

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。

8.4.3 マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.3)

試験機関 Huntingdon Life Sciences Ltd
報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： ICR 系 CD-1 マウス、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 7 週齢

試験期間： 13 週間 (2001 年 8 月 7 日～11 月 7 日)

試験方法： 検体を雌雄マウスに対して 0、320、1600 及び 8000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は、毎週調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡率を以下に示す。

投与量 (ppm)		0	320	1600	8000
死亡率 (%)	雄	10*	0	0	0
	雌	0	0	0	0

*：雄の対照群の 1 匹において、採血時に眼への影響があり、投与 13 週目に人道的見地から殺処分とした。

一般状態；一般状態を毎日観察した。その結果、対照群を含めた全投与群で検体投与に起因する影響は認められなかった。

体重変化；馴化期間及び投与開始時に体重を測定し、試験終了時まで 1 週間に 1 度、個体別に体重を測定した。その結果、体重増加量に関する有意な変化は認められなかった。

摂餌量；投与期間中、毎週 1 回ケージ毎に摂餌量を記録した。その結果、投与に起因する影響は認められなかった。

摂餌効率；投与期間中、体重及び摂餌量から摂餌効率を計算し 1 匹当りの摂取量を計算した。その結果、投与に起因する影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体摂取量；被験物質の設定濃度、群平均摂餌量及び群平均体重から毎週算出した。

投与期間中（13週間）の平均検体摂取量は以下の通りであった。

群 (ppm)		320	1600	8000
平均検体摂取量 (mg/kg/口)	雄	49.22	262.48	1201.67
	雌	62.58	312.71	1453.32

血液学的検査；投与終了時に全動物の眼窩静脈から採血し、以下の項目を検査した。

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)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数 (PLT)、白血球数 (WBC)、白血球の百分率。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目\投与量 (ppm)	性別		雄			雌		
			320	1600	8000	320	1600	8000
RBC					94↓			91↓
Hb					94↓			92↓
Ht					95↓			95↓
MCHC								97↓
MCV								104↑
WBC					73↓			68↓
リンパ球					62↓			55↓
単球								193↑
PLT					76↓			68↓

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↑↓, $p < 0.05$ ↑↓, $p < 0.01$

8000 ppm 群の雌雄において、RBC、Hb および Ht が有意に低下し、雌では MCHC 低下及び、MCV の増加も認められた。またこの群の雌雄ではリンパ球数の低下が認められ、全体的な白血球数の低下に繋がっていた。更に、この群の雌では単球の増加が認められた。8000 ppm 群の雌雄では血小板数の有意な低下も認められた。320 及び 1600 ppm 群では投与に起因する影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

臓器重量：試験終了時に全動物の下記臓器の重量を測定し対体重比(相対重量)も算出した。
 脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、卵巣、頸部を伴った子宮、精巣及び精巣
 上体

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

臓器		用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		320	1600	8000	320	1600	8000
肝臓	絶対重量			113↑			
	相対重量			115↑			121↑
胸腺	絶対重量						77↓
	相対重量						73↓
脳	絶対重量			146↑			91↓
	相対重量			159↑			86↓

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法; ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

8000 ppm 群の雄マウスにおいて、肝臓の絶対および相対重量が有意に増加した。またこの群の雌マウスにおいて胸腺の絶対及び相対重量が有意に低下した。その他の変動に関しては、毒性学的な関連性はないと判断された。

肉眼病理学的検査：試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

以下の表に解剖所見を示す。

組織・所見		性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000	
副腎	所見\検査動物数	9	10	10	10	10	10	10	10	10	
	腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	5*	
肝臓	所見\検査動物数	9	10	10	10	10	10	10	10	10	
	退色	0	1	0	0	0	0	0	0	0	

Fisher の直接確率法; *, $p < 0.05$

8000 ppm 群の雌マウスにおいて副腎の腫大の頻度が増加した。その他の所見に関しては、CD-1 マウスで通常認められるものであった。

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。

病理組織学的検査：全動物について、以下の組織の病理標本を作製し鏡検した。

副腎、肝臓及び肉眼的異常部位

以下の表に副腎及び肝臓の所見を示す。

性別		雄				雌			
		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
組織・所見 投与量 (ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
副腎	所見\検査動物数	9	10	10	10	10	10	10	10
	紡錘状細胞過形成	4	1	3	3	3	2	5	2
	X 帯空胞化 軽微	0	0	0	0	3	5	3	0
	軽度	0	0	0	0	4	4	7	2
	中等度	0	0	0	0	1	1	0	2
	高度	0	0	0	0	0	0	0	6
	合計	0	0	0	0	8	10	10	10
肝臓	所見\検査動物数	9	10	10	10	10	10	10	10
	局所炎症巣	0	0	0	0	0	1	2	2

Fisher の直接確率法

投与に起因する所見は雌の副腎に限定していた。その所見は 8000 ppm 群の雌で認められた X 帯における空胞化の重篤度の増加であった。即ち、対照群では軽度な空胞化であったが、8000 ppm 群では高度な空胞化が認められた。その他の所見に関しては CD-1 マウスに通常認められるものであった。

結論：本試験で認められた投与に起因すると考えられる変化は、8000 ppm 群の雌雄に認められた貧血所見、肝臓及び胸腺の重量変化及び副腎の組織学的変化であった。以上の結果から、本試験条件下における最大無影響量 (NOEL) は、雌雄とも 1600 ppm (雄：262.48 mg/kg/日、雌：312.71 mg/kg/日) 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。

8.4.4 反復経口投与神経毒性（資料 No.T-2.4）－試験未実施

（90日間反復経口毒性試験成績等からの考察で対応）

フルセトスルフロンは90日間反復経口毒性試験で神経毒性に関連する項目を網羅しており、神経毒性を示す所見がなく、かつ、既知の神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。下記に、90日間反復経口毒性試験での神経毒性に関連する観察の内容の概要及び神経毒性に対する総合考察を記載する。

1. ラットの90日反復経口投与毒性試験(抄録 8.4.1)からの考察

(1)詳細な状態の観察項目

詳細な状態観では、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかった。

(2)機能検査

機能検査では、最高投与量の4000ppm群の雄で投与6及び12分後に自発運動量の減少がみられた。総計では有意差はみられておらず、同投与群では体重増加量が有意に低値であり、体重、摂餌量も低値で推移していることからフルセトスルフロンの大量投与による全身状態の悪化による非特異的な反応と考えられた。従って、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと判断された。

(3)病理組織学的検査項目

脳、坐骨神経、骨格筋、脊髄、眼球及びその付属器について病理組織学的検査では、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかった。

(4)その他の検査項目

脳重量については、4000ppm投与群の雌雄で相対重量が有意に増加したが、同群の低体重に起因するものであった。眼科学的検査では、検体投与に起因する異常は認められなかった。従って、脳重量及び眼科学的検査では特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと判断された。

2. その他試験（90日より長期）からの考察

1年間反復経口投与毒性試験（抄録 8.5.1、イヌ；2004年）、2年間反復経口投与毒性／発ガン性併合試験（抄録 8.5.2 ラット；2006年）、発ガン性試験（抄録 8.5.3、マウス；2004年）、繁殖試験（抄録 8.6.1、ラット；2004年）で致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記載されていない。

3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

現在の科学的知見において、本農薬フルセトスルフロンは既知神経毒性物質との化学構造の相関はない。

以上の通り、フルセトスルフロンに関しては、神経毒性を有するおそれがないと考える。

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。

8.5 1年間反復経口投与毒性及び発痛性

8.5.1 イヌにおける1年間反復経口投与毒性試験（資料 No. T-3.1）

試験機関 Huntingdon Life Sciences Lt
報告書作成年 2004年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： ビーグル種イヌ、試験開始時 5～6ヶ月齢、1群雌雄各4匹

試験期間： 投与期間 52週（2002年9月18日～2003年9月19日）

試験方法： 雌雄共に 0, 5, 25, 及び 125 mg/kg/day の用量で、検体をゼラチンカプセルに封入して 52週間毎日1回経口投与し、下記の項目について観察又は検査を行った。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

死亡率； 生死を毎日観察した。試験期間中の死亡はなかった。

一般状態； 一般状態を毎日観察した。試験期間中に認められた所見を下表に示す。

性別		雄			
		0	5	25	125
投与量 (mg/kg/day)		0	5	25	125
症状・観察週数\検査動物数		4	4	4	4
精巣の小型化	11～20	0	0	0	4
	21	0	0	0	3
	22～34	0	0	0	2
	35～52	0	0	0	3

125 mg/kg/day 群において、投与 11週から精巣の小型化が記録された。

体重変化； 個体別に毎週1回及び剖検の直前に体重を測定した。投与による影響はなかった。

摂餌量； 固形飼料の所定量 (400 g/匹)を毎日与え、食べ残し飼料を秤量して個体別に毎日摂餌量を求めた。52週間の投与期間を通し、摂餌量は全ての群でほぼ同等であり、投与による影響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石原産業株式会社にある。

眼検査：投与開始前および52週に全動物の眼を検査した。投与に起因する所見はなかった。

血液学的検査：投与開始前、投与13週、26週および52週に、全ての動物から頸静脈または適当な静脈より採血した。

ヘマトクリット (Ht)、ヘモグロビン濃度 (Hb)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、総白血球数 (WBC)、白血球分画 (好中球 (N)、リンパ球 (L)、好酸球 (E)、好塩基球 (B)、単核球 (M)、大型非染色性球 (LUC))、血小板数 (PLT)、網状赤血球数 (Retic)、プロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次の表に示す。

週	項目	性別		投与量 (mg/kg/day)			
		雄			雌		
		5	25	125	5	25	125
0週	Ht	99	98	94	119	87↓	94
	Hb	100	99	94	97	86↓	94
	RBC	97	98	94	97	85↓	92↓
	Retic	96	93	88	77	64↓	78
	L	73↓	74↓	75↓	112	103	105
	E	87	82	56↓	185	65	173
	B	64	55↓	73	113	100	113
	PT	102	102	105	102	100	111↑
13週	Hb	96	99	91	101	91↓	90↓
	RBC	95	97	90	101	90↓	90↓
	E	62	70	55↓	150	73	183
	B	78	67↓	56↓	150	117	67
	PT	102	100	105	100	100	111↑
26週	Ht	96	106	97	98	93↓	92↓
	Hb	96	106	96	96	93↓	92↓
	RBC	97	107	98	97	90↓	90↓
	MCHC	100	99	98↓	99	100	100
	E	83	66	55↓	100	57	100
	M	104	125	143	136	144	163↑
	PT	100	100	105	102	100	113↑
52週	Ht	97	102	93	96	94	91↓
	Hb	95	100	90	95	94	91↓
	RBC	98	103	94	97	93	91↓
	MCHC	98	98	97↓	99	100	99
	B	89	67	56↓	133	133	117
	M	115	144	108	144	182	227↑
	PLT	108	105	127↑	85	92	132↑
	PT	100	99	103	101	99	110↑

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Williams' test : ↑↓, $p < 0.05$, ↑↓, $p < 0.01$,

Student' t-test : ↑↓, $p < 0.05$, ↑↓, $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

