細胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	1	1	1	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脊髄	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24
	脊索腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
前胃	検査動物数	28	19	16	23	20	18	20	24	
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
精巣・精巣上体	検査動物数	28	19	16	23	—	—	—	—	
	間細胞腫(B)	1	0	1	3	—	—	—	—	
胸腺	検査動物数	27	18	16	22	20	19	19	24	
	悪性胸腺腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	1	

註 (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
途 中 死 亡 切 迫 殺 例	甲状腺	検査動物数	28	19	16	23	20	19	20	24
		C細胞腺腫(B)	3	2	0	0	1	1	1	2
		C細胞腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		ろ胞腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	30	11	5	26
		内膜ポリープ(B)	—	—	—	—	6	3	2	1
		線維腫(B)	—	—	—	—	0	1	0	0
	臍	検査動物数	—	—	—	—	20	19	20	24
		扁平上皮癌(M)	—	—	—	—	0	0	0	1
	腹腔	検査動物数	0	0	0	1	1	0	0	0
		線維腫(B)	0	0	0	1	1	0	0	0
	胸腔	検査動物数	0	1	0	0	1	0	0	0
		線維肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	ジンバル腺	検査動物数	0	0	0	0	1	0	1	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	1	0
全身性腫瘍	検査動物数	28	20	16	23	20	19	20	24	
	組織球肉腫(M)	0	0	2	0	1	0	0	0	
	骨髄性白血病(M)	2	1	2	0	0	0	0	1	
	悪性リンパ腫(M)	0	0	0	1	0	0	2	0	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別	雄				雌					
	0	200	750	2000	0	200	750	2000		
投与群 (ppm)										
最終解剖例	副腎	検査動物数	22	9	9	27	30	19	19	26
		髄質褐色細胞腫 (B)	3	2	4	6	2	3	1	2
		髄質悪性褐色細胞腫 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	1	0	0	1	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脳	検査動物数	22	1	0	27	30	19	19	26
		顆粒細胞腫 (B)	0	1	0	1	0	0	0	1
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	心臓	検査動物数	22	3	2	27	30	0	2	26
		悪性神経鞘腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		肝細胞腺腫 (B)	0	2	0	2	0	1	1	1
		肝細胞癌 (M)	0	2	0	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	検査動物数	22	0	1	27	30	0	1	26
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0
	膵臓	検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
		島細胞腺腫 (B)	1	5	3	4	3	0	1	0
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		外分泌腺腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	上皮小体	検査動物数	22	1	0	26	26	1	2	25
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	検査動物数	22	14	12	27	30	24	25	26
		前葉腺腫 (B)	14	14	12	21	23	22	22	14
		前葉腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	0	1
皮膚・乳腺	検査動物数	22	11	13	27	30	13	15	26	
	乳腺	線維腺腫 (B)	0	1	1	0	7	7	9	9
		腺癌 (M)	0	0	1	0	3	2	4	1
皮下織	線維腫 (B)	5	3	1	2	0	0	0	0	
	脂肪腫 (B)	1	0	2	0	0	0	0	1	
	線維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	2	0	0	
	悪性神経鞘腫 (M)	0	2	0	0	0	0	0	0	
	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
皮膚	角化棘細胞腫 (B)	2	3	3	3	0	1	0	0	
	毛のう上皮腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別	雄				雌				
	0	200	750	2000	0	200	750	2000	
投与群 (ppm)									
最終解剖例	前胃 検査動物数	22	3	6	27	30	0	2	26
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣・精巣上体 検査動物数	22	30	34	27	—	—	—	—
	間細胞腫 (B)	4	7	7	7	—	—	—	—
	胸腺 検査動物数	22	1	0	27	30	0	1	24
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	甲状腺 検査動物数	22	4	1	27	30	2	2	25
	C細胞腺腫 (B)	5	2	1	3	6	0	0	6
	ろ胞腺腫 (B)	3	1	1	4	1	0	0	1
	ろ胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮 検査動物数	—	—	—	—	30	11	5	26
	内膜ポリープ (B)	—	—	—	—	6	3	2	1
	線維腫 (B)	—	—	—	—	0	1	0	0
	耳 検査動物数	0	1	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	子宮靱帯 検査動物数	0	0	0	0	0	1	0	0
	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	全身性腫瘍 検査動物数	22	30	34	27	30	31	30	26
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0
	骨髄性白血病 (M)	1	1	0	1	0	0	0	0
悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	1	1	0	0	0	

註 (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別	雄				雌					
	0	200	750	2000	0	200	750	2000		
投与群 (ppm)										
全動物	副腎	検査動物数	50	28	25	50	50	50	50	
		髄質褐色細胞腫 (B)	4	5	4	8	3	3	1	3
		髄質悪性褐色細胞腫 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	1	0	1	2	0	1
		皮質腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	1	1
	脳	検査動物数	50	20	16	50	50	19	21	50
		顆粒細胞腫 (B)	1	1	0	1	0	0	0	1
		星状膠細胞腫 (M)	1	0	0	0	1	1	1	0
	心臓	検査動物数	50	22	18	50	50	19	22	50
		悪性神経鞘腫 (M)	0	2	0	0	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫 (B)	0	2	0	2	0	1	2	1
		肝細胞癌 (M)	0	2	0	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	腸間膜リンパ節	検査動物数	50	18	17	50	20	19	21	24
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0
	膵臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		島細胞腺腫 (B)	2	6	4	4	3	1	1	1
		島細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		外分泌腺腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	上皮小体	検査動物数	48	20	16	48	43	19	22	49
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	検査動物数	50	33	27	49	50	43	45	48
		前葉腺腫 (B)	34	27	20	34	37	36	36	25
	前葉腺癌 (M)	0	0	0	0	3	1	1	1	
	中葉腺腫 (B)	0	1	0	1	0	0	0	0	
皮膚・乳腺	検査動物数	50	31	29	50	50	32	35	50	
	線維腺腫 (B)	0	2	2	0	13	13	12	14	
	腺癌 (M)	0	0	1	0	3	3	7	2	
皮下織	線維腫 (B)	6	5	1	2	0	0	0	1	
	脂肪腫 (B)	1	0	2	1	0	0	0	1	
	線維肉腫 (M)	0	1	1	0	0	2	0	0	
	悪性神経鞘腫 (M)	0	3	0	0	0	0	0	0	
	脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	肉腫 (NOS) (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、 $1 : P < 0.05$

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別	投与群 (ppm)	雄				雌			
		0	200	750	2000	0	200	750	2000
全 動 物	皮膚・乳腺 (つづき) 検査動物数	50	31	29	50	50	32	35	50
	皮膚								
	基底細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	角化棘細胞腫 (B)	3	4	4	3	0	1	0	0
	毛のう上皮腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	血管腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
	脊髄								
	検査動物数	50	19	16	50	50	19	21	50
	脊索腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	前胃								
	検査動物数	49	22	22	50	50	18	22	50
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	精巣・精巣上体								
	検査動物数	50	49	50	50	—	—	—	—
	間細胞腫 (B)	5	7	8	10	—	—	—	—
	胸腺								
	検査動物数	49	19	16	49	50	19	20	48
	悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	1	0	0	1
	甲状腺								
	検査動物数	50	23	17	50	50	21	22	50
	C細胞腺腫 (B)	8	4	1	3	7	1	1	8
	C細胞腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	ろ胞腺腫 (B)	3	1	1	4	1	0	0	1
	ろ胞腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮								
	検査動物数	—	—	—	—	50	30	25	50
	内膜ポリープ (B)	—	—	—	—	8	4	5	21
	線維腫 (B)	—	—	—	—	0	1	0	0
	膣								
	検査動物数	—	—	—	—	50	19	21	50
	扁平上皮癌 (M)	—	—	—	—	0	0	0	1
耳									
検査動物数	0	1	0	0	0	0	0	0	
扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
腹腔									
検査動物数	0	0	0	1	1	0	0	0	
線維腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	
胸腔									
検査動物数	0	1	0	0	1	0	0	0	
線維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
子宮靱帯									
検査動物数	—	—	—	—	0	1	0	0	
平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	0	1	0	0	
ジンバル腺									
検査動物数	0	0	0	0	1	0	1	0	
腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	1	0	
全身性腫瘍									
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
組織球肉腫 (M)	0	0	2	0	2	1	0	0	
骨髄性白血病 (M)	3	2	2	1	0	0	0	1	
悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	2	1	0	2	0	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、↓ : P<0.05

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別		雄				雌				
投与群 (ppm)		0	200	750	2000	0	200	750	2000	
合 計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	67	68	53	77	78	65	67	59
		悪性	5	12	7	6	12	9	19	7
	腫瘍総数		72	78	60	83	90	74	86	65
	担腫瘍動物数	良性	42	42	33	41	43	41	41	35
		悪性	5	11	8	9	15	9	14	6
担腫瘍動物総数		44	44	36	43	47	43	45	37	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

1-8-4 マウスを用いた 104 週間混餌投与による発がん性試験

(資料 17)

試験機関：インバスク・リサーチ・インターナショナル(英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験動物：CrL：CD-1(ICR)BR マウス、開始時約 7 週齢、

104 週間投与の主試験群： 1 群雌雄各 50 匹

52 週間投与の衛星群： 高用量群：雌雄各 15 匹

対照群： 雄 4 匹、雌 6 匹

主試験群では、104 週間の試験終了時に全生存動物を屠殺し、衛星群では、投与 14 週後に対照群の全動物及び投与群の雌雄各 8 匹を中間屠殺し、投与 52 週間後に投与群の残りの動物を屠殺した。

試験期間：104 週間(1986 年 9 月 9 日～1988 年 9 月 13 日)

投与方法：検体を一定の検体摂取量(0、10、100 及び 1000mg/kg/日)になるような濃度で飼料に直接混入し、104 週間にわたって投与した。衛星群では 0 及び 1000 mg/kg/日を投与した。検体を混入した飼料は試験開始後 14 週間は毎週 1 回、その後は 2 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠：300、800 及び 2000ppm を 22 日間混餌投与後、毒性が明確でなかったの
で、23 日から試験終了(6 週間)まで投与量を以下のように増量して試験した。

群	雄		雌	
	1-22 日	23 日以降	1-22 日	23 日以降
対照	0	0	0	0
低用量	300	10000	300	8000
中用量	800	800	800	800
高用量	2000	5000	2000	4000

その結果、雄で 5000ppm(1055mg/kg) 以上、雌で 4000ppm(984 mg/kg) 以上を投与した群で肝重量の増加が認められたが、明白な病理組織学的変化は認められなかった。そのため、高用量がガイドラインの推奨最大量になるように設定した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に関連した一般症状は認められなかった。眼球突出、腹部のチアノーゼ及び腫張並びに立毛などが認められたが、その発生頻度及び程度は全群でほぼ等しかった。

試験終了時までの死亡動物数を次頁の表に示す。

雄では、対照群と比較して、10 及び 1000 mg/kg/日群で死亡率の低下が認められ、10 mg/kg/日群で統計学的に有意であった($P < 0.05$) が、用量との関連がなく、検体

投与に起因するものではないと考えられた。雌では、群間で有意な差は認められなかった。

動物の死因は、主として雄では排尿障害及び肺の腫瘍であり、雌ではリンパ細網系の腫瘍であった。検体投与との関連は認められなかった。

投与量 (mg/kg/day)		0	10	100	1000
死亡動物数/ 検査動物数	雄	23/50	11/50↓	25/50	13/50
	雌	24/50	28/50	25/50	23/50

統計学的方法：生存期間について修正した Wilcoxon の検定 ↓ : P<0.05

体重変化：投与開始 1 週間前～13 週間までは週 1 回、その後は 4 週間に 1 回全ての生存動物の体重を測定した。体重データは Student の t 検定により 2 群間の比較を行った。

雄では、1000mg/kg/日群で対照群と比較して体重増加の中等度の抑制 (17%) が認められ、投与 17～92 週時で有意 (P<0.01 又は P<0.001) であったが、投与終了時には僅かに有意 (P<0.05) であった。他の投与群の体重増加は対照群と同様であった。

雌では、投与 93 週時までは群間で顕著な差は認められなかった。その後は、検体投与群で体重の減少 (10、100 及び 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 7、10 及び 21%) が認められたが、対照群との有意差は認められず、投与期間の後半に限られたものであったことから、加齢によるものであり、検体投与に起因するものではないと考えられた。

投与量 (mg/kg/day)		0	10	100	1000
0-104 週の 体重増加量 (g)	雄	12.3 (100)	12.8 (104)	11.6 (94)	10.2 (83)
	雌	15.6 (100)	14.4 (92)	14.0 (89)	12.2 (78)

()内は対照群の値を 100 とした比率%

摂餌量：摂餌量は投与開始 1 週間前～13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回測定した。

摂餌量において雌雄で群間に差はみられず、投与による影響は認められなかった。

検体摂取量：摂餌量、体重及び投与濃度から算出した 1 日当りの群別平均値は、全体的に設定値に近かったが、体重及び摂餌量の変動により、全群で設定値との僅かな差が認められた。平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (mg/kg)		10	100	1000
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	9.8	98.0	978
	雌	9.8	96.8	977

