

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-21)

エトキサゾール原体の Maus を用いた飼料混入投与による 18 カ月間発がん性試験-1

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検 体: エトキサゾール原体 (純度 %)

供試動物: ICR 系 Maus 投与開始時 6 週齢

開始時体重 雄 27.0~36.6 g, 雌 22.0~29.8 g

1 群雌雄各 64 匹 (主群; 雌雄各 52 匹, 衛星群; 雌雄各 12 匹)

投与開始後 12 カ月時に衛星群の各群雌雄 10 匹を中間屠殺した。

試験期間: 18 カ月 ()

投与方法: 検体を 0, 15, 60 および 240 mg/kg/day の投与量となるように飼料に混入し, 18 カ月にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 17 週までは毎週 1 回, 以後は 2 週間に 1 回調製した。

投与量設定根拠:

したがって, 本試験の投与用量を 0, 15, 60 および 240 mg/kg/day とした。

試験項目および結果:

一般状態および死亡率; 主群および衛星群の全動物について一般状態および死亡・瀕死動物の有無を毎日観察し, 少なくとも毎週 1 回触診を含む詳細な臨床観察を行った。

発生頻度に統計学的に有意差が認められた主群の所見を次表に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

性別	雄				雌			
	0	15	60	240	0	15	60	240
投与量 (mg/kg/day)	0	15	60	240	0	15	60	240
所見\検査動物数	52	52	51	52	52	52	52	52
皮膚の退色	7	4	↓1	3				
眼の退色					7	↓1	2	3
触毛の脱毛					18	↓9	↓7	↓5

Fisher の直接確率計算法 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

いずれも減少傾向を示す変化であり、検体投与によるものとは考えられない。

試験終了時の主群の死亡率を下表に示す。

投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240
死亡率 (%)	雄	35 (100)	42 (120)	33 (94)	35 (100)
	雌	17 (100)	13 (76)	29 (171)	29 (171)

生命表解析 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

括弧内は対照群に対する変動率 (%)

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化：主群および衛星群のすべての動物について、投与開始から 16 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回の頻度で体重を測定した。主群について各用量群の平均体重を測定日ごとに算出した。

240 mg/kg/day 群では、雌雄の体重が試験期間を通じて低値で推移し、雄では投与 32 および 36 週時に統計学的に有意な差 (Dunnett/Scheffe の多重比較法) が認められた。対照群と比較した投与開始から 52 週までの体重増加量は、雄は 87%、雌は 93% であり、これらの体重増加抑制は検体投与の影響と判断された。

摂餌量および食餌効率：主群のすべてのケージについて、投与開始から 16 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回の頻度で摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

雌雄の摂餌量および食餌効率に検体投与に関連した異常は認められなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		15	60	240
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	15.1	60.1	241
	雌	15.1	60.5	243

血液学的検査：投与開始後 52（衛星群）および 78（主群）週時に各用量群雌雄各 10 匹ずつを対象として、後大静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、白血球数、ディファレンシャルカウント

雌雄ともに検体投与に関連する異常は認められなかった。

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

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、γ-グルタミルトランスアミナーゼ、クレアチンホスホキナーゼ（CPK）、乳酸脱水素酵素、クレアチニン、尿素窒素（BUN）、総蛋白、アルブリン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール（T.Chol）、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン

統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	15	60	240	15	60	240
投与量 (mg/kg/day)						

Dunnett の多重比較法（↑↓：p<0.05，↑↓：p<0.01）

表中の数値は対照群に対する変動率（%）

240 mg/kg/day 群において、雄の CPK が 18 カ月時に統計学的に有意に増加したが、同群の動物に CPK の上昇をもたらすような心筋あるいは骨格筋などの筋肉における崩壊性変化や高度の消耗性疾患が認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。それ以外の変化についても用量相関性がないため、検体投与による影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

尿検査;血液学的検査と同時期に採取した各用量群雌雄各 10 匹ずつの新鮮尿を用いて、以下の項目を検査した。

比重, ブドウ糖, ケトン体, 潜血, pH, 蛋白質, ウロビリノーゲン

統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雄					
	15		60		240	
投与量 (mg/kg/day)	12	18	12	18	12	18
項目/時期 (月)						

¹: Mann-Whitney の U 検定法 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

²: Dunnett の多重比較法 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

いずれの変化にも用量相関性は認められず, 検体投与によるものとは考えられなかった。

臓器重量;投与後 12 カ月 (衛星群) および 18 カ月 (主群) 時に各用量群雌雄各 10 匹ずつ (血液学的検査に使用したもの) を対象として以下の臓器重量を測定し, 対体重比を算出した。

脳, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣

統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雄				雌			
	15	60	240		15	60	240	
投与量 (mg/kg/day)	12	18	12	18	12	18	12	18
項目/時期 (月)								

Dunnett の多重比較法 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

240 mg/kg/day 群では, 雄の精巣の絶対重量が 12 カ月時に統計学的に有意に増加したが, 組織学的変化を伴わないことから, 偶発的変動と考えられた。同群の雌では 12 カ月時に肝臓の相対重量が統計学的に有意に増加し, 検体投与の影響と判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

肉眼的病理検査；主群については、死亡・切迫殺動物および 18 カ月投与終了後の全生存動物を剖検した。衛星群については、12 カ月間投与終了後に血液学的検査に供した中間屠殺動物のみを剖検した。

統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
死亡・切迫殺										
最終屠殺										
主群の全動物										

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : $p < 0.05$, ↑↑↓ : $p < 0.01$)

いずれの変化も減少傾向であるか、あるいは用量との関連が認められないため、検体投与によるものではなかった。

病理組織学的検査；主群については、死亡・切迫殺動物および 18 カ月間投与終了後の全生存動物を対象として、衛星群については 12 カ月間投与終了後に血液学的検査に供した中間屠殺動物のみを対象として、以下の臓器および組織について病理組織学的検査を行った。

脳、脊髄（頸部、胸部および腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、（上皮小体を含む）、副腎、脾臓、骨・骨髓（胸骨、大腿骨および 3 カ所の脊椎）、リンパ節（頸部および腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃（前胃および腺胃）、肝臓、胆嚢、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺、卵巣、子宮（角部および頸管部）、眼球、ハーダー腺、下腿三頭筋、皮膚、乳腺（雌）、肉眼的異常部位（正常組織との境界部を含む）

