

8.5.4 マウスにおける発がん性試験 (資料 No. T-3.4)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ICR 系マウス、1 群雄雌各 52 匹、1 ケージ同性 4 匹、投与開始時 6 週齢。

試験期間： 104 週 (1985 年 2 月 4 日～1987 年 2 月 18 日)

投与方法： 検体を 0 (群 1)、0 (群 2)、1 (群 3)、10 (群 4)、100 (群 5)及び 1000 ppm (群 6)の検体濃度となるように飼料に混合し、78 週間に亘って自由摂取させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

観察・検査項目及び試験結果：

一般状態及び生存率；全動物について毎日観察し、詳細な検査を初期 4 週間には毎日、その後は週 1 回行った。死亡の頻度と分布及び臨床徴候には検体投与に起因するとみられるものはなかった。試験終了時の生存率を下表に示す。

投与群 (ppm)		0	0	1	10	100	1000
生存率(%)	雄	37	40	33	44	38	44
	雌	67	50	60	63	63	52

体重；全動物について個別別に週 1 回記録し、第 13、26、52、78 及び 104 週について統計学的に解析した。いずれの場合にも検体投与に起因するとみられる群間差はなかった。

摂餌量及び食餌効率；ケージ毎に週単位で記録し、給餌量、食べ残し量、浪費量及び生存動物数と生存日数から 1 匹当りの摂餌量 (g/mouse/week)を算出した。群平均摂餌量は全期間を通じて検体投与による影響はなかった。また、食餌効率を、体重と摂餌量から初期 13 週間の単位体重増加量当りの摂餌量として算出した。対照群と投与群との間に実質的に差はみられなかった。

検体摂取量；群平均の体重と摂餌量及び検体の飼料中混合濃度から、群平均摂取量 (mg/kg/day)を週間隔で算出し、更に全期間の摂取量をも算出した。全期間の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与群 (ppm)		1	10	100	1000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.12	1.12	10.7	107
	雌	0.11	1.16	11.7	117

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

血液学的検査；投与第 26、52、78 及び 104 週に、1 匹／ケージについて眼窩静脈洞から採血して次のパラメーターを検査または算出した。

血球容積(PCV)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、白血球数(WBC)、血小板数(PLT)、白血球のディファレンシャルカウント((好中球(Neu)、好酸球(Eos)、好塩基球(Baso)、リンパ球(Lym)、単核球(Mono))、細胞形態

血液学的検査結果 (数値は対照値に対する%)

群 (ppm)	1				10				100				1000			
週	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104

表 1 に示す通り投与群の値が対照群と比較して統計学的に有意な変動を示すこともあったが、その差はわずかであり、検体投与に関係するとは考えられなかった。

臓器重量； 終了時に屠殺した全動物について脳、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣の臓器重量を測定し、統計学的解析では最終体重を潜在的共変量として用いた。

臓器重量 (数値は対照値に対する%)

性	雄				雌			
群 (ppm)	1	10	100	1000	1	10	100	1000

その結果、雄の 1000 ppm 群と雌の 1000 及び 100 ppm 群の肝臓重量が対照値に比べて有意に増大した (表 2)。その他の臓器重量は対照群と投与群とで同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

肉眼病理学的検査：死後発見、切迫殺及び終了時屠殺の全動物について常法により行った。
変動が認められた所見を以下に示す。

臓器／所見	性別	雄					雌				
	投与群	1,2	3	4	5	6	1,2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	1	10	100	1000	0	1	10	100	1000

1000 ppm 群の雄雌で肝臓の表面粗造／陥凹が、同群雄で肝臓の結節、退色／退色領域及び小葉像明瞭化が対照群比較して統計学的に有意に増加した。これら肝臓の変化は検体投与に起因すると考えた。1000 ppm 群の雄における肺結節及び雌における子宮結節の増加は、病理組織学的検査で腫瘍数の増加がみられなかったことから、毒性学的意味はないと判断した。

病理組織学的検査：試験中の死亡または切迫殺動物、終了時屠殺の 1000 ppm 群及び対照群動物については下記の全指定組織を、終了時屠殺の 100、10 及び 1 ppm 群の動物については肺、肝臓、腎臓、肉眼的異常組織及び 1000 ppm 群で投与関連変化を示した組織を、常法により HE 染色 (肝臓及び腎臓は特殊染色も実施) 標本を作り鏡検した。脳および脊髄は白質空胞化について追加検査を実施した。

脳、下垂体、脊髄(頸部)、眼、唾液腺、甲状腺及び上皮小体、胸腺、気管、肺及び気管支、心臓、動脈、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節(頸部、腸間膜)、膵臓、精巣及び精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣、乳腺、皮膚、骨格筋、坐骨神経、胸骨、大腿骨及び関節、肉眼的異常組織。

(非腫瘍性病変)

認められた主な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

検体投与に起因する変化として、1000ppm 群の雄で肝臓の好塩基性または好酸性肝細胞巣が、雌雄で肉芽腫性肝炎及び褐色色素沈着大食細胞集簇が統計学的に有意に増加した。また 1000 ppm 群の雄で脳の白質空胞化の総頻度及び軽度の所見頻度が、雌では軽度及び中等度の所見頻度が増加した。その他の変化はこの系統のマウスに通常認められる所見であり、用量相関性がないか変化の方向に意味がなく、又は背景データの範囲内であり、毒性学的な意味はないと考えた。

(腫瘍性病変)

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

1000 ppm 群の雄において肝細胞腫瘍の発生が有意に増加した。肝臓腫瘍の増加は検体投与の影響と考えられた。また、雄の 10 ppm 以上の投与群で肺腺腫が統計学的に有意に増加したが、対照群における発生頻度が背景データより低く、用量相関性も肺腺癌の発生頻度との相関性もないため、偶発性であり検体投与との関連はないと考えられた。

[申請者注] メカニズム試験 (資料 No. T-7.1)の結果、肝臓腫瘍の発生は肝薬物代謝酵素誘導あるいは細胞増殖作用によることが示されており、またその作用には閾値があることが確認されている。

結 論： 検体投与に起因すると見られる変化は、1000 ppm 群の雄雌にみられた肝臓の肉眼的所見の多発、1000 ppm 群の雄雌及び 100 ppm 群の雌にみられた肝臓重量の増大、1000 ppm 群の雄にみられた肝細胞腫瘍の増加、1000 ppm 群の雄雌及び 100 ppm 群の雄にみられた肝臓の非腫瘍性病変の増加、並びに 1000 ppm 群の雄雌にみられた中枢神経系の白質空胞化であった。
したがって、この試験においては雄雌マウスに対する検体の最大無作用量は 10 ppm (雄 1.12、雌 1.16 mg/kg/day)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1-1 非腫瘍性病変

臓器/所見	性別	雄					雌				
	投与群	1,2	3	4	5	6	1,2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	1	10	100	1000	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1-1 非腫瘍性病変 (続き)

臓器/所見	性別	雄					雌				
	投与群	1,2	3	4	5	6	1,2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	1	10	100	1000	0	1	10	100	1000

表 1-2 中枢神経系白質空胞化の追加検査結果

臓器/所見	性別	雄					雌				
	投与群	1,2	3	4	5	6	1,2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	1	10	100	1000	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-1 腫瘍性病変 - 途中死亡・切迫殺動物

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-1 腫瘍性病変 - 途中死亡・切迫殺動物 (続き)

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変 - 最終屠殺動物

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変－最終屠殺動物(続き)

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変 - 全動物

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変－全動物 (続き)

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変 - 全動物 (続き)

臓器/所見	性別	雄						雌					
	投与群	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	用量 (ppm)	0	0	1	10	100	1000	0	0	1	10	100	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.4 補遺 マウス及びラットにおける発癌性試験の評価 (資料 No. T-3.4 補遺)

試験機関

報告書作成年 1989 年

フルアジナム原体のマウス及びラットの発癌性試験を実施し、その報告書 (資料 No. T-3.2 及び T-3.4) を作成した上記試験機関の病理学部長 Dr. Gopinath は、申請者が提供した一連の変異原性試験報告書 (資料 No. T-5.1、T-5.3~T-5.8) をもよく精査した上で、以下のような評価を行った。

1. フルアジナム原体のラットに対する発癌性試験 (投与レベルは飼料中最高 1000 ppm まで) では、雌雄のいずれにも腫瘍形成の可能性は全くみられなかった。
2. フルアジナム原体のマウスに対する発癌性試験 (投与レベルは飼料中最高 1000 ppm まで) では、肝細胞腫瘍の発生増大がみられた。
3. その発生増大は最高投与レベルの 1000 ppm に限られており、他の投与レベルの 100、10、又は 1 ppm では認められなかった。
4. その発生増大はこの投与レベル群の雄マウスにだけみられ、雌マウスにはみられなかった。
5. その肝細胞腫瘍の発生増大は本質的に良性肝細胞腫瘍に基づくものであって、悪性肝細胞腫瘍に基づくものではなかった。
6. 更にこの研究にみられた良性及び悪性肝細胞腫瘍の最大発生率 (いずれも 1000 ppm 群の雄) は、この研究所における同系同性のマウスを用いた無処理対照群 (1981~1984 年に開始された 16 件の試験からの対照群) の背景対照データの範囲内であった。
7. スポンサーによって提供された 7 件の変異原性試験の結果を調べたところ、それらの試験条件下においてフルアジナム原体は変異原性を有さないことが示されている。

人の場合とちがって齧歯類においては、数種の非遺伝毒性物質が後天的と思われるメカニズムによって肝臓腫瘍の発生増大を生じ得ることが知られているが、それらは人に対して肝臓癌を誘発する可能性がないことも報告されている。^{1)~6)} 前述の 1~7 の状況から判断して、フルアジナム原体は人に対して発癌性を示すものではないと考える。