飲水量：飲水量は投与期間を通して目視で検査した。

飲水量において雌雄で群間に差はみられず、投与による影響は認められなかった。

白血球百分比；投与 52、78 及び 104 週に全動物を対象として、尾切断により採血、血液塗抹標本を作製して白血球百分比を検査した。

いずれの検査時にも雌雄で群間差はみられず、検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；衛星群の動物を対象として、投与 13 週時に対照群及び 1000mg/kg 群の全動物、52 週時に 1000mg/kg 群の全動物の眼窩洞から採血し、以下の項目について検査した。

血中尿素窒素、糖、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、ナトリウム、カリウム、塩素、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比

対照群と比較して統計学的有意差が認められた 13 週時の検査項目を次表に示す。

13 週時に、1000mg/kg 群の雄でアルカリホスファターゼの僅かな上昇、雌でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの僅かな上昇が認められた。52 週時には、対照群が併設されておらず、また、比較可能な背景データが存在しなかったが、いずれの項目にも 13 週間の結果に比し上昇傾向は認められなかった。

検査項目	投与群 (mg/kg)					
	雄			雌		
	10	100	1000	10	100	1000
アルカリホスファターゼ	-	-	132†	-	-	-
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	-	-	-	-	-	126†

統計学的方法：Student の t 検定、†：P<0.05 -：検査せず
表中の値は対照群に対する変動率(%)を表す。

臓器重量；衛星群の動物について、投与 14 週時の中間屠殺動物と 52 週時の屠殺動物について肝重量を測定した。絶対重量について統計処理を行い、さらに最終体重を共変量とした共分散分析を行った。

14 週時中間屠殺動物における統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

臓器重量		投与群 (mg/kg)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
肝臓	絶対重量			111†			142‡
	調整重量			115 NS			128‡

統計学的方法：Student の t 検定、†：P<0.05、‡：P<0.01、¶：P<0.001、NS：有意差なし
表中の値は対照群に対する変動率(%)を表す。

14 週時に、1000mg/kg 群の雄では肝臓の絶対重量の有意な増加が認められたが、調整重量は対照群の 115%であったが、統計学的に有意でなかった。雌では絶対重量及び調整重量とも有意に高かった。52 週時には対照群を設けなかったため、対照群との直接比較はできなかったが、1000mg/kg 群の肝臓重量は背景データと比較して高く、その差は雄で 17%、雌で 32%であった。

14 週時の検査で肝臓に用量関連性の病理組織学的変化がないことから、この重量

の増加は投与による悪影響というより適応性の変化と申請者は判断する。

肉眼的病理検査：衛星群の投与 14 週時及び 52 週時の屠殺動物、並びに、全ての群の途中死亡動物及び試験終了時の屠殺動物を対象として検査を行った。

肉眼的病理検査所見の発生頻度に明らかに検体投与に起因すると思われる差は認められなかった。しかしながら、精囊の腫大の発生頻度は投与群で低かった。

所見	対照群	投与群 (mg/kg)		
		10	100	1000
精囊腫大	20/50	8/50	8/50	10/50

病理組織学的検査：主試験群の対照群及び高用量群の全ての動物ならびに全ての途中死亡動物を対象として次の組織について病理標本を作製し、検鏡した。また、低用量群及び中間用量群の雌雄の肝臓、腎臓、肺及び卵巣も同様に検査した。

副腎、大動脈弓、膀胱、骨(胸骨及び肋骨)、脳、眼、心臓、腸(十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、腎臓、肝臓(胆嚢を含む)、肺、乳腺、腸間膜リンパ節、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、坐骨神経、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾臓、胃(腺部及び非腺部)、顎下唾液腺、精巢(精巢上体を含む)、胸腺、甲状腺(上皮小体、存在する場合)、気管、子宮及び肉眼的病変部。

また、衛星群の全動物については、肝臓及び回腸のみ検査した。

非腫瘍性病変：主要な非腫瘍性病変を別表 1 に示す。

104 週間の試験終了時の屠殺動物及び途中死亡動物では、非腫瘍性病変の出現頻度、特性及び分布に投与との関連はみられなかった。1000mg/kg 群の雄で糸球体腎炎、精巢の萎縮、膠質による精囊の膨張などの偶発的な病変の出現頻度の減少がみられたが、これらは投与の影響を示すものではないと考えられた。

腫瘍性病変：腫瘍性病変の出現頻度を別表 2 に示す。

100mg/kg 群の雄で、肺の腫瘍の出現頻度が高かったが、肺腫瘍を示す動物の分布は偶発的なものであり、肺にその他の有意な影響が認められなかったことから、この所見は検体投与の影響を示すものではないと考えられた。

認められた所見は同じ系統及び齢のマウスで通常認められる所見と同じであり、投与の影響を示唆するものはなかった。

以上の結果から、検体投与に関連すると思われる唯一の所見は、1000mg/kg/日群における体重増加の中等度の抑制であり、本試験における最大無作用量は雌雄ともに 100mg/kg/日(実測値 雄：98.0mg/kg/日、雌：96.8mg/kg/日)であると判断される。また、雌雄いずれにおいても催腫瘍性は認められなかった。

〔申請者注〕病理組織学的検査結果について、統計学的解析を実施した。

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数)

性別		雄				雌					
投与群 (mg/kg/day)		0	10	100	1000	0	10	100	1000		
途 中 死 亡 ・ 切 迫 殺 例	副腎	検査動物数	24	10	25	11	23	28	24	23	
		被膜下紡錘系細胞巢	6	2	8	1	15	20	18	17	
		皮質肥大/変性	3	1	2	0	0	0	0	1	
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
		造血細胞増生	1	0	0	1	5	5	3	9	
	心臓	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
		心筋線維症	1	0	2	0	1	0	0	0	
	腎臓	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
		膜性増殖性糸球体腎炎	4	0	3	0	5	8	2	2	
		皮髓境界部癒痕形成・萎縮	2	0	1	0	0	0	1	0	
		限局性尿細管好塩基球増加	2	2	5	1	2	2	0	1	
		囊胞性 β -マンノシ/萎縮 (両側性)	5	0	3	1	1	0	4	3	
	肝臓	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
		髓外造血亢進	2	0	1	0	4	0	2	1	
		限局性肝細胞壊死	1	0	1	0	4	1	1	1	
		変異細胞巢	2	0	3	2	1	0	0	1	
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	24	28	24	23	
		卵胞のう胞		—	—	—	—	7	10	7	11
			片側性 両側性	—	—	—	—	8	9	7	5
	脾臓	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
		髓外造血亢進	7	0	3	3	9	11	10	11	
	腺胃	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
		肥厚性胃炎	3	0	2	1	1	8†	1	5	
精巣	検査動物数	24	11	25	13	—	—	—	—		
	精細管萎縮	6	2	4	1	—	—	—	—		
精囊	検査動物数	24	11	25	13	—	—	—	—		
	精細管萎縮	7	2	3	2	—	—	—	—		
胸腺	検査動物数	18	9	18	11	22	25	21	20		
	リンパ球増生/胚中心形成	16	8	14	10	11	13	5	11		
子宮	検査動物数	—	—	—	—	24	28	24	23		
	内膜囊胞状過形成	—	—	—	—	20	20	20	18		

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、 † : $P < 0.05$

別表1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別	雄				雌						
	0	10	100	1000	0	10	100	1000			
投与群(mg/kg/day)											
最終解剖例	副腎	検査動物数	25	1	0	37	26	0	1	27	
		被膜下紡錘系細胞巢	9	0	0	10	21	0	1	23	
		皮質肥大/変性	9	0	0	11	2	0	0	0	
	骨髓（胸骨）	検査動物数	25	1	0	37	26	0	1	27	
		造血細胞増生	1	0	0	2	2	0	0	4	
	心臓	検査動物数	26	1	1	37	26	0	1	27	
		心筋線維症	2	0	0	0	2	0	0	0	
	腎臓	検査動物数	26	39	25	37	26	22	26	27	
		膜性増殖性糸球体腎炎	4	5	2	1	2	3	5	3	
		皮髄境界部瘢痕形成・萎縮	3	5	1	6	0	1	3	2	
		限局性尿細管好塩基球増加	10	11	12	15	3	3	6	1	
		囊胞性ホーマン囊/萎縮（両側性）	8	7	5	4	3	0	6	1	
	肝臓	検査動物数	26	39	25	37	26	22	26	27	
		髓外造血亢進	1	0	0	0	2	0	0	1	
		限局性肝細胞壊死	1	0	0	0	3	1	2	0	
		変異細胞巢	3	3	4	7	0	1	0	2	
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	26	0	1	27	
		卵胞のう胞	片側性	—	—	—	—	6	0	0	9
			両側性	—	—	—	—	17	0	0	13
	脾臓	検査動物数	25	2	1	37	26	4	7	27	
		髓外造血亢進	2	0	0	4	4	0	0	6	
	腺胃	検査動物数	26	3	1	37	26	1	7	27	
		肥厚性胃炎	5	0	0	6	4	0	0	2	
	精巣	検査動物数	26	9	4	37	—	—	—	—	
		精細管萎縮	14	0	0	7 ⁺	—	—	—	—	
	精囊	検査動物数	26	39	25	37	—	—	—	—	
		精細管萎縮	13	0	0	7	—	—	—	—	
	胸腺	検査動物数	23	1	1	33	25	1	5	26	
リンパ球増生/胚中心形成		3	0	0	10	14	0	0	20		
子宮	検査動物数	—	—	—	—	26	20	19	27		
	内膜囊胞状過形成	—	—	—	—	23	0	1	24		

統計学的手法：Fischerの直接確率計算法、⁺：P<0.01、

別表 1 主要な非腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別	雄				雌					
	0	10	100	1000	0	10	100	1000		
投与群 (mg/kg/day)										
全動物	副腎	検査動物数	49	11	25	48	49	28	25	50
		被膜下紡錘系細胞巢	15	2	8	11	36	20	19	40
		皮質肥大/変性	12	1	2	11	2	0	0	1
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	50	12	25	50	50	28	25	50
		造血細胞増生	2	0	0	0	3	2	2	8
		骨髓球系	0	0	0	3	4	3	1	5
		赤血球系	2	0	0	3	7	5	3	13
		計								
	心臓	検査動物数	50	12	26	50	50	28	25	50
		心筋線維症	3	0	2	0	20	19	20	24
		心外膜線維増殖症	0	0	3†	2	0	0	1	0
	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		膜性増殖性糸球体腎炎	8	5	5	1↓	7	11	7	5
		皮髄境界部癒痕形成・萎縮	5	5	2	6	0	1	4	2
		限局性尿管好塩基球増加	12	13	17	16	5	5	6	2
		囊胞性ホーマン囊/萎縮 (両側性)	13	7	8	5↓	4	0	10	4
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		髓外造血	3	0	1	0	6	0↓	2	2
		限局性肝細胞壊死	2	0	1	0	7	2	3	1
		変異細胞巢	5	3	7	9	1	1	0	3
	卵巣	検査動物数	—	—	—	—	50	47	49	50
		卵胞のう胞								
		片側性	—	—	—	—	13	10	7	20
		両側性	—	—	—	—	25	9	7	18
		血管拡張・出血 (片側性)	—	—	—	—	4	2	4	4
	脾臓	検査動物数	50	13	26	50	50	32	31	50
		髓外造血亢進	9	0	3	7	13	11	10	17
	腺胃	検査動物数	46	13	22	47	48	27	25	48
	肥厚性胃炎	8	0	2	7	5	8	1	7	
精巣	検査動物数	50	20	29	50	—	—	—	—	
	精細管萎縮	20	2↓	4↓	8↓	—	—	—	—	
精囊	検査動物数	50	50	50	50	—	—	—	—	
	精細管萎縮	20	2	3	9	—	—	—	—	
	膠質で膨張	20	2↓	3↓	9↓	—	—	—	—	
胸腺	検査動物数	41	10	19	44	47	26	26	46	
	リンパ球増生/胚中心形成	8	0	2	11	25	1	3	31	
子宮	検査動物数	—	—	—	—	50	48	43	50	
	内膜囊胞状過形成	—	—	—	—	43	20↓	21↓	42	

統計学的手法: Fischer の直接確率計算法、†† : P<0.05 † : P<0.01、

別表2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数)