125 mg/kg/day 投与群の動物の 52 週時の雌雄における血小板数が有意に増加したが、この所見はそれ以前の観察ではみられずに一貫した傾向がなく、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間にはこの増加と相関する影響がなかった。また対応するその他の所見もなかったことから、投与に起因するものではないと考えた。その他、ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度、平均赤血球血色素濃度、赤血球数、好酸球数、好酸球数、単核球数及びプロトロンビン時間に統計学的有意差が認められたが、これらは投与前の傾向が継続して認められたもの、観察期間中の一貫性がないもの或いは軽微な変化であり個体別値は正常の範囲内と考えられるものであり、いずれも投与による影響とはみなさなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査と同様に採血した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を実施した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、ガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ (gGT)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、総ビリルビン (Bili)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Creat)、血糖 (Gluc)、総コレステロール (Chol)、トリグリセライド (Trig)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、無機リン (Phos)、カルシウム (Ca)、総タンパク (Total. Prot.)、アルブミン (Alb)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)

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(参考として 0 週の CPK と Gluc の値も示した)。

週	項目	性別		雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)							
		5	25	125	5	25	125		
0 週	CPK	142	67	104	82	84	87		
	Gluc	109	107	102	106	102	100		
	AST	111	81↓	100	86	89	97		
	gGT	100	140	120	100	150↑	150		
	Ca	100	98	99	100	99	96↓		
	Total. Prot.	98	98	98	98	96	95↓		
	Alb	100	100	100	100	93↓	93↓		
13 週	CPK	54	38↓	47↓	103	73	41↓		
	Creat	99	95	100	114↑	106↑	112↑		
	Cl	100	100	103	100	102	104↑		
	Ca	101	99	96	101	98	96↓		
26 週	CPK	85	69↓	67↓	88	87	49↓		
	Gluc	100	105	120↑	98	104	104		
	K	97	97	100	93	102	86↓		
	Ca	100	100	95	99	97↓	93↓		
52 週	CPK	40↓	37↓	41↓	72	64	57↓		
	Gluc	117↑	123↑	138↑	106	102	114↑		

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Williams' test : ↑↓, p<0.05, ↑↓, p<0.01

Student' t-test : ↑↓, p<0.05, Wilcoxon's test : ↓, p<0.05

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。

血糖値の上昇が26週の125 mg/kg/day投与群の雄および52週の雄の全投与群および雌の125 mg/kg/day投与群において記録された。クレアチニンホスホキナーゼの低下が13週および26週の25 mg/kg/day投与の雄および125 mg/kg/day投与の雌雄、52週の雄の全投与群および125 mg/kg/day投与群の雌で認められた。これらの変化には関連する項目の変化および病理学的検査による裏付けがなく、投与開始前よりその傾向があったことから、毒性学的な意義はないものと考えられた。その他の有意差がみられた項目については、用量との関連性がないあるいは関連する病理学的所見がみられなかったことから、投与には関係ないと考えられた。

尿検査：投与開始前、投与13週、26週および52週に全ての動物から尿を集め、以下の項目を検査した。

外観 (App)、尿量 (Vol)、pH、比重 (SG)、尿タンパク質 (Prot)、グルコース (Gluc)、ケトン体 (Keto)、ビリルビン (Bili)、血色素 (Blood)、ウロビリノーゲンおよび尿沈渣 (結晶 (Cryst)、上皮細胞 (Epi)、白血球 (Leuc)、赤血球 (RBC)、円柱 (Cast)、精子および前駆体 (Sperm)、その他の異常物質 (Abn)を検査した。

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。

週	項目	性別		雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)							
		5	25	125	5	25	125		
0週	Prot	89	63	58	200↑	130	140		
26週	pH	92	99	101	103	112	122↑		
	Prot	45	102	52	72	72	50↓		

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Williams' test : ↓, $p < 0.05$, ↑, $p < 0.01$, Student' t-test : ↑, $p < 0.05$

投与26週日において、125 mg/kg/day群の雌でpHの上昇および尿タンパクの有意な減少を示したが、いずれの項目も52週時には有意差はなく、関連する腎臓組織所見その他も認められなかった。従ってこれらの変化には毒性学的な意味はないと考えた。

臓器重量：投与期間完了後に剖検した各動物の以下の臓器重量を測定して記録した。両側性の臓器はあわせて測定した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺および上皮小体、子宮および陰

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目および投与に関連して変化した項目を下表に示す。

臓器	項目	性別		雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)							
		5	25	125	5	25	125		
胸腺	絶対重量	77	54↓	46↓	86	66	59↓		
	精巣	絶対重量	103	109	82				
	体重補正	109	117	84					

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Williams' test : ↓, $p < 0.05$

投与に関連する変化として、25 mg/kg/day群の雄および125 mg/kg/day群の雌雄において、胸腺重量の減少が認められた。胸腺重量の減少は、組織所見における胸腺の退縮/萎

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。

縮に対応していると考えられた。また、有意差は無いが 125 mg/kg/day 群の雄において精巣重量の減少傾向が認められた。

肉眼的病理検査：全動物を常法に従って解剖した。

主な所見を以下に示す。

性別	雄				雌			
	0	5	25	125	0	5	25	125
投与量 (mg/kg/day)	0	5	25	125	0	5	25	125
所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
胸腺：小型化	0	0	0	2	0	0	1	1

雄の 125 mg/kg/day 投与動物で 2/4 匹、雌の 25 および 125 mg/kg/day 投与動物でそれぞれ 1 匹ずつ、胸腺の小型化が認められた。雄の 25 mg/kg/day 以下及び雌の 5 mg/kg/day の投与群には、検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

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

副腎、胸部大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼、大腿骨、胆のう、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（顎下および腸間膜）、膀胱、乳腺相当部（尾側）、視神経、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（片側）、坐骨神経（片側）、骨格筋（大腿筋：片側）、皮膚、脊髄（頸部および腰部）、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺および上皮小体、気管、膀胱、子宮および腔、肉眼的異常部位

主な所見を以下に示す。

性別	雄				雌			
	0	5	25	125	0	5	25	125
精巣：検査動物数	4	4	4	4				
精細管変性	1	1	0	3				
精巣上体：検査動物数	4	4	4	4				
精子数減少	0	0	2	2				
異常精子細胞出現	1	0	3	4				
胸腺：検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
退縮/萎縮 最小	(2)	(2)	(1)	(2)	(4)	(1)	(3)	(0)
軽度	(1)	(0)	(2)	(2)	(0)	(2)	(1)	(2)
中等度	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)
合計	3	2	4	4	4	3	4	4
脾臓：検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
赤脾髄の拒鉄細胞	0	0	1	4 ^a	3	2	1	2

a : p < 0.05 Fischer の直接確率計算法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

125 mg/kg/day の雄で、精巣の精細管変性が認められた。25 または 125 mg/kg/day の雄で、精巣上体管腔中の異常精子細胞出現および精子数の減少が認められた。これらは投与による影響と考えられた。25 mg/kg/day 以上の雄および全ての投与群の雌で胸腺の退縮／萎縮の重症化が報告されたが、これらは正常動物にも存在する加齢性変化が LGC-42153 投与により加速されたものと考えられた。また、雌の 5 および 25 mg/kg/day 群の胸腺における退縮／萎縮はいずれも軽度であり、当試験施設で通常認められる退縮／萎縮の範囲内であった。従って胸腺に対するフルセトスルフロンの影響は雄で 25 mg/kg/day、雌で 125 mg/kg/day で認められた変化だけであり、また所見そのものの毒性学的な意義も低いと考えられた。25 および 125 mg/kg/day 投与群の雄で赤脾髄中の坦鉄細胞が報告されたが、関連する血液検査項目の変動や組織所見がないため、毒性学的な意味はないと考えられた。

申請者参考：胸腺重量の背景データとの比較

性別	データの種類	週齢	検査数	平均胸腺重量 (g ± SD)
雄	本試験データ：5 mg/kg/day 群	68～72	4	7.82 ± 3.65
	試験施設背景データ	50.4～71.3	29	9.71 ± 3.74
		71.4～85.3	46	7.52 ± 4.10
雌	本試験データ：5 mg/kg/day 群	68～72	4	7.11 ± 2.37
	試験施設背景データ	50.4～71.3	16	6.98 ± 3.58
		71.4～85.3	46	7.63 ± 3.76

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。

結 論：

以上の結果から、本剤のイヌに対する 52 週間反復経口投与毒性試験における毒性学的に有意な影響として、125 mg/kg/day 群の雄における精巣の精細管変性および精巣上体の精子数減少ならびに異常精子細胞出現、25 mg/kg/day 群の雄における精巣上体の精子数減少ならびに異常精子細胞出現が認められた。

従って本試験における無毒性量 (NOAEL)は、雄で 5 mg/kg/day、雌で 125 mg/kg/day であると判断された。

テストガイドラインとの相違点「申請者注」

①臓器重量測定において、前立腺と下垂体の測定が未実施。

申請者の見解：試験計画書への記載ミスにより測定されなかった。両組織ともに病理組織学的検査を実施しているが、影響は認められていない。

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。

8.5.2 ラットにおける2年間反復経口投与毒性/発がん性試験 (資料 No. T-3.2)

試験機関 Huntingdon Life Sciences Ltd.
報告書作成年 2006年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： Wistar 系ラット、投与開始は6週齢とし、1群雄雌各70匹(うち50匹は主群として104週間飼育。20匹を衛星群とし、52週後に中間屠殺した)

試験期間： 投与期間 衛星群 52週 (2002年1月29日～2003年1月31日)
 主群 104週 (2002年1月29日～2004年2月9日)

試験方法： 検体を、0、100、550及び3000 ppmの濃度で均一に配合した粉末飼料を前記期間中ラットに摂食させて、下記の項目について観察又は検査を行った。

用量設定根拠；

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。以下に主群の最終死亡数を示す。

主群								
性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終死亡数	10	9	10	8	21	12	17	9*

Fisher の直接確率計算法 * : $P < 0.05$

3000 ppm 群の雌で有意な減少がみられたが、検体投与による死亡数の増加はみられなかった。

一般状態；全動物について一般状態を毎日観察した。投与に関連する臨床症状はみられなかった。

詳細な状態の観察；投与 50 週時に、衛星群の各群雌雄 10 例ずつについてハンドリング時とオープンフィールドで詳細に観察した。投与に起因する症状はなかった。

機能検査；投与 50 週時に、衛星群の各群雌雄 10 例ずつについて、次の感覚反応性を記録した。

近接反応、握力測定、聴覚驚愕反応、尾部痛感反応、触知反応

また、同動物について握力検査及び自発運動量を測定した。以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

測定	性	雄				雌			
	群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
高位	12分	12.5	8.0	18.9	26.3↑	23.3	26.8	22.0	23.5
	18分	4.2	8.5	11.4	14.2↑	11.8	10.0	7.7	13.1
	36分	3.7	5.0	3.2	3.1	5.2	6.6	5.6	0.8↓
	60分	3.7	2.0	0.5	0.2	1.4	3.2	6.8	9.5↑
	合計	74.3	78.3	90.6	94.9	117.8	116.1	113.8	106.8
低位	36分	18.3	34.1	35.9	12.3	56.5	32.4	55.0	11.2↓
	42分	23.8	13.0	24.8	15.4	32.4	23.9	11.8	3.2↓
	60分	16.2	25.6	17.2	5.6	16.4	25.1	29.6	52.0↑
	合計	375.9	416.1	416.5	357.8	510.8	494.6	504.5	439.6