- 注 1) IARC 1974 Monographs on evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, some organochlorine pesticides, some halogenated hydrocarbons Vol. 5.
- 2) Howe G. R., Lindsay J., Coppock E. and Miller A. B., 1979. Int. J. Epidemiology 8, 305
- 3) Jansen, J. D., Clemmesen J, and Sundararanik, 1980. Mut. Res. 76, 85.
- 4) Clemmesen, J. and Hjalgrim-Jansen, S. 1978. In primary liver tumours Ed. Remmer, H. Bolt, H. M., Bannasch p., Popper H. MTP Press, Lancaster U. K. p. 227.
- 5) Clemmesen, J. and Hjalgrim-Jansen, S. 1981. Ecotoxicol. Env. Safety 5, 255
- 6) Costello H. D., and Snider, 1989. Am. J. Epidemiol. 111, 67.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.5 マウスにおける2年間発がん性試験 (追加試験) (資料 No. T-3.5)

試験機関

報告書作成年 1996年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : Crl:CD-1 (ICR)BR マウス、投与開始時7週齢、1群雄雌各50匹 (対照群と最高用量群は雌雄各20匹を衛星群として追加し78週後に中間屠殺)、104週間飼育 (雌は97週間)

試験期間 : 投与期間 衛星群 78週 (1992年10月1日~1994年3月31日)
主群 雄 104週 (1992年10月1日~1994年10月3日)
雌 97週 (1992年10月1日~1994年8月17日)

試験方法 : 検体を、0、1000、3000及び7000 ppmの濃度で均一に配合した粉末飼料を前記期間中マウスに摂食させて、下記の項目について観察又は検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

観察・検査項目及び結果：

死亡； 生死を毎日観察した。7000 ppm 群の雌で対照群と比較して有意な死亡動物数の増加がみられた。

主群								
性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終死亡数 (匹)	32	24	29	34	21	24	23	37**

Logrank 法 **: P < 0.01

一般状態； 全動物について一般状態を毎日観察した。7000 ppm 群雄雌及び 3000 ppm 群雌に眼窩周囲の脱毛がみられた。他に投与に関連する臨床症状はみられなかった。

体重変化； 全動物について、投与開始時から 16 週までは毎週 1 回、以後 4 週に 1 回の頻度、さらに剖検の直前に体重を測定した。また、50 週時にも摂餌量測定に合わせて測定した。7000 ppm 群の雄において、4 週目から 36 週目の増体量が有意に低下したが、他に影響はみられなかった。1000 および 3000 ppm 群は影響を受けなかった。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	1000	3000	7000	1000	3000	7000
4-36 週			68↓			

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Kruskal and Wallis 検定 ↓: p<0.01

摂餌量； 全ケージについて体重と同じ頻度で測定した。検体投与による影響はみられなかった。

飼料要求率； 投与 13 週までの間、週ごとの平均摂餌量を平均増体量で除して各週の飼料要求率を算出し、総平均も算出した。その結果、7000 ppm 群の雄で要求率が増加したが、増体量の増加に起因するものと考えられた。1000 および 3000 ppm 群の飼料要求率に影響はみられなかった。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	1000	3000	7000	1000	3000	7000
0-13 週	98	107	130	91	84	97

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の週ごとの平均体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から平均検体摂取量を次の通り算出した。

群 (ppm)		1000	3000	7000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	主群 雄	126	377	964
	主群 雌	162	453	1185

血液学的検査；投与 52、78 週目及び最終計画殺時 (雌 97、雄 104 週目)に、対照群および 7000 ppm 投与群の全生存マウスから採血し、白血球ディファレンシャルカウント (好中球(N)、リンパ球(L)、好酸球(E)、好塩基球(B)、単球(M))を観察した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性・用量 (ppm)		雄	雌
検査項目	検査時期 (週)	7000	7000

いくつかの項目で統計学的に有意であったが、対照群と 7000 ppm 群の差はわずかであり、雌雄間で関連性がなかったため、毒性学的には重要でないと考えられた。

臓器重量；各計画殺に供された動物について、脳、肝臓、腎臓、副腎、心臓、脾臓、精巣 (精巣上体と伴に)、卵巣の重量を測定した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別・用量 (ppm) 検査項目\検査時期 (週)	雄			雌		
	1000	3000	7000	1000	3000	7000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与に関連する変化として、最終計画殺時の 7000 ppm 群の雌雄において、脳重量が有意に増加した。また、雌雄共にすべての投与群で肝臓重量が有意に増加した。7000 ppm 群の雌の副腎重量及びすべての投与群の雄の脾臓重量が増加したが、関連する病理組織学的検査における所見がなく、脾臓については用量相関性もなかったことから、毒性学的な意味はないと考えられた。他に検体投与によると考えられる所見はなかった。

肉眼病理学的検査：計画殺動物の全例について常法に従って剖検を実施した。

主な所見を次表に示す。

衛星群

性別		雄				雌			
臓器	投与群 (ppm)	0		7000		0		7000	
	転帰	D	I	D	I	D	I	D	I
	所見\検査例数	6	14	4	16	6	12	5	13

転帰 D：死亡/切迫殺、I：途中計画殺

主群：死亡/切迫殺動物

性別		雄				雌			
臓器	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
	所見\検査例数	32	24	29	35	21	24	23	37

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

主群：最終計画殺動物

性別		雄				雌			
臓器	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
	所見\検査例数	18	26	21	15	29	26	27	13

主群：全動物

性別		雄				雌			
臓器	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50

検体投与による影響として、7000 ppm 投与群の雌雄および3000 ppm の雌1匹で脳の腫脹が認められた。この所見には統計学的有意差はなかったが、病理組織学的検査で示された白質のミエリン浮腫に対応する所見と考えられた。雄の全ての投与群並びに雌の3000及び7000 ppm 投与群において、肝臓の腫大、色調の変化、小葉像の明瞭化などの肝臓に対する影響が認められた。雄の3000及び7000 ppm、雌の1000及び7000 ppm の途中死亡動物の心臓において左心房血栓が増加したが、計画殺動物ではほとんど観察されておらず、投与との関連性は不明であった。その他に認められた所見は明確な用量相関性がないか減少方向への変化であり、あるいは自然発生で認められる所見で背景データの範囲内であるため、検体投与との関連はないと考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

病理組織学的検査；衛星群の78週後途中計画殺例の対照群と最高用量群、主群の最終計画殺時の対照群と最高用量群、全ての死亡・切迫殺動物を対象に以下の臓器・組織について常法に従ってHE染色標本を作製し鏡検した。大脳、小脳及び脊髄は光学顕微鏡及び電子顕微鏡で、白質空胞化について診断基準に基づき再検査を実施した。

脳、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、胸骨及び骨髓、大腿骨及び関節、リンパ節（顎下、腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部、咽頭、喉頭、気管、肺及び気管支、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮角、子宮頸、膣、眼球、涙腺、骨格筋、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を、衛星群については表1に、主群については表2に示す。

主群では次の通り、肝臓の腫瘍性病変に統計学的な有意差が見られた。3000及び7000ppm投与群の雄において、肝細胞腺腫の発生頻度が統計学的に有意に増加した。しかしながら、7000ppm群における発生頻度は、背景対照の範囲内であった。

[申請者見解：肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計数が雄の全ての投与群で有意に増加したが、ほとんどが肝細胞腺腫の発生によるものであり、1000及び7000ppm群における発生頻度は背景データの範囲内であった。]

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000

試験実施機関において1991年～1993年に実施されたマウス発がん性試験における雄マウスの肝臓の腫瘍性病変の背景データは次の通りである。

試験番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
試験期間 (週)	92	80	80	80	81	92	92	80	83	83	96	80
所見\検査例数	50	56	56	50	50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞腺腫 (B)	4	6	11	4	8	7	8	11	7	6	8	17
肝細胞癌 (M)	4	8	5	5	1	6	3	2	2	0	3	8
肝細胞腫瘍数合計	8	14	16	9	9	13	11	13	9	6	11	25
担肝細胞腫瘍動物数	8	11	14	9	9	10	9	13	8	6	10	20

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

統計学的に有意差が認められた主な非腫瘍性病変を以下の表に示す。

衛星群

臓器/所見	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0		7000		0		7000	
	転帰	D	I	D	I	D	I	D	I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

主群：死亡／切迫殺動物

臓器／所見	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

主群：最終解剖動物

臓器/所見	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

主群：全動物

臓器/所見	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

全ての投与群において、雌雄ともに肝細胞肥大／空胞化、変異肝細胞巣、褐色色素含有大食細胞集簇及び炎症細胞浸潤などの肝臓所見が認められた。

また、雄の全投与群並びに雌の 3000 及び 7000 ppm 投与群において、統計学的に有意な中枢神経系の白質空胞化の頻度の増加及び重篤化が認められた。雌のこれらの所見は 78 週間目の中間計画殺動物においても観察されており、検体投与による影響と考えられた。雌の 7000 ppm 投与群の最終解剖動物において、糸球体腎炎及び腺胃上皮過形成の発生頻度が統計学的にわずかに有意に増加した。しかし雄では増加しておらず、またこの系統のマウスでは多くの自然発症が認められる所見であり、検体投与との関連は不明である。

雄の 7000 ppm 投与群の最終解剖動物において腺胃粘膜下の単核球浸潤が増加したが、これは加齢により一般的に認められる所見であり、検体投与との関連は疑わしい。雌雄の死亡又は切迫殺動物で、心房血栓が有意に増加したが、最終解剖動物では対照群との差はなかった。この所見の毒性学的な意味は不明である。

その他に認められた所見は ICR 系マウスの加齢に伴い自然発生するもので背景データの範囲内であるか、投与用量や性別での一貫性がなく、投与との関連はないと考えた。

結 論： 3000 及び 7000 ppm 投与群の雄において肝細胞腺腫の発生頻度が統計学的に有意に増加した。また、肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度は、雄の全ての投与群で統計学的に有意に増加した。しかしながら、1000 及び 7000 ppm 投与群における発生頻度は、背景対照データの範囲内であった。雌では投与による腫瘍の発生は認められなかった。また、すべての投与群で肝臓への影響及び中枢神経系の白質空胞化がみられた。[申請者見解：中枢神経系の白質空胞化について、マウス発癌性（追加試験）に関する考察として抄録巻末に添付した。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表1 衛星群〔腫瘍性病変〕