性別	雄				雌					
	0	10	100	1000	0	10	100	1000		
投与群(mg/kg)	0	10	100	1000	0	10	100	1000		
途 中 死 ・ 切 迫 殺 例	副腎皮質	検査動物数	24	10	25	11	23	28	24	23
		皮質癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎髄質	検査動物数	23	9	25	10	23	28	23	23
		髄質褐色細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23
		中皮腫	1	0	0	0	0	0	0	0
	脳	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23
		悪性髄膜腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	十二指腸	検査動物数	19	9	16	9	22	25	21	21
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23
		肝細胞腺腫(B)	3	1	2	2	1	0	0	0
		肝細胞癌(M)	2	1	2	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	肺	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23
		腺腫(B)	6	2	10	4	2	2	7	4
		腺癌(M)	2	0	2	0	0	1	0	0
	乳腺	検査動物数	—	—	—	—	23	26	22	22
		腺癌(M)	—	—	—	—	0	0	1	2
		腺棘細胞腫(M)	—	—	—	—	0	0	0	1
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	24	28	24	23
		管状腺腫(B)	—	—	—	—	0	0	0	2
		乳頭状のう胞腺腫(B)	—	—	—	—	0	0	1	0
		平滑筋腫(B)	—	—	—	—	1	0	0	1
	下垂体	検査動物数	24	10	23	13	24	28	24	23
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	1	0
	脾臓	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
精巣	検査動物数	24	11	25	13	—	—	—	—	
	間細胞腫(B)	0	1	0	1	—	—	—	—	
	セルトリ—細胞腫(B)	1	0	0	0	—	—	—	—	
	血管腫(B)	0	0	1	0	—	—	—	—	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌				
投与群 (mg/kg)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
途 中 死 亡 切 迫 殺 例	胸腺	検査動物数	18	9	18	11	22	25	21	20
		悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		中皮腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	24	28	24	23
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	0	1	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	0	0	0	1
		内膜ポリープ (B)	—	—	—	—	0	0	1	0
	ハーダー腺	検査動物数	0	0	0	0	0	1	1	0
		腺上皮過形成	0	0	0	0	0	1	0	0
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	後肢	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
皮膚	検査動物数	0	0	0	0	1	2	1	1	
	基底有棘細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	1	
肉腫 (NOS) (M)	検査動物数	0	0	0	0	0	1	0	0	
	胸腔	検査動物数	1	0	0	1	0	0	0	0
	中皮腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
全身	検査動物数	24	11	25	13	24	28	24	23	
	悪性リンパ腫	1	1	3	2	6	8	9	6	
	組織球肉腫 (M)	1	0	0	0	1	4	2	1	
	肥満細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌				
投与群 (mg/kg)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
最 終 解 剖 例	副腎 皮質	検査動物数	25	1	0	37	26	0	1	27
		皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	十二指 腸	検査動物数	26	0	0	37	26	0	1	27
		膵癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	26	39	25	37	26	22	26	27
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	26	39	25	37	26	22	26	27
		肝細胞腺腫 (B)	7	16	9	12	0	0	1	4
		肝細胞癌 (M)	1	1	2	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	1	0	0
	肉腫 (NOS) (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別	雄				雌					
	0	10	100	1000	0	10	100	1000		
投与群 (mg/kg)										
最終解剖例	肺	検査動物数	26	39	25	37	26	22	25	27
		腺腫 (B)	7	12	13	13	7	3	5	1↓
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	検査動物数	—	—	—	—	26	0	1	26
		腺癌 (M)	—	—	—	—	1	0	0	1
	膵臓	検査動物数	26	1	0	37	26	1	1	27
		島細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		外分泌腺腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	下垂体	検査動物数	23	1	0	36	25	1	2	25
		前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脊髓	検査動物数	26	0	0	37	26	0	1	27
		良性神経鞘腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	前胃	検査動物数	26	3	1	37	26	1	4	27
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	精巣	検査動物数	26	9	4	37	—	—	—	—
		間細胞腫 (B)	3	0	0	2	—	—	—	—
		血管腫 (B)	1	0	0	0	—	—	—	—
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	26	20	19	27
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	2	0	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	0	0	0	1
		内膜腺癌 (M)	—	—	—	—	1	0	0	0
	ハーダー腺	検査動物数	2	0	0	0	0	0	0	3
		腺腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	3
	後肢	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精のう	検査動物数	0	0	0	1	—	—	—	—
		乳頭状腺腫 (B)	0	0	0	1	—	—	—	—
	皮膚	検査動物数	26	1	0	37	26	0	1	27
扁平上皮乳頭腫 (B)		1	0	0	0	0	0	0	0	
脂腺腺腫 (B)		0	0	0	1	0	0	0	0	
顆粒細胞腫 (B)		0	0	0	1	0	0	0	0	
基底有棘細胞癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1	
線維肉腫 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	
リンパ節	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0	
	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
全身	検査動物数	26	39	25	37	24	28	24	23	
	悪性リンパ腫	1	2	0	1	5	2	0	1	
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	3	0	1	1	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、↓ : P<0.05

別表 2 腫瘍性病変の発生頻度 (数値は当該所見を有する動物数) (続き)

性別	雄				雌					
	0	10	100	1000	0	10	100	1000		
投与群 (mg/kg)										
全動物	副腎皮質	検査動物数	49	11	25	48	49	28	25	50
		皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		皮質癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎髄質	検査動物数	47	10	25	46	49	28	24	50
		髄質褐色細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	50	12	25	50	50	28	25	50
		中皮腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脳	検査動物数	50	11	25	50	50	28	25	50
		悪性髄膜腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	十二指腸	検査動物数	45	9	16	46	48	25	22	48
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫 (B)	10	17	11	14	1	0	1	4
		肝細胞癌 (M)	3	2	4	1	0	1	0	0
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	1	1	0
		肉腫 (NOS) (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	49	50
		腺腫 (B)	13	14	23 [†]	17	9	5	12	5
		腺癌 (M)	2	0	2	0	0	1	1	0
	乳腺	検査動物数	—	—	—	—	49	26	23	48
		腺癌 (M)	—	—	—	—	1	0	1	3
		腺棘細胞腫 (M)	—	—	—	—	0	0	0	1
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	50	47	49	50
		管状腺腫 (B)	—	—	—	—	0	0	0	2
		乳頭状のう胞腺腫 (B)	—	—	—	—	0	0	1	0
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	1	0	0	1
	膵臓	検査動物数	50	12	25	50	50	29	25	50
		島細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	外分泌腺腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	
下垂体	検査動物数	46	11	23	49	49	26	24	47	
	前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	1	1	
脊髄	検査動物数	50	11	25	50	50	28	25	50	
	良性神経鞘腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
脾臓	検査動物数	50	13	26	50	50	32	31	50	
	血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
前胃	検査動物数	46	13	22	47	48	27	25	48	
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的手法 : Fischer の直接確率計算法、† : P<0.05

別表2 腫瘍性病変の発生頻度（数値は当該所見を有する動物数）（続き）

性別		雄				雌				
投与群 (mg/kg)		0	10	100	1000	0	10	100	1000	
全動物	精巣	検査動物数	50	20	29	50	—	—	—	—
		間細胞腫 (B)	3	1	0	3	—	—	—	—
		セルトリ細胞腫 (B)	1	0	0	0	—	—	—	—
		血管腫 (B)	1	0	1	0	—	—	—	—
	胸腺	検査動物数	41	10	19	44	47	26	26	46
		悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	50	48	43	50
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	2	1	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	0	0	0	2
		内膜ポリープ (B)	—	—	—	—	0	0	1	0
		内膜腺腫様ポリープ (B)	—	—	—	—	0	1	0	0
		内膜腺癌 (M)	—	—	—	—	1	0	0	0
		検査動物数	2	0	0	0	0	1	1	3
	ハーダー腺	腺腫 (B)	2	0	0	0	0	0	1	3
		検査動物数	2	0	0	0	0	0	0	0
	後肢	検査動物数	2	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (M)	2	0	0	0	0	0	0	0
	精のう	検査動物数	0	0	0	1	—	—	—	—
		乳頭状腺腫 (B)	0	0	0	1	—	—	—	—
	皮膚	検査動物数	50	12	25	50	49	27	25	50
		扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		脂腺腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		顆粒細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		基底有棘細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	1	1	0	0	1
		肉腫 (NOS) (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	胸腔	検査動物数	1	0	0	1	0	0	0	0
中皮腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0	
縦隔肉腫 (NOS) (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	
リンパ節	検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0	
	血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
全身	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	悪性リンパ腫	2	3	3	3	11	10	9	7	
	リンパ性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	組織球肉腫 (M)	1	0	0	0	4	4	3	2	
	肥満細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
合計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	34	33	35	37	13	8	16	16
		悪性	14	6	10	7	19	17	16	21
	腫瘍総数		48	39	45	44	32	25	32	37
	担腫瘍動物数	良性	27	27	29	30	12	5	14	16
		悪性	12	6	9	7	19	18	16	19
担腫瘍動物総数		34	30	33	34	27	22	26	29	

註 (B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

1-9 生殖発生毒性試験

1-9-1 ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験

(資料 18)

試験機関：ヘルムホルツラトリズ (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験動物：Sprague Dawley 系ラット

P 世代：1 群雌雄各 30 匹、投与開始時約 6 週齢

F₁ 世代：1 群雌雄各 25 匹、投与開始時 4 週齢

投与期間：P 世代：投与開始から F₁ 児離乳時までの 21 週間

F₁ 世代：離乳時 (4 週齢) から F_{2b} 児離乳時までの 29.5 週間

(1987 年 9 月 25 日～1988 年 10 月 11 日)

投与方法：検体を 0、100、300 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂食させた。検体を混入した飼料の調製は毎週行った。

用量設定根拠：

方法及び試験項目：概要を次頁の表にまとめた。

世代	期間(週間)	作業手順	試験項目
P	生育(100日)		一般状態の観察、体重、摂餌量を毎週1回測定
	交配(3週)	雌雄1対1で交配。 交尾は膣垢中の精子又は膣栓により確認(妊娠0日)。雄親の屠殺。	交配状況の観察 交配終了時雄を屠殺し肉眼的病理検査、 対照群と高用量群につき病理組織学的検査。
	妊娠(3週)		体重を妊娠0、6、10、15、20日目、摂餌量を0-6、6-10、10-15、15-20日に測定 交尾期間、交尾率、妊娠率、受精率、 出産率の算定、
	F _{1a} 出産		出産状況の観察 新生児数、死産児数、外表異常、性別及び 生存児体重測定
F ₁	哺育(3週)	出産後4日に各同腹児数を、 できる限り雌雄各4匹に調整	母動物：体重を出産後1、4、7、14、21日 目、摂餌量を1-4、4-7、7-14、14-21日 に測定 児動物：生死、一般状態を毎日及び身体的 発達について観察。生後1、4、7、 14、21日目に体重測定。生存率、離 乳率、性比の算出。なお、途中死亡及 び4日目屠殺の新生児について外表 及び内臓異常の検査。
	離乳	継代用の各群雌雄各25 匹を選抜。 母動物/児動物の屠殺。	母動物：肉眼的病理検査、着床数の検 査、対照群と高用量群につき病理組 織学的検査。 児動物：各腹雌雄各2匹について離乳 時に機能検査(瞳孔反射、聴覚反応)、 次世代として選抜しなかった児動物 の肉眼的病理検査。
	生育(100日)		(P世代に準ずる)
	1回目交配(3週)	(P世代に準ずる)	交配状況の観察
	妊娠(3週)		(P世代に準ずる)
	F _{2a} 出産		(P世代に準ずる)
	哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳	児動物の屠殺。	児動物：F _{1a} と同様に機能検査を実施し た後、全児動物を肉眼的病理検査
	生育(2週)		(P世代に準ずる)
	2回目交配(3週)	(P世代に準ずる) 雄親の屠殺。	(P世代に準ずる)
妊娠(3週)		(P世代に準ずる)	
F _{2b} 出産		(P世代に準ずる)	
哺育(3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)	
離乳	母動物/児動物の屠殺。	母動物：肉眼的病理検査、対照群と高用 量群につき病理組織学的検査 児動物：F _{1a} に準じて検査	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。DuroThonar.ch

一般状態及び死亡率；全動物の全検査時期に一般状態及び生死を毎日観察した。

体重；生育期間中は雌雄とも毎週測定した。

雌についてはさらに、妊娠 0、6、10、15 及び 20 日、哺育 1、4、7、14 及び 21 日に測定した。

摂餌量；生育期間中は雌雄とも毎週測定した。

雌についてはさらに、妊娠 0-6 日、6-10 日、10-15 日及び 15-20 日と、哺育 1-4 日、4-7 日、7-14 日及び 14-21 日に測定した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌雄 1 対 1 で同居させた。膣栓及び膣垢中の精子の有無により、交尾を確認した(妊娠 0 日)。