表中の数値はビームの遮断回数の群平均値を表わす。

Williams/Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

Shirley/Steel 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑⇓, $p < 0.01$

50 週時の測定において、550 および 3000 ppm 群の雄で高位ビーム(立ち上がり)スコアが測定 12 分と測定 18 分の時点で対照群に比べ高い値を示したため、総運動量がわずかに高い結果となった。3000 ppm 群の雌では測定 36 分時に高位ビームスコア、36 分及び 42 分時に低位ビームスコアがそれぞれ減少し、60 分時に高位/低位ビームスコアが増加した。これらは一定の変動を示すものではなく、また総計では差は見られなかったため、毒性学的意義を有さないものと考えた。

感覚反応性、握力検査、自発運動量に検体投与に起因する変化はなかった。

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。以下の通り、増体量について、3000 ppm 群の雌雄で対照群と比較して統計学的有意な低値がみられた。100 および 550 ppm 群は影響を受けなかった。

衛星群						
性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	550	3000	100	550	3000
0-16 週			85↓			85↓
0-52 週			84↓			82↓
主群						
性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	550	3000	100	550	3000
0-16 週			80↓			91↓
0-104 週			77↓			74↓

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Williams/Dunnett 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。3000 ppm 群の雌雄で摂餌量がわずかに低下した。100 および 550 ppm 群の動物の摂餌量は影響を受けなかった。

衛星群						
性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	550	3000	100	550	3000
0-52 週	103	99	89	103	102	93
主群						
性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	550	3000	100	550	3000
0-104 週	100	98	90	99	99	90

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

食餌効率；投与 16 週までの間、週ごとの平均増体量を平均摂餌量で除して各週の食餌効率を算出し、総平均も算出した。その結果、3000 ppm 群の衛星群の雌雄と主群の雄において、食餌効率がわずかに低下した。100 および 550 ppm 群の食餌効率に影響は見られ

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。

なかった。

衛星群						
性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	550	3000	100	550	3000
0-16 週	103	100	96	100	102	90
主群						
性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	550	3000	100	550	3000
0-16 週	100	100	90	100	102	97

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

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)		100	550	3000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	主群 雄	4.64	25.40	143.49
	主群 雌	6.47	35.33	193.52

眼検査；投与 52 週時に主群の対照群と最高用量群の生存動物全例について行った。検体投与に起因するとみられる所見はなかった。

血液学的検査；13、26、52、78、104 週時に雌雄各 10 匹から、一晚絶食後に、麻酔下で後眼窩静脈叢から採血した。また、52 週時には衛星群の全動物について、78、104 週については上述の採血を行った 10 匹を除いた全生存動物について無麻酔下で尾静脈より採血し、血液塗抹標本を作成し、対照群と 3000 ppm 群について塗抹標本を作製した。次の項目について測定した。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、白血球数(WBC)、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)、大型非染色性細胞(LUC))、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)、活性化トロンボプラスチン時間(APTT)

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。

以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

検査項目	性・用量 (ppm) 検査時期(週)	雄			雌		
		100	550	3000	100	550	3000
Ht	13		97↓	94↓			
	26	97↓	95↓	93↓			95↓
	52			94↓			95↓
	78						97↓
	104						95↓
Hb	13			93↓			
	26			93↓			95↓
	52			93↓			95↓
	78						95↓
	104						93↓
RBC	26		96↓	97↓			
MCH	13			95↓			94↓
	26			96↓			95↓
	52			96↓			95↓
	78						95↓
	104						94↓
MCHC	13						98↓
	78			98↓			98↓
	104						97↓
MCV	13			96↓			95↓
	26			96↓			96↓
	52			96↓			96↓
	78						97↓
	104						96↓
WBC	13		79↓	78↓		72↓	82↓
	26		73↓	87↓		72↓	81↓
N	13			68↓			
	104						253↑
L	13		80↓	80↓		70↓	77↓
	26				76↓	65↓	76↓
E	13		71↓	71↓			
	52						129↑
	104						200↑
B	13	99↓	50↓	50↓			
	26	0↓	50↓	50↓			
M	104						142↑
LUC	13			80↓			
	26		38↓	50↓			
PLT	104	85↓	83↓	87↓			117↑
PT	26			109↑			
	78						108↑
APTT	104			85↓			
塗抹 L	78	—	—	107↑	—	—	
	52	—	—		—	—	70↓
M	78	—	—	8↓	—	—	

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。
 Williams/Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$
 Shirley/Steel 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

3000 ppm 群の雌雄でヘマトクリット (Ht)、血色素濃度 (Hb)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC) および平均赤血球容積 (MCV) が概ね一貫して減少した。これらは投与に関連する体重低下や摂餌量の減少による二次的なものと考えられる。

100 および 550 ppm 群の雄でも Ht のわずかな減少が散見されたが、一時的な変化であり、他の項目に関連する変動はみられず、毒性学的に意義のあるものとはみなさなかつた。26 週時に 550 および 3000 ppm 群の雄でみられた赤血球数 (RBC) の軽微な減少は、用量との関連性を欠いており、他の検査時期には認められず、毒性学的に意義のあるものとはみなさなかつた。

13 および 26 週時に検体投与群の雌雄において総白血球数 (WBC) ならびにさまざまな白血球型が減少した。また、試験後期には 3000 ppm 群の雌でさまざまな白血球型が増加した。これらの変動はいずれも一時的あるいは用量との関連性が明確でないことから、偶発性のものと判断した。

検体投与群の雌雄において血小板数 (PLT)、プロトロンビン時間 (PT) や活性化トロンボプラスチン時間 (APPT) に変動が散見されたが、一貫した変動ではなく偶発性のものと判断した。

52、78 および 104 週時に実施した血液塗抹検査において、3000 ppm 群の雌雄で優位な変化が散見されたが、一貫したものではなく、通常の血液学的検査では再現されなかつた。従って、これらの変動は偶発性のものと判断した。

血液生化学的検査: 13 週目を除く前記の採取血液から血漿を分離し、次の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GT)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、総ビリルビン (Bili)、尿素 (Urea)、クレアチニン (Creat)、血糖 (Gluc)、総コレステロール (Chol)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、アルブミン / グロブ比 (A/G ratio)

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。

以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

性別・用量 (ppm) 検査項目\検査時期 (週)		雄			雌		
		100	550	3000	100	550	3000
ALP	26			84↓			
	78			80↓			79↓
	104	82↓	83↓	74↓			
ALT	78						135↑
CPK	26			55↓			
Bili	26				67↓	67↓	67↓
	52						67↓
	78						150↑
Urea	78			119↑			117↑
	104						124↑
Creat	26					108↑	109↑
	52			108↑			
Gluc	104		125↑				
Chol	78			76↓			
	104			71↓			
Na	26			99↓			
	52			99↓			
	78			99↓			
Cl	52						102↑
	78			101↑			103↑
	104			103↑		102↑	103↑
Ca	26					98↓	95↓
	104	97↓	96↓	96↓			
P	26				83↓	86↓	75↓
	52			90↓			
	78						115↑
TP	26						94↓
	52						92↓
	78			97↓			
	104			94↓			
Alb	26			97↓			95↓
	52						95↓
A/G ratio	52						107↑
	78			112↑			110↑
	104			110↑			

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。
 Williams/Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$
 Shirley/Steel 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

3000 ppm 群の雌雄で総蛋白 (TP) とアルブミン (Alb) の減少が散見され、これらに関連してアルブミン/グロブリン比 (A/G ratio) が増加した。これらの変化は投与に関連する体重低下や摂餌量の減少による二次的なものと考えられる。

3000 ppm 群では、尿素 (Urea) と塩素 (Cl) の増加が雌雄で、またナトリウム (Na) の減少が雄で散見され、腎臓機能への影響が示唆された。しかし病理検査において関連付けられる異常はみられず、いずれも有害作用とは判断しなかった。550 ppm 群の雌

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。

においても 104 週時に CI が有意に増加したが、一時的なものであり、毒性学的意義はないものと判断した。

検体投与群で散見されたアルカリホスファターゼ (ALP) や総コレステロール (Chol) の減少はその性格上、毒性学的意義を有さないものと考えられる。アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、ビリルビン (Bil)、クレアチニン (Creat)、カルシウム (Ca) およびリン (P) の変動は、一貫性を欠いたり一時的なものであり、毒性学的意義はないものと判断した。104 週時に 550 ppm 群の雄でみられた血糖 (Gluc) の増加は用量との関連性は無く、偶発性のもと考えた。

尿検査: 投与開始後 12、25、51、77、104 週時に 10 匹について一晩の尿を採取した。外観、尿比重、ブドウ糖、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲン、尿色、尿量及び尿沈渣を検査した。以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

性別・用量(ppm) 検査項目\検査時期(週)		雄			雌		
		100	550	3000	100	550	3000
尿量	12				167↑	187↑	193↑
	25			55↓			
	77						61↓
pH	12			93↓			
	25			90↓			
	77						92↓
比重	12				98↓	99↓	99↓
	25			102↑			
	77						101↑

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

Williams/Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

Shirley/Steel 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

3000 ppm 群の雌では 77 週時に尿量が減少し、pH の低下および比重の増加がみられ、尿の外観が暗黄色調(中等度の黄色)を呈する傾向がみられた。

その他の変動は一時的、あるいは一貫性を欠くもので、毒性学的意義を有さないものと考えた。

臓器重量: 各計画殺に供された動物について、脳、副腎、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、卵巢、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、子宮及び子宮頸の重量を秤量した。以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

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。

性別・用量 (ppm) 検査項目\検査時期 (週)		雄			雌		
		100	550	3000	100	550	3000
体重	52			89↓			90↓
	104			83↓			82↓
脳	絶対	52		95↓			
		104		95↓			
	相対	52					109↑
		104			115↑		118↑
副腎	絶対	52		83↓			
精巣上体	絶対	52		84↓			
		104		92↓	78↓		
心臓	絶対	104					93↓
	相対	52		108↑			106↑
		104		115↑			113↑
腎臓	絶対	52		89↓			89↓
		104		86↓			91↓
	相対	104			107↑		109↑
肝臓	絶対	52		89↓			90↓
		104		84↓			84↓
脾臓	絶対	52		82↓			87↓
		104		87↓			
精巣	絶対	104		116↑			
	相対	104		141↑			
胸腺	絶対	52					73↓
甲状腺	絶対	52		83↓			
		104		71↓			
	相対	52	83↓				

数字は対照群値に対する百分率 (%)

Williams/Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

Shirley/Steel 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

104 週時に 3000 ppm 群の雄で精巣の絶対および相対重量が増加した。これは精巣間 (ライデッヒ)細胞腫瘍の増加に関連するものと推察された。104 週時に同群の雄の精巣上体の絶対重量に関しては、肉眼的な小型化と後述の組織学的所見に関連する検体投与の影響と判断した。

52 週時の 3000 ppm、ならびに 104 週時の 550 ppm 群の雄における精巣上体の絶対重量減少は特定の組織学的変化を伴わないため、偶発性のものと判断した。