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

〔非腫瘍性病変〕

統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を表 1 に示す。

240 mg/kg/day 群では、12 カ月間投与終了後の中間層殺動物（衛星群）の雄において小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度が統計学的に有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。その他の変化は用量と関連が認められず、検体投与に起因するものとは考えられなかった。

〔腫瘍性病変〕

認められた全腫瘍性病変を表 2 に示す。

検体投与に関連する腫瘍性病変の増加はなく、いずれも自然発生性のものであった。

以上の結果から、本検体のマウスに対する 18 カ月間飼料混入投与による発がん性試験において、体重増加抑制（雌雄）、小葉中心性肝細胞脂肪化（雄）、肝臓の相対重量の増加（雌）などの毒性が発現した 240 mg/kg/day においても、本検体に催腫瘍性は認められなかった。

また、本試験条件下での無影響量および無毒性量は、雄 60.1 mg/kg/day、雌 60.5 mg/kg/day と判断された。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 1〔非腫瘍性病変〕

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
12 カ 月 中 間 屠 殺										
死 亡 ・ 切 迫 殺										
最 終 屠 殺										
中 間 屠 殺 を 除 く 全 動 物										

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, ↑↑↓ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-1〔腫瘍性病変〕

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
12 カ 月 中 間 屠 殺										
死 亡 ・ 切 迫 殺										

(B)： 良性腫瘍 (M)： 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-2 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
死亡・切迫殺										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍
 Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-3 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
最終屠殺										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, ↑↑↓ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-4 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
最終屠殺										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍
 Fisher の直接確率計算法 (↑↓：p<0.05, ↑↓↑↓：p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-5 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
最終層殺										
中間層殺を除く全動物										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-6 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
中間層殺を除く全動物										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍
 Fisher の直接確率計算法 (↑↓：p<0.05, ↑↓↓：p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-7 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
中間屠殺を除く全動物										

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, ↑↑↓ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2-8 [腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)		0	15	60	240	0	15	60	240
中間層殺を除く全動物										
中間層殺を除く合計										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 (↑↓ : p<0.05, 卍↓ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

(資料 No. T-47)

エトキサゾール原体のマウスを用いた飼料混入投与による 18 ヶ月間発がん性試験-2

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検 体：エトキサゾール原体（純度 %）

供試動物：ICR 系 SPF マウス (Crj:CD-1) ,

主群 1 群雌雄各 50 匹, 衛星群 1 群雌雄各 12 匹, 開始時雌雄 5 週齢

投与開始時体重 雄：27.2~33.1 g, 雌：20.3~26.1 g

投与期間：78 週間（雄：

雌：

,
)

投与方法：検体を 0, 2250 および 4500 ppm の濃度で飼料に混入し, 78 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に 1 回, 投与期間中は 3 週ごとに 1 回調製した。

投与量設定根拠：当該試験に先行して, 本検体のマウスにおける 13 週間亜急性経口毒性試験 (資料 No. T-17) が実施された。

当該

発癌性試験において0, 2250 および 4500 ppm の用量群を選択した。

観察・検査項目および結果：

一般状態；正常な基本的行動（自発運動，毛づくろい，洗顔運動，等）の変化，異常行動（常同行動，異常発声，攻撃性，等）の出現に加えて，刺激に対する反応，歩行，呼吸，自律神経系作用および骨格筋緊張の変化を観察項目とした。さらに，少なくとも週1回，腫瘤の触診を含む詳細な検査を実施した。何らかの臨床症状が認められた場合，その発見日，種類，重篤度および遷延時間を記録した。

主群および衛星群の雌雄の各用量群で，投与期間中に認めた臨床症状には検体投与の影響はみられなかった。

死亡率；投与期間中毎日生死を観察した。

主群または衛星群の雌雄のいずれにも，検体投与に関連する死亡率の増加は認められなかった。

体重変化；主群および衛星群の全動物について，投与開始前1回，投与期間中第1週から13週まで毎週1回，第16週から76週までは4週間に1回および第78週に体重を測定した。主群および衛星群の群平均体重を測定日ごとに算出した。また，安楽殺前または死亡発見時に全動物の体重を測定した。

主群または衛星群の雌雄の平均体重および累積体重増加量は，投与期間を通じ対照群とほぼ同様に推移し，検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量及び食餌効率；主群および衛星群の各ケージについて，投与期間中第1週から13週まで毎週1回，第16週から76週までは4週間に1回の頻度で連続して3日分または4日分の飼料摂取量を測定した。ケージ別測定値をケージ内生存動物数および測定日数で除し，各ケージの1日1匹当たりの平均飼料摂取量を算出した。投与開始後最初の13週間，食餌効率を毎週評価した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を次表に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

群	投与週	性別および投与量 (ppm)			
		雄		雌	
		2250	4500	2250	4500
主群	1週				↑104
	3週		↑104		
	6週			↑104	↑111
	7週	↑109	↑109		
	12週			↓90	
	32週				↓90
	52週			↑114	
衛星群	2週	↓89			
	13週			↑117	

Dunnett/Scheffé の多重比較検定： ↑↓, $p \leq 0.05$ ↑↓, $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

平均飼料摂取量について、上表に示すように雌雄の主群および衛星群において対照群に比べ統計学的に有意な増加あるいは減少がみられた。しかし、全投与期間を通じた群総平均飼料摂取量はこれらの投与群と対照群との間で同等であった。

主群または衛星群の雌雄のいずれの投与群においても、各週の食餌効率に対照群と比べて有意な増減は認められなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表の通りであった。

投与量 (ppm)		2250	4500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	242	484
	雌	243	482

血液学的検査：開始 52 週および 78 週後に血液学的検査を実施した。投与 52 週後の衛星群の全生存動物および投与 78 週後の主群の全生存動物よりエーテル麻酔下で開腹し後大静脈から採血した。これらの血液試料を用いて以下の項目を測定した。主群および衛星群の投与期間中の切迫殺動物については、エーテル麻酔下での尾部先端の切断によって採取した血液試料から血液塗抹標本を作製し、その血液塗抹標本を用いて各白血球型の百分率 (%) を求めた。