妊娠の確認は出産と、可能な場合は子宮の着床の有無をもって行った。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠及び出産時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\begin{aligned} 1) \quad \text{交尾期間} &= \frac{\text{交尾成立までの日数の合計}}{\text{交尾動物数}} \\ 2) \quad \text{交尾率} &= \frac{\text{交尾動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100 \\ 3) \quad \text{妊娠率} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数}} \times 100 \\ 4) \quad \text{受精率} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100 \\ 5) \quad \text{出産率} &= \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100 \\ 6) \quad \text{出生率} &= \frac{\text{生後 1 日の生存児数}}{\text{総産児数}} \times 100 \\ 7) \quad \text{生存率} &= \frac{\text{生後 4/7/14/21 日の生存児数}}{\text{生後 1/4*/7/14 日の生存児数}} \times 100 \\ &\quad \text{*：調整後児数} \\ 8) \quad \text{離乳率} &= \frac{\text{生後 21 日の生存児数}}{\text{生後 4 日調整後の生存児数}} \times 100 \\ 9) \quad \text{性比} &= \frac{\text{雄児動物数}}{\text{雌雄合計児動物数}} \times 100 \end{aligned}$$

児動物に関する指標；児動物については出産時に産児数、生存児数及び性別を検査し、哺育期間中は生死及び一般状態の観察を毎日行い、以下の指標について評価した。

体重；生後 1、4、7、14 及び 21 日に測定した。

身体的発達；全群の全同腹児について耳介展開、全身的な毛生、切歯萌出及び開眼

は対照群との差は見られなかった。

その他の指標については検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、2 世代にわたって検体を混餌投与した結果、雄ではいずれの検査項目とも対照群と同等であった。雌では 1000ppm 群で P 世代の体重、体重増加及び摂餌量の低下が認められた。児動物及び繁殖能に対しては 1000ppm 群でも影響はみられなかった。従って、最大無毒性量は親動物に対して雄では 1000ppm (P 世代 : 69.0mg/kg/日、F₁ 世代 : 78.6mg/kg/日)、雌では 300ppm (P 世代 : 24.0mg/kg/日、F₁ 世代 : 27.0mg/kg/日) である。児動物に対する最大無毒性量は 1000ppm (P 世代 : 雄 ; 69.0mg/kg/日、雌 ; 79.3mg/kg/日、F₁ 世代 : 雄 ; 78.6mg/kg/日、雌 ; 89.2mg/kg/日) であると判断する。

また、繁殖能に対しては最高用量である 1000ppm (P 世代 : 雄 ; 69.0mg/kg/日、雌 ; 79.3mg/kg/日、F₁ 世代 : 雄 ; 78.6mg/kg/日、雌 ; 89.2mg/kg/日) まで影響を及ぼさないと判断される。

結果：

表 1 親動物

世代		親：P 児：F1a				親：F1 児：F2a、F2b					
投与量 (ppm)		対照群	100	300	1000	対照群	100	300	1000		
供試動物数	雄	30	30	30	30	25	25	25	25		
	雌	30	30	30	30	25	25	25	25		
一般状態		雌雄ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。									
死亡率 (%)	雄	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	雌	3.3	0.0	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
体重 (g)	生育 15 週 ¹⁾	雄	526.5	525.8	511.0	543.0	521.6	520.0	507.2	520.2	
		雌	-	-	-	-	589.2	587.4	567.8	592.6	
	生育 25 週 ²⁾	雄	292.3	291.2	280.8	267.24	292.4	285.2	281.0	277.4	
		雌	-	-	-	-	328.0	323.6	316.6	314.6	
	妊娠 20 日	雄	a	390.9	391.6	384.2	377.0	400.5	400.2	388.5	393.5
			b	-	-	-	-	435.3	420.9	413.8	427.5
		雌	a	320.0	316.0	317.4	310.0	332.4	327.1	326.1	336.0
			b	-	-	-	-	347.8	343.8	340.0	357.1
哺育 21 日	雄	a	332.5	334.3	320.2	352.2	397.8	399.6	385.0	398.6	
		b	138.0	137.5	128.3	117.74	183.4	178.2	174.4	171.0	
	雌	a	108.9	114.2	110.6	116.3	117.9	118.8	109.3	116.5	
		b	-	-	-	-	119.5	107.6	110.0	113.3	
体重増加 (g)	生育期 (1 回目交配前)	雄	27.4	26.3	26.0	27.0	27.7	27.7	27.0	27.6	
		雌	18.3	18.5	18.3	17.5	20.1	19.3	19.6	19.4	
	妊娠時	a	21.2	21.8	21.7	21.5	23.0	22.7	22.6	23.4	
		b	-	-	-	-	23.4	22.6	22.5	23.0	
	哺育時	a	43.4	43.2	42.9	43.1	50.3	48.6	49.6	50.8	
		b	-	-	-	-	47.2	46.8	47.7	49.7	
	摂餌量 (g/日)	生育期 ³⁾	雄	6.9	6.9	20.8	69.0	-	7.9	23.7	78.6
			雌	8.0	8.0	24.0	79.3	-	8.9	27.0	89.2
妊娠時		a	6.8	6.8	20.8	71.4	-	7.0	21.5	74.1	
		b	-	-	-	-	-	6.5	19.7	66.4	
哺育時		a	13.5	13.5	40.7	140.2	-	14.6	46.2	151.8	
		b	-	-	-	-	-	13.3	41.6	138.1	
肉眼的病理検査		雌雄ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。									
病理組織学的検査		雌雄ともに検体投与に関連した変化は認められなかった。									

a、b：aは1産目、bは2産目を意味する

¹⁾ 体重：生育 15 週は 1 回目交配前

²⁾ 体重：生育 25 週は 2 回目交配前

³⁾ 摂餌量：生育期は 1 回目交配前 14 週間、2 回目交配前は雄 8 週間、雌 2 週間の平均日摂餌量

⁴⁾ 生育期検体摂取量は a は雌雄とも 1 回目交配前 14 週間、b は 2 回目交配前雄 7 週間、雌 1 週間の平均日検体摂取量。

統計学的方法：Student-Neuman-Keuls 検定 ↓：P<0.05

表 1 親動物(続き)

世代		親 : P 児 : F1a				親 : F1 児 : F2a、F2b				
投与量 (ppm)		対照群	100	300	1000	対照群	100	300	1000	
供試動物数	雄	30	30	30	30	25	25	25	25	
	雌	30	30	30	30	25	25	25	25	
繁殖能	交尾雌数 (交尾/同居)	a	29/30	27/30	28/30	30/30	21/25	23/25	21/25	25/25
		b	-	-	-	-	21/25	21/25	18/25	25/25
	妊娠雌数	a	23	26	27	24	19	21	20	24
		b	-	-	-	-	19	17	12	18
	出産雌数	a	23	26	27	24	19	21	20	24
		b	-	-	-	-	19	17	12	18
	生後1日生存 児のいる雌数	a	22	26	26	24	19	21	20	24
		b	-	-	-	-	19	17	12	18
	交尾までの 日数(日)	a	2.8	3.0	2.6	3.0	2.7	2.9	3.6	2.8
		b	-	-	-	-	3.2	2.8	2.9	3.3
	交尾率(%)	a	96.7	90.0	93.3	100.0	84.0	92.0	84.0	100.0
		b	-	-	-	-	84.0	84.0	72.0	100.0
	妊娠率(%)	a	79.3	96.3	96.4	80.0	90.5	91.3	95.2	96.0*
		b	-	-	-	-	90.5	81.0	66.7	72.0
	受精率(%)	a	76.7	86.7	90.0	80.0	76.0	84.0	80.0	96.0
		b	-	-	-	-	76.0	68.0	48.0*	72.0
	出産率(%)	a	95.7	100.0	96.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
		b	-	-	-	-	100.0	100.0	100.0	100.0
妊娠期間	a	22.0	22.1	21.9	21.8	21.9	21.9	22.1	21.7	
	b	-	-	-	-	21.9	22.2	21.9	21.8	

a、b : aは1産目、bは2産目を意味する

統計学的方法 : Fisher 直接確率検定(申請者が実施) ** : P<0.05

表2 児動物

世代		親 : P 児 : F1a				親 : F1 児 : F2ab					
投与量 (ppm)		対照群	100	300	1000	対照群	100	300	1000		
供試動物数	雄	30	30	30	30	25	25	25	25		
	雌	30	30	30	30	25	25	25	25		
生存産児数	a	11.4	12.8	11.5	12.3	12.7	12.9	11.4	12.5		
	b	—	—	—	—	13.2	11.9	11.7	13.7		
死産児数	a	0.3	0.3	0.3	0.5	0.4	0.4	0.4	0.2		
	b	—	—	—	—	0.3	0.4	0.3	0.1		
出生率	a	97.0	97.9	98.2	96.0	97.0	96.3	95.0	98.5		
	b	—	—	—	—	98.3	97.9	97.6	99.7		
性比 (雄%)	生後1日	49.6	52.4	49.2	46.9	54.1	53.7	48.0	51.0		
	離乳時	48.9	48.3	45.1	48.9	50.4	48.8	42.9	48.6		
児 生 存 率	哺育4日	a	97.6	94.6	95.7	94.7	92.6	92.6	93.8	95.4	
		b	—	—	—	—	98.3	96.4	99.3	95.8	
	哺育7日	a	94.3	92.8	90.9	92.9	85.5	94.2	95.4	84.8	
		b	—	—	—	—	94.7	100.0	100.0	93.8	
	哺育14日	a	84.8	76.2	76.3	76.8	88.2	84.5	85.3	80.3	
		b	—	—	—	—	82.3	90.4	94.1	87.2	
	哺育21日	a	98.6	97.8	99.1	94.6	100.0	94.9	100.0	93.6	
		b	—	—	—	—	99.3	100.0	96.5	99.3	
離乳率	a	78.9	72.6	71.6	72.4	76.3	79.8	84.0	69.3		
	b	—	—	—	—	78.3	90.4	91.0	84.7		
哺育児の肉眼的病理所見		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									
離乳児の肉眼的病理所見		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									
動 物 体 重	生後1日	a	6.5	6.3	6.3	6.2	6.3	6.1	6.2	6.1	
		b	—	—	—	—	6.4	6.3	6.3	6.1	
	生後4日	a	8.5	8.1	8.0	8.1	7.8	7.8	8.4	7.8	
		b	—	—	—	—	8.3	8.6	8.7	8.0	
	生後7日	a	12.9	11.8	11.9	12.2	12.1	11.4	12.5	11.5	
		b	—	—	—	—	11.8	12.6	12.7	12.0	
	生後14日	a	26.7	26.5	24.9	26.3	26.8	25.3	26.4	24.9	
		b	—	—	—	—	26.9	26.6	26.0	25.4	
	生後21日	a	44.7	43.6	41.0	43.0	44.3	41.8	42.6	42.2	
		b	—	—	—	—	44.8	43.4	42.4	41.8	
	身 体 的 分 化	耳介展開日*	a	3.9	4.3	4.3	4.4	4.1	4.3	3.9	4.3
			b	—	—	—	—	3.8	3.2	3.7	4.1
全身的毛生観察日*		a	13.4	13.2	13.5	13.8	13.5	13.8	13.1	13.7	
		b	—	—	—	—	12.7	11.7	12.2	12.2	
切歯萌出日*		a	10.5	10.4	11.0	11.2†	10.6	11.3	11.0	11.6†	
		b	—	—	—	—	11.0	10.9	10.6	12.0†	
開眼日*		a	17.6	18.2	18.1	18.0	17.2	17.7	17.5	17.7	
		b	—	—	—	—	17.7	17.8	18.0	18.1	
機 能 検 査	瞳孔反射 (陽性反応率)	a	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
		b	—	—	—	—	100.0	100.0	100.0	100.0	
	聴覚反応 (陽性反応率)	a	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
		b	—	—	—	—	100.0	100.0	100.0	100.0	

a, b: aは1産目、bは2産目を意味する

†: P<0.05 (Student-Neuman-Keuls 検定)

*: 個体別表から申請者が平均分化日として算出した

表 3 切歯萌出割合%の経時変化					
世代	生後日数	投与量 (ppm)			
		対照群	100	300	1000
F1a	10日	82.6	70.3	63.7	43.1 \downarrow
	11日	95.6	92.6	87.9	83.9
	12日	98.2	99.5	97.9	96.7
	13日	100.0	99.5	99.0	99.5
	萌出までの平均日数	10.5	10.4	11.0	11.2 \uparrow
F2a	9日	47.5	31.9	45.4	20.4 \downarrow
	10日	79.0	68.4	76.2	48.0 \downarrow
	11日	95.8	84.2	91.5	77.5 \downarrow
	12日	100.0	98.1	98.6	91.7 \downarrow
	13日	100.0	100.0	100.0	100.0
萌出までの平均日数	10.6	11.3	11.0	11.6 \uparrow	
F2b	10日	78.8	77.9	71.1	40.3 \downarrow
	11日	89.5	86.0	95.8	65.7 \downarrow
	12日	99.2	97.1	97.9	89.2
	13日	99.2	98.5	100.0	99.3
	萌出までの平均日数	11.0	10.9	10.6	12.0 \uparrow

統計学的方法：Student-Neuman-Keuks 検定 \uparrow ：P<0.05 \downarrow ：P<0.01

1-9-2 ラットを用いた催奇形性試験

(資料 19)