性別		雄				雌				
臓器	投与群 (ppm)	0		7000		0		7000		
	転帰	D	I	D	I	D	I	D	I	
リンパ ^o 様 /多臓器 性腫瘍	所見\検査例数									
	所見\検査例数									
	悪性リンパ ^o 腫(M)	リンパ ^o 芽球型								
		濾胞中心型								
		多形成型								
	骨髄球性白血病(M)									
組織球性肉腫(M)										
肺	所見\検査例数									
	肺腺腫(B)									
	肺腺癌(M)									
肝臓	所見\検査例数									
	肝細胞腺腫(B)									
	肝細胞癌(M)									
	肝細胞腫瘍合計									
精巣	所見\検査例数									
	血管腫(B)									
卵巢	所見\検査例数									
	管状腺腫(B)									
	黄体腫(B)									
子宮	所見\検査例数									
	血管肉腫(M)									
骨髄 /胸骨	所見\検査例数									
	血管肉腫(M)									
頭部	所見\検査例数									
	扁平上皮乳頭腫(耳介)(B)									
褐色脂 肪組織	所見\検査例数									
	褐色脂肪腫(B)									

D : 死亡/切迫殺、I : 途中計画殺 (78 週)

[肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度の統計は申請者にて実施]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-1 主群〔腫瘍性病変；死亡・切迫殺〕

臓器	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
リンパ様 /多臓器 性腫瘍	所見\検査例数									
	所見\検査例数									
	悪性リンパ 腫(M)	リンパ芽球型								
		小リンパ球型								
		濾胞中心型								
		免疫芽球型								
		分類なし								
骨髄球性白血病(M)										
組織球性肉腫(M)										
肺	所見\検査例数									
	肺腺腫(B)									
	肺腺癌(M)									
心臓	所見\検査例数									
	血管肉腫(M)									
肝臓	所見\検査例数									
	肝細胞腺腫(B)									
	肝細胞癌(M)									
	肝細胞腫瘍合計									
	血管腫(B)									
	血管肉腫(M)									
精巣	所見\検査例数									
	血管腫(B)									
	間細胞腫(B)									
甲状腺	所見\検査例数									
	濾胞細胞腺腫(B)									
卵巣	所見\検査例数									
	嚢胞状腺腫(B)									
	黄体腫(B)									
	顆粒膜細胞腫(B)									
	血管腫(B)									
子宮	所見\検査例数									
	血管腫(B)									
副腎	所見\検査例数									
	褐色細胞腫(B)									
	皮質腺腫(B)									
胃	所見\検査例数									
	扁平上皮乳頭腫(B)・前胃									

[肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度の統計は申請者にて実施]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-1 主群〔腫瘍性病変；死亡・切迫殺〕（続き）

性別		雄				雌			
臓器	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
皮膚	所見\検査例数								
	肥満細胞腫(B)								
皮下	所見\検査例数								
	線維肉腫(M)								
	肥満細胞腫(B)								
乳腺	所見\検査例数								
	乳腺癌(M)								
ハダ腺	所見\検査例数								
	腺癌(M)								
骨髄 /胸骨	所見\検査例数								
	骨腫(B)								
後肢	所見\検査例数								
	線維肉腫(M)								

表 2-2 主群〔腫瘍性病変；最終解剖〕

性別		雄				雌				
臓器	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000	
リンパ様 /多臓器 性腫瘍	所見\検査例数									
	所見\検査例数									
	悪性リンパ腫	リンパ芽球型								
		小リンパ球型								
		濾胞中心型								
		多形成型								
組織球性肉腫(M)										
肺	所見\検査例数									
	肺腺腫(B)									
	肺腺癌(M)									
肝臓	所見\検査例数									
	肝細胞腺腫(B)									
	肝細胞癌(M)									
	肝細胞腫瘍合計									
	血管腫(B)									
胆嚢	所見\検査例数									
	乳頭腫(B)									
膵臓	所見\検査例数									
	外分泌腺癌									
精巣	所見\検査例数									
	間細胞腫(B)									

〔肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度の統計は申請者にて実施〕

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 主群〔腫瘍性病変：最終剖検〕（続き）

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
卵巣	所見\検査例数								
	管状腺腫(B)								
	嚢胞状腺腫(B)								
	黄体腫(B)								
	悪性黄体腫(M)								
	顆粒膜細胞腫(B)								
子宮	所見\検査例数								
	リンパ管腫(B)								
	血管腫(B)								
	平滑筋腫(B)								
	平滑筋肉腫(M)								
	線維腫(B)								
	線維肉腫(M)								
	シュワン細胞腫(M)								
子宮頸部	所見\検査例数								
	平滑筋肉腫(M)								
	褐色細胞腫(B)								
副腎	所見\検査例数								
	皮質腺腫(B)								
下垂体	所見\検査例数								
	腺腫(B)								
胃	所見\検査例数								
	扁平上皮乳頭腫(B)・前胃								
皮膚	所見\検査例数								
	扁平上皮乳頭腫(B)								
	基底扁平細胞乳頭腫(B)								
	線維肉腫(M)								
	肥満細胞腫(B)								
ハタゲ腺	所見\検査例数								
	腺腫(B)								
骨	所見\検査例数								
	骨腫(B)								
褐色脂肪組織	所見\検査例数								
	褐色脂肪腫(B)								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 主群〔腫瘍性病変：全動物〕

臓器	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
リンパ様 多臓器 性腫瘍	所見\検査例数									
	所見\検査例数									
	悪性リンパ 腫(M)	リンパ芽球型								
		小リンパ球型								
		濾胞中心型								
		免疫芽球型								
		多形成型								
	分類なし									
骨髄球性白血病(M)										
組織球性肉腫(M)										
肺	所見\検査例数									
	肺腺腫(B)									
	肺腺癌(M)									
心臓	所見\検査例数									
	血管肉腫(M)									
肝臓	所見\検査例数									
	肝細胞腺腫(B)									
	肝細胞癌(M)									
	肝細胞腫瘍合計									
	血管腫(B)									
	血管肉腫(M)									
胆嚢	所見\検査例数									
	乳頭腫(B)									
膵臓	所見\検査例数									
	外分泌腺癌(M)									
精巣	所見\検査例数									
	血管腫(B)									
	間細胞腫(B)									
甲状腺	所見\検査例数									
	濾胞細胞腺腫(B)									
卵巢	所見\検査例数									
	管状腺腫(B)									
	嚢胞状腺腫(B)									
	黄体腫(B)									
	悪性黄体腫(M)									
	顆粒膜細胞腫(B)									
	血管腫(B)									

{肝細胞腺腫及び肝細胞癌の合計発生頻度の統計は申請者にて実施}

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 主群〔腫瘍性病変：全動物〕 (続き)

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
子宮	所見\検査例数								
	リンパ管腫(B)								
	血管腫(B)								
	平滑筋腫(B)								
	平滑筋肉腫(M)								
	線維腫(B)								
	線維肉腫(M)								
	シュワン細胞腫(M)								
子宮頸部	所見\検査例数								
	平滑筋肉腫(B)								
	褐色細胞腫(B)								
副腎	所見\検査例数								
	褐色細胞腫(B)								
	皮質腺腫(B)								
下垂体	所見\検査例数								
	腺腫(B)								
胃	所見\検査例数								
	扁平上皮乳頭腫(B)・前胃								
皮膚	所見\検査例数								
	扁平細胞乳頭腫(B)								
	基底扁平細胞乳頭腫(B)								
	線維肉腫(M)								
	肥満細胞腫(B)								
皮下	所見\検査例数								
	線維肉腫(M)								
	肥満細胞腫(B)								
乳腺	所見\検査例数								
	腺癌(M)								
ハダ腺	所見\検査例数								
	腺腫(B)								
	腺癌(M)								
骨髄/胸骨	所見\検査例数								
	骨腫(B)								
骨	所見\検査例数								
	骨腫(B)								
後肢	所見\検査例数								
	線維肉腫(M)								
褐色脂肪組織	所見\検査例数								
	褐色脂肪腫(B)								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

全動物における腫瘍結果：

性別		雄				雌			
		0	1000	3000	7000	0	1000	3000	7000
投与群 (ppm)									
検査動物数									
腫瘍数	良性								
	悪性								
腫瘍総数									
担腫瘍動物数	良性								
	悪性								
担腫瘍動物数									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

8.6.1 ラットにおける2世代繁殖試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関
報告書作成年 1987年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： SD系ラット、1群雄雌各24匹、投与開始時6週齢

試験期間： P世代 投与開始からF₁児離乳時までの18週間
F₁世代 離乳時からF₂児離乳時までの18週間
(1985年9月30日～1986年6月28日)

投与方法： 検体を0、20、100、及び500ppmの濃度で含有した飼料を自由に摂食させた。

観察・試験項目： 試験手順を表1に掲げる。

親動物

一般状態及び死亡；

全動物を全期間に亘って毎日観察した。

体重； 雄は最終屠殺まで毎週、雌は交尾確認までは毎週、交尾後は0、6、13及び20日目に、
出産後は1、4、7、14及び21日目に個体別に測定した。

摂餌量； 同居までの期間 (以下“生育期間”という)に週毎に測定した。

摂餌効率； 体重と摂餌量から単位摂餌量当りの体重増加量として算出した。

検体摂餌量； 体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から、生育期間について週毎に算出した。

交配手順； 投与開始11週後にケージ当り雄雌1対を同居させ、膣栓又は膣脂膏標本中の精子の
観察によって交尾を確認し、その日を妊娠0日として同居を終了させた。同居7日ま

でに交尾が確認されない場合は雄を替えて合計 3 回 21 日を最大交配期間とした。

繁殖性に関する指標；次の指標を算出した。

交尾率	(交尾した動物数/同居させた動物数×100)
受精率	(妊娠した動物数/交尾した動物数×100)
妊性陽性指数	(妊娠した動物数/同居させた動物数×100)
出産指数	(生存児出生同腹児群数/妊娠動物数×100)
着床後胚生存指数	(生後 1 日目の総児数/着床痕数×100)
妊娠期間	