ヘマトクリット値 (Ht), 血色素量 (Hb), 赤血球数 (RBC), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH), 平均赤血球素濃度 (MCHC), 血小板数 (PLT), 白血球 (WBC), ディファレンシャルカウント

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

52 週間投与後

項目	週	性別および投与量 (ppm)			
		雄		雌	
		2250	4500	2250	4500

Dunnett/Scheffé の多重比較検定： ↑↓, $p \leq 0.05$ ↑↓, $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

52 週間投与後に、雄の 4500 ppm 群で分節核好中球数が対照群と比較して統計学的に有意に低く、それと同じ時期に雄の 2250 ppm 群でも対照群より僅かな低下が認められた。4500 ppm 群に認めた分節核好中球数 ($1.6 \times 10^3 / \text{mm}^3$) の百分率 (37%) は、残留農業研究所で過去に実施した 15 件のマウス発癌性試験における対照群の背景値 (37%) と同等であった。一方、当該試験の対照群で観察された値 ($3.0 \times 10^3 / \text{mm}^3$, 百分率 48% に相当) は背景値より幾分か高かった。投与 52 週後に剖検を行った 4500 ppm 群の雄の病理組織学的検査では、分節核好中球数が低値である原因を示す所見は認められなかった。以上により、分節核好中球数の有意な減少は偶発的な所見であったことが示唆された。

他の検査時点では、いずれの血液学的検査項目においても統計学的有意差および注目すべき変化は認められなかった。

臓器重量： 52 週間投与後の衛星群の全生存動物および動物番号の昇順に選択した 78 週投与後に主群の各群各性 12 匹ずつについて、以下の臓器の固定前の重量 (絶対重量) を測定し、それらの値と最終体重から比体重値 (相対重量) を算出した。

脳, 胆嚢を含む肝臓, 腎臓 (両側), 心臓, 脾臓, 副腎 (両側), 肺 (両側), 精巣 (両側), 精巣上体 (両側), 卵巣 (両側), 子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。左右のある臓器は合計について記載する。

投与 52 週後

項目	性別および投与量 (ppm)			
	雄		雌	
	2250	4500	2250	4500

Dunnett/Scheffé の多重比較検定： ↑↓, $p \leq 0.05$ ↑↓, $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

投与 78 週後

項目	性別および投与量 (ppm)			
	雄		雌	
	2250	4500	2250	4500

Dunnett/Scheffé の多重比較検定： ↑↓, $p \leq 0.05$ ↑↓, $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雄では、4500 ppm 群において、投与 52 週後の肺の絶対重量、投与 78 週後の脾臓の絶対および相対重量に統計学的に有意な減少が認められた。雄の 2250 ppm 群においても投与 78 週後に脾臓の絶対重量の統計学的に有意な減少が認められた。しかし、対照群のうち脾臓重量の極端に重い例を除外して統計学的再評価を実施したところ、投与 78 週後の雄の 4500 ppm および 2250 ppm 群に認められた重量低下は統計的有意差を示さなかった（申請者註：脾臓重量の背景データと比較して極端に大きな 2 例（絶対重量：1153 mg, 1181 mg；相対重量：2.23, 2.53）を外れ値として除外した。外れ値の判断基準には一般的な 95% タイル値である背景値の平均値 ± 2 標準偏差（絶対重量： $212 \pm 2 \times 266 = \sim 744$ mg, 相対重量： $0.42 \pm 2 \times 0.53 = \sim 1.48$ mg）を使用した）。統計学的に有意な重量の低下が認められた脾臓および肺に関する病理組織学的検査の結果では、検体投与の関連が疑われる組織学的変化は認められなかった。したがって、脾臓および肺の重量変化は偶発的所見とみなされた。

雌では、4500 ppm 群において、投与 52 週後に肝臓の相対重量の統計学的に有意な増加が認められた。当該試験に先行して実施したマウスまたはラットの毒性試験の多くで、肝臓が本検体の主要な標的臓器であることが示されており、当該試験で認められた肝臓の相対重量の増加は、検体投与に関連する変化とみなされた。病理組織学的には、投与 78 週後に雄の 4500 ppm 群で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度に統計学的に有意な増加が認められた。当該試験に先行して実施した 18 ヶ月間経口発癌性試験（資料 No. T-21）でも、投与 52 週後に 240 mg/kg/日群の雄で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度に統

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

計学的に有意な増加が認められている。肝臓重量の増加および組織学的な肝臓の変化に基づき、当該試験において肝臓が標的臓器であることが確認された。

肉眼的病理検査：途中死亡・切迫屠殺動物を含む全動物について剖検を行った。

検体投与群で対照群と比較して発生頻度に統計学的に有意な差が認められた病変を次表に示す。

途中死亡・切迫屠殺動物

部位および病変	性別および投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	0	2250	4500	0	2250	4500

Fisher の直接確率計算法： $\uparrow\downarrow, p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow, p \leq 0.01$

主群の雌の 4500 ppm 群における投与期間中の切迫殺または死亡動物に、外陰部の被毛の汚れの発生頻度の統計学的に有意な増加が認められた。その他の転帰をもつ動物にはこの肉眼的変化は認められず、総発生頻度 (0 ppm, 2250 ppm および 4500 ppm 群で各々, 0/50, 4/50 および 4/50) に統計学的に有意な増加は認められなかった。上記以外にも統計学的に有意な変化を示す所見が認められたが、投与用量とは関連性がなかった。

(申請者註： 4500 ppm 群雌においてみられた外陰部の汚れについてはその差がわずかであること、他の転帰の動物には見られないことから、検体投与との関連性はないと判断された。また、その他の所見についても、偶発性変化と判断された。)

病理組織学的検査：投与 52 週後の衛星群の全生存動物および投与 78 週後の主群の全生存動物を病理組織学的検査に供した。対照群および 4500 ppm 群では以下に示す臓器および組織について、2250 ppm 群では肝臓、腎臓、肺および肉眼的病変部位について病理組織学的検査を行った。投与期間中に認めた主群および衛星群の死亡および切迫殺動物についても、以下に示す臓器および組織について病理組織学的検査を行った。