試験機関：ヘルムン・ラボラトリーズ (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体の純度：

試験動物：Sprague Dawley (CrI:CD(SD)BR)系妊娠ラット(交配時約8~12週齢、
体重180~245g)、1群各30匹

試験期間：75日間(1987年8月13日~1987年10月26日)

方法：検体を0.1%Tween 80水溶液に懸濁し、10mL/kgの一定容量で0、20、60及び160mg/kg/日の用量を、交尾雌ラットの妊娠6~15日の10日間にわたって毎日1回強制経口投与した。妊娠20日に帝王切開した。なお、対照群には0.1%Tween 80水溶液を投与した。投与液は投与直前に毎日調整した。精子又は腔栓が認められた日を妊娠0日とした。

投与量設定の根拠：

検査項目：

親動物：一般状態及び生死を毎日観察した。

体重は妊娠0、6~15、20日に測定した。摂餌量は妊娠0~6、6~10、10~15、15~20日に測定した。妊娠20日目に全生存動物を屠殺し、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数(早期及び後期)を検査した。

生存胎児：全胎児を対象として、性別と外表異常を観察し、体重を測定した後、内臓異常の有無を観察した。各同腹児の1/2(可能な限り子宮角内の部位にしたがって1匹おきに選抜)について、内臓を摘出し、95%エタノールに固定後、骨格異常を検査した(アリザリン染色法)。残りの胎児はブアン液に固定後、Wilson法で内臓異常の有無を検査した。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

親動物：検体投与に関連する一般状態の変化及び肉眼的病変は認められなかった。投与に関連すると考えられる変化は 160mg/kg 群で認められ、妊娠 10 日以後の有意な体重の低値、妊娠 6～10 日における顕著な体重増加の抑制、投与期間中の摂餌量の有意な減少であった。妊娠率及び着床前死亡率に对照群と投与群間の差は認められなかった。

検体投与に関連した胚毒性としては、160mg/kg 群で 2 匹の母動物に子宮内全胚吸収が認められたため、同群の平均早期吸収胚数及び着床後吸収率は有意ではなかったが、軽度増加した。この早期吸収胚の増加は母体に対する体重増加の抑制及び摂餌量の減少に起因するものと考えられる^(注)。母動物当りの平均胎児数は全群で同程度であった。

胎児動物：性比及び平均体重には検体投与の影響はみられなかった。胎児で観察された外表、内臓及び骨格奇形はいずれも、この系統のラットで通常みられるものであり、また、発現頻度も低かったことから、検体投与に起因したものとは考えられなかった。

器官形成期に検体 160mg/kg/日をラットに強制経口投与した場合、母体毒性(体重増加の抑制、摂餌量の減少)及び軽度の胚毒性(平均早期吸収胚数と着床後死亡率の軽度な増加)が誘発された。20 及び 60mg/kg/日を投与した場合、投与の影響はみられなかった。胎児に対し催奇形性はいずれの用量でもみられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した時の母体に対する最大無毒性量は 60mg/kg/日、胎児に対する最大無毒性量は 60mg/kg/日であった。また、最高用量の 160mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性がないと判断される。

投与群 (mg/kg/day)		対照 (0)	20	60	160
親動物	交配雌数	30	30	30	30
	妊娠雌数 (率)	25 (83.3)	20 (66.7)	22 (73.3)	23 (76.6)
	死亡雌数	0	0	0	1
	全胚吸収親動物数	0	0	1	2
	流産数	0	0	0	0
	一般状態				
	皮膚の傷害		1	2	1
	鼻部腫脹			1	
	脱毛				1
	体重 (g)				
	妊娠 0日	204.2	203.8	200.5	201.5
	妊娠 6日	237.6	233.1	233.8	233.5
	妊娠 10日	259.4	256.5	253.1	240.5↓
	妊娠 15日	289.4	285.0	283.1	270.8↓
	妊娠 20日	356.2	352.3	346.2	335.8↓
体重変化	—	変化なし	変化なし	妊娠 6~10日に顕著な抑制	
摂餌量 (g)					
妊娠 0~6日	21.8	21.6	21.8	21.6	
妊娠 6~10日	23.2	23.1	22.0	16.5↓	
妊娠 10~15日	26.2	25.7	25.7	21.3↓	
妊娠 15~20日	28.3	28.3	25.9	28.3	
剖検所見					
腎盂拡張	1	4	4	1	
水腎症		1			
肺葉暗赤色斑			1		
盲腸内黒色物充満				1	
着床所見	検査親動物数	25	20	21	20
	黄体数	15.4	15.4	15.7	16.3
	着床数	13.1 (13.1)	13.5 (13.5)	12.7 (12.1)	13.5 (13.6)
	着床前吸収率 (%)	14.9	12.2	17.5	16.2
	生存胎児数	12.6 (12.6)	12.6 (12.6)	12.1 (11.5)	12.6 (11.4)
	早期吸収胚数	0.5 (0.5)	0.9 (0.9)	0.6 (0.6)	1.0 (2.2)
	後期吸収胚数	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
	死亡胎児数	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
	着床後吸収率 (%)	3.9 (3.9)	6.3 (6.3)	4.4 (8.8)	7.2 (15.6)

表中下段の () 内の数値は、全胚吸収親動物を含めた値。

↓: 対照群に比べ有意な低下、P<0.01 (Dunnett の t 検定)

投与群 (mg/kg/day)		対照 (0)	20	60	160
検査動物数		25	20	21	20
生存胎児数		315	251	254	251
性比 (平均雄%)		50.2	59.5	46.8	50.4
体重 (g)	雄	3.47	3.54	3.56	3.43
	雌	3.32	3.31	3.37	3.27
外表検査	検査胎児数	315	251	254	251
	奇形数 (率)	0 (0.0)	1 (0.4)	0 (0.0)	1 (0.4)
	無尾	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)
	小顎症	0 (0.0)	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)
	体幹短縮	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)
内臓検査	検査胎児数	159	125	129	123
	奇形数 (率)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	右側無精巢症	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	変異数 (率)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (2.4)
	腎盂拡張 (片側)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.6)
腎盂拡張 (両側)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	
胎児動物骨格検査	検査胎児数	156	126	125	127
	奇形数 (率)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)
	脊椎側湾	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)
	変異数 (率)	151 (96.8)	124 (98.4)	125 (100.0)	126 (99.2)
	前頭骨骨化不全	2 (1.3)	2 (1.6)	0 (0.0)	2 (1.6)
	前頂骨骨化不全	18 (11.5)	25 (19.8)†	22 (17.6)	24 (18.9)
	頭頂間骨骨化不全	107 (68.6)	79 (62.7)	98 (78.4)†	94 (74.0)
	後頭骨骨化不全	70 (44.9)	69 (54.8)	65 (52.0)	77 (60.6)†
	切歯骨骨化不全	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	耳介輪骨化不全	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	下顎骨骨化不全	2 (1.3)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
	側頭骨骨化不全	5 (3.2)	6 (4.8)	8 (6.4)	4 (3.1)
	上顎骨骨化不全	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	肋骨未骨化	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	1 (0.8)
	波状肋骨	3 (1.9)	5 (4.0)	1 (0.8)	0 (0.0)
	不均一な厚さの肋骨	1 (0.6)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
	肋骨骨化不全	2 (1.3)	4 (3.2)	1 (0.8)	0 (0.0)
	第13肋骨両側性短縮	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	1 (0.8)
	肋骨短縮	4 (2.6)	4 (3.2)	0 (0.0)	3 (2.4)
	脊椎椎体未骨化	2 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	脊椎椎体分離	6 (3.8)	2 (1.6)	3 (2.4)	4 (3.1)
	脊椎椎体骨化不全	49 (31.4)	38 (30.2)	37 (29.6)	31 (24.4)
	鼻骨骨化不全	10 (6.4)	9 (7.1)	10 (8.0)	9 (7.1)
	胸骨分節未骨化	109 (69.9)	82 (65.1)	84 (67.2)	92 (72.4)
	胸骨分節骨化不全	68 (43.6)	45 (35.7)	57 (45.6)	56 (44.1)
	胸骨分節非対称	1 (0.6)	1 (0.8)	1 (0.8)	1 (0.8)
	脊椎椎体片側性骨化	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)
	骨盤骨格部分的骨化不全	12 (7.7)	8 (6.3)	5 (4.0)	2 (1.6)↓
	中手骨の未骨化・骨化不全	134 (85.9)	88 (69.8)↓	101 (80.8)	115 (90.6)
	中足骨の未骨化・骨化不全	5 (3.2)	0 (0.0)	2 (1.6)	1 (0.8)
	頬骨骨化不全	2 (1.3)	4 (3.2)	3 (2.4)	1 (0.8)

†: 対照群に比べ有意な増加・低下、 $P \leq 0.05$ (Fischer の直接確率計算法、申請者が実施)

1-9-3 ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 20)

試験機関：ヘーセル・ラボラトリーズ (ドイツ)
[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体の純度：

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ(交配時約 14~17 週齢、体重 2.9~4.1kg)

1 群各 22 匹

試験期間：120 日間(1987 年 8 月 13 日~1987 年 12 月 10 日)

方法：検体を 0.1%Tween80 水溶液に懸濁し、10mL/kg の一定容量で、0、135、300 及び 650mg/kg/日の用量を、交尾雌ウサギの妊娠 6~18 日の 13 日間にわたって毎日 1 回強制経口投与した。妊娠 28 日に帝王切開した。交尾した日を妊娠 0 日とした。自然交配させ、交尾雌には、50I.U. の黄体形成ホルモンを静脈内注射し、排卵を促した。

なお、対照群には 0.1%Tween80 水溶液を投与した。投与液は投与直前に毎日調製した。

用量設定の根拠：

検査項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察した。

体重は妊娠 0、6~18、24、28 日に測定した。摂餌量は妊娠 0~6、6~12、12~18、18~24、24~28 日に測定した。

妊娠 28 日目に全生存動物を屠殺し、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数(早期及び後期)を検査した。

生存胎児；全胎児を対象として、性別と外表異常を観察し、体重を測定した後、内臓異常の有無を観察した。各同腹児の約 1/2 の胎児を選抜して(可能な限り子宮角内の偶数番目の胎児)頭部を切り取り、ブアン液に固定後、改良 Wilson 法で脳の異常の有無を検査した。全胎児を 95%エタノール溶液に固定後、骨格標本を作製して骨格異常(アリザリン染色法)の有無を検査した。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

親動物：検体投与に関連する一般状態の変化及び肉眼的病変は認められなかった。

投与に関連すると考えられる変化は主として 650mg/kg 群で認められ、妊娠 12 日以後の有意な体重の低値、妊娠 6～18 日における体重増加の抑制、投与期間中の摂餌量の有意な減少及び流産の増加(3 匹)であった。

300mg/kg 群では、全投与期間を通しての体重増加は対照群と同等であったが、投与開始直後に体重増加の極く僅かな抑制が認められた。

その他の検査項目に検体投与の影響はみられなかった。

胎児動物：性比及び平均体重、並びに外表、内臓及び骨格奇形には検体投与の影響はみられなかった。又、骨格変異の型別にみた場合、過剰肋骨、胸骨分節の未骨化、骨盤骨格の部分的未骨化/骨化不全等の発生頻度が高かったが、変異総数で見ると対照群との差はなく、又この系統のウサギで通常みられる変異であり、検体投与に起因したものとは考えられなかった。

ジメトモルフ原体を、器官形成期のウサギに強制経口投与した場合、650mg/kg では母体毒性(体重増加の抑制、摂餌量の減少)及び胚毒性(流産数の増加)が誘発された。300mg/kg を投与した場合、母体毒性(投与直後の体重増加の極く僅かな抑制)が見られた。135mg/kg を投与した場合、投与の影響はみれなかった。胎児に対し催奇形性はいずれの用量でも認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与した時の母体に対する最大無毒性量は 135mg/kg/日、胎児に対する最大無毒性量は 650mg/kg/日であった。また、最高用量の 650mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性がないと判断される。