最終検査； 児動物の離乳後に全親動物を屠殺して肉眼病理学的検査を行い、次記の諸臓器の重量を測定し (*印のみ)、常法に従って保存した。

下垂体、肝臓*、精巣*、精巣上体*、精囊*、前立腺*、卵巣*、子宮*、膈、
乳腺(全胎児死亡の雌のみ)及び肉眼的異常を認めた組織

更に対照及び 500 ppm 群の上記組織を常法通り薄切染色して病理組織学的検査を行った。500 ppm 群で異常がみられた組織に関しては同性の 20 及び 100 ppm 群についても検査した。

児動物

生存及び死亡児数；生後 1、4 (間引の前後)、7、14 及び 21 日目に記録した。

外表異常と一般状態；生後 1 日目に外表異常を調べ、一般状態を毎日観察した。

性別；生後 1、4 (間引の前後)、7、14 及び 21 日目に観察し、性比を求めた。

体重；生後 1、4、7、14 及び 21 日目に個体別に測定した。

生存指数；生後 4、7、14 及び 21 日目について算出した。

最終検査； 継代用に使われなかった F₁ 児及び全 F₂ 児を離乳後に、生後 4 日目に間引された個体及び死亡した個体をその都度屠殺して外表及び内臓を肉眼的に検査し、異常を認めた組織については常法通りに保存した。

試験結果； 表 2 に掲げる。

結論； 2 世代に亘り雄雌ラットに対して検体を 20 ppm の濃度で連続混餌投与した結果、親動物の身体成長及び児動物の発達或いは繁殖成績に悪影響を及ぼさなかった。より高い濃度の 100 ppm では、妊娠中の F₁ 雌の体重増加量で統計学的に有意な減少が認められたが、その他には悪影響はなかった。

最高濃度の 500 ppm では、体重増加量の有意な減少が生育期間中の P 雌及び F₁ 雄雌、妊娠哺育期間中の P 及び F₁ 雌そして哺育期間中の F₁ 児及び F₂ 児で認められた。生育期間中の P 雌及び F₁ 雄雌の摂餌量は有意に減少した。F₁ 雌の F₂ 着床痕数及び生後 1 日目及び 4 日目の F₂ 生存児数に有意な減少が認められたが、他に投与に関連すると考えられる繁殖成績に及ぼす影響はなかった。

なお、P 雄雌及び F₁ 雄には肝臓相対重量の有意な増加が記録されたが、毒性学的に重要と考えられる病理組織学的変化は認められなかった。

従って、本試験結果に基づくと、20 ppm (雄：1.49 mg/kg/day、雌：1.71 mg/kg/day) が親動物に及ぼす影響についての無毒性量 (NOAEL) であり、100 ppm (雄：7.26 mg/kg/day、雌：8.43 mg/kg/day) が児動物、及び繁殖性に及ぼす影響についての無毒性量と考えられた。

表1 試験手順

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(11週)	雌雄1対1で交配。交配は膣スミアで確認(妊娠0日)	体重、餌を週1回測定。 交配10日前から発情周期を検査。
	交配(3週)		交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠0、6、13及び20日目に体重測定。
	出産-----		出産状況の観察。 新生児数、死産児数、外表異常、性別及び同腹生存児体重を測定。
	哺育(3週)		出生後4日目各同腹児数を雄4匹、雌4匹に調整 (不可能な場合、雌雄計8匹)
F ₁	離乳-----	継代用に各群雌雄1匹ずつ24腹から無作為に選抜。	継代用に選抜されなかったF ₁ 離乳児と全P動物を屠殺し最終検査。
	生育(11週) 交配(3週) 妊娠(3週)	} (P世代に準ずる)	} (P世代に準ずる)
	出産-----		
	哺育(3週)		
	離乳-----		
F ₂			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2 結 果

世 代 群 (ppm)	親 : P		児 : F ₁		親 : F ₁		児 : F ₂	
	0	20	100	500	0	20	100	500

表 2 結果についての注釈

肝臓重量 (対体重比)の増加についての申請者の見解

P世代の雌親の肝臓重量対体重比は、全投与群において有意に高値を示したが、絶対重量においては、これら投与群で有意差はみられなかった。500 ppm 群では、摂餌量の低値を反映して、投与期間中の体重が対照群を下回り、生育期間中の体重増加量は統計学的有意差 ($p < 0.001$)を伴って減少した。従って、500 ppm 群の肝臓重量対体重比の増加は、この体重増加抑制に関連したものであり、投与に起因する影響と考えられる。しかし、500 ppm 群雌のこれら肝臓の組織学的検査においては投与によると考えられる変化は認められていない。20 及び 100 ppm 群の肝臓重量対体重比の上昇はわずかで、用量増加に相関した反応性増強の傾向も認められなかった。一方、F₁世代の雌親では、500ppm 群の肝臓絶対重量で統計学的に有意な減少がみられたものの、対体重比では影響はみられず、病理組織学的検査でも影響はみられなかった。

雄親動物の肝臓重量は、P世代の500 ppm 群のみにおいて統計学的に有意な対体重比の増加が見られたが、F₁世代では投与群に肝臓重量の変化は認められなかった。しかし、雄ではP及びF₁世代ともに100及び500 ppm 群において肝臓の病理組織学的検査で細葉周辺性肝細胞脂肪変性の発生頻度の増加がみられた。

ラット2世代繁殖試験と同時期に、同一研究機関でSDラットを用いて実施した90日間混餌投与試験(資料No. T-2.1)では、混餌投与濃度は、2、10、50、500ppmで、投与期間も繁殖試験のそれとほぼ同じであるが、肝臓毒性に関しては、雄の500ppm群でのみ統計学的に有意な対体重比の増加が認められたが、雌の肝臓重量には変化は認められず、病理組織学的検査でも肝臓に変化は認められなかった。

以上の通り、2世代繁殖試験でP世代雌親動物の投与群の肝臓重量対体重比に統計学的に有意な増加がみられているものの、絶対重量には有意差はなく、病理組織学的検査でも肝臓に異常はみられなかった。また、P世代より長く投与されているF₁世代では肝臓重量への影響は認められず、さらに、ラット90日間亜急性毒性試験でも、雌動物の肝臓に影響がなかった。従って、2世代繁殖試験のP世代雌親動物の投与群で認められた肝臓重量対体重比の変動は、最高投与群(500 ppm)の変化のみ投与に起因し、中間投与群(20及び100ppm群)の変化は偶発的なものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)

試験機関

報告書作成年 1985 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : SD 系妊娠ラット (9~11 週齢、試験開始時体重 207~241 g)、1 群 20 匹

投与期間 : 妊娠期間中 10 日間 (1984 年 5 月 15 日~1984 年 5 月 26 日)

投与方法 : 検体をトウモロコシ油に懸濁し、0、10、50 及び 250 mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日目から 15 日目 (膈栓が認められた日を妊娠 0 日として起算) の 10 日間、毎日 1 回経口投与した。尚、対照群にはトウモロコシ油を同様に投与した。

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、3、6~16、18 及び 20 日目に体重を測定し、摂餌量は妊娠期間中 2~4 日間隔で 7 回、摂水量は妊娠期間中 3~4 日間隔で 6 回測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

生存胎児 ; 体重、胎盤重量を測定し、性別及び外表異常の観察を行った。各同腹仔群 1/2 の胎児について内臓異常を検査し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格異常を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果： 概要を添付の表に示した。

親動物； 250 mg/kg/day 投与群では、投与期間中に下腹部汚れ、体重増加量の有意な低下が認められた。また、摂餌量が減少し、摂水量が軽度増加していたが統計学的な有意差はみられなかった。50 mg/kg/day 投与群においても有意差はなかったが体重増加量が低下していたことから、50 mg/kg/day 投与群においても検体による影響がある可能性が示唆された。黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数については全ての群において検体投与による影響は認められなかった。

生存胎児； 250 mg/kg/day 投与群の胎児及び胎盤重量の減少、低頻度の外表異常（小胎児、唇裂、顔面裂、上顎裂、変形口蓋等）、低頻度の横隔膜ヘルニアを認めた。これらの外表異常は、対照群あるいは背景対照データにおいては、発生はないか、あるいは極めて低いものであったことから、本検体がこれらの異常の発生原因に関与していることが示唆された。皮下出血の頻度が軽度増加していたが、これは胎児の大きさが全般的に減少していることに関連したものと考えられた。骨化程度に関しては頭蓋骨、胸骨分節骨、尾椎骨、中手/中足骨及び恥骨における全般的な低下が見られた。さらに50及び250 mg/kg/day 投与群において14肋骨の発生率が軽度増加した。250 mg/kg/day 投与群の1同腹からの2胎児及び50 mg/kg/day 投与群の1胎児において、胸椎及び肋骨に類似した異常を認めた。50 mg/kg/day 投与群においても胎児及び胎盤重量が軽度に減少していたことから、50 mg/kg/day における胎児毒性の可能性が示唆された。

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに投与した時の母体及び胎児における無影響量（NOEL）はいずれも10 mg/kg/day と判断される。

[申請者注：250 mg/kg/day 群において、小胎児（体重2.7 g以下の胎児）の発生頻度が有意に増加しているが、これは平均胎児体重の低下（平均2.81 g）に起因しており、同群で認められた胎児体重の低下、不完全骨化および水腎症の増加等と同様、胎児の発育遅延を示唆する所見であると考えられた。また、羊膜：緑色についても同群で増加が認められるが、これは2腹の胎児のみで観察されていることから、この2例の親動物に何らかの原因があったことが示唆され、検体投与の影響とは考えなかった。なお、胸椎椎体の骨化不全の有意な増加が全ての投与群で認められたが、いずれも背景データの範囲内であり、検体投与に関連した影響とは考えなかった。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要 (親動物)

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	背景対照 ⁽¹⁾
1 群当りの動物数	20	20	20	20	

(1) 63 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要 (胎児動物)

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	背景対照 ⁽¹⁾

(1) 63 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要 (胎児：内臓検査)

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	背景対照 ⁽¹⁾

(1) 54 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要 (胎児：内臓・骨格検査)