その他の臓器重量の変動は投与による体重低下に起因する二次的なものであった。

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。

以下に統計学的有意差を示した項目を挙げた。

検査時期		衛星群							
		雄				雌			
性別群 (ppm)		0	100	550	3000	0	100	550	3000
52 週後	臓器・所見\検査例数	0	0	0	0	20	19	20	19
	子宮: 肥厚	-	-	-	-	0	1	1	4*

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石原産業株式会社にある。

		主群							
検査時期	性別 群(ppm)	雄				雌			
		0	100	550	3000	0	100	550	3000
死亡・切迫殺	臓器・所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
	副腎：退色巣	5	3	4	0*	11	9	10	4
	肝臓：中間葉退色巣	0	2	2	0	0	3*	0	1
	腸間膜リンパ節：うっ血	0	0	0	1	0	0	2	3*
	卵巣：退色	-	-	-	-	1	0	2	4*
	精巣：軟化	0	1	3	5**	-	-	-	-
	子宮：のう胞	-	-	-	-	1	2	5	4*
	乳腺部位：肥厚	0	1	0	0	14	10	13	2*
最終屠殺	臓器・所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
	精巣上体：小型	0	2	3	10**	-	-	-	-
	肝臓：退色巣	7	6	11	0**	8	5	5	2*
	下垂体：腫瘍	7	3	5	6	17	13	16	11*
	精巣：腫瘍	0	1	4	13**	-	-	-	-
	子宮頸：肥厚	-	-	-	-	8	11	2*	9
	脂肪組織：捻転状結節	7	7	4	1*	5	4	9	4
	腋窩リンパ節：局所的腫瘍	6	3	0*	2	3	5	6	3
	腸骨下リガ節：局所的腫瘍	1	1	2	8*	5	10	3	8
	乳腺部位：肥厚	0	0	0	0	20	19	20	14**
	乳腺部位：のう胞	0	1	0	0	11	9	11	5*
	皮膚/皮下：腫瘍	8	6	0**	6	1	3	1	3
全動物	臓器・所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎：退色巣	22	17	25	10*	38	40	35	35
	精巣上体：小型	0	2	3	10**	-	-	-	-
	肝臓：腫瘍	2	3	1	1	6	0*	4	2
	肝臓：退色巣	8	9	13	0**	8	7	7	4
	腸間膜リンパ節：うっ血	4	2	3	4	0	4	6*	5
	下垂体：腫瘍	12	7	9	10	27	22	29	14*
	精巣：腫瘍	0	1	6*	13**	-	-	-	-
	精巣：軟化	2	4	10*	12**	-	-	-	-
	子宮頸：肥厚	-	-	-	-	11	12	3*	9
	子宮：のう胞	-	-	-	-	10	16	22*	19
	脂肪組織：捻転状結節	9	7	5	1*	7	4	11	4
	腸骨下リガ節：局所的腫瘍	1	1	2	8*	8	11	5	12
	乳腺部位：肥厚	0	1	0	0	34	29	33	16**
	乳腺部位：のう胞	0	2	0	0	19	16	17	5**

Fisher の直接確率計算法 *：p<0.05、**：p<0.01

主群の 3000 ppm 群の雄で精巣腫瘍、精巣軟化ならびに精巣上体小型化が有意に増加した。これらの変化は組織学的検査の結果、検体投与に関連するものと判断した。その他の変化については、組織学的検査において関連付けられる病変がみられなかったため、偶発性のものと考えられた。

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。

病理組織学的検査: 衛星群の 52 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。

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、胸骨及び骨髄、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、精囊、凝固腺、卵巣、子宮角、子宮頸、腔、眼球、涙腺、骨格筋、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

さらに、腎臓、肝臓および肺に関しては、衛生群・主群ともに 100 および 550 ppm 群の毒性試験相および発がん性試験相の投与終了後計画殺全例について検査した。

[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。

3000 ppm 群の雄で精巣の精細管萎縮、間細胞過形成および間質水腫が有意に増加した。さらにこれらの動物で精巣上体の精子消失と腔内変性精細胞がそれぞれ有意に増加し、乳腺の上皮丈低下/好塩基性化と精囊の萎縮が有意に増加した。また、同群の雄では副腎の髓質過形成の頻度が有意に増加した。3000 ppm 群の肝臓では雌雄ともに胆管過形成が有意に増加し、雌ではさらに胆管周囲炎の頻度も有意に増加した。これらは検体投与による肝臓への影響と考えられる。

同群では雌雄ともに鼻甲介の嗅上皮好酸性封入体の発生頻度が増加し、雌では統計学的有意差を伴っていた。この変化は刺激性物質の吸入時にしばしば観察される非特異的反応で、ラットの週齢とともに頻度と量が増加することが知られている。これらの封入体の毒性学的意義は不明である。

同群の雌では脊髄腰部神経根神経線維変性の頻度が有意に増加した。本変化は老齢ラットに比較的普通に見られるもので、神経根の標本作製時における作製位置のバリエーションに起因するものと考えられ、本来の検査対象である脊髄そのものに発生する変化ではなかった。さらに坐骨神経や骨格筋に関連付けられる変化が見られないことより、この統計学的有意差は偶発性のものと考えられた。同群の雌ではさらに肺/気管支の血管周囲炎症細胞が有意に増加した。本変化は加齢ラットにおいて通常見られるものであり、多くは軽微な変化であるため、偶発性のものと考えられた。

その他の有意な変化は、減少方向への変動、限られた検査時期だけにみられ総発生頻度には差がないもの、あるいは用量との関連性がないものであり、検体投与に起因する有害作用とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

認められた腫瘍性病変はいずれも Han Wistar 系ラットに自然発生するものであった。

3000 ppm 群の雄において、精巣間 (ライディッチ)細胞の発生頻度が有意に増加した。

結 論： 100, 550 あるいは 3000 ppm 濃度の検体を Han Wistar 系ラットに混餌ルートで 104 週間経口投与した場合、3000 ppm 群の雄において精巣間 (ライディッチ)細胞腫と副腎髄質の過形成が誘発された。これらの動物では精巣の萎縮性病変とそれに関連する変化が精巣上体、精囊ならびに乳腺において観察された。さらに 3000 ppm 群の雌雄の肝臓では胆管周囲炎を伴う胆管過形成もみられた。従って、本試験における無作用量 (NOEL)は 550 ppm (雄 25.40 mg/kg/day、雌 35.33 mg/kg/day)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。

表 1-1 [非腫瘍性病変]

検査時期	臓器	衛星群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
5 2 週	精巣 上体	所見\検査例数	20	0	0	20	0	0	0	0
		精子数減少	1	-	-	1	-	-	-	-
	肝臓	所見\検査例数	20	20	20	20	20	19	20	19
		胆管過形成	0	0	0	0	1	0	0	0
		胆管周囲炎	2	0	0	0	0	1	0	1
	肺/気 管支	所見\検査例数	20	20	20	20	20	19	20	19
		血管周囲炎症細胞	0	3	0	0	1	1	3	4
	精巣	所見\検査例数	20	20	20	20	0	0	0	0
		精細管萎縮	1	1	2	6	-	-	-	-
		間細胞過形成	0	0	0	1	-	-	-	-

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 1-2 [非腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		限局性髓質過形成	0	1	0	2	0	1	0	0
	精巣 上体	所見\検査例数	10	9	10	8	0	0	0	0
		腔内変性精細胞	0	0	2	2	-	-	-	-
		精子数減少	0	0	3	0	-	-	-	-
		精子消失	0	0	0	4*	-	-	-	-
	心臓	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		慢性心筋症・心筋炎	5	9*	8	2	14	5	10	4
	肝臓	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		胆管過形成	1	1	0	1	6	5	3	3
		胆管周囲炎	0	0	0	1	0	1	1	0
	肺/気 管支	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		血管周囲炎症細胞	3	1	1	3	9	8	9	3
		肺炎	0	4*	2	0	3	2	3	1
	腸間膜 リンパ節	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		洞内赤血球/赤血球貪食	0	2	4	2	0	0	2	5***
	乳腺 (通常 検査部 位)	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		分泌活性	0	0	0	0	12	9	12	1*
	鼻甲介	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		嗅上皮好酸性封入体	0	2	1	1	0	1	2	4**
	膵臓	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		外分泌腺細胞萎縮	4	4	4	6	4	3	3	6*
		動脈炎・動脈周囲炎	0	0	0	0	0	0	1	3*
	精囊	所見\検査例数	10	9	10	8	0	0	0	0
		萎縮	0	0	4	2	-	-	-	-
	腰部 脊椎	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		神経根神経線維変性	0	0	1	0	0	1	1	1
	精巣	所見\検査例数	10	9	10	8	0	0	0	0
		精細管萎縮	2	1	2	6	-	-	-	-
		間細胞過形成	0	0	0	2	-	-	-	-
間質水腫		0	1	0	3	-	-	-	-	
子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	21	12	16	8	
	萎縮	-	-	-	-	3	7*	2	2	

Fisher の直接確率計算法 *; p<0.05、**; p<0.01、***; p<0.001

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 1-3 [非腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
最終屠殺	副腎	所見\検査例数	40	41	40	42	29	33	28	41
		限局性髓質過形成	3	4	5	21***	0	0	1	4
		皮質嚢胞状/出血性変性	5	14*	6	4	25	32	28	33
	精巣 上体	所見\検査例数	40	41	40	42	0	0	0	0
		腔内変性精細胞	4	12*	4	12	-	-	-	-
		精子数減少	2	1	6	9*	-	-	-	-
		精子消失	6	6	6	13	-	-	-	-
	腎臓	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		乳頭部/腎盂上皮石灰化	18	8*	6**	8*	13	19	21	9
		尿細管尿円柱	21	23	19	11*	18	20	19	11**
		間質炎	4	12*	8	3	3	4	1	3
		乳頭部上皮過形成	0	0	0	0	0	8*	3	1
	涙腺	所見\検査例数	40	17	24	42	29	4	2	41
		ハート腺化	25	15	21	14*	3	2	0	3
	肝臓	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		明細胞性細胞巢	39	37	34	33*	21	22	16	14**
		好塩基性細胞巢	28	37*	31	29	29	34	30	35
		胆管過形成	3	7	12*	12*	5	13	9	23**
		胆管周囲炎	1	1	3	4	1	2	2	8
	肺/気 管支	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		血管周囲炎症細胞	23	24	28	22	12	17	18	31**
	乳腺 (通所 検査部 位)	所見\検査例数	40	41	40	42	28	0	0	41
		乳腺上皮丈低下/ 好塩基性化	0	0	2	12***	0	-	-	0
		腺過形成	1	0	0	0	15	-	-	7**
	鼻甲介	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		嗅上皮好酸性封人体	11	11	3*	20	5	4	6	12
	下垂体	所見\検査例数	40	11	8	42	29	21	20	41
		中間部過形成巢	8	2	1	0**	2	0	0	2
	精囊	所見\検査例数	40	41	40	42	0	0	0	0
		萎縮	1	0	2	9*	-	-	-	-
腰部 脊髄	所見\検査例数	40	0	1	42	29	0	0	41	
	神経根神経線維変性	2	-	0	4	4	-	-	13	
脾臓	所見\検査例数	40	2	8	42	29	6	4	41	
	髓外造血	15	1	7	6*	22	6	4	18*	
胸骨 骨髄	所見\検査例数	40	0	0	42	29	0	0	41	
	軟骨粘液変性	10	-	-	2*	4	-	-	2	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001