脳 (大脳, 小脳, 橋および延髄), 脊髄 (頸部, 胸部および腰部), 坐骨神経, 下垂体, 胸腺, 甲状腺 (両側), 上皮小体 (両側), 副腎 (両側), 脾臓, 骨・骨髄 (胸骨, 片側大腿骨, 3つの脊椎部位), 脛骨/大腿骨関節 (片側), リンパ節 (頸部および腸間膜), 心臓, 大動脈, 唾液腺 (顎下腺および舌下腺),

食道，胃（前胃および腺胃），肝臓，胆嚢，膵臓，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，咽頭，喉頭，気管，肺（両側），腎臓（両側），膀胱，精巣（両側），精巣上体（両側），前立腺，精嚢（両側），凝固腺，卵巣（両側），子宮（角部および頸部），膣，眼球（網膜および視神経を含む），ハーダー腺（両側），骨格筋（下腿三頭筋，片側），皮膚（腰背部），乳腺（腹部，雌のみ），肉眼的異常部位

非腫瘍性病変

投与群において発生頻度の統計学的に有意な増加または減少が認められた非腫瘍性病変を表1「非腫瘍性病変」に示す。

投与78週後に雄の4500 ppm群において，小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度の統計学的に有意な増加が認められた。結果として，4500 ppm群の小葉中心性肝細胞脂肪化の全体的な発生頻度も有意に増加した。前項（臓器重量）での述べたように本変化は検体投与に起因する変化と判断された。

投与78週後に，雄の4500 ppm群において脾臓の髓外造血亢進の発生頻度に統計学的に有意な減少が認められた。雄の4500 ppm群では，副腎の皮質細胞肥大の総発生頻度（主群）も統計学的に有意に減少した。発生頻度の低下率は僅かで，両所見は当該試験で用いた雄のみに初めて認められた。このことから，これらの病変の発生頻度の低下は偶発的所見であることが示唆された。

雌の2250 ppm群の投与期間中の切迫殺および死亡動物において，腎臓の尿管柱の発生頻度に統計学的に有意な減少が観察され，また，副腎の被膜下細胞過形成の発生頻度に有意な増加が認められた。これらの病変の総発生頻度および投与52週後の発生頻度については，対照群と4500 ppm群間に統計学的な有意差はなく，さらに，これらの所見に用量との相関は認められなかった。従って，これらはこれらの所見が明らかに偶発的であることを示していた。

腫瘍性病変

主群の雄の2250 ppm群で，投与期間中の切迫殺および死亡動物に肝細胞癌の発生頻度の統計学的に有意な減少が認められ，総発生頻度も統計学的に有意に減少した。しかし，上記所見に用量反応相関は認められず，同群で投与78週後に剖検された雄の発生頻度には統計学的に有意な減少は認められなかった。雄の投与群で肝細胞腺腫ないし肝細胞癌を有する動物の発生頻度は，対照群と同等であった。上記の点から，雄の2250 ppm群の肝細胞癌発生頻度の有意な減少は偶発的所見であることが示された。

観察された全ての腫瘍性病変を表2に示す。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

検体投与群で対照群と比較して発生頻度に統計学的に有意な差が認められた腫瘍性病変を次表に示す。

転帰	部位および病変	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		0	2250	4500	0	2250	4500

転帰：ke/fd, 投与期間中の切迫殺および死亡（主群）；

全動物, 総発生頻度（主群）

Fisher の直接確率検定： ↑↓, $p \leq 0.05$ ↑↑, $p \leq 0.01$

雌雄のいずれの投与群においても、腫瘍性病変の発生頻度に統計学的に有意な増加は認められなかった。検体投与との関連が疑われる稀少な腫瘍の発生も投与群に認められなかった。各腫瘍の多発性および体内に少なくとも1個の腫瘍性病変を有する動物数については、対照群と投与群で差がなかった。さらに、いずれの投与群でも通常より早期の自然発生性腫瘍の発生は認められなかった。

以上の結果から、4500 ppm 群の雌では、投与 52 週後の肝臓の相対重量が統計学的に有意に増加した。さらに病理組織学的検査では、投与開始 78 週後に雄の 4500 ppm 群で肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度に統計学的に有意な増加が認められた。2250 ppm 群では雌雄とも検体投与の影響は観察されなかったことから、無毒性量は雌雄とも 2250 ppm（雄 242 mg/kg/日, 雌 243 mg/kg/日）であると判断された。当該試験の条件下では、検体投与による発癌性は認められなかった。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 1. 非腫瘍性病変

転帰	部位および病変	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		0	2250	4500	0	2250	4500

転帰 : 78 tk, 投与 78 週後 (主群) ; ke/fd, 投与期間中切迫殺および死亡 (主群) ;
全動物, 総発生頻度 (主群)

Fisher の直接確率検定 : $\uparrow\downarrow, p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow, p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変

転帰	臓器	性別	雄			雌		
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500
衛星群 52 週間投 与後計 画殺動 物								
合計								

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍
 Fisher の直接確率計算法 : ↑↓, $p \leq 0.05$ ↑↓, $p \leq 0.01$
 # : 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別		雄			雌		
		投与量 (ppm)		0	2250	4500	0	2250	4500
主群途中・死亡切迫殺動物									

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow, p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow, p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄			雌		
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500
主群途中・死亡切迫殺動物								
			/					
合計								

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄			雌		
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500
主群 最終計画殺動物								

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow, p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow, p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄			雌		
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500
主群 最終計画 殺動物			/					
合計								

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄			雌			
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500	
全動物									

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow, p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow, p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄			雌		
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500
全動物								

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

表 2. 腫瘍性病変 (続き)

転 帰	臓 器	性 別	雄			雌		
		投与量 (ppm)	0	2250	4500	0	2250	4500
全 動 物								
合 計								

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

方法および試験項目：方法および試験項目の概要を表にまとめた。

<親動物>

一般状態および死亡率；試験期間中，親動物の臨床症状と死亡について，毎日観察して所見を記録した。

体重および体重増加量；雄については投与開始時，試験期間中は1週ごとおよび剖検日に体重を測定した。これらの測定値から投与開始時の体重値を減じて体重増加量を求めた。雌については投与開始時，育成期間中は1週ごと，繁殖期間中は妊娠0日，7日，14日，20日，哺育0日，7日，14日，21日および剖検日に体重を測定した。これらの測定値から，育成期間中および剖検日は投与開始時，妊娠期間中は妊娠0日，哺育期間中は哺育0日の体重値を減じて体重増加量を求めた。