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	背景対照

(1) 54 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要 (胎児：骨格検査)

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	背景対照 ⁽¹⁾

(1) 55 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要 (胎児：骨格検査)

	投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	250	背景対照 ⁽¹⁾
胎 児 動 物						

(1) 55 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.2A ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2A)

試験機関

報告書作成年 2006 年 [GLP 対応]

試験目的： 1 回目のラット催奇形性試験 (資料 No. T-4.2) で認められた胎児毒性を確認する目的で 2 回目のラット催奇形性試験を実施した。

検体純度：

試験動物： SD 系妊娠ラット (12 週齢、試験開始時体重 225～278 g)、1 群 25 匹

投与期間： 妊娠期間中 14 日間 (2005 年 12 月 5 日～2005 年 12 月 21 日)

投与方法： 検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁し、0、10、50 及び 300 mg/kg/day の投与量で、妊娠 6～19 日 (膣栓または腹腔中に精子が認められた日を妊娠 0 日として起算) の 14 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5% CMC-Na 水溶液を同様に投与した。

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0 及び 6～20 日に体重および摂餌量を測定した。妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

生存胎児； 体重、胎盤重量を測定し、性別及び外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常を検査し、骨格標本を作製して骨格異常の検査を行った。

結果：概要を次頁の表に示した。

親動物； 全ての群で検体投与による死亡および臨床症状は認められなかった。

300 mg/kg/day 群では体重、体重増加量、摂餌量、補正体重および補正体重増加量の低下が認められた。この群における妊娠 12～20 日の体重増加量の低下は、生存胎児数の減少および胎児体重の低下による妊娠子宮重量の低下に起因する。

50 mg/kg/day 群においては、妊娠 6～9 日の摂餌量、体重増加量の低下が認められた。全投与群において、肝臓重量が用量依存的に増加していた。肝臓重量の増加は、検体投与に起因するものではあるが、以前のデータで小葉中心性肝細胞肥大は投与中止により回復することが示されているため (ラット 90 日間投与 28 日間回復試験、抄録 8.4.2 節)、有害作用とは判断しなかった。

また、300 mg/kg/day 群で生存胎児数の減少、着床後胚死亡率の増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

胎児動物； 50 および 300 mg/kg/day 群において胎児体重の有意な低下が認められた。これらの群では、骨格変異 (仙椎前椎体数 27、不完全骨化 (頭蓋骨、椎弓)、未骨化 (胸骨分節：第 5 および/または 6、第 1、2、3 および/または 4)の増加、および第 1 頸椎椎体骨化胎児数の減少)が認められた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した時の親動物及び胎児動物に対する無毒性量 (NOAEL)は 10 mg/kg/day であると考えられた。また、最高投与量の 300 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

[申請者注：本試験では、フルアジナムのラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)において 250 mg/kg/day 投与群で認められた外表異常 (小胎児、上顎裂、変形口蓋等)が最高用量群 (300 mg/kg/day)においても認められなかった。資料 No. T-4.2 では投与媒体としてトウモロコシ油を用いており、本試験では、実使用場面に近い水系の投与媒体を用いることが望ましいと考え、投与媒体として 0.5%CMC-Na 水溶液を用いた。フルアジナムについては、ラットにおける動物代謝試験 (資料 No. M-1.2 及び M-1.3、資料 No. M-1.9 及び M-1.11)においても異なる投与媒体を用いた試験を行っており、MC 水溶性媒体を用いた方が、吸収率が低く、排泄の速度が速いことが確認されている。

投与溶媒の差が、両催奇形性試験の外表異常の発生率の差に直接影響したかどうかは明確ではないものの、その一因である可能性があると考え、資料 No. T-4.2 においても無影響量 (NOAEL)は確認されており、さらに実使用場面に近い条件の本試験においても、それを補完する結果となっていることから、フルアジナムのラットに対する催奇形性に関しては、両試験の結果から判断できるものとする。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	300
1群当りの動物数	25	25	25	25

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)	0	10	50	300

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.3 ウサギにおける催奇形性試験 — 第1回試験 (資料 No. T-4.3)

試験機関

報告書作成年 1985年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : New Zealand White 種 妊娠ウサギ (試験開始時 21~27 週齢、体重 3.27~5.00 kg)、
1 群 20~24 匹 (第1段階試験 : 14~18 匹/群、第2段階試験 : 6 匹/群)

投与期間 : 妊娠期間中 14 日間 (第1段階試験 1984年 7月 31日~1984年 8月 14日)
(第2段階試験 1984年 10月 2日~1984年 10月 15日)

投与方法 : 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、0.3、1.0、及び 3.0 mg/kg/day の投与
量で妊娠 6 日目から 19 日目 (人工授精した日を妊娠 0 日として起算) の 14 日間、毎日
1 回経口投与した。尚、対照群には 1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態、生死の観察及び体重測定を毎日行った。摂餌量を妊娠期間中4～7日間隔で5回測定した。妊娠29日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全動物について肉眼病理学的検査を行った。

生存胎児； 性別、胎児及び胎盤重量測定、外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常を検査し、その後、骨格標本を作製して骨格異常を検査した。

試験結果： 概要を添付の表に示した。

親動物； 3.0 mg/kg/day 投与群で投与期間の後半に摂餌量が軽度に減少した。0.3 及び 3.0 mg/kg/day 投与群の各1匹が体重減少後に流産し、剖検において呼吸器障害が認められた。また1.0 mg/kg/day 投与群の1匹に同腹児全数の吸収が認められたが、全群において一般状態、体重、肉眼病理学的検査、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数については検体投与によると考えられる変化はなかった。

生存胎児； 胎児重量、胎盤重量、外表検査、内臓検査においては、検体投与によると考えられる変化は認められなかった。3.0 mg/kg/day 投与群で、背景対照データの範囲をわずかに超える長骨の化骨程度の減少、指骨ならびに中手骨の化骨程度の軽度減少が認められたが、他の化骨に関するいずれのパラメータからもこれらの変化を支持する証拠は認められなかったため、投与による悪影響はなかったと考えられた。

以上の結果より、本検体を妊娠ウサギに投与した時の母動物における無影響量 (NOEL) は3.0 mg/kg/day であり、また、最高投与量の3.0 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)	0	0.3	1.0	3.0	背景対照 ⁽¹⁾
1群当りの動物数	24	20	20	20	

(1) 77 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.4 ウサギにおける催奇形性試験 — 第2回目試験 (資料 No. T-4.4)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： New Zealand White 種 妊娠ウサギ (試験開始時 21~40 週齢、体重 3.61~4.44 kg)、
1 群 16~18 匹

投与期間： 妊娠期間中 14 日間 (1985 年 11 月 3 日~1985 年 11 月 17 日)

投与方法： 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、2、4、7 及び 12 mg/kg/day の投与量
で妊娠後 6 日目から 19 日目 (人工授精した日を妊娠 0 日として起算)の 14 日間、毎日
1 回経口投与した。尚、対照群には 1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態、生死の観察及び体重測定を毎日行った。摂餌量について妊娠期間
中 4~7 日間隔で 5 回測定した。妊娠 29 日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及
び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全動物について肉眼病理学的検査、肝臓及び肺
について病理組織学的検査を行った。

生存胎児； 性別、胎児重量及び胎盤重量測定、外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常
を検査し、その後、骨格標本作製して骨格異常を検査した。

試験結果： 概要を添付の表に示した。

親動物； 2 mg/kg/day で 1 匹、4 mg/kg/day で 2 匹、7 mg/kg/day で 3 匹及び 12 mg/kg/day で
2 匹が死亡または切迫屠殺されたが、用量との関連性は認められなかった。12
mg/kg/day 投与群で体重増加が有意に抑制された。4 mg/kg/day 以上の投与群において
投与期間中摂餌量が減少し、7 及び 12 mg/kg/day 投与群では投与期間の後半では有意
に減少した。12 mg/kg/day 投与群において流産あるいは全胎児死亡、着床後死亡率の
増加が認められた。4 mg/kg/day 以上の投与群の死亡、切迫屠殺、流産または全胎児吸
収動物では低頻度ながら肝臓の小葉像明瞭、変色または退色、肺のうっ血、胸水貯留が
認められた。4 mg/kg/day 以上の投与群において、投与に関連した変化が肝臓 (肝細胞
肥大等)及び肺 (肺水腫等)に認められ、7 及び 12 mg/kg/day 投与群では肝細胞肥大の発
生率が有意に上昇していた。その他の同腹児パラメータにおいては、全投与量群で影響
は認められなかった。

[申請者見解：病理組織学的検査においては、肝臓の肝細胞肥大のみ 7 mg/kg/day 以上
の投与用量で統計学的有意差が認められた。従って、親動物の NOEL は 2 mg/kg/day
であるが、NOAEL は 4 mg/kg/day であると考えた。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

生存胎児；胎児重量、胎盤重量、外表検査、内臓検査、骨格検査において検体投与によると考えられる変化はみられなかった。

以上の結果より、本試験条件下における検体の母動物に対する無影響量 (NOEL)は 2 mg/kg/day であり、胚あるいは胎児に対する無影響量 (NOEL)は 7 mg/kg/day であると考えられた。なお、全投与量群において胎児の形態発生あるいは発育に対する影響は認められなかった。

[申請者見解：4 mg/kg/day 投与群で認められた流産は背景データ範囲内であること、同投与用量で認められた病理組織学的所見には統計学的有意差がないことから、母動物に対する無毒性量 (NOAEL)は、4 mg/kg/day と判断した。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)	0	2	4	7	12	背景対照(1)
1 群当りの動物数	18	16	17	17	16	

(1) 92 試験における各試験値の範囲を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.5 ラットにおける強制経口投与による発達神経毒性試験 (資料 No. T-4.5)

試験機関

報告書作成年 2005 年 [GLP 対応]