表 1-4 [非腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別 群 (ppm)	雄				雌			
			0	100	550	3000	0	100	550	3000
最終屠殺	精巣	所見\検査例数	40	41	40	42	0	0	0	0
		精細管萎縮	18	21	18	35***	-	-	-	-
		間細胞過形成	2	7	1	17***	-	-	-	-
		間質水腫	4	7	7	11	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	40	8	7	40	29	4	2	40
		上皮過形成	3	0	0	4	1	0	0	9*
子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	29	11	3	41	
	粘液分泌性上皮化	-	-	-	-	24	5	3	19**	
全動物	副腎	所見\検査例数	50	50	50	50	50	45	44	50
		限局性髓質過形成	3	5	5	23***	0	1	1	4
		皮質囊胞状/出血性変性	5	15*	6	5	44	43	40	39
	精巣 上体	所見\検査例数	50	50	50	50	0	0	0	0
		腔内変性精細胞	4	12	6	14*	-	-	-	-
		精子数減少	2	1	9	9	-	-	-	-
		精子消失	6	6	6	17*	-	-	-	-
	腎臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	49	50
		乳頭部/腎盂上皮石灰化	19	9*	7*	8*	19	26	28	12
		尿管尿円柱	23	26	22	11†	27	24	24	12**
	涙腺	所見\検査例数	50	26	34	50	50	16	19	50
		ハーダー腺化	29	18	26	14**	4	2	2	4
	肝臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	49	50
		明細胞性細胞巣	42	39	36	33	27	24	17	14*
		好塩基性細胞巣	32	41	36	32	47	44	39*	42
		胆管過形成	4	8	12	13*	11	18	12	26**
		胆管周囲炎	1	1	3	5	1	3	3	8*
	肺/気 管支	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管周囲炎症細胞	26	25	29	25	21	25	27	34*
	乳腺 (通常 検査部 位)	所見\検査例数	50	50	50	50	49	12	17	50
		乳腺上皮丈低下/ 好塩基性化	0	0	2	12***	0	0	0	0
		腺過形成	1	0	0	0	22	2	3	8**
		分泌活性	0	0	0	0	19	9	12	5***
	鼻甲介	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		嗅上皮好酸性封入体	11	13	4	21	5	5	8	16*
	下垂体	所見\検査例数	50	20	18	50	50	33	36	50
		中間部過形成巣	8	2	1	0**	2	0	0	2
精囊	所見\検査例数	50	50	50	50	0	0	0	0	
	萎縮	1	0	6	11**	-	-	-	-	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001

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 1-5 [非腫瘍性病変]

検査時期	臓器	衛星群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
全動物	腰部 脊髓	所見\検査例数	50	9	11	50	50	12	17	50
		神経根神経線維変性	2	0	1	4	4	1	1	14*
	脾臓	所見\検査例数	50	11	18	50	50	18	20	50
		髓外造血	18	1	12	6**	34	11	9	22*
	胸骨・ 骨髓	所見\検査例数	50	9	10	50	50	12	17	50
		軟骨粘液変性	12	1	3	2**	7	0	0	2
	精巣	所見\検査例数	50	50	50	50	0	0	0	0
		精細管萎縮	20	22	20	41***	-	-	-	-
		間細胞過形成	2	7	1	19***	-	-	-	-
		間質水腫	4	8	7	14*	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	50	17	16	48	50	16	19	49
		出血	3	7	2	0	7	1	3	0*
	子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	50	23	19	49
		粘液分泌性上皮化	-	-	-	-	33	7	9	21*

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01、 ***: p<0.001

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]

検査時期	臓器	衛星群								
		性別	雄				雌			
		群(ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
5 2 週 後	腸間膜 リンパ節	所見\検査例数	20	0	0	20	20	0	0	19
		血管肉腫(M)	1	-	-	0	0	-	-	0
	下垂体	所見\検査例数	20	0	0	20	20	1	1	19
		前葉腺腫(B)	2	-	-	2	3	1	1	2
	甲状腺	所見\検査例数	20	20	20	20	20	2	0	19
		C細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	-	0
	子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	20	0	3	19
		顆粒性細胞腫(B)	-	-	-	-	1	-	0	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	-	1	0
	子宮	所見\検査例数	0	0	0	0	20	3	5	19
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	2	0	1	1
	乳腺部位	所見\検査例数	0	0	0	0	0	1	1	2
		線維腺腫(B)	-	-	-	-	-	1	1	1
	皮膚/皮下 (その他)	所見\検査例数	2	2	2	1	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	0	0	1	0	-	-	-	-
	腫瘍数	良性	2	0	1	2	6	3	4	4
		悪性	1	0	0	0	0	0	0	0
	腫瘍総数		3	0	1	2	6	3	4	4
	担腫瘍動物数	良性	2	0	1	2	6	3	3	4
		悪性	1	0	0	0	0	0	0	0
担腫瘍動物数		3	0	1	2	6	3	3	4	

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01、 ***: p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群(ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		皮質腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		褐色細胞腫(B)	0	1	0	1	0	0	0	0
	脳	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		顆粒性細胞腫(B)	0	2	1	0	1	0	1	0
	腸間膜リンパ節	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		血管腫(B)	0	1	1	2	0	0	1	0
	鼻中介	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		未分化癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	膵臓	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		島細胞腺腫(B)	0	1	2	1	0	0	0	0
		島細胞癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	下垂体	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		前葉腺腫(B)	5	4	3	5	11	9	12	3
		中間部腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	前立腺	所見\検査例数	10	9	10	8	0	0	0	0
		癌肉腫(M)	0	0	1	1	-	-	-	-
	唾液腺	所見\検査例数	10	9	10	8	21	11	17	9
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	16	9
		血管肉腫(M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査例数	10	9	10	8	0	0	0	0
		悪性間細胞腫(M)	0	0	1	0	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	10	9	9	8	21	12	17	9
		リンパ性胸腺腫(B)	0	0	0	0	1	1	0	0
	甲状腺	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9
		C細胞腺腫(B)	0	2	0	0	0	0	0	1
		濾胞細胞腺腫(B)	0	1	0	0	1	1	0	0
		C細胞癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		濾胞細胞癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	21	12	16	8	
	内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	0	0	1	0	
	平滑筋腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	腺癌(M)	-	-	-	-	0	1	0	0	
	内膜間質肉腫(M)	-	-	-	-	0	0	1	0	
	悪性シロシ細胞腫(M)	-	-	-	-	0	0	1	0	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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]

検査時期	臓器	主群									
		性別	雄				雌				
			群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
死亡・切迫殺	子宮	所見\検査例数	0	0	0	0	21	12	16	8	
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	1	3	0	2	
		腺癌(M)	-	-	-	-	2	0	0	2	
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	陰核線	所見\検査例数	0	0	0	0	1	0	0	2	
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	1	-	-	2	
	造血組織	所見\検査例数	10	9	10	8	21	12	17	9	
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	乳腺部位	所見\検査例数	0	0	0	0	6	5	5	1	
		線維腺腫(B)	-	-	-	-	4	4	4	1	
		腺癌(M)	-	-	-	-	0	1	0	0	
	原発不明	所見\検査例数	0	0	0	0	0	0	1	0	
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	-	1	-	
	皮膚/皮下 (その他)	所見\検査例数	5	2	4	1	3	1	4	2	
		基底細胞腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
		線維腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
		角化棘細胞腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		皮脂腺腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	歯	所見\検査例数	0	0	0	1	0	0	0	0	
		口腔上皮歯芽腫(B)	-	-	-	1	-	-	-	-	
	胸腔	所見\検査例数	0	0	1	0	0	0	0	0	
		線維肉腫(M)	-	-	1	-	-	-	-	-	
	腫瘍数		良性	6	13	8	10	22	19	19	7
			悪性	2	1	6	2	7	3	3	4
	腫瘍総数			8	14	14	12	29	22	22	11
	担腫瘍動物数		良性	5	9	4	5	17	11	14	5
			悪性	2	1	5	2	6	3	3	4
担腫瘍動物数			7	9	9	7	18	11	15	8	

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01、 ***: p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-4[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
最終屠殺	副腎	所見\検査例数	40	41	40	42	29	33	28	41
		皮質腺腫(B)	1	1	0	1	1	1	0	0
		褐色細胞腫(B)	3	2	3	4	0	0	0	0
		皮質癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性褐色細胞腫(M)	0	0	1	2	1	1	0	0
	脳	所見\検査例数	40	1	1	42	29	3	9	41
		顆粒性細胞腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	盲腸	所見\検査例数	40	0	0	42	29	0	1	40
		平滑筋腫(B)	0	-	-	0	0	-	1	0
	精巣 上体	所見\検査例数	40	41	40	42	0	0	0	0
		中皮腫(B)	1	0	0	2	-	-	-	-
	空腸	所見\検査例数	40	0	0	42	29	1	0	41
		平滑筋腫(B)	0	-	-	0	0	1	-	0
	腎臓	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		脂肪肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		移行上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腸間膜 リンパ節	所見\検査例数	40	2	6	42	29	4	5	41
		血管腫(B)	8	1	2	2	2	3	0	1
	肺/気管支	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		気管支/肺腺腫(B)	1	0	2	0	0	0	0	0
	乳腺(通常 検査部位)	所見\検査例数	40	41	40	42	28	0	0	41
		線維腺腫(B)	0	0	0	0	1	-	-	0
	鼻甲介	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		鼻腔/副鼻腔腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		シロリ細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	卵巣	所見\検査例数	0	0	0	0	29	14	12	41
		顆粒膜細胞腫(B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		顆粒膜・莢膜細胞腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	0
平滑筋腫(B)		-	-	-	-	0	0	0	1	
細胞腫(B)		-	-	-	-	0	2	3	0	
莢膜細胞腫(B)		-	-	-	-	0	0	1	0	
間質腺腫(B)		-	-	-	-	2	1	0	1	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-5[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群(ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
最終屠殺	膵臓	所見\検査例数	40	4	3	42	29	0	0	41
		島細胞腺腫(B)	1	4	1	0	1	-	-	0
	上皮小体	所見\検査例数	36	0	0	37	25	0	0	39
		主細胞腺腫(B)	1	-	-	1	0	-	-	0
	下垂体	所見\検査例数	40	11	8	42	29	21	20	41
		前葉腺腫(B)	6	4	7	8	19	17	17	15
		中間部腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	前立腺	所見\検査例数	40	1	2	42	0	0	0	0
		腺腫(B)	1	0	0	0	-	-	-	-
	精囊	所見\検査例数	40	41	40	42	0	0	0	0
		癌肉腫(M)	1	0	0	0	-	-	-	-
	脾臓	所見\検査例数	40	2	8	42	29	6	4	41
		血管肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査例数	40	41	40	42	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	1	3	4	12**	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	40	8	7	40	29	4	2	40
		リンパ性胸腺腫(B)	0	1	1	0	1	4	1	0
		上皮性胸腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	2
	甲状腺	所見\検査例数	40	8	7	42	29	3	4	41
		C細胞腺腫(B)	2	0	3	1	2	1	3	2
		濾胞細胞腺腫(B)	2	2	1	2	1	0	0	1
		神経節神経腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		C細胞癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		濾胞細胞癌(M)	0	0	1	1	1	0	0	0
	子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	29	11	3	41
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	0	2	2	1
	子宮	所見\検査例数	0	0	0	0	29	23	21	41
		腺腫(B)	-	-	-	-	0	2	0	2
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	1	3	3	5
血管腫(B)		-	-	-	-	0	1	0	0	
腺癌(M)		-	-	-	-	2	2	1	3	
骨(その他)	所見\検査例数	0	0	1	1	0	1	0	0	
	骨肉腫(M)	-	-	0	0	-	1	-	-	
口腔	所見\検査例数	0	0	0	0	1	0	0	1	
	扁平上皮乳頭腫(B)	-	-	-	-	1	-	-	1	