親動物に対する影響

投与群 (mg/kg/day)		対照 (0)	135	300	650	
親動物	交配雌数	22	22	22	22	
	妊娠雌数 (妊娠率)	20 (90.9)	17 (77.3)	18 (81.8)	20 (90.9)	
	妊娠雌の死亡数	1 (誤投与)	0	2 (1例は誤投与)	4 (2例は誤投与)	
	全胚吸収数	1	2	0	1	
	流産数	1	1	0	3	
	剖検時生存児のいた雌数	17	14	16	12	
	一般状態	生存動物 飲水量減少 下痢 排泄物受皿に血液	8/20 3/20 (軽度)	7/20	8/19 1/19 (重度) 2/19	11/15 1/15
		死亡または流産動物 摂餌量の減少 飲水量減少 下痢 排泄物受皿に血液 腹部及び前肢の腫脹	1/2	1/2	1/3	5/7 1/7 1/7
	動物	妊娠 0日	3.5	3.3	3.4	3.5
		妊娠 6日	3.8 (3.8)	3.6 (3.7)	3.7 (3.7)	3.8 (3.7)
		体重 ^a (kg) 妊娠 12日	4.0 (3.9)	3.7 (3.8)	3.7 (3.8)	3.8 (3.7)
		妊娠 18日	4.1 (4.0)	3.8 (3.9)	3.9 (3.9)	3.8 (3.7)
		妊娠 24日	4.2 (4.1)	3.9 (4.0)	4.0 (4.1)	4.0 (3.9)
		妊娠 28日	4.3 (4.2)	4.0 (4.1)	4.1 (4.2)	4.1 (4.0)
動物	体重変化	—	変化なし	投与開始直後に 極軽度な減少	妊娠 6~18日に 減少	
動物	妊娠 0~6日	205.6 (203.0)	196.4 (200.4)	191.1 (192.9)	195.8 (192.5)	
	妊娠 6~12日	206.8 (200.5)	183.2 (190.7)	177.1 (179.9)	147.0 (144.1)	
	摂餌量 ^b (g/日) 妊娠 12~18日	186.3 (177.8)	152.9 (158.1)	157.6 (160.8)	122.6 (124.6)	
	妊娠 18~24日	186.5 (174.5)	168.2 (174.4)	176.5 (180.2)	156.1 (161.7)	
	妊娠 24~28日	149.1 (142.3)	125.1 (128.2)	166.9 (167.2)	152.0 (154.1)	
	妊娠 6~18日	192.7 (186.9)	170.5 (177.3)	167.4 (170.2)	134.8 (132.1)	
	剖検所見	生存動物 肝剖面顆粒状 肝小葉像明瞭 腎黄色化 腎小型化 脾剖面顆粒状	1/20	3/20 1/20 1/20	2/19 1/19 1/19	1/15
		死亡または流産動物 肝剖面顆粒状 肺炎 腹部及び前肢に腫症 腎黄色化 肝明調化/脾暗調化	1/2	1/2	1/3 1/3 1/3 1/3	3/7 1/7

^a: () 内の体重値は妊娠 0日の体重を共変量として調整した値。

^b: () 内の摂餌量は測定期間初日の体重を共変量として調整した値。

統計学的方法: ANCOVA の後、Dunnnett の多重比較検定を実施 ↓ : P<0.05、↓ : P<0.01

親動物に対する影響(続き)

投与群 (mg/kg/day)		対照 (0)	135	300	650	
親動物	着床所見 ^d	検査親動物数	17	14	16	12
		黄体数	11.2	11.6	11.6	11.0
		着床数	6.7 (6.4)	6.7 (6.0)	7.4 (7.4)	7.9 (7.5)
		着床前損失率 (%)	37.4	41.7	35.8	25.7
		生存胎児数	6.1 (5.7)	6.3 (5.5)	6.9 (6.9)	7.2 (6.6)
		早期吸収胚数	0.6 (0.7)	0.4 (0.5)	0.4 (0.4)	0.5 (0.7)
		後期吸収胚数	0.1 (0.1)	0.0 (0.0)	0.1 (0.1)	0.0 (0.0)
		死亡胎児数	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.2 (0.2)
		着床後損失率 (%)	10.0 (15.0)	6.6 (18.3)	5.3 (5.3)	11.3 (18.1)

表中下段の () 内の数値は、全胚吸収親動物も含めた値。

^d: 着床所見は Kruskal-Wallis 検定で有意差なし。

胎児動物に対する影響(奇形及び主要な骨格変異)

投与群(mg/kg/day)		対照(0)		135		300		650	
検査腹数		17		14		16		12	
生存胎児数		103		88		110		86	
性比(平均雄%)		46.0		50.2		58.6		50.4	
体重(g)	雄	41.9		38.4		37.4		37.9	
	雌	40.1		37.3		36.7		36.4	
		発生数	発生率%	発生数	発生率%	発生数	発生率%	発生数	発生率%
胎	検査胎児数 ¹	103 (51)		88 (42)		110 (53)		86 (44)	
	奇形数/腹			1/1	1.1	2/2	1.8		
	無尾			1	1.1	2	1.8		
	関節拘縮症/無頭症 眼瞼開存症							1/1 ² 1/1 ²	
内臓検査	奇形数/腹 ³	3/3	2.9(5.9)			1/1	0.9(1.9)	2/2	2.3(4.5)
	脳室拡張 ³	3	2.9(5.9)			1	0.9(1.9)	2	2.3(4.5)
	変異数/腹 膀胱に赤色組織層隣接					1/1	0.9		
児	奇形数/腹	1/1	1.0	1/1	1.1	1/1	0.9		
	肋骨癒合			1	1.1				
	肋骨裂			1	1.1				
	二分肋骨					1	0.9		
	脊柱側湾症	1	1.0	1	1.1	1	0.9		
動物検査	変異数/腹	100/17	97.1	87/14	98.9	110/16	100.0	85/12	98.9
	片側性過剰肋骨	5	4.9	2	2.3	5	4.5	2	2.3
	両側性過剰肋骨	47	45.6	45	51.1	68	61.8†	53	61.6†
	脊柱と連結のない片側性過剰肋骨	2	1.9			6	5.5	4	4.7
	不均一な厚さの肋骨	30	29.1	11	12.5†	23	20.9	20	23.3
	第13肋骨両側性短縮	11	10.7	13	14.8	9	8.2	8	9.3
	第13肋骨短縮	26	25.2	18	20.5	20	18.2	20	23.3
	胸骨分節未骨化	40	38.8	29	33.0	62	56.4†	45	52.3†
	胸骨分節骨化不全	54	52.4	44	50.0	52	47.3	42	48.8
	中手・中足骨の未骨化・骨化不全	10	9.7	10	11.4	23	20.9†	9	10.5
	距骨の未骨化・骨化不全	12	11.7	15	17.0	19	17.3	24	27.9†
	骨盤骨格部分的骨化不全	9	8.7	18	20.5	36	32.7†	16	18.6†
	骨盤骨格部分的未骨化			2	2.3	5	4.5†	8	9.3†
	前肢指節骨の未骨化・骨化不全	39	37.9	42	47.7	60	54.5	44	51.2†
後肢指節骨の未骨化・骨化不全	14	13.6	14	15.9	22	20.0	14	16.3	

空欄は所見なし

¹: Wilson 粗大切片法で頭部を検査した胎児数

²: 死亡胎児にみられた所見

³: Wilson 法で頭部を観察した胎児数を母数として出現率を計算した。

統計学的方法: Fischer の直接確率計算法、††: P ≤ 0.05 (申請者が実施)

1-10 変異原性試験

1-10-1 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 21)

試験機関：シェル・ソフティング・ホーム・リサーチ・センター(英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体の純度：

方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*(T1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*(WP2 *uvrA* pKM101 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9)の存在下及び非存在下で 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に DMSO を用いた。検体の細胞毒性、トッブアガー中の溶解度及び試験系の pH に対する影響に関する予備試験の結果より、5000 μ g/プレート を最高用量とした。試験濃度は 31.25、62.5、125、250、500、1000、2000 及び 5000 μ g/プレートの 8 用量とした。試験は 3 連制とし、2 回行った。S9 mix の活性及び供試菌株の感受性は、次の既知陽性対照物質を試験培地に添加して検査した。

菌株	S9 Mix 非存在下		S9 Mix 存在下	
	陽性対照物質	μ g/プレート	陽性対照物質	μ g/プレート
WP2 <i>uvrA</i>	ニコロム酸カリウム(PD)	20	ベンゾピレン(BP)	10
TA1535	アジ化ナトリウム(NaN_3)	2	2-アミノアントラセン(AAN)	5
TA1537	9-アミノアクリジン(AAC)	50	ニュートラルレッド(NR)	20
TA1538	2-ニトロフルオレン(NF)	5	ベンゾピレン(BP)	10
TA98	2-ニトロフルオレン(NF)	5	ベンゾピレン(BP)	10
TA100	アジ化ナトリウム(NaN_3)	2	ベンゾピレン(BP)	10

復帰変異コロニー数が、再現性をもって用量依存的に増加した場合、又は、陰性対照値の 2.5 倍以上であった場合、検体は変異原性を有するものと判定した。

結果：結果を次頁の表に示す。

検体は、代謝活性化系の有無にかかわらず全ての菌株で投与限界量である 5000 μ g/プレートの濃度においても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。細胞毒性は TA1537 株でのみ認められた。

一方、本試験に供した陽性対照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。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下で復帰突然変異誘発性はないものと判断される。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9mix の 有無	復帰変異コロニー数 / プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 <i>uvrA</i>	TA1535	TA100 [±]	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	0	—	81.3	12.0	54.0	9.3	10.3	19.0
			123.0	11.7	50.7	11.3	11.7	18.0
ジ	31.25	—	86.0	8.0	59.3	9.0	9.3	13.7
			123.0	16.3	52.7	13.0	10.3	14.0
メ	62.50	—	85.3	10.7	58.0	14.7	13.3	19.3
			127.3	12.7	50.0	10.3	8.3	13.7
ト	125.00	—	92.0	12.0	53.3	8.3	10.7	16.7
			127.7	10.7	43.3	12.3	10.3	14.0
モ	250.00	—	104.7	14.0	59.0	9.3	10.3	16.7
			121.7	11.0	47.0	14.7	10.0	17.0
ル	500.00	—	101.0	10.3	45.3	11.7	10.0	18.3
			127.3	12.0	44.3	11.3	11.7	16.0
フ	1000.0	—	97.7	10.0	36.0	14.3	12.0	20.3
			131.7	12.0	45.7	15.7	9.3	16.0
フ	2000.0	—	98.0	7.7	30.3	10.7	11.3	19.0
			127.0	13.0	36.0	11.3	11.7	16.3
フ	5000.0	—	97.7	9.3	9.7	4.7	7.0	15.3
			99.7	7.3	7.7	4.3	7.7	13.0
陽性 対照	(a)	—	396.3*	643.3*	295.0*	268.0*	353.7*	325.0*
			503.7*	705.0*	389.7*	282.0*	796.0*	347.3*
対照 (DMSO)	0	+	111.7	12.3	50.7	10.3	16.3	20.7
			119.7	10.7	62.7	15.7	20.0	18.7
ジ	31.25	+	117.7	11.0	57.3	11.0	18.7	19.3
			120.3	13.0	59.7	17.0	21.7	18.7
メ	62.50	+	111.0	15.0	53.3	9.7	22.0	20.0
			128.3	9.0	57.0	12.3	21.0	16.3
ト	125.00	+	122.7	12.7	51.0	10.3	19.0	22.0
			158.3	10.7	58.0	19.7	20.0	18.7
モ	250.00	+	99.7	10.7	47.7	8.3	22.7	20.3
			163.7	11.7	52.7	14.7	21.3	12.0
ル	500.00	+	105.7	12.7	66.7	13.7	18.3	20.0
			159.7	11.3	59.7	16.0	18.7	19.0
フ	1000.0	+	106.0	10.0	55.3	15.0	24.0	16.0
			144.7	15.0	45.7	15.7	24.7	16.0
フ	2000.0	+	117.0	11.0	48.7	9.3	18.0	19.7
			142.0	12.3	39.7	16.3	29.0	22.7
フ	5000.0	+	112.7	9.0	38.3	3.0	7.3	14.0
			121.0	12.0	6.7	8.3	21.7	12.3
陽性 対照	(a)	+	450.3*	99.0*	617.3*	94.7*	83.0*	316.3*
			561.7*	149.7*	489.7*	337.0*	194.3*	331.0*

(a) : 陽性対照物質及びその濃度は、方法の項参照。

* : 復帰変異コロニー数が陰性対照値の 2.5 倍以上

上段 : 1 回目の試験の結果 ; 下段 : 2 回目の試験の結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF 7が 0株式会社にある。 info@bayer.com

1-10-2 チャイニーズ・ハムスターV79 細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験
(HPRT 前進突然変異試験) (資料 22)

試験機関：RCC Notox B.V. (オランダ)

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスターV79 細胞のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、2 回行なった。溶媒として DMSO を用いた。

用量設定根拠：S-9 mix の非存在下及び存在下とも 3~1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度範囲の 5 濃度で 2 時間、細胞を検体で処理した。処理後、細胞数を計測した。さらに、検体を除去後、細胞をシャーレに播種して 7 日間培養後、コロニーを固定染色して、計数し、細胞毒性 (コロニー形成率) を調べた。その結果、コロニー形成率は S-9 mix の非存在下で 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理区は 54% 抑制され、333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の処理区ではコロニーの形成は見られなかった。S-9 mix の存在下では、333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理区で 96% 抑制され、1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理区ではコロニーの形成は見られなかった。これらの結果から S-9 mix の非存在下では 33~180 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S-9 mix の存在下では 133~333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲の各 4 濃度を選定した。

処理濃度：用量設定試験で設定した範囲の濃度を越える下記の濃度で試験したが、設定濃度を越えた 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (S-9 mix 非存在下) 並びに 33 及び 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (S-9 mix 存在下) では毒性がない、又 237 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (S-9 mix 非存在下) では過剰であったために、変異原性の検定にこれらの濃度は用いなかった。