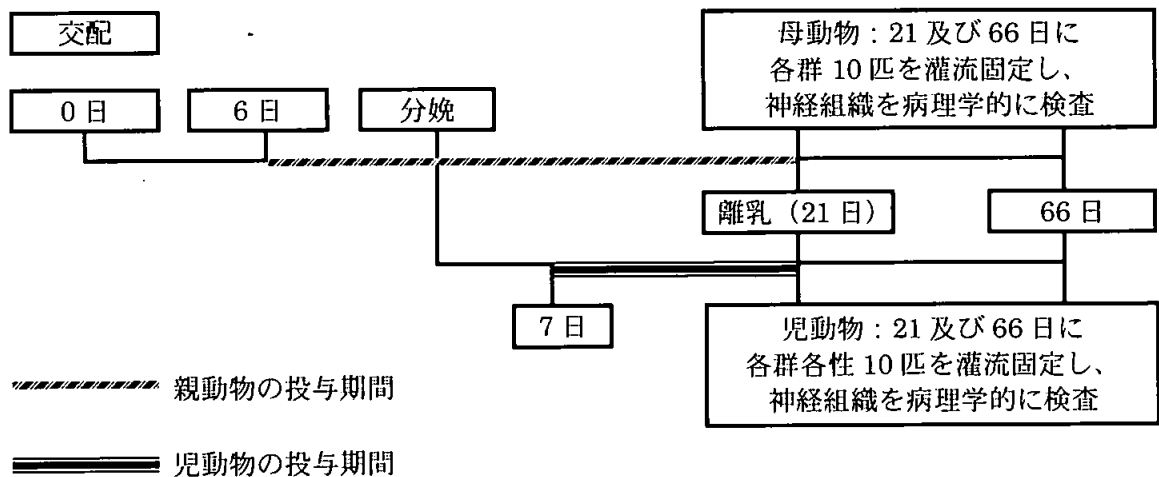
検体純度：

試験動物： SD 系ラット、1 群雌各 24 匹、交配開始時 12 週齢

投与期間： 親動物 交配 6 日目から授乳 20 日目までの 37 または 38 日間
児動物 生後 7 日齢から 20 日齢までの 14 日間
(2004 年 1 月 14 日～2004 年 3 月 4 日)

投与方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム塩 (CMC-Na)水溶液に懸濁し、0、2、10 及び 50 mg/kg/day の投与量で親動物には交配 6 日目から授乳 20 日目まで、児動物には 7 日齢から 20 または 21 日齢まで経口投与した。対照群には 0.5% CMC-Na 水溶液のみを投与した。

観察・検査項目及び結果：試験日程を以下の図に示した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

親動物

死亡率； 生死を毎日観察した。

いずれの投与群においても、試験期間中、死亡は発生しなかった。

一般状態； 一般状態を毎日2回観察した。

試験期間中、投与に関連した臨床症状は認められなかった。

体重変化； 交配後0、3、6、10、14、17及び20日、以降分娩まで毎日、授乳1、4、7、11、14、17及び21日、以降は試験終了まで1週毎に(28、35、42、49、56及び63日)、全ての動物の体重を測定した。有意差の認められた項目を以下に示す。

試験日程	投与量 (mg/kg/day)		
	2	10	50
増体量 交配6-14日		86↓	86↓
増体量 交配6-20日			90↓↓

Williams's test 又は Dunnett's test 1,↓ ; p<0.05, 11,↓↓ ; p<0.01

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

交配6日から14日の10及び50 mg/kg/day 投与群並びに交配6日から20日の50 mg/kg/day 投与群において、統計学的に有意な増体量の減少が認められた。

摂餌量； 交配後0-5、6-9、10-13、14-17及び18-19日、並びに授乳1-3、4-6、7-10、11-13、14-16及び17-20日に全ての動物の摂餌量を測定した。有意差の認められた項目を以下に示す。

試験日程	投与量 (mg/kg/day)		
	2	10	50
授乳1-3日			83↓
授乳7-10日		90↓	90↓↓
授乳11-13日		90↓	93↓
授乳14-16日 (児動物による摂餌を含む)		90↓	91↓
授乳17-20日 (児動物による摂餌を含む)		86↓↓	89↓↓

Williams's test 又は Dunnett's test 1,↓ ; p<0.05, 11,↓↓ ; p<0.01

Kruska-Wallis' test または Steel's test 0,0 ; p<0.05, 00,00 ; p<0.01

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

10 mg/kg/day 投与群では授乳7-10日以降全て、50 mg/kg/day 投与群では授乳期間を通して統計学的に有意な摂餌量低下が認められた。授乳期間中の母動物の増体量には影響がないため、この変化は児動物の生理的要求量が低いこと(わずかに同腹児数が少なく、また児動物の体重が低いことによる)及び14日齢以降は児動物の摂餌量が少ないことによると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

妊娠期間及び妊娠指数；交配後 20 日以降毎日、1 日に 3 回分娩の兆候を観察した。分娩の経過、生存及び死亡同腹産児数、その他の異常を記録した。交配日と分娩日から妊娠期間を算出した。投与による影響は認められなかった。

機能観察総合評価法 (FOB)；妊娠 12 及び 18 日、分娩後 6、18、35、45 および 60 日に、1 群 12 匹ずつ以下の項目について評価した。

ハンドリングによる観察	ケージからの取り出し易さ、流涎、立毛、被毛の状態、眼球突出、流涙、ハンドリング時の反応
オープンフィールドでの観察	眼瞼閉鎖、姿勢、歩様、振戦、筋攣縮、痙攣、行動量、立ち上がり回数、毛繕い、尿痕跡数、排糞数
反応測定	近接反応、接触反応、瞬き、尾部圧迫反応、正向反射、瞳孔反射、着地時開脚幅、体温、握力、体重
自発運動量	
感覚機能 (定量的)	聴覚性驚愕馴化
学習及び記憶	モーリス迷路試験

有意差の認められた項目を以下に示す。

試験日程	観察項目	投与量 (mg/kg/day)		
		2	10	50

検体投与による影響は認められなかった。分娩後15日および60日において、いくつかの群で自発運動量の有意な増減が認められたが、いずれも用量相関性がないかまたは前後の測定日/測定時間では有意差が認められないため、検体投与とは関連しないと考えられた。分娩16日および61日に実施したモーリス水迷路試験において、50 mg/kg/day投与群でそれぞれ試験4日目のゴール到達時間の短縮および試験2日目のゴール到達失敗回数の増加が認められたが、毒性学的に意味の無い方向の変化であるか、または前後の測定日では有意差が認められないため、検体投与とは関連しないと考えられた。分娩後35日の10および50 mg/kg/day投与群において、着地時開脚幅の有意な縮小が認められたが、これ以外の測定時には有意差が認められていないため、偶発的であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

児動物

出生児データ；全ての出生児について、生後約 24 時間 (1 日齢) から離乳時まで毎日及び生後 28 日に死亡を記録した。生後 4 日に 8 匹以上の同腹産児数がある場合は可能な限り雌雄各 4 匹ずつの計 8 匹に間引いた。1、4 (間引き前後) 及び 21 日齢で性別比を記録した。有意差の認められた項目を以下に示す。

観察日齢	観察項目	投与量 (mg/kg/day)		
		2	10	50

検体投与による影響はなかった。10 mg/kg/day 投与群において、11 日齢以降で生存児数および 21 日齢時点での哺育率に有意な低下が認められたが、これらは死亡児の剖検の結果判明した、7 日齢以降に実施した経口投与のミスによる死亡を反映しており、検体投与とは関連しないと考えられた。

一般状態；一般状態を個体別または同腹ごとに毎日観察し、記録した。

50 mg/kg/day 投与群の 1 腹の児動物において、3 から 5 日齢で体色の暗調化が、その後 12 日齢で腹部膨満が認められたが、19 日齢に症状は消失した。この所見は予備試験においても認められており、検体投与に関連すると考えられた。10 mg/kg/day 投与群で 3 腹の動物で計 5 匹に腹部の暗調化および腹部膨満が認められたが、剖検の結果、検体の経口投与ミスによる外傷が原因と判明した。10 mg/kg/day 以下の投与群には、投与に関連した臨床症状は認められなかった。

体重変化；生後 1、4 (間引き前)、7 から 21 日、及び以降は試験終了まで 1 週毎に (28、35、42、47、56 及び 63 日) 全ての動物の体重を測定した。35 日のみ、数個体の体重がエラーにより記録できなかった。生後 1 日、4 日 (間引き前後)、7 日 (投与開始日)、21 日 (離乳日) 及び 63 日 (最終測定日) のデータを以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

測定日齢			投与量 (mg/kg/day)			
			2	10	50	
離乳までの群平均値	体重	1	雄			
			雌		94⇩	94⇩
		4(間引前)	雄		90↓	89⇩
			雌		89⇩	89⇩
		4(間引後)	雄		90⇩	87⇩
			雌		89⇩	88⇩
		7(投与開始)	雄			89⇩
			雌		90↓	89⇩
		21(離乳)	雄			85⇩
			雌			84⇩⇩
	増体重	1-4	雄		77↓	65⇩
			雌		76↓	76⇩
		1-7	雄			84⇩
			雌		87↓	84↓
1-21		雄			83⇩⇩	
		雌			82⇩⇩	
7-21		雄			83⇩⇩	
		雌			82⇩⇩	
63日まで測定した動物の群平均値	体重	1	雄	96↓	96↓	96↓
			雌		94⇩	95⇩
		4	雄	95↓	93⇩	88⇩
			雌	97⇩	89⇩⇩	91⇩⇩
		7(投与開始)	雄		95↓	92⇩
			雌		89⇩	91⇩
		21(離乳)	雄			86⇩⇩
			雌		93⇩⇩	86⇩⇩
		63(最終測定)	雄		97↓	94⇩
			雌			93⇩
	増体重	1-7	雄			88⇩
			雌		86⇩	88⇩
		7-21	雄			84⇩⇩
			雌		94⇩	83⇩⇩
7-63	雄		97↓	94⇩⇩		
	雌			93⇩		