摂餌量；雄については，交配期間（投与第11週）を除いて試験期間中1週ごとに7日間の摂餌量を測定した。

雌については，育成期間中は1週ごとに7日間の摂餌量を，繁殖期間中は妊娠0日～7日，7日～14日，14日～20日，哺育0日～7日，7日～14日および14日～21日の各期間の摂餌量を測定した。

検体摂取量；体重，摂餌量および検体の飼料中の設定濃度から投与期間中の1日当たり平均検体摂取量を算出した。

交配および妊娠の確認；膣垢像の観察によって性周期を調べ，発情前期または発情期の状態にある雌を雄と1対1で一晩同居させることによって交配を行った。翌朝，膣栓および膣垢中の精子の有無を調べ，いずれかを認めた場合に交尾が行われたものと判断された。

妊娠は出産および子宮内の着床痕の有無によって確認した。

繁殖能力；交配，妊娠および哺育期間と剖検時に以下の指標について検査した。

$$\text{正常性周期を示した雌の頻度} = \frac{\text{発情前期または発情期を示した雌数}}{\text{性周期を観察した雌数}}$$

$$\text{雄の交尾率} = \frac{\text{交尾を認めた雄数}}{\text{交配に用いた雄数}}$$

$$\text{雌の交尾率} = \frac{\text{交尾を認めた雌数}}{\text{交配に用いた雌数}}$$

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{交尾を認めた雌数}}$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{正常出産雌数}}{\text{妊娠雌数}}$$

妊娠期間；交尾を認めた日（妊娠 0 日）から分娩完了日（哺育 0 日）までの期間を日数で表した。

着床痕数；剖検時に子宮内の着床痕の数を数えた。

精子検査；以下の指標について検査した。

精子数；精巣上体尾当たりの数および精巣上体尾 1 g 当たりの数

精子の運動性；自動性を示した精子の百分率

精子の形態；精子 200 個当たりの正常形態精子の百分率

臓器重量；雄については下記の臓器および組織について測定した。

脳，下垂体，肝臓，腎臓，副腎，精巣，精巣上体，精囊，前立腺

雌については下記の臓器および組織について測定した。

脳，下垂体，肝臓，腎臓，副腎，卵巣，子宮

肉眼的病理検査；すべての P および F1 親動物について剖検を行った。

病理組織学的検査；対照群と高用量群の P および F1 親動物について，生殖器官（雄の精巣，精巣上体，精囊および前立腺，雌の卵巣および子宮），下垂体および標的臓器である肝臓の病理標本を作製し，鏡検した。

肉眼的病変が認められ，また高用量群で臓器重量に変化が認められた P 雌親動物の副腎についても病理標本を作製し，鏡検した。

<仔動物>

一般状態および死亡率；哺育期間中毎日腹ごとに哺育仔の臨床症状および死亡について観察した。

$$\text{平均産仔数} = \text{総産仔数} / \text{正常出産雌数}$$

$$\text{性比} = \text{総雄産仔数} / \text{総産仔数}$$

生存率；

$$\text{哺育 0 日の生存率} = (\text{哺育 0 日の生存仔数} / \text{産仔数}) \times 100$$

$$\text{哺育 4 日の生存率} = (\text{哺育 4 日の生存仔数} / \text{哺育 0 日の生存仔数}) \times 100$$

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

哺育 21 日の生存率 = (哺育 21 日の生存仔数/哺育 4 日に選抜した仔数) × 100

体 重：哺育 0 日，4 日，7 日，14 日および 21 日に雌雄別に 1 腹分まとめて重量を測定し，雌雄ごとの平均体重を求めた。

肉眼的病理検査；途中死亡の F1 および F2 哺育仔，哺育 4 日に選抜されなかった F1 および F2 哺育仔，F1 親動物として選抜されなかった F1 離乳仔およびすべての F2 離乳仔について剖検を行った。

試験の概要表

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P	育成 (10週)		一般状態および死亡について試験期間中毎日観察。 体重・摂餌量を週1回測定, 体重増加量と検体摂取量を算出。
	交配 (3週)	雌の性周期観察。 雌雄1対1で交配。腔栓および腔垢中の精子の有無で交尾を確認 (妊娠0日)。	正常性周期を示した雌の頻度。 交配状況の観察 (交尾率)。 交配終了後も雄の体重・摂餌量を週1回測定, 体重増加量と検体摂取量を算出。
	妊娠 (3週)		妊娠0日, 7日, 14日, 20日に体重, 妊娠0~7日, 7~14日, 14~20日に摂餌量を測定, 体重増加量と検体摂取量を算出。
	出産 -----	(哺育0日) -----	出産状況の観察 (出産率, 妊娠期間, 産仔数, 性別)。
	哺育 (3週)	哺育4日に1腹の哺育仔数が8匹を超える腹について1腹当たり8匹 (可能な限り雄4匹, 雌4匹) となるように無作為に選抜して調整。	母動物: 哺育0日, 7日, 14日, 21日に体重, 哺育0~7日, 7~14日, 14~21日に摂餌量を測定, 体重増加量と検体摂取量を算出。 仔動物: 哺育0~21日の毎日一般状態および死亡の観察 (哺育0, 4, 21日に生存率)。哺育0日, 4日, 7日, 14日, 21日に体重を測定。途中死亡および哺育4日に選抜されなかった哺育仔の剖検。
F1	離乳 -----	各群雌雄24匹となるよう各腹から1~2匹ずつ無作為に選抜して継代。	雌雄の親動物の剖検および臓器重量の測定。対照群と高用量群について病理組織学的検査。 雄親動物の精子検査。 雌親動物の着床痕数 (妊娠率)。 継代に選抜されなかった離乳仔の剖検 (3週齢)。
	育成 (10週)		
	交配 (3週)	(P世代に準ずる)	
	妊娠 (3週)		(P世代に準ずる)
	出産 -----		(P世代に準ずる)
F2	哺育 (3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳 -----		(F1世代に準ずる)
			離乳後2週間以内にすべてのF2仔動物を安楽死させ剖検。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果：概要を下表に示した。