検体処理区 (S-9 mix 非存在下) 10、33、100、133、180 及び 237 $\mu\text{g}/\text{mL}$

検体処理区 (S-9 mix 存在下) 33、100、133、180、237 及び 333 $\mu\text{g}/\text{mL}$

自然 HPRT 欠損突然変異体を除いた細胞を播種し (6×10^6 個/フラスコ)、代謝活性化系の非存在下及び存在下で、血清を含まない HEPES 緩衝 Ham F-10 培地中で 2 時間、検体処理を行った。細胞をハンクス液で洗浄後、細胞を完全培地に再懸濁し、ついで細胞数を計測して、細胞を播種し、培養した。突然変異発現時間の間に 2 回継代培養した。培養 7 日後、コロニー形成率を調べるために、200 細胞をシャーレに 3 反復で播種した。突然変異体を選択するために、少なくとも 10^6 細胞 (10^5 細胞/シャーレ) を選択培地を含むシャーレに播種した。7~10 日後、固定・染色して変異体コロニー数を計測した。

陰性 (溶媒) 対照及び陽性対照 [S-9 mix の非存在下では 6 mM エチルメタンサルホネート (EMS)、S-9 mix の存在下では 8 mM ジメチルニトロサミン (DMN)] も同様に試験した。

試験結果：結果を次表に示した。

本検体は S-9 mix の有無に係らず、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いた EMS 及び DMN 処理区では突然変異出現頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果より、本検体はチャイニーズ ハムスター V79 細胞を用いた *in vitro* HPRT 前進突然変異試験において、代謝活性化系の有無に係らず突然変異誘発性を有しないと判断される。

	薬物	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 mix の有無	コロニー形成率 (%)		平均突然変異体 数/プレート	変異頻度 $\times 10^5$	
				試験 0 日 (対陰性対照比%)	試験 7 日 (絶対値%)			
実験 1	陰性対照 (DMSO)	0.8%	-	100	74	0.2	0.3	
	検体	33	-	103	85	0.6	0.7	
		100	-	97	86	0.5	0.6	
		133	-	98	93	1.2	1.3	
		180	-	10	46	0.3	0.6	
		陽性対照 (EMS)	6 mM	-	105	74	15.6	21.2
	実験 2	陰性対照 (DMSO)	0.8%	+	100	60	1.0	1.7
		検体	133	+	105	55	0.1	0.2
			180	+	90	52	0.2	0.4
			237	+	52	95	1.4	1.5
333			+	6	81	0.1	0.1	
陽性対照 (DMN)		8 mM	+	98	81	11.3	14.0	
実験 2		陰性対照 (DMSO)	0.8%	-	100	112	1.2	1.1
		検体	33	-	120	102	1.5	1.5
	100		-	109	101	0.8	0.8	
	133		-	73	70	0.8	1.2	
	180		-	21	57	0.2	0.4	
	陽性対照 (EMS)	6 mM	-	146	72	46.6	65.2	
	実験 2	陰性対照 (DMSO)	0.8%	+	100	165	2.2	1.3
		検体	133	+	108	157	1.0	0.6
			180	+	89	137	1.5	1.1
			237	+	105	144	1.6	1.1
333			+	5	126	0.1	0.1	
陽性対照 (DMN)		8 mM	+	93	126	25.5	20.2	

DMSO: ジメチルスルホキシド
 EMS: エチルメタンサルホネート
 DMN: ジメチルニトロサミン

1-10-3 チャイニーズハムスター肺由来の培養細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験
(資料 23)

試験機関：財団法人 残留農薬研究所 (日本)
[GLP 対応]
報告書作成年：1993 年 (実験 I)、1995 年 (実験 II)

検体の純度：96.2%

方法：チャイニーズハムスターの継代培養した肺細胞 (CHL) を用い、代謝活性化及び非活性化による染色体異常誘発性を検定した。

試験前に濃度設定のために実施した細胞増殖抑制試験の結果に基づき、代謝活性化系の非存在下における試験では細胞増殖率が溶媒対照の約 50%以上抑制される濃度を最高濃度とし、又代謝活性化系の存在下における試験では溶解限度の 3000mg/mL で検体の浮遊がみられ、培地に溶解せず、細胞に対してほとんど影響がなかったので、1500 μ g/mL を最高濃度として設定した。

代謝活性化系の非存在下では 23.4、46.9、93.8 及び 187.5 μ g/mL の 4 濃度 (24 時間処理)、または、11.7、23.4、46.9 及び 93.8 μ g/mL の 4 濃度 (48 時間処理) で実施した。陽性対照としてマイトマイシン C (MMC; 0.1 μ g/mL) 区を設けた。なお、細胞の採集 2 時間前にコルヒチン (0.5 μ g/mL) を培地に添加した。

代謝活性化系の存在下では 93.8、187.5、375、750 及び 1500 μ g/mL の 5 濃度 (6 時間処理後、処理培地を新鮮培地に交換してさらに 18 時間培養した) で実施した。陽性対照としてベンツ (a) ピレン (B(a)P; 40 μ g/mL) 区を設けた (実験 I)。さらに、代謝活性化系の存在下及び非存在下で追加試験 (実験 II) を、代謝活性化系の存在下では実験 I と同様の方法で行った。又、対照として S9 Mix を添加しなかった以外は同様の方法で行い、MMC (0.2 μ g/mL) 区も設けて代謝活性化系の非存在下で試験した。

代謝活性化系の存在下及び非存在下における試験ともに陰性対照として無処理及び溶媒 (DMSO) 区を設けた。なお、細胞の採集 2 時間前にコルヒチン (0.5 μ g/mL) を培地に添加した。

各濃度につき 2 枚のプレートを用い、各プレート当り CHL 細胞の核型 (25 \pm 1) を満足する 100 個の中期分裂像を観察した。数的異常については倍数性細胞を数えた。構造異常についてはギャップ (g)、染色分体型切断 (ctb)、染色分体型交換 (cte)、染色体型切断 (csb)、染色体型交換 (cse)、断片化 (frg) 及びその他 (oth) に分類し数した。染色体異常を有する細胞の出現数 (構造異常の場合はギャップを除く) について、溶媒対照と被験物質処理群との間で χ^2 検定を行った。

結 果 : 表 1-1~2-2 に示した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの検体投与群においても、細胞毒性を示した濃度を含め、染色体異常の出現頻度において濃度に関連した増加及び対照と比して有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた MMC(-S9mix) 及び B(a)P(+S9mix) 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、本検体の CHL 細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験における変異原性は陰性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BASF 7ケム株式会社にある。

実験 I

表 1-1 染色体異常試験結果(代謝活性化の非存在下(-S9 mix)、24時間処理)

処 理	処理濃度 μg/ml	観察 細胞数	分裂頻度 %	染色体構造異常細胞の出現数とその出現頻度(%)												評 価
				倍數体数(%)		染色体分体型		染色体型		断片化		その他		合計		
				g	g	ctb	cte	csb	cse	frg	oth	-g	+g			
無処理 対照	0	100	7.4	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2	3	
		100	6.5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	
		計(平均)	(7.0)	3(1.5)	2(1.0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)	6(3.0)	
溶媒対 照 (DMSO)	0.5%	100	6.4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
		100	5.4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
		計(平均)	(5.9)	3(1.5)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	4(2.0)	
ジメト モルフ	23.4	100	5.2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
		100	5.7	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	3	
		計(平均)	(5.5)	3(1.5)	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	5(2.5)	
	46.9	100	3.3	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
		100	5.2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	
		計(平均)	(4.3)	1(0.5)	3(1.5)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	5(2.5)	
	93.8	100	3.7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	3.6	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
		計(平均)	(3.7)	1(0.5)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	2(1.0)	
陽性対 照(MMC)	187.5 ^{a)}	100	2.2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	
		100	2.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
		計(平均)	(2.3)	0(0)	3(1.5)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	4(2.0)	
	0.1	100	3.8	0	0	21	13	0	0	0	0	0	0	26	26	
		100	3.3	0	5	12	17	1	0	0	0	0	0	22	23	
		計(平均)	(3.6)	0(0)	5(2.5)	33(16.5)	30(15.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	48(24.0)	49(24.5)	

Ctb : 染色体体切断 cte : 染色体分体型交換 csb : 染色体型切断 cse : 染色体型交換 -g : ギヤップを含めない場合 +g : ギヤップを含める場合

DMSO : ジメチルスルホキシド

MMC : マイトマイシンC

a) : 被験物質添加直後には折出が観察されたが、その後溶解した。

実験 I

表 1-2 染色体異常試験結果 (代謝活性化の非存在下 (-S9 mix)、48 時間処理)

処 理	処理濃度 μg/ml	観察 細胞数	分裂頻度 %	染色体構造異常細胞の出現数とその出現頻度 (%)										評 価		
				倍染色体数 (%)		染色体分体型		染色体型		断片化		その他			合計	
				g	g	ctb	cte	ctb	cte	csb	cse	frg	oth		-g	+g
無処理 対照	0	100	3.5	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	
		100	3.1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	
		計(平均)	(3.3)	3(1.5)	4(2.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(2.0)	9(4.5)	
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	100	3.2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
		100	2.9	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	
		計(平均)	(3.1)	0(0)	2(1.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)	4(2.0)	
ジメト モルフ	11.7	100	2.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
		100	2.7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		計(平均)	(2.7)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	2(1.0)	
	23.4	100	2.9	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	3	3	
		100	2.0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
		計(平均)	(2.5)	1(0.5)	2(1.0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(2.0)	4(2.0)	
	46.9	100	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		計(平均)	(2.4)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	
	93.8	100	1.4	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	3	
		100	1.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		計(平均)	(1.5)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	4(2.0)	
陽性対照 (MMC)	0.1	100	3.6	0	18	28	1	0	0	0	0	0	0	34	34	
		100	3.3	1	13	23	1	1	0	0	0	0	0	29	31	
		計(平均)	(3.5)	1(0.5)	31(15.5)	51(25.5)	2(1.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	63(31.5)	65(32.5)	

Ctb : 染色分体切断 cte : 染色体型交換 csb : 染色体型交換 cse : 染色体型交換 g : ギャップを含めない場合 +g : ギャップを含める場合

DMSO : ジメチルスルホキシド

MMC : マイトマイシンC

実験 I

表 1-3 染色体異常試験結果(代謝活性化の存在下 (+S9 mix)、6 時間処理)

処 理	処理濃度 μg/ml	観察 細胞数	分裂頻度 %	倍數体數 (%)		染色体構造異常細胞の出現數とその出現頻度 (%)										評 価			
				g	評価	染色体分体型			染色体型		断片化 frg	その他 oth	合計						
						ctb	cte	csb	cse	-g			+g						
無処理 対 照	0	100	6.7	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
		100	5.5	0		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
		計(平均)	(6.1)	0(0)		3(1.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)	
溶媒対照 (DMSO)	0.5%	100	5.8	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
		100	5.0	0		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	
		計(平均)	(5.4)	0(0)		4(2.0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	5(2.5)		
ジメト モルフ	93.8	100	6.7	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		100	5.3	0		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
		計(平均)	(6.0)	0(0)		4(2.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(2.0)		
187.5 ^{a)}	100	5.8	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	100	5.3	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	計(平均)	(5.6)	0(0)		1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)		
375 ^{b)}	100	4.9	1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	100	4.9	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	計(平均)	(4.9)	1(0.5)		1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)		
750 ^{b)}	100	4.4	0		4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	
	100	4.9	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	計(平均)	(4.7)	0(0)		5(2.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	5(2.5)		
1500 ^{b)}	100	6.9	1		2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	
	100	5.2	0		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
	計(平均)	(6.1)	1(0.5)		3(1.5)	1(0.5)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)	5(2.5)			
陽性対照 [B(a)P]	40	100	5.4	0		3	13	40	3	3	0	0	0	0	0	45	45		
		100	5.9	0		3	11	34	5	3	0	0	0	0	38	40			
		計(平均)	(5.7)	0(0)		6(3.0)	24(12.0)	74(37.0)	8(4.0)	6(3.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	83(41.5)	85(42.5)			

被験物質処理後の細胞回復時間：18 時間

ctb：染色体分体型交換 cte：染色体分体型交換 csb：染色体型切断 cse：染色体型交換 -g：ギャップを含めない場合 +g：ギャップを含める場合

DMSO：ジメチルスルホキシド B(a)P：ベンツ(a)ピレン

^{a)}：被験物質添加直後には析出が観察されたが、その後溶解した。 ^{b)}：被験物質の析出が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF 7ケル株式会社にある。

実験Ⅱ 表 2-2 染色体異常試験結果(代謝活性化法、+S9 mix、6 時間処理)