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01、 ***: p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-6[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
最終屠殺	造血組織	所見\検査例数	40	41	40	42	29	38	33	41
		組織球性肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	3	0
		リンパ球性リンパ芽球性リンパ腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
	膝下リンパ節	所見\検査例数	0	2	2	0	0	0	2	0
		血管肉腫(M)	-	1	0	-	-	-	0	-
	乳腺部位	所見\検査例数	0	1	1	0	10	23	24	4
		腺腫(B)	-	1	0	-	1	0	0	1
		線維腺腫(B)	-	0	0	-	6	8	9	3
		腺癌(M)	-	0	0	-	0	0	1	0
	骨格筋	所見\検査例数	0	1	0	0	0	0	2	1
		肉腫, NOS (M)	-	0	-	-	-	-	1	0
	包皮腺	所見\検査例数	1	0	0	3	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	-	-	1	-	-	-	-
		扁平上皮癌(M)	0	-	-	1	-	-	-	-
	皮膚/皮下(その他)	所見\検査例数	16	16	11	13	3	1	3	6
		基底細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	1
		基底扁平上皮腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		線維腫(B)	2	2	0	0	0	0	0	1
		角化棘細胞腫(B)	4	2	0	3	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	1	0	0	1	0	0	0	0
		シロウ細胞腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	尾	所見\検査例数	5	2	3	1	1	8	3	5
		扁平上皮乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	腫瘍数	良性	38	26	25	39	41	47	42	38
悪性		4	1	7	4	5	6	6	3	
腫瘍総数		42	27	32	43	46	53	48	41	
担腫瘍動物数	良性	21	16	20	28	26	29	26	24	
	悪性	4	1	7	4	4	6	5	3	
担腫瘍動物数		22	17	22	29	27	30	27	26	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-7[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
全動物	副腎	所見\検査例数	50	50	50	50	50	45	44	50
		皮質腺腫(B)	1	1	0	1	2	1	0	0
		褐色細胞腫(B)	3	3	3	5	0	0	0	0
		皮質癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		悪性褐色細胞腫(M)	0	0	1	2	1	1	0	0
	脳	所見\検査例数	50	10	11	50	50	15	26	50
		顆粒性細胞腫(B)	0	2	1	0	2	0	1	0
	盲腸	所見\検査例数	50	9	10	50	50	12	17	49
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	精巣上体	所見\検査例数	50	50	50	50	0	0	0	0
		中皮腫(B)	1	0	0	2	-	-	-	-
	空腸	所見\検査例数	49	9	8	50	50	12	16	50
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	腎臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	49	50
		脂肪肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		移行上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節	所見\検査例数	50	11	16	50	50	16	21	50
		血管腫(B)	8	2	3	4	2	3	1	1
	肺/気管支	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		気管支/肺腺腫(B)	1	0	2	0	0	0	0	0
	乳腺(通常検査部位)	所見\検査例数	50	50	50	50	49	12	17	50
		線維腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	鼻甲介	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		鼻腔*リンパ腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		シロ細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		未分化癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	卵巣	所見\検査例数	0	0	0	0	50	26	28	50
		顆粒膜細胞腫(B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		顆粒膜・莢膜細胞腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	1
細胞腫(B)		-	-	-	-	0	2	3	0	
莢膜細胞腫(B)		-	-	-	-	0	0	1	0	
間質腺腫(B)		-	-	-	-	2	1	0	1	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-8[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
全動物	膵臓	所見\検査例数	50	13	13	50	50	12	16	50
		島細胞腺腫(B)	1	5	3	1	1	0	0	0
		島細胞癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	上皮小体	所見\検査例数	46	8	10	45	44	11	17	48
		主細胞腺腫(B)	1	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	所見\検査例数	50	20	18	50	50	33	36	50
		前葉腺腫(B)	11	8	10	13	30	26	29	18
		中間部腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	1	0
	前立腺	所見\検査例数	50	10	12	50	0	0	0	0
		腺腫(B)	1	0	0	0	-	-	-	-
		癌肉腫(M)	0	0	1	1	-	-	-	-
	唾液腺	所見\検査例数	50	9	10	50	50	11	17	50
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	精囊	所見\検査例数	50	50	50	50	0	0	0	0
		癌肉腫(M)	1	0	0	0	-	-	-	-
	脾臓	所見\検査例数	50	11	18	50	50	18	20	50
		血管肉腫(M)	1	0	2	0	0	0	0	0
		肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査例数	50	50	50	50	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	1	3	4	12***	-	-	-	-
		悪性間細胞腫(M)	0	0	1	0	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	50	17	16	48	50	16	19	49
		リンパ性胸腺腫(B)	0	1	1	0	2	5	1	0
		上皮性胸腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	2
	甲状腺	所見\検査例数	50	17	17	50	50	15	21	50
		C細胞腺腫(B)	2	2	3	1	2	1	3	3
		濾胞細胞腺腫(B)	2	3	1	2	2	1	0	1
		神経節神経腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		C細胞癌(M)	1	0	0	0	1	0	0	0
		濾胞細胞癌(M)	0	0	1	1	2	0	0	0
子宮頸	所見\検査例数	0	0	0	0	50	23	19	49	
	内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	0	2	3	1	
	平滑筋腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	腺癌(M)	-	-	-	-	0	1	0	0	
	内膜間質肉腫(M)	-	-	-	-	0	0	1	0	
	悪性シロ細胞腫(M)	-	-	-	-	0	0	1	0	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-9[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群								
		性別	雄				雌			
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000
全動物	子宮	所見\検査例数	0	0	0	0	50	35	37	49
		腺腫(B)	-	-	-	-	0	2	0	2
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	2	6	3	7
		血管腫(B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		腺癌(M)	-	-	-	-	4	2	1	5
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	骨 (その他)	所見\検査例数	0	1	1	1	1	1	0	0
		骨肉腫(M)	-	0	0	0	0	1	-	-
	口腔	所見\検査例数	0	0	0	0	1	0	0	1
		扁平上皮乳頭腫(B)	-	-	-	-	1	-	-	1
	陰核線	所見\検査例数	0	0	0	0	1	1	0	4
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	1	0	-	2
	造血組織	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		組織球性肉腫(M)	0	0	1	1	0	0	3	0
		リンパ球性/リンパ芽球性リンパ腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
	膝下リンパ節	所見\検査例数	0	3	2	0	0	0	2	0
		血管肉腫(M)	-	1	0	-	-	-	0	-
	乳腺部位	所見\検査例数	0	1	1	0	16	28	29	5
		腺腫(B)	-	1	0	-	1	0	0	1
		線維腺腫(B)	-	0	0	-	10	12	13	4
		腺癌(M)	-	0	0	-	0	1	1	0
	原発不明	所見\検査例数	0	0	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	-	1	-
	骨格筋	所見\検査例数	0	1	1	0	3	1	2	1
		肉腫, NOS(M)	-	0	0	-	0	0	1	0
	包皮腺	所見\検査例数	4	0	1	3	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	-	0	1	-	-	-	-
		扁平上皮癌(M)	0	-	0	1	-	-	-	-
皮膚/皮下 (その他)	所見\検査例数	21	18	15	14	6	2	7	8	
	基底細胞腫(B)	1	0	0	0	0	1	0	1	
	基底扁平上皮腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	線維腫(B)	3	2	0	0	0	0	0	1	
	角化棘細胞腫(B)	4	2	1	3	0	0	0	0	
	脂肪腫(B)	1	0	0	1	0	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001
注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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 2-10[腫瘍性病変]

検査時期	臓器	主群									
		性別	雄				雌				
		群 (ppm)	0	100	550	3000	0	100	550	3000	
全動物	皮膚/皮下 (その他)	所見\検査例数	21	18	15	14	6	2	7	8	
		マロ細胞腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		皮脂腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
		線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
		肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
		扁平上皮癌(M)	2	0	0	0	1	0	0	0	
	尾	所見\検査例数	5	3	4	2	4	11	8	8	
		扁平上皮乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
	歯	所見\検査例数	0	0	0	1	0	0	0	0	
		口腔上皮歯芽腫(B)	-	-	-	1	-	-	-	-	
	胸腔	所見\検査例数	0	0	2	0	0	1	0	0	
		線維肉腫(M)	-	-	1	-	-	0	-	-	
	腫瘍数		良性	44	39	33	49	63	66	61	45
			悪性	6	2	13	6	12	9	9	7
	腫瘍総数			50	41	46	55	75	75	70	52
	担腫瘍動物数		良性	26	25	24	33	43	40	40	29
			悪性	6	2	12	6	10	9	8	7
	担腫瘍動物数			29	26	31	36	45	41	42	34

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01、 ***: p<0.001

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

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。

8.5.3 マウスにおける発がん性試験 (資料 No. T-3.3)

試験機関 Huntingdon Life Sciences Ltd

報告書作成年 2004年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ICR系 CD-1 (マウス)、1群雌雄各 50 匹、投与開始時 6 週齢

試験期間： 78 週間 (2001 年 12 月 10 日～2003 年 6 月 16 日)

投与方法： 検体を 0、320、1600 及び 8000 ppm となるように飼料に混合し、78 週間に亘って自由に摂取させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び生存率：一般状態及び生死を毎日観察した。試験終了時の生存率を下表に示す。

投与群 (ppm)		0	320	1600	8000
生存率 (%)	雄	74	76	74	84
	雌	68	74	70	60

検体投与による生存率への影響は認められなかった。

検体投与による臨床所見の、雌雄それぞれで初めて所見が記録された週、52 週および 79 週時の有所見個体数を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
耳介発赤	25週	0/49	0/49	0/50	0/49	0/50	0/50	0/50	2/50
	39週	0/48	0/49	0/47	1/49	0/50	0/48	0/49	7/48
	52週	0/48	0/46	0/45	4/47	0/46	0/47	0/49	10/42
	79週	0/37	0/38	0/37	9/42	0/34	0/37	1/35	10/30
耳介痂皮	19週	0/49	0/50	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	0/50
	27週	0/49	0/49	0/50	0/49	0/50	1/50	0/50	0/49
	52週	0/48	0/46	0/45	1/47	0/46	0/47	0/49	2/42
	79週	0/37	0/38	0/37	3/42	1/34	0/37	0/35	3/30