世代		親：P				仔：F1				
投与量 (ppm)		0	80	400	2000	0	80	400	2000	
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
親動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった。								
	死亡数	雄	0	0	1*	0	0	0	1*	0
		雌	0	0	1	1	0	0	0	1
	a 体重	雄	—	有意差なし			—	有意差なし		
		雌	—	有意差なし			—	有意差なし		
	a 体重増加量	雄	—	有意差なし			—	有意差なし		
		雌	—	有意差なし			—	有意差なし		
	a 摂餌量	雄	—	有意差なし			—	投与第 ↑15週	有意差 なし	投与第 ↓8週
		雌	—	有意差 なし	投与第 ↑1週 ↑4週	有意差 なし	—	有意差なし		
	b 検体摂取量	雄	—	5.59	28.2	139.1	—	6.29	31.7	156.8
雌		—	6.59	33.4	159.0	—	6.78	35.6	172.0	

*：安楽死

Dunnett または Scheffe の多重比較法 (↑↓：p<0.05, ↑↓：p<0.01)

a：単位 g

b：単位 mg/kg/day

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

世代			親：P				仔：F1		親：F1		仔：F2		
投与量（ppm）			0	80	400	2000	0	80	400	2000	0	2000	
親動物	剖検所見												
	臓器重量												
	病理組織学的検査												
	繁殖能力	雄											
		雌											

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

世代		親：P		仔：F1		親：F1		仔：F2		
投与量（ppm）		0	80	400	2000	0	80	400	2000	
仔動物	一般状態									
	産仔数									
	性比									
	生存率（%）	哺育0日								
		哺育4日								
	体重（g）	雄	哺育0日							
		雌	哺育0日							
剖検所見										

<親動物>

臨床観察：雌雄の親動物の臨床観察では、いずれの世代においても検体投与に起因する異常は認められなかった。

死亡率：親動物の死亡は、400 ppm 投与群の P 雌と 2000 ppm 投与群の P および F1 雌に 1 匹ずつ認められた。400 ppm 投与群の死亡例は、剖検および病理組織学的所見から自然発生的な白血病によるものと考えられた。2000 ppm 投与群の死亡例については、剖検および病理組織学的所見から死因を特定することはできなかったが、各世代で 1 例のみの発生であること、ラットの繁殖毒性試験・用量設定試験および 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 No. T-16）の 3000 ppm 投与群で死亡は 1 例も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。400 ppm 投与群の P および F1 雄の各 1 匹を予後不良と判断され、安楽死させた。これらの動物には、剖検でいずれも顔面骨の骨折が観察され、その原因はケージ内の事故によるものと考えられた。

体重および体重増加量：雌雄の親動物の体重および体重増加量には、いずれの世代においても対照群と各投与群の間で統計学的有意差は認められなかった。親動物の飼料摂取量には、80 ppm 投与群の F1 雄で投与第 15 週に統計学的に有意な高値が、400 ppm 投与群の P 雌で投与第 1 および 4 週に統計学的に有意な高値が、2000 ppm 投与群の P 雄で投与第 8 週に統計学的に有意な低値が認められた。しかしながら、これらの変化はいずれも散発的なものであり、検体投与によるものとは考えられなかった。

臓器重量、剖検および病理組織学的検査：雌雄の親動物の剖検では、いずれの世代においても検体投与に起因する異常は認められなかった。臓器重量については、2000 ppm 投与群で P と F1 の両世代とも雄の肝臓重量の体重比に統計学的に有意な高値が認められた。今回の試験では、この投与群の動物の肝臓に病理組織学的変化は観察されなかったが、ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 No. T-16）では 1000 ppm 以上の用量で小葉中心性の肝細胞肥大が認められている。また、ラットの繁殖毒性試験・用量設定試験では、300 ppm 以上の用量で肝臓重量の増加が、3000 ppm の用量で剖検所見として肝臓の腫大が認められている。したがって、今回の試験における肝臓の病理学的変化は、以前の試験に比べその程度は弱かったものの、2000 ppm 投与群で観察された雄の肝臓重量の増加は検体投与によるものと考えられた。その他の臓器重量の変化としては、2000 ppm 投与群で P 雌の副腎重量の体重比および脳重量比に統計学的に有意な高値が認められた。しかしながら、副腎の病理組織学的観察で検体投与に起因する異常は認められなかったことから、この変化は毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。F1 雌の副腎重量には、対照群と各投与群の間で統計学的に有意な差は認められなかった。下垂体および生殖器官の病理組織学的観察では、いずれの世代においても検体投与に起因する異常は認められなかった。

雄の繁殖能力：雄の繁殖能力については、いずれの世代においても交尾率に対照群と各投与群の間で統計学的に有意な差は認められなかった。精子検査では、P 世代において 2000 ppm 投与群で精巢上体尾の精子数に統計学的に有意な高値が認められた。しかしながら、精子の運動性と形態、交尾率および妊娠率には検体投与の影響は認められなかったことから、この変化は毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。F1 世代では、各投与群の精子数、精子の運動性および正常形態精子の頻度は対照群の値とほぼ同じであった。

雌の繁殖能力：雌の繁殖能力については、いずれの世代においても検査した性周期、交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間および着床痕数のすべての指標に検体投与の影響は認められなかった。

<仔動物>

仔動物に対する検体投与の影響は、80 および 400 ppm 投与群では検査した臨床所見、産仔数、性比、生存率、体重および剖検所見のすべての指標に認められなかった。2000 ppm 投与群では、哺育4日のF1仔動物の生存率に統計学的に有意な低値が認められた。また、哺育期間後半のF1およびF2仔動物の体重は低く、F1雄の哺育14日の値の対照群との差は統計学的に有意であった。

以上のように、2世代にわたって本検体を飼料中に混合して投与した場合、2000 ppm 投与群でPおよびF1親動物の肝臓重量の増加が、また哺育4日のF1仔動物の生存率の低下と哺育期間後半のF1およびF2仔動物の体重の低下が認められた。繁殖能力に関しては、いずれの世代においても検体投与の影響は認められなかった。