Williams's test 又は Dunnett's test 1,↓ ; p<0.05, ⇩,⇩⇩ ; p<0.01

Kruska-Wallis' test または Steel's test ⇩,⇩ ; p<0.05, ⇩⇩,⇩⇩⇩ ; p<0.01

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

50 mg/kg/day 投与群において、生後 1 日から最終測定日まで両性で継続して対照群より低い体重及び増体重量が認められた。対照群との差は、検体投与終了 (離乳日) 後に縮まる傾向を示した。10 mg/kg/day 投与群において、生後 1 日から最終測定日まで両性で断続的に対照群より低い体重及び増体重量が認められた。対照群との差は、検体投与終了 (離乳日)後に縮まる傾向を示した。63 日齢の体重は対照群と同等 (雌) あるいはわずか 3%の差まで回復した。2 mg/kg/day 投与群において、生後 1 日及び 4 日でわずかに対照群より低い体重値が認められたが、以降離乳や試験終了までの増体重量に影響が認められなかったため、検体投与による影響とは考えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

性成熟： 雄は 35 日齢から毎日、包皮分離の開始日及び完了日を観察した。雌は 28 日齢から毎日、膣開口日を観察した。有意差の認められた項目を以下に示す。

観察項目	投与量 (mg/kg/day)			
	0	2	10	50

Kruska-Wallis' test または Steel's test \downarrow, \uparrow ; $p < 0.05$, $\uparrow\uparrow, \downarrow\downarrow$; $p < 0.01$

10 及び 50 mg/kg/day 投与群の雄において、包皮分離完了日が有意に遅くなった。しかし完了日の体重は対照群と同等であり、検体投与の直接の影響ではなく、発育遅延によると考えられた。雌の膣開口日には影響は認められなかった。

機能観察総合評価法 (FOB) ; 1 腹につき雌雄どちらか 1 匹ずつ、合計 1 群雌雄各 12 匹を以下の項目について評価した。

オープンフィールドでの観察	4日齢：表面正向反射、最大旋回角度、移動距離、区画移動数 11日齢：表面正向反射、毛繕い、行動量、立ち上がり回数、尿痕跡 21、35、45及び60日齢：眼瞼閉鎖、姿勢、歩様、振戦、筋攣縮、痙攣、行動量、立ち上がり回数、毛繕い、尿痕跡数、排糞数
ハンドリングによる観察	21、35、45及び60日齢：ケージからの取り出し易さ、流涎、立毛、被毛の状態、眼球突出、流涙、ハンドリング時の反応
反応測定	21、35、45及び60日齢：近接反応、接触反応、瞬き、尾部圧迫反応、正向反射、瞳孔反射、着地時開脚幅、体温、握力、体重
自発運動量	13 (閉眼児/開眼児別)、14、22及び60日齢
感覚機能 (定量的)	23また24日齢および58日齢： 聴覚性驚愕馴化、聴覚驚愕反応のレベル抑制
学習及び記憶	23また24日齢および61日齢：モーリス迷路試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

有意差の認められた項目を以下に示す。

観察項目	細項目／観察日・時間	投与量 (mg/kg/day)		
		2	10	50

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

オープンフィールドにおける検査で、21日齢の10 および50 mg/kg/day投与群の雄で行動量の有意な減少が、50 mg/kg/day投与群の雄及び10 および50 mg/kg/day投与群の雌で立ち上がり回数の有意な減少が認められた。しかし22日齢での自発運動量測定ではロービーム・ハイビームのいずれでも対応する自発運動量低下は測定されていないため、検体投与との関連性は疑わしい。その他の項目で認められた有意差は、全て複数の測定ポイントでの一貫性がないか、用量との関連性がないか、あるいは背景データの範囲内であり、検体投与との影響ではないと考えられた。

病理学的検査；親動物は分娩後 21 日および 66 日に各群 12 匹ずつ解剖し、うち 10 匹を灌流固定した。児動物は 4 日齢で 8 匹／腹まで間引いた。21 日齢で雌雄いずれか 1 匹／腹を選択して解剖し、灌流固定した。残りの動物は 28 日齢で各 5 匹／腹に間引いた。66 日齢時に生存していた児動物はすべて解剖し、うち雌雄いずれか 1 匹／腹を選択して灌流固定した。いずれの選択時にも、検査数が可能な限り雌雄同数となるようにした。

病理解剖学的検査；全ての動物の病理解剖学的検査を実施した。

灌流固定を行なった親動物および 66 日齢児動物は、以下の組織を取り出して固定した。脳は第一頸椎部の脊椎と嗅球で切断して重量を測定し、長さと幅を測定した。

脳、脊髄背根神経線維(頸部及び腰部)、脊髄背根神経節(頸部及び腰部)、眼球、視神経、坐骨神経、骨格筋(腓腹筋)、脊髄、脛骨神経(膝)、脛骨神経(腓腹筋分枝部)及び脊髄腹根神経線維(頸部及び腰部)

灌流固定を行なった 21 日齢児動物は、以下の組織を取り出して固定した。脳は第一頸椎部の脊椎と嗅球で切断して重量を測定し、長さと幅を測定した。

脳及び脊髄

脳は第一頸椎部の脊椎と嗅球で切断して重量を測定し、長さと幅を測定した。

灌流固定を行わなかった動物は、脳を取り出して重量を測定し、10%中性緩衝ホルマリンで保存した。

有意差の認められた項目を以下に示す。

観察動物	観察日／測定項目	投与量 (mg/kg/day)		
		2	10	50

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

親動物には投与による影響は認められなかった。児動物では、21日齢の50 mg/kg/day 投与群の雄の脳の幅が有意に低かったが、これは1匹のみ他の同群の動物の値から大きく逸脱した動物がいたためであり、この動物以外は対照群との差はなかった。66日齢の10及び50 mg/kg/day 投与群の雌雄の脳重量が有意に低かったが、これは灌流固定しなかった動物の脳重量による差であり、固定動物の脳重量には差はなかった。またいずれも背景データの範囲内であった。66日齢の50 mg/kg/day 投与群の雄の脳の幅が有意に低かったが、これも背景データの範囲内であった。

病理組織学的検査

灌流固定した動物の対照群及び高用量群について病理組織学的検査を実施した。検査した組織を以下に示す。ただし、21日齢の児動物は脳と脊髄のみ検査した。

脳	冠状断面	嗅球、前脳、大脳(海馬、視床、視床下部)、大脳(蓋、被蓋)、延髄
	正中矢状断面	小脳、橋
脊髄	頸部及び腰部の横断面及び縦断面	
脊髄背根神経節	頸部及び腰部の縦断面	
脊髄背根神経線維	頸部及び腰部の縦断面	
脊髄腹根神経線維	頸部及び腰部の縦断面	
眼球(網膜)	縦断面	
視神経	縦断面	
骨格筋(腓腹筋)	横断面	
坐骨神経(右)	坐骨切痕及び大腿中央の横断面及び縦断面	
脛骨神経(右)	膝及び腓腹筋分枝部の横断面及び縦断面	

坐骨神経及び脛骨神経以外はパラフィンブロックに包埋し、4~5ミクロンで薄切してヘマトキシリン・エオジン染色を実施した。脳及び脊髄はルクソールファストブルー染色も実施した。坐骨神経及び脛骨神経樹脂包埋し、2ミクロンで薄切してトルイジンブルー染色を施した。

また、灌流固定した動物の対照群及び高用量群について脳の形態計測を実施した。計測部位を以下に示す。

大脳新皮質	軟膜表面から白質先端部まで
海馬	海馬の背腹
脳梁	脳梁の正中線の厚さ
小脳	錐体の幅

いずれの検査項目にも検体投与に関連した変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ラットに対する強制経口投与による発達神経毒性試験を5、10又は50 mg/kg/dayの投与量で実施したところ、10又は50 mg/kg/dayの親動物及び児動物で、体重増加量の抑制が認められた。その他の影響は対照群と比較して低体重であることの2次的な影響であり、検体の直接的な影響とは考えられなかった。

母動物及び児動物のいずれにも、検体投与に起因すると思われる神経病理学的な所見や、神経毒性所見と思われる行動的な変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤の一般毒性に関する無影響量 (NOEL)は母動物・児動物ともに2 mg/kg/day、神経毒性に関する無毒性量 (NOAEL)は母動物・児動物ともに50 mg/kg/dayであると判断される。

8.7 変異原性

(1) 遺伝子突然変異原性

8.7.1 細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9Mix)の存在下または非存在下で、Ames 等の方法で復帰変異誘発性を検定した。
検体は DMSO に溶解して用い、試験は 2 連制で行った。

試験結果： 結果を次表に示した。
検体は S9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、ICR-191 では S9Mix の無添加において、また 2AA では S9Mix の添加において復帰変異コロニー数の著しい増加が認められた。

結論： 検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において復帰変異誘起性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

サルモネラ菌を用いた復帰変異試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/7^\circ\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537

大腸菌 WP2 *uvrA* 株を用いた復帰変異試験結果

薬物	復帰変異コロニー数/プレート		
	濃度 ($\mu\text{g}/7^\circ\text{プレート}$)	S9Mix (-)	S9Mix (+)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.2 細菌を用いた復帰変異試験 (資料 No. T-5.2)

試験機関

報告書作成年 2000年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9Mix)の存在下または非存在下で、Ames等の方法で復帰変異誘発性を検定した。

試験結果 : 結果を次表に示した。

いずれの菌株においても高用量で強い菌の生育阻害が認められた。

検体は S9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた NaN_3 、NF、9AC 及び AF-2 では S9Mix の無添加において、また 2AA 及び B(a)P では S9Mix の添加において復帰変異コロニー数の著しい増加が認められた。

結論 : 検体は代謝活性化系を含む本試験条件下において復帰変異誘起性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験 1 の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA /pKM101	TA98	TA1537

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験 2 の結果

薬 物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA /pKM101	TA98	TA1537

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.3 細菌を用いる復帰変異試験 (資料 No. T-5.3)

試験機関

報告書作成年 1989年[GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。
検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。
試験はプレート法で行い、2連制とした。