数字/数字=有所見個体数/観察個体数

表：続き

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
尾発赤	16週	0/49	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50
	21週	0/49	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50
	52週	0/48	0/46	1/45	0/47	0/46	1/47	0/49	5/42
	79週	0/37	0/38	0/37	2/42	0/34	0/37	4/35	18/30

数字/数字=有所見個体数/観察個体数

8000 ppm 投与群の雌雄において耳介の発赤および痂皮ならびに尾の発赤が、1600 ppm 投与群の雌で尾の発赤が認められた。これらは検体の刺激性によると推察された。その他の群で認められたこれらの所見は一時的で回復しており、偶発的であると考えられた。その他に脱毛、粗毛および進行性壊死性皮膚炎が対照群を含む全群にみられたが、いずれも背景データによく観察される所見であり用量関連性がなく、検体投与によるものとは考えられなかった。

体重： 投与開始から 14 週間は週 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。統計学的に有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		320	1600	8000	320	1600	8000
増体量	0-1 週		76↓	24↓	48↓	33↓	7↓
	0-13 週			85↓		70↓	62↓
	0-26 週			84↓		84↓	81↓
	13-78 週						36↓
	26-78 週			53↓			0↓
	1-78 週						55↓
	0-78 週			79↓			47↓

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。
Williams/Dunnett 検定 ↓, p < 0.05 ; ↓↓, p < 0.01

8000 ppm 投与群で雄のほぼ全て及び雌の全ての増体量算出期間において、統計学的に有意な増体量の減少が認められた。1600 ppm 投与群では、雌雄の 0 週から 1 週まで、雌の投与 0 週から 13 週まで及び投与 0 週から 26 週までの増体量の減少が認められたが、いずれもそれ以降及び通期では有意差を認めなかった。雌の 320 ppm 群で 0 週から 1 週のみ軽度の増体量の減少が認められたが、1 週以降及び通期では対照群と同等であった。雄の 320 ppm 群では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：全動物の摂餌量を投与開始から 14 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回測定し、体重および摂餌量データから食餌効率を算出した。検体投与による影響の認められた第 1 週の食餌効率および通期の平均食餌効率を以下の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

性別		雄				雌			
投与群(ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
食餌 効率	1週	4.9	4.1	3.6	1.2	7.8	3.5	2.4	0.4
	2-14週平均	2.2	2.3	2.1	2.1	1.7	1.8	1.4	1.4
	1-14週平均	2.5	2.4	2.2	1.9	1.9	1.8	1.4	1.5

摂餌量は、試験期間を通じて投与群と対照群の間に統計学的な有意差は認められなかった。食餌効率に関しては、投与第1週において雌の全投与群および雄の1600 ppm以上の投与群において低下傾向が認められた。しかしながら、食餌効率の低下は第1週のみで認められ、第2週以降では明らかな差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通りであった。

投与群 (ppm)		320	1600	8000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	37.3	200	1016
	雌	47.3	260	1296

血液学的検査：投与52週及び78週目に、対照群および8000 ppm投与群の全生存マウスから尾静脈採血し、血液塗抹像を観察した。

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)		8000	
検査項目	検査時期(週)	雄	雌
好中球	52	83↓	85↓
好酸球	52		413↑
	78	186↑	258↑
単球	52		46↓

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Williams/Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

Shirley/Steel 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

投与52週及び78週目の8000 ppm群の雌マウスにおいて好酸球数が増加し、投与78週目の8000 ppm群の雄マウスにおいても好酸球の軽度な増加が認められた。また、投与52週目に8000 ppm群の両性で好中球数の減少があり、この群の雌では単球数の軽度な減少も認められた。これらの変動は臨床所見で観察された皮膚の発赤も含めて検体投与との関連が疑われるが、その毒性学的な意義の詳細は不明であった。

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。

臓器重量；試験終了時に全生存動物において、脳、肝臓、腎臓、副腎、心臓、脾臓、精巣、精巣上体、卵巣および子宮の重量を測定し、対体重比を算出した。

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		雄			雌		
投与群 (ppm)		320	1600	8000	320	1600	8000
検査時期 (週)		78	78	78	78	78	78
体重 (g)		58.1	57.7	53.6↓	44.4	40.5	34.5↓
脳	絶対重量	104↑		97↓			89↓
肝臓	対体重比			119↑			123↑
腎臓	対体重比			117↑			121↑
精巣上体	絶対重量			91↓			
心臓	対体重比			110↑			117↑
精巣	絶対重量			78↓			
	対体重比			85↓			
卵巣	絶対重量						24↓
	対体重比						29↓

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

Behrens-Fisher 検定 ↑↓, $p < 0.05$; ↑↓, $p < 0.01$

検体投与の影響として、8000 ppm 投与群で精巣重量の低下が認められた。8000 ppm 投与群で脳および精巣上体の絶対重量の減少、肝臓、腎臓および心臓の対体重比の増加が認められたが、これらは体重の減少によるものであり、検体投与の直接的な影響ではないと判断された。また、最高投与群の雌マウスにおいて卵巣重量の有意な低下が認められたが、これらは卵巣嚢胞の群間のばらつきによるものと試験責任者は判断し、投与との関係は不明確であった。雄の 320 ppm 投与群で認められた脳の絶対重量のわずかな増加は、用量相関性がなくまた背景データの範囲内であり、偶発的なものと考えられた。

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。

肉眼病理学的検査；途中死亡、切迫屠殺、中間屠殺および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。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。

時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
死亡・切迫殺	臓器	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
	胆嚢	拡張	0	1	0	0	5	5	2	0*
	顎下リンパ節	腫大	5	5	5	3	2	6	8*	15***
	脾臓	腫大	8	7	7	5	5	9	11*	12
	腋下リンパ節	腫大	6	5	5	3	2	4	8*	10*
	気管支リンパ節	腫大	2	2	3	3	0	3	4*	3
	鼠径リンパ節	腫大	5	4	6	3	0	3	7**	6*
	腰リンパ節	腫大	7	7	4	3	1	3	8**	4
	腓リンパ節	腫大	3	3	5	1	1	4	6*	4
	膝窩リンパ節	腫大	5	2	4	2	0	3	6**	2
	胸腺リンパ節	腫大	3	2	3	1	1	2	6*	3
	皮膚/皮下	痂皮	2	0	2	4	1	3	1	13***
		皮下浮腫	1	0	0	0	6	1	2	0**
最終解剖	臓器	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
	腎臓	腫大	3	2	4	10	0	0	0	0
	涙腺	退色領域	0	0	0	0	0	2	1	6**
	顎下リンパ節	腫大	2	1	0	10*	2	5	1	18***
	腸間膜リンパ節	腫大	4	0	1	4	1	3	5	7*
	肺/気管支	結節	13	10	17	13	8	9	4	1*
	脾臓	斑	2	1	2	2	0	3	1	4*
	胃	境界縁肥厚	0	0	0	0	0	0	0	4*
	子宮	肥厚	-	-	-	-	6	12	15*	7
	腋下リンパ節	腫大	1	0	0	5	1	3	0	10**
	鼠径リンパ節	腫大	3	1	2	11*	0	1	0	11***
	腰リンパ節	腫大	2	0	0	1	1	4	2	7*
		結節の一部化	1	1	2	1	6	5	3	0*
	腓リンパ節	腫大	3	1	0	4	0	4	0	5*
	膝窩リンパ節	腫大	0	0	0	0	0	1	0	4*
	皮膚/皮下	痂皮	0	2	3	9**	3	1	1	9
外傷		3	3	7	18***	1	1	1	5	
肥厚		0	1	0	2	0	0	0	6**	

Fisher の直接確率計算法: *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001

肉眼病理学的検査表続き

時期	性別		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
全動物	臓器	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
	胆嚢	拡張	0	4	0	0	9	6	2	0**
	腎臓	腫大	5	6	7	11	0	0	0	0
	涙腺	退色領域	0	0	0	0	0	2	1	6*
	頸下リンパ節	腫大	7	6	5	13	4	11	9	33***
	腸間膜リンパ節	腫大	9	4	4	6	2	5	9	11**
	肺/気管支	結節	19	14	20	14	10	10	7	1**
	脾臓	斑	5	5	2	2	0	3	2	6*
		腫大	12	13	9	7	8	16	13	20*
	胃	境界縁肥厚	1	0	1	0	0	0	0	8**
		肥厚	2	5	6	5	1	1	1	9*
	子宮	結節	-	-	-	-	8	6	10	1*
	腋下リンパ節	腫大	7	5	5	8	3	7	8	20***
	気管支リンパ節	腫大	5	5	4	4	1	4	5	8*
	鼠径リンパ節	腫大	8	5	8	14	0	4	7*	17***
	腰リンパ節	腫大	9	7	4	4	2	7	10*	11*
	腓リンパ節	腫大	6	4	5	5	1	8*	6	9*
	膝窩リンパ節	腫大	5	2	4	2	0	4	6*	6*
	皮膚/皮下	痂皮	2	2	5	13**	4	4	2	22***
		外傷	5	5	10	20**	3	4	1	13*
肥厚		1	1	1	4	0	0	0	8**	
皮下浮腫		1	0	0	0	7	1	3	0*	

Fisher の直接確率計算法: *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001

検体投与による影響として、8000 ppm 投与群の雌雄において皮膚の痂皮、外傷および肥厚が統計学的に有意に増加し、それに伴い様々なリンパ節の腫大が認められた。また、8000 ppm 群の雌において、胃の前胃や腺胃境界部の肥厚が有意に増加した。8000 ppm 投与群の雄の最終解剖動物において、腎臓の腫大頻度が増加傾向を示したが、腫大に対応する一貫した病理組織学的所見は認められなかったため、検体投与との関連は不明である。また 1600 ppm 投与群の雌において、いくつかのリンパ節の腫大頻度が増加した。その他の有意差が認められた所見は、通常の CD-1 マウスを用いた長期試験において観察される所見であり、用量との相関性がないか変化の方向に毒性的な意義がなく、あるいは背景データの範囲内であったため、検体投与による影響とはみなさなかった。

病理組織学的検査：対照群と最高投与群の動物と、試験途中で死亡または切迫殺した全ての動物の下記組織を切り出し、包埋し、薄切してヘマトキシリン・エオジン染色を施し、病理組織学的検査を実施した。また、低投与群と中間投与群の肺、肝臓、脾臓、骨髄および肉眼的異常組織についても標本作製し鏡検した。

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。

脳、脊髄、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄、リンパ節、心臓、大動脈、唾液腺、舌、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、子宮頸部、膈、眼球、下腿二頭筋、皮膚、乳腺（雌のみ）、肉眼的異常部位

〔非腫瘍性病変〕

有意差の認められた非腫瘍性病変を表1に示す。認められた主な所見は以下の通りであった。

8000 ppm：雌雄の脾臓の巨核球数増加、顎下リンパ節の細胞数増加・リンパ球集簇・リンパ球過形成および形質細胞増加、雄における精巣の精細管萎縮増加、精巣上体の精子数減少および上皮細胞空胞化増加、肝臓のクッパー細胞内色素沈着増加、雌における副腎におけるX帯空胞化の増加、腎臓の好塩基性尿細管の増加、肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大増加、腺胃の扁平上皮化生と境界縁肥厚増加、脾臓の白脾髄細胞数増加