したがって、400 ppm (P雄, 28.2 mg/kg/day; F1雄, 31.7 mg/kg/day; P雌, 33.4 mg/kg/day; F1雌, 35.6 mg/kg/day) の用量は親動物と仔動物の両方に対してそれぞれ無影響量および無毒性量であり、2000 ppm (P雄, 139.1 mg/kg/day; F1雄, 156.8 mg/kg/day; P雌, 159.0 mg/kg/day; F1雌, 172.0 mg/kg/day) の用量は親動物と仔動物の両方に対してそれぞれ最小中毒量であると判断される。一方、繁殖能力については、2000 ppm (P雄, 139.1 mg/kg/day; F1雄, 156.8 mg/kg/day; P雌, 159.0 mg/kg/day; F1雌, 172.0 mg/kg/day) の用量まで無影響量と判断される。

(資料 No. T-23)

エトキサゾール原体のラットにおける催奇形性試験

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

検 体 : エトキサゾール原体 (純度 %)

供試動物 : Sprague-Dawley 系 妊娠雌ラット
開始時体重 235~284 g, 1 群 24 匹

試験期間 : 動物試験期間 25 日間 ()

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して, 0, 40, 200 および 1000 mg/kg/day の投与用量で妊娠 6 日から 15 日 (交尾の確認された日を妊娠 0 日とした) までの 10 日間, 1 日 1 回胃管を用いて経口投与した。なお, 対照群の動物には, 1%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。

投与量設定根拠 :

これ

らの結果に基づいて, 本試験では低用量, 中間用量および高用量をそれぞれ 40, 200 および 1000 mg/kg/day とした。

試験項目 :

母動物 : 試験期間中, 母動物の一般状態と死亡について, 毎日観察して所見を記録した。体重は妊娠 0 日, 6 日から 15 日まで (投与期間中) の毎日および 20 日に測定した。これらの測定値から妊娠 0 日における体重値を減じて体重増加量を求めた。摂餌量は妊娠 0 日~6 日, 6 日~9 日, 9 日~12 日, 12 日~15 日および 15 日~20 日の各期間について測定した。妊娠 20 日に母動物を安楽死させ, 帝王切開を行った。剖検を行った後, 卵巣と子宮の状態を検査した。卵巣については妊娠黄体数を, 子宮については妊娠子宮重量, 着床数, 死亡吸収胚数および生存胎仔数を記録した。妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じた重量を補正体重とした。

生存胎仔 : 生存胎仔と胎盤の重量を測定した。生存胎仔の性を調べ, 外表奇形の検査を行った。腹ごとに約半数の生存胎仔について内臓を検査した。各腹の残りの生存胎仔については, 骨格異常および化骨進行度について検査を行った。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果：下表に示した。

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
1群当り動物数		24	24	24	24
母動物	妊娠雌数				
	死亡雌数				
	一般状態				
	体重 (g)				
	妊娠0日				
	妊娠6日				
	妊娠9日				
	妊娠12日				
	妊娠15日				
	妊娠20日				
	体重増加量 (g)				
	妊娠0～6日				
	妊娠0～9日				
妊娠0～12日					
妊娠0～15日					
妊娠0～20日					
摂餌量 (g)					
妊娠0～6日					
妊娠6～9日					
妊娠9～12日					
妊娠12～15日					
妊娠15～20日					
剖検所見					
妊娠子宮重量 (g)					
補正体重 (g)					
(妊娠20日の体重 － 妊娠子宮重量)					
着床所見					
黄体数					
着床数					
生存胎仔数					
死亡吸収率					

平均値±標準偏差

Dunnett の多重比較法 (↑↓ : p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
胎 仔	胎仔体重 (mg) 雄 雌				
	胎盤重量 (mg)				
	性比 (雄数/総数)				
	奇形学的検査 検査腹数 奇形胎仔の認められ た母動物数 (%) 変異胎仔の認められ た母動物数 (%)				
	外表所見 検査胎仔数 奇形胎仔数 小眼球症 象鼻				
	内臓所見 検査胎仔数 奇形胎仔数 右側大動脈弓 横隔膜ヘルニア 変異胎仔数 胸腺頭部残留 腎盂拡張 左側臍動脈				
	骨格所見 検査胎仔数 奇形胎仔数 外後頭骨と第一頸 椎椎弓の癒合 胸椎椎体の化骨核 分離 肋骨の分岐 痕跡的な胸椎椎弓 を伴う過剰肋骨				

平均値±標準偏差

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
胎 仔	骨格所見 検査胎仔数 変異胎仔数 頸肋 波状肋骨 第13肋骨の短縮/欠損 腰肋 仙椎前椎骨数25個 腰椎の仙椎化 胸骨分節の非対称/分離				
	化骨進行度 胸骨分節化骨数 仙・尾椎化骨数 中手骨化骨数 中足骨化骨数				

平均値±標準偏差

<母動物>

母動物に対する検体投与の影響は、40 および 200 mg/kg/day 投与群では認められなかった。1000 mg/kg/day 投与群では、投与期間中母動物の摂餌量が対照群に比べやや低く、妊娠 9~12 日の値には統計学的に有意な差が認められた。妊娠 20 日の帝王切開時における卵巣および子宮の検査では、いずれの指標にも検体投与によると考えられる変化は認められなかった。

<胎仔>

胎仔に対する検体投与の影響は、いずれの投与群においても認められなかった。胎仔の奇形学的検査では、検体投与に関連すると考えられる外表、内臓および骨格における奇形および変異は、いずれの投与群においても認められなかった。化骨進行度についても対照群と各投与群の間で統計学的に有意な差は認められなかった。

以上の結果から、本検体の 200 mg/kg/day の用量は母動物に対する無影響量および無毒性量であり、1000 mg/kg/day の用量は母動物に対する最小中毒量であると考えられる。一方、胎仔に対しては 1000 mg/kg/day の用量まで無影響量であり、催奇形性は陰性であると判断される。

(資料 No. T-24)

エトキサゾール原体のウサギにおける催奇形性試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検 体：エトキサゾール原体（純度 %）

供試動物：日本白色ウサギ 妊娠雌ウサギ

開始時体重 3.50~4.57 kg

1 群 18 匹

試験期間：動物試験期間 33 日間（ ）

投与方法：検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して、0, 40, 200 および 1000 mg/kg/day の投与用量で妊娠 6 日から 18 日（人工授精の翌日を妊娠 0 日とした）までの 13 日間、1 日 1 回胃管を用いて経口投与した。なお、対照群の動物には、1%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。