試験結果 : 結果を次表に示した。
サルモネラ菌の代謝活性化系を加えない試験では1または0.5 µg/プレートで、代謝活性化系を加える試験では50 µg/プレート以上で菌の生育阻害が見られた。
検体は代謝活性化系 (S9 Mix)の有無にかかわらず、いずれの菌株のいずれの用量においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、及び ICR-191 では S9 Mix の非添加で、また 2AA では S9 Mix の添加により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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

サルモネラ菌の試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9Mix の有無	復帰変異コロニー数 (2枚の平均)			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

大腸菌の試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/7^\circ\text{L}$)	S9Mixの有無	復帰変異コロニー数 (2枚の平均)
			塩基対置換型
			WP2uvrA

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

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

試験機関

報告書作成年 2000 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK⁺-3.2.C を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって遺伝子突然変異誘発性を調べた。

試験はマイクロプレート法を用いて実施し、検体は DMSO に溶解して用いた。代謝活性化系 (S9 mix) の非存在及び存在下で対数増殖期の細胞を被験物質と 3 時間 (±S9 mix) 及び 24 時間 (-S9 mix) 処理した。1 用量あたり 2 個の培養フラスコで処理し、2 回の本試験を実施した。

試験結果 : 結果を次表に示した。

検体処理群において代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で突然変異頻度の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メタンスルホン酸メチル (MMS) または 3-メチルコランズレン (MC) 処理群では、突然変異頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、マウスリンパ腫細胞 L5178Y に対し突然変異を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

代謝活性化非存在下 (-S9 mix)

試験	検体	処理 (時間)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	相対生存率 (Day 0)	相対コロニー効率 (Day 2)	突然変異率 ($\times 10^{-6}$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

代謝活性化存在下 (+S9 mix)

試験	検体	処理 (時間)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	相対生存率 (Day 0)	相対コロンイ'効率 (Day 2)	突然変異率 ($\times 10^{-6}$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.5 マウスリンパ腫細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験 (資料 No. T-5.5)

試験機関
報告書作成年 1986年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : マウスリンパ腫株化細胞 L5178Y/TK⁺を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって遺伝子突然変異誘発性を調べた。

検体は DMSO に溶解して用いた。代謝活性化系の非存在及び存在下で、対数増殖期の細胞を検体と 4 時間処理した。1 用量あたり 1 個の培養を行い、非代謝活性化系試験は 2 回、代謝活性化系試験は 1 回実施した。

試験結果 : 結果を次表に示した。

1 回目の非代謝活性化系試験の最高用量で明確な細胞毒性が認められなかったので 2 回目の試験を実施した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての検体処理群で突然変異頻度の増加は認められなかった。

一方で、陽性対照として用いたメタンスルホン酸エチル (EMS) 及びジメチルニトロソアミン (DMN) は突然変異頻度を著しく増加させた。

結 論 : 以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらずマウスリンパ腫細胞 L5178Y に対して突然変異を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果

	薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	突然変異 コロニ-数	生存 コロニ-数	相対増殖率 (%)	突然変異頻度 ($\times 10^{-6}$)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

(2) 染色体異常誘発性

8.7.6 チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL)を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 No. T-5.6)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体純度 :

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

検体は DMSO に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 200 個の分裂中期像について行った。

試験結果 : 結果を次表に示した (数値は 2 枚のプレートの平均値)。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を有する細胞の出現率は 5% を越えなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC) 及びシクロフォスファミド (CPA) は染色体異常を有する細胞が著しく増加した。

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

染色体異常試験結果

方法	標本作製時間 (hr)	薬物	S9 Mixの有無	濃度 (μg/mL)	観察細胞数	倍数体 (%)		染色体異常出現頻度 (%)							判定	
							評価	ギャップ (g)	染色分体型		染色体型		その他	合計		
									切断	交換	切断	交換		-g		+g

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.7 チャイニーズハムスターを用いた小核試験 (資料 No. T-5.7)

試験機関

報告書作成年 1984 年

検体純度：

供試動物： チャイニーズハムスター (*Cricetulus griseus*)
雄 (4~9 週齢、体重 21~30 g) 及び雌 (6~10 週齢、体重 21~30 g)、1 群雄雌各 3 匹

試験方法： 検体を 0.5% CMC+0.1% Tween80 の水溶液に懸濁させ、0、1250、2500 及び 5000 mg/kg を 1 日 1 回、2 日間経口投与した。2 回目投与の 24 時間後に屠殺し、骨髓細胞の塗抹標本を作製した。1 匹あたり 1000 個の細胞を観察し、単一ジョリー小体、核断片を持つ赤血球、小核を持つ赤芽球、小核を持つ白血球及び倍数性細胞の出現頻度を求めた。

試験結果： 結果を次表に示した。
すべての検体投与群は、溶媒対照と比較して核の異常を持つ細胞の出現頻度の増加は認められなかった。
一方、陽性対照として用いたシクロフォスファミド (CPA) は核の異常を持つ細胞の出現頻度が著しく増加した。

結論： 以上の結果より、検体はチャイニーズハムスターの骨髓細胞に対して核異常を持つ細胞の出現頻度を増加させず、変異原性を持たないものと判断される。

核の異常を持つ細胞の出現頻度 (%)

(平均値)

薬物	投与量 (mg/kg/day)	動物数	観察 細胞数 /匹	単一 ジョリー小体	核断片を持 つ赤血球	小核を持 つ赤芽球	小核を持 つ白血球	倍数性 細胞	合計

8.7.8 マウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.8)

試験機関

報告書作成年 1999 年[GLP 対応]

検体純度：

供試動物：CD-1 系マウス (7 週齢、体重 雄 28.8~36.7 g、雌 20.5~28.4 g)、1 群雌雄各 5 匹

試験方法： 経時的検索として、検体をオリーブ油に懸濁し 2000 mg/kg の投与レベルで強制的に 1 回経口投与した。なお、対照群にオリーブ油を同様に投与した。
投与 24、48 及び 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上にメタノール固定後ギムザ液で染色し骨髓標本を作製した。
次に用量依存性の検索として、検体をオリーブ油に懸濁し 500、1000 及び 2000 mg/kg の投与レベルで強制的に 1 回経口投与した。なお、対照群にオリーブ油を同様に投与した。
投与 24 時間後に動物を屠殺し、上記と同様の方法で骨髓標本を作製した。
各標本について、2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を算出した。また、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

試験結果： 結果を次表に示した。

経時的検索：2000 mg/kg を投与した雌雄に死亡は認められなかった。雄 1 例に自発運動能の低下と立毛が観察されたがその他の動物の一般状態に異常は認められなかった。雌雄の何れの標本作製時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

用量依存性の検索：何れの用量群、何れの骨髓採取時間においても溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

また、両小核試験とも骨髓造血機能に対する被験物質の生物学的影響は認められなかった。

陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC) は両試験においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

結論： 以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性を有しないもの判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

小核試験結果

	採取 時間(hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) % (平均値±SD)

(3) DNA 損傷誘発性

8.7.9 細菌を用いた DNA 修復試験 (資料 No. T-5.9)

試験機関
報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : 枯草菌 (*Bacillus subtilis*)の組換修復機構野生株 (H17)と欠損株 (M45)を用い、代謝活性化系を添加する場合及び添加しない場合について、賀田等の孢子法で DNA 損傷性を調べた。

検体は DMSO に溶解して用い、各用量あたり 1 枚のプレートを用いた。

試験結果 : 結果を次表に示した。
陰性対照として用いたカナマイシン(KM)は代謝活性化系を添加しない場合の試験において両株に同程度の生育阻害を示した。陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(AF-2)は代謝活性化系を添加しない場合の試験で、また 2-アミノアントラセン(2-AA)は代謝活性化系を添加した場合の試験において、両株の間に生育阻害の程度に明らかな違いが認められた。これに対し、検体は代謝活性化系を添加しない場合及び添加した場合のいずれの試験においても、DNA 傷害度 [MICrec⁺ / MICrec⁻] はいずれも 2 以下であった。

結論 : 本試験条件下において、検体の DNA 損傷性は陰性であると判断される。

薬 物	生 育 阻 止 域 (mm)					
	濃 度	非代謝活性化系		濃 度	代謝活性化系	
	(µg/disk)	M45	H17	(µg/disk)	M45	H17

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.10 ヒト線維芽細胞における in vitro 不定期 DNA 合成試験 (資料 No. T-5.10)

試験機関

報告書作成年

1984 年

検体純度 :

試験方法 : ヒト線維芽細胞を用いて不定期 DNA 合成誘発能をオートラジオグラフィーにより調べた。検体は DMSO に溶解して用いた。トリチウムチミジン存在下で細胞を 5 時間培養した。1 用量あたり 4 枚のスライドを作成し、スライドあたり 50 個の細胞を観察して 1 用量あたり 200 個の細胞核上の銀粒子数を測定した。

試験結果 : 結果を次表に示した。
検体はいずれの用量においても核あたりの銀粒子数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いた 4-ニトロキノリン-N-オキシド(4NQO)は核あたりの銀粒子を著しく増加させた。

結論 : 以上の結果より、本試験条件下において、検体は DNA 損傷性を有しないものと判断される。

処理	濃度 (ng/mL)	観察細胞核数	銀粒子数/核 (平均値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.11 ラット初代培養肝細胞における *in vitro* 不定期 DNA 合成試験 (資料 No. T-5.11)

試験機関

報告書作成年 1984 年

検体純度 :

試験方法 : ラット初代培養肝細胞を用いて不定期 DNA 合成誘発能をオートラジオグラフィーによって調べた。検体は DMSO に溶解して用いた。トリチウムチミジン存在下で細胞を 5 時間培養した。1 用量あたり 3 枚のスライドを作製し、スライドあたり 50 個の細胞を観察して 1 用量あたり 150 個の細胞核上の銀粒子数を測定した。

試験結果 : 結果を次表に示した。
検体はいずれの用量においても核あたりの銀粒子数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いたジメチルニトロソアミン (DMN) は核あたりの銀粒子数を著しく増加させた。

処 理	濃度 (ng/mL)	観察細胞核数	銀粒子数/核 (平均値)

結 論 : 以上の結果より、本試験条件下において、検体は DNA 損傷能を有しないものと判断される。