処理	処理時 間(h)	S9 mix	処理濃度(μ g/ml)	観察 細胞数	分裂頻度 (%)	倍數性細胞數		構造的染色体異常を有する細胞の出現數と出現頻度										
						判定	ギヤップ ^{a)} g	染色体分体型		断片化		その他		合計		判定		
								ctb	cta	csb	cse	frg	oth	+g	-g			
無処理	6 ^{a)}	+	0	100	7.0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
				100	5.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				計(平均)	(6.3)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)		
溶媒対照 (DMSO)	6 ^{a)}	+	0.5%	100	6.3	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	3	3	
				100	6.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				計(平均)	(6.4)	0(0)	0(0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)	3(1.5)		
ジメト モルフ	6 ^{a)}	+	93.8	100	7.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				100	5.6	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
				計(平均)	(6.7)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	1(0.5)		
ジメト モルフ	6 ^{a)}	+	187.5 ^{b)}	100	5.8	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
				100	4.1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
				計(平均)	(5.0)	1(0.5)	2(1.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)	1(0.5)		
ジメト モルフ	6 ^{a)}	+	375 ^{c)}	100	3.4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	2		
				100	4.1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1	-
				計(平均)	(3.8)	0(0)	2(1.0)	1(0.5)	1(0.5)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	4(2.0)	3(1.5)			
ジメト モルフ	6 ^{a)}	+	750 ^{c)}	100	5.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				100	4.5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	-
				計(平均)	(4.8)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	1(0.5)			
ジメト モルフ	6 ^{a)}	+	1500 ^{d)}	100	6.5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1		
				100	4.3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	-
				計(平均)	(5.4)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	1(0.5)			
陽性対照 [B(a)P]	6 ^{a)}	+	40	100	3.4	0	4	16	36	2	1	0	0	0	45	43		
				100	2.9	0	3	7	40	1	1	0	0	0	43	41	+ ^{e)}	
				計(平均)	(3.2)	0(0)	7(3.5)	23(11.5)	76(38.0)	3(1.5)	2(1.0)	0(0)	0(0)	88(44.0)	84(42.0)			

ctb : 染色体分体型切断 cte : 染色体分体型交換 cse : 染色体分体型切断 csa : 染色体分体型交換
 B(a)P : ベンツ(α)ピレン MMS : マイトマイシンG
 a) : 被験物質を S9 Mix 存在下で 6 時間処理し、培地交換後さらに 18 時間培養した。
 b) : 被験物質溶液添加後、被験物質の析出が認められたが 6 時間後に溶解した。
 c) : 被験物質溶液添加後、被験物質の析出が認められた。
 d) : +g および g 共に、溶媒対照群に対し P ≤ 0.001 で有意 (カイ二乗検定)。
 e) : 被験物質溶液添加後、被験物質の析出が認められた。

1-10-4 ヒト末梢リンパ球培養細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験 (資料 24)

試験機関 : RCC Notox B. V. (オランダ)
[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検体の純度 :

方法 : ヒト末梢リンパ球培養細胞を用い、代謝活性化系の非存在下及び存在下で染色体異常誘発性を検定した。

用量設定根拠 : リンパ球培養細胞を用い、代謝活性化系の非存在下及び存在下で検体濃度 1、3、10、33、100、333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 培地で処理した。代謝活性化系の非存在下では分裂指数が 333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 30%減少した。代謝活性化系の存在下では分裂指数が 333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 63%、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では 42%減少した。代謝活性化系の有無に係わらず 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では細胞分裂は見られなかった。この結果から下記の用量を選定した。

試験用量 :

検体処理区 (S-9 mix 非存在下) : 10、100、333、422、565 及び 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 培地

検体処理区 (S-9 mix 存在下) : 1、10、100、333 及び 422 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 培地

陰性対照 (DMSO) 区及び陽性対照 [S-9 mix 非存在下でマイトマイシン C (MMC) 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 培地、S-9 mix 存在下でシクロホスファミド (CP) 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 培地] 区を設けた。

試験方法 : リンパ球は 24 時間培養後、代謝活性化系の有無に係わらず検体を上記の濃度を 2 反復で処理した。処理 2 時間後、細胞を HBSS で洗浄して、さらに 21~23 時間 (第 1 回固定時期) 及び 45~47 時間 (第 2 回目固定時期) 生育培地中で培養した。培養終了 3 時間前に、コルヒチンを添加して細胞分裂を停止させた。この培養細胞を遠沈して、細胞ペレットは低張塩化カリウム溶液を用いて膨潤させた後、細胞を固定した。固定細胞を試験濃度当りスライド 2 枚に広げ、乾燥/染色して検査用標本作製した。

分裂指数/染色体異常検査濃度の選定 : 分裂指数は細胞 1000 個あたり中期細胞数を計測して求めた。第 1 回固定時期 (24 時間後採取) については、分裂指数が約 50~20%抑制された培養のよく拡がった中期の染色体を有する処理区について分析した。又、第 2 回目固定時期 (48 時間後採取) については、適当な 1 濃度について分析した。

染色体異常の評価 : 46 染色体を有する中期分裂細胞について、各処理区当り良く拡がった染色体を少なくとも 100 個分析し、染色体異常を有する細胞数及び染色体異常の数を算出した。

結 果 :

細胞分裂指数及び染色体異常評価濃度の選定：細胞 100 個あたりの分裂指数を表 1 に示す。

表 1 細胞 100 個あたりの分裂指数

採取時期	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S-9 mix の有無	細胞 1000 個当り中期細胞数		
				細胞数		平均値の対 陰性対照比
				反復 1	反復 2	
24 時間	陰性対照 (DMSO)		-	82	92	100
	検体	10	-	76	62	79
		100	-	53	62	66
		333	-	43	50	53
		422 a	-	22	20	24
		565 a	-	0	0	0
	750 a	-	0	0	0	
陽性対照 (MMC)	0.5	-	88	62	86	
48 時間	陰性対照 (DMSO)		-	49	42	100
	検体	10	-	34	30	70
		100	-	31	28	65
		333	-	34	33	74
		422 a	-	25	14	43
		565 a	-	17	0	19
750 a	-	0	0	0		
24 時間	陰性対照 (DMSO)		+	93	77	100
	検体	1	+	77	83	94
		10	+	81	66	86
		100	+	56	50	62
		333		58	46	61
		422 a	+	20	34	32
陽性対照 (GP)	15	+	48	38	51	
48 時間	陰性対照 (DMSO)		+	34	42	100
	検体	1	+	41	38	104
		10		32	48	105
		100	+	29	25	71
		333	+	29	34	83
422 a	+	33	33	87		

a：軽度の検体の沈殿を認めた。

S-9 mix の非存在下において、24 時間採取時点で分裂指数は 333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 47%、422 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 76%抑制された。565 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上では細胞分裂は認められなかった。48 時間採取時点で分裂指数は 333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 26%、422 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 57%抑制された。

S-9 mix の存在下において、24 時間採取時点で分裂指数は 333 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 39%、422 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 68%抑制された。565 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上では細胞分裂は顕著な抑制ないし、認められなかった。48 時間採取時点で分裂指数は 422 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で 13%抑制された。

これらの結果から、以下の処理区について染色体異常を検査した。

S-9 mix 非存在下 10、100、333 $\mu\text{g/mL}$ 培地 (24 時間採取時点)
 333 及び 422 $\mu\text{g/mL}$ 培地 (48 時間採取時点)
 S-9 mix 存在下 1、10、333 及び 422 $\mu\text{g/mL}$ 培地 (24 時間採取時点)
 422 $\mu\text{g/mL}$ 培地 (48 時間採取時点)

染色体異常の評価：染色体異常の出現頻度を表 2~5 に示す。

代謝活性化系の有無に係わらず、染色体異常を有する細胞数の増加は 333 $\mu\text{g/mL}$ の濃度まで認められなかった。S-9 mix の存在下で 422 $\mu\text{g/mL}$ の培地中に沈殿を生じた高濃度で、且つ強い細胞毒性のある濃度でのみ統計学的に有意な染色体異常を有する細胞数の増加が濃度反応関連性もなく認められた。

これに対して陽性対照区はマイトマイシン C 及びシクロホスファミド共に、統計学的に有意な染色体異常を有する細胞数の増加を認めた。

以上の結果より、本試験条件下で、本検体はヒトリンパ球を用いた *in vitro* 試験において沈殿を生じ、且つ強い細胞毒性を有する濃度で S-9 mix の存在下でのみ陽性であると判断される。

表 2 S-9 Mix 非存在下における染色体異常^aの出現頻度 (24 時間試料採取)

薬物 濃度	陰性対照 (DMSO) 0.90%			検体 ($\mu\text{g/mL}$)									マイトマイシン C ($\mu\text{g/mL}$)			
	10	100	333	0.5												
培養	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	
評価細胞数	100	100	200	100	100	200	100	100	200	100	100	200	100	100	200	
染色体異常を有する細胞数	キヤップを含む	0	0	0	1	0	1	2	2	4	2	3	5	15	15	30 [†]
	キヤップを除く	0	0	0	1	0	1	1	1	2	1	1	2	14	14	28 [†]
染色体型	キヤップ															
	切断 二動原体													5	5	
染色体分体型	キヤップ						1	1		1	2		1	2		
	切断 欠失				1					1	1		7	7		
微小断片 1 個																
微小断片 2 個																
交換														2	3	
その他																
染色体異常合計	キヤップを含む	0	0		1	0		2	2		2	3		16	17	
	キヤップを除く	0	0		1	0		1	1		1	1		15	15	

^a: 核内倍化及び倍数性の数異常は染色体以上に含めなかった。

統計学的方法: カイ二乗検定 [†] $p < 0.001$

表 3 S-9 Mix 非存在下における染色体異常^aの出現頻度(48 時間試料採取)

薬物		陰性対照 (DMSO)			検体 ($\mu\text{g/mL}$)					
		0.90%			333			422 ^b		
培養		反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計
評価細胞数		100	100	200	100	100	200	100	100	200
染色体異常を有する細胞数	キヤップを含む	3	3	6	3	0	3	14	4	18
	キヤップを除く	3	3	6	2	0	2	11	2	13
染色体型	キヤップ切断							4	2	
	二動原体							1		
染色体分体型	キヤップ切断				1			3	2	
	欠失	3	3		2			10		
微小断片 1 個										
微小断片 2 個										
交換										
その他								1*	2*	
染色体異常合計	キヤップを含む	3	3		3	0		18	4	
	キヤップを除く	3	3		2	0		15	2	

^a: 核内倍化及び倍数性の数異常は染色体以上に含めなかった。

^b: 検体の軽度沈殿を認めた。

*: 核内倍化

統計学的方法: カイ二乗検定 $\uparrow p < 0.001$

表 4 S-9 Mix 存在下における染色体異常^aの出現頻度 (24 時間試料採取)

薬物		陰性対照 (DMSO)			検体												シロホスファミド ^c (μ g/mL)		
		0.90%			1			10			333			422 ^b			0.5		
培養		反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計
評価細胞数		100	100	200	100	100	200	100	100	200	100	100	200	100	100	200	100	100	200
染色体異常を有する細胞数	ギヤップを含む	2	1	3	3	1	4	2	1	3	2	2	4	20	16	36 [↑]	37	42	79 [↑]
	ギヤップを除く	1	1	2	3	0	3	2	1	3	0	0	0	19	15	34 [↑]	36	40	76 [↑]
染色体型	ギヤップ																		
	切断二動原体				1									1	1		7	7	
染色体分体型	ギヤップ	1				1					2	2		4	2		5	6	
	切断	1	1		2			2	1					21	17		42	38	
	欠失																		
微小断片 1 個																	1		
微小断片 2 個																			
交換														4	4		7	9	
その他																			1**
染色体異常合計	ギヤップを含む	2	1		3	1		2	1		2	2		30	24		62	70	
	ギヤップを除く	1	1		3	0		2	1		0	0		26	22		57	64	

^a: 核内倍化及び倍数性の数異常は染色体以上に含めなかった。

^b: 検体の軽度沈殿を認めた。

*: 核内倍化 **: 多重染色体異常

統計学的方法: カイ二乗検定 [↑] p<0.001

表 5 S-9 Mix 存在下における染色体異常^aの出現頻度(48 時間試料採取)

薬物		陰性対照(DMSO)			検体(μg/mL)		
濃度		0.90%			422 ^b		
培養		反復 1	反復 2	計	反復 1	反復 2	計
評価細胞数		100	100	200	100	100	200
染色体異常を有する細胞数	ギヤップを含む	2	2	4	2	2	4
	ギヤップを除く	1	0	1	2	1	3
染色体型	ギヤップ						
	切断 二動原体	1			1		
染色体分体型	ギヤップ	1	2			1	
	切断				1	1	
	欠失						
微小断片 1 個							
微小断片 2 個							
交換							
その他						1*	
染色体異常合計	ギヤップを含む	2	2		2	2	
	ギヤップを除く	1	0		2	1	

^a: 核内倍化及び倍数性の数異常は染色体以上に含めなかった。

^b: 検体の軽度沈殿を認めた。

*: 倍数性