投与量設定根拠：

こ

これらの結果に基づいて、本試験では低用量、中間用量および高用量をそれぞれ 40, 200 および 1000 mg/kg/day とした。

試験項目：

母動物：試験期間中、母動物の一般状態を毎日観察し、異常の有無を記録した。死亡や流産のみられた個体は、直ちに剖検して所見を記録した。体重は妊娠 0 日、6 日から 18 日まで（投与期間中）の毎日、24 日および 27 日に測定した。これらの測定値から妊娠 0 日の体重値を減じて、体重増加量を求めた。摂餌量は妊娠 0 日から 27 日まで 2 日ごとに（ただし、最後の測定の間隔は妊娠 26 日から 27 日までの 1 日間とした）求めた。妊娠 27 日に母動物を安楽死させ、帝王切開を行った。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、生存胎仔数および死亡胚・胎仔数を数えた。妊娠 27 日の体重から妊娠子宮重量を減じた値を補正体重とした。帝王切開終了後、母動物の剖検を行った。

生存胎仔：体重と胎盤の重量を測定し、外表および内臓異常の有無を検査するとともに、胎仔の性を調べた。これらの胎仔の骨格をアリザリンレッド S で染色し、骨格異常および化骨進行度について検査を行った。

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果：下表に示した。

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
1群当り動物数		18	18	18	17 ^a
母動物	妊娠雌数 ^b				
	流産雌数				
	死亡雌数				
	帝王切開時生存妊娠雌数				
	全胚子が死亡吸収した雌数				
	生存胎仔の得られた雌数				
	一般状態				
	体重 (g)				
	妊娠0日				
	妊娠6日				
	妊娠18日				
	妊娠24日				
	妊娠27日				
	体重増加量 (g)				
	妊娠0～6日				
妊娠0～18日					
妊娠0～24日					
妊娠0～27日					
摂餌量 (g)					
妊娠0～2日					
妊娠6～8日					
妊娠16～18日					
妊娠22～24日					
妊娠26～27日					
剖検所見					

^a 事故のため屠殺した1匹を除く。

^b 肉眼的に受胎産物の確認できなかった雌を除く。

平均値±標準偏差

Scheffeの多重比較法 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
母動物	妊娠子宮重量 (g) 補正体重 (g) (妊娠27日の体重 － 妊娠子宮重量)				
	着床所見				
	黄体数				
	着床数				
	生存胎仔数				
	胚・胎仔死亡率 (%)				
胎仔	胎仔体重 (g) 雄 雌				
	胎盤重量 (mg)				
	性比 (雄数/総数)				
	奇形学的検査 検査腹数 奇形胎仔の認められた母動物数 (%) 変異胎仔の認められた母動物数 (%)				
	外表所見 検査胎仔数 奇形胎仔数 小眼球症 臍帯ヘルニア				

平均値±標準偏差

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
胎 仔	内臓所見 検査胎仔数 奇形胎仔数 大動脈弓離断 右側または両側の肺の肺葉癒合 変異胎仔数 胸腺頸部残留				
	骨格所見 検査胎仔数 奇形胎仔数 前頭骨と頭頂骨断片の癒合 頭頂骨の癒合 頭頂骨の分離 第4胸椎椎体の左側骨化点と第5胸椎 椎体の右側骨化点の癒合を伴った 第4および第5胸椎椎体の分離 右第12胸椎椎弓の低形成 第12胸椎椎体と第13胸椎椎体の左側 骨化点の癒合 胸骨分節の癒合				

Fisher の直接確率計算法 (↑↓: $p < 0.01$)

本資料に記載された情報に係わる権利及び内容の責任は協友アグリ株式会社にある。

試験結果（つづき）：

投与量 (mg/kg/day)		0	40	200	1000
胎 仔	骨格所見 検査胎仔数 変異胎仔数 仙椎前椎骨数27 13肋骨を伴う仙椎前 椎骨数27 頸肋 腰肋 肋軟骨の接合を伴っ た第1胸骨前過剰骨 化点 胸骨分節の非対称				
	化骨進行度 胸骨分節化骨数 仙・尾椎化骨数 中手骨化骨数 中足骨化骨数				

平均値±標準偏差

Fisher の直接確率計算法 (↑↓: p<0.05)

<母動物>

40 および 200 mg/kg/day 投与群で検体投与の影響は認められなかった。1000 mg/kg/day 投与群では、妊娠 15 日に 1 匹の母動物が死亡した。しかし、この死亡が検体投与に関連したものか否かは不明である。体重と体重増加量に関しては、妊娠 24 日以降に対照群と比較して低い値が認められ、妊娠 24 日と妊娠 27 日の体重増加量に統計学的に有意な差が認められた。また、妊娠 6～8 日および妊娠 22～24 日の摂餌量が統計学的に有意に減少した。母動物の剖検の結果、1000 mg/kg/day 投与群の母動物 2 匹に肝臓の腫大が認められた。

<胎仔>

奇形学的検査：いずれの投与群にも検体の投与に関連すると考えられる奇形は認められなかった。

内臓変異：40 および 1000 mg/kg/day 投与群における胸腺頭部残留の出現頻度と内臓変異を持つ胎仔の総出現頻度に対照群との間で統計学的有意差が認められた。しかし、これらの出現頻度はいずれも対照群の値よりむしろ低く、検体投与とは関係のない変動と考えられた。

骨格変異：1000 mg/kg/day 投与群における 13 肋骨を伴う仙椎前椎骨数 27 の出現頻度が統計学的に有意に増加し、骨格変異を持つ胎仔の総出現頻度は対照群より統計学的に有意に高かった。化骨進行度では、対照群と各投与群の間で統計学的有意差は認められなかった。

以上の結果から、本検体の 200 mg/kg/day の用量はウサギの母動物に対する無影響量および無毒性量であり、1000 mg/kg/day の用量はウサギの母動物に対する最小中毒量であると考えられる。一方、胎仔に対しては、200 mg/kg/day の用量が無影響量および無毒性量であり、1000 mg/kg/day の用量が最小中毒量であると考えられる。母動物に対して影響の認められる 1000 mg/kg/day の用量で骨格変異の出現頻度がわずかに増加する傾向が認められたが、催奇形性は陰性であると判断される。