1600 ppm：雌雄の顎下リンパ節の細胞数増加、雄における精巣上体の精子数減少

320 ppm：雌雄の顎下リンパ節の細胞数増加

8000 ppm 投与群において、様々な組織でリンパ球集簇・リンパ球過形成・形質細胞増加などの炎症性の所見が増加したが、これらは肉眼的に認められた皮膚の痂皮や外傷に伴う反応と考えられた。また、全ての投与群で認められた顎下リンパ節の細胞数増加は、全ての群で認められた皮膚炎などの二次的な影響と考えられた。その他の有意差が認められた所見は用量相関性がないか、あるいは毒性学的に意味の無い方向への増減であり、検体投与とは関連しないと考えられた。

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。認められた全ての腫瘍は、ICR系マウスに通常見られるものであり、その発生率には投与との関連性は認められなかった。

結論：以上の結果から、本剤のマウスに対する18ヶ月間混餌投与による発がん性試験において検体投与に起因する腫瘍の増加は認められなかった。本試験における無毒性量(NOEL)は、320 ppmと判断され、雄では37.3 mg/kg/day、雌では47.3 mg/kg/day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。

表 1-1 [非腫瘍性病変]

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査例数	12	12	13	8	16	13	15	20
		紡錘状細胞過形成	0	2	3	1	9	2	5	1***
		髓質過形成	2	3	3	2	1	0	1	0
	精巣 上体	所見\検査例数	13	12	13	8	-	-	-	-
		上皮空胞化	3	6	7	6*	-	-	-	-
	大腿骨	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		骨髓球過形成	7	5	4	4	5	7	11*	16**
	腎臓	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		好塩基性尿管上皮	2	5	1	6*	2	2	6	10*
		糸球体腎炎	0	1	1	1	8	2	2	3*
	肝臓	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		小葉中心性肝細胞肥大	3	1	2	1	0	1	2	2
	顎下リンパ節	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		細胞数増加	1	0	3	1	0	2	1	12***
	食道	所見\検査例数	12	12	13	8	16	13	15	20
		リンパ球集簇	0	0	0	0	0	0	0	6*
	卵巣	所見\検査例数	-	-	-	-	16	13	15	20
		血腫	-	-	-	-	4	3	4	0*
		動脈中膜硝子化	-	-	-	-	4	0	0	0*
	脾臓	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		白脾髄細胞数増加	1	1	2	0	2	3	3	10*
		髓外性造血亢進	5	4	5	5	6	9	10	15*
		巨核球数増加	2	1	4	4	4	5	6	12*
		ヘモジデリン沈着	0	4*	1	0	5	2	1	0*
	胸骨 骨髓	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		骨髓球過形成	7	4	2	3	5	7	12*	15*
	胃	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
境界部上皮過形成		3	0	0	3	4	1	0	12*	
精巣	所見\検査例数	13	12	13	8	-	-	-	-	
	精細管萎縮	7	5	9	7	-	-	-	-	
子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	15	13	15	20	
	動脈中膜硝子化	-	-	-	-	4	0	1	0*	
最終解剖	副腎	所見\検査例数	37	2	4	42	34	37	35	30
		髓質過形成	7	2	1	14	17	1***	1***	14
		X帯空胞化	0	0	0	0	2	3	3	12**
	精巣 上体	所見\検査例数	37	38	37	42	-	-	-	-
		腔内変性精子細胞	4	12*	10	10	-	-	-	-
		上皮空胞化	28	24	29	37	-	-	-	-
		精子数減少	12	12	28***	35***	-	-	-	-
	腎臓	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		リンパ球集簇	31	28	29	37	19	29	28*	27**
		髓質尿管拡張	0	3	1	6*	1	7	2	4
		皮質鉾質沈着	8	3	5	2*	0	1	0	0

Fisher の直接確率計算法: *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001

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 1-2〔非腫瘍性病変〕

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
最終解剖	涙腺	所見\検査例数	37	0	1	41	34	3	1	30
		リンパ球集簇	29	0	1	33	23	2	1	28*
		腺萎縮	14	0	0	14	3	0	0	11*
		腺拡張	0	0	0	0	2	1	1	8*
	肝臓	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		髄外性造血亢進	4	11	14*	2	4	13*	18***	6
		リンパ球集簇	8	6	1*	12	12	7	5	14
		炎症細胞巣	16	0***	1***	16	7	3	9	7
		小葉中心性肝細胞肥大	9	7	4	15	0	2	0	4*
		クッパー細胞内色素沈着	3	0	2	16**	5	8	6	10
	顎下リンパ節	所見\検査例数	37	38	37	42	33	37	35	30
		細胞数増加	0	8**	5	13***	2	8	13**	19***
		形質細胞増加	3	3	4	12*	5	1	3	11
		ヘモジデリン沈着	5	0*	0	5	1	4	2	2
	肺/気管支	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		血管周囲リンパ球集簇	11	11	10	15	10	14	15	25***
		肺胞上皮細胞過形成	15	6*	5*	16	4	5	4	4
		気管支上皮細胞過形成	12	37***	32***	21	30	30	32	23
		気管支腺拡張	3	4	6	9	0	0	2	5*
		胸膜リンパ球集簇	1	2	2	3	1	0	2	6*
		大食細胞内色素沈着	0	1	0	0	1	0	3	6*
		肺胞大食細胞数増加	6	11	7	1*	5	7	1	7
		気管支周囲リンパ球集簇	4	5	6	13	9	6	11	25***
	食道	所見\検査例数	37	0	0	42	34	0	0	30
		リンパ球集簇	0	0	0	2	2	0	0	18***
	前立腺	所見\検査例数	36	2	2	41	-	-	-	-
		腔内炎症細胞	0	0	0	9**	-	-	-	-
		間質炎	1	0	1	11**	-	-	-	-
		間質線維化	0	0	1	10**	-	-	-	-
	脾臓	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
白脾髄細胞数増加		1	10**	6	6	6	7	4	10	
巨核球数増加		9	13	10	23*	5	12	9	17***	
ヘモジデリン沈着		1	3	2	1	13	6	7	3*	
胸骨 骨髄	所見\検査例数	37	0	0	42	34	0	0	30	
	骨髄炎	0	0	0	0	0	0	0	7**	

Fisher の直接確率計算法: *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001

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 1-3 [非腫瘍性病変]

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
最終解剖	胃	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		前胃 角化亢進	4	1	13*	2	15	6*	1***	10
		前胃 過形成	2	9*	13**	1	10	5	3*	10
		境界縁 過形成	8	7	19*	15	10	7	18	25***
		腺胃 過形成	27	23	30	31	16	9	3***	17
		境界縁 類表皮嚢胞	0	3	1	2	0	0	0	5*
		腺上皮粘膜/粘膜下侵入	0	1	2	5	0	0	0	4*
		リンパ球集簇	2	8	5	10*	3	6	8	11*
		腺胃 扁平上皮化生	0	0	0	2	0	0	0	20***
	精巣	所見\検査例数	37	38	37	42	-	-	-	-
		精細管萎縮	28	29	24	41**	-	-	-	-
		精細管空胞化	3	10	17***	18***	-	-	-	-
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	34	37	35	30
内膜過形成		-	-	-	-	18	25	28	5**	
全動物	副腎	所見\検査例数	49	14	17	50	50	50	50	50
		紡錘状細胞過形成	13	2	4	14	24	15	19	11*
		髓質過形成	9	5	4	16	18	1***	2***	14
		X帯空胞化	0	0	0	0	4	3	5	21***
	精巣 上体	所見\検査例数	50	50	50	50	-	-	-	-
		腔内変性精子細胞	5	14*	11	13	-	-	-	-
		上皮空胞化	31	30	36	43*	-	-	-	-
		精子数減少	16	15	30**	41***	-	-	-	-
		炎症	0	2	2	6*	-	-	-	-
	人腿骨	所見\検査例数	50	12	13	50	50	13	15	50
		骨髓球過形成	25	5	4	29	18	7	11	31*
	胆嚢	所見\検査例数	47	12	13	46	48	12	14	47
		腔拡張	1	4	0	0	13	3	1	4*
	腎臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		好塩基性尿細管上皮	31	37	29	36	15	21	27*	27*
		糸球体腎炎	0	2	1	2	10	2*	5	3
		リンパ球細胞集簇	34	30	33	40	29	34	37	40*
		髓質尿細管拡張	0	3	1	6*	1	7	3	5
		皮質鉍質沈着	8	4	6	2	0	2	0	0
	涙腺	所見\検査例数	50	12	14	49	50	16	15	50
		リンパ球集簇	33	5	5	36	31	7	9	44**
肝臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	髓外性造血亢進	8	13	20*	7	9	18	25**	15	
	炎症細胞巣	16	0***	1***	17	8	3	9	8	
	小葉中心性肝細胞肥大	12	8	6	16	0	3	2	6*	
	好塩基細胞巣	4	7	0	5	0	0	0	0	
	クッパー細胞内色素沈着	3	1	3	17***	7	9	7	10	

Fisher の直接確率計算法: *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001

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 1-4 (非腫瘍性病変)

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
全動物	顎下リンパ節	所見\検査例数	50	50	50	50	49	50	50	50
		細胞数増加	1	8*	8*	14***	2	10*	14**	31***
		形質細胞増加	3	3	4	13*	5	1	4	16*
	肺/気管支	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管周囲リンパ球集簇	12	11	11	16	13	15	18	29*
		肺胞上皮細胞過形成	15	8	5*	17	5	5	5	6
		気管支上皮細胞過形成	12	37***	32***	22	30	31	35	27
		肺胞大食細胞数増加	8	11	7	1*	7	7	3	9
		気管支周囲リンパ球集簇	4	5	6	14*	9	6	11	26***
	食道	所見\検査例数	49	12	13	50	50	13	15	50
		リンパ球集簇	0	0	0	2	2	0	0	24***
	卵巣	所見\検査例数	-	-	-	-	50	50	50	50
		嚢胞	-	-	-	-	44	39	38	35*
	上皮小体	所見\検査例数	43	10	8	40	43	11	11	42
		リンパ球集簇	0	0	0	1	0	0	1	5*
	前立腺	所見\検査例数	49	13	15	49	-	-	-	-
		腔内炎症細胞	1	1	1	10**	-	-	-	-
		間質炎	2	2	2	12**	-	-	-	-
		間質線維化	0	0	2	10**	-	-	-	-
	脾臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		白脾髄細胞数増加	2	11*	8	6	8	10	7	20*
		髓外性造血亢進	19	19	22	19	32	32	31	40
		巨核球数増加	11	14	14	27**	9	17	15	29***
		ヘモジデリン沈着	1	7	3	1	18	8*	8*	3***
	胸骨骨髓	所見\検査例数	50	12	13	50	50	13	15	50
		骨髓球過形成	18	4	2	21	20	7	12**	25
		骨髓炎	0	0	0	0	0	0	0	7*
胃	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	前胃 角化亢進	9	3	14	3	20	12	5***	16	
	前胃 上皮過形成	6	11	15*	1	10	6	4	14	
	境界縁 上皮過形成	11	7	19	18	14	8	18	37***	
	腺胃 上皮過形成	28	26	34	34	19	11	6**	20	
	リンパ球集簇	2	8	5	10*	3	6	8	11*	
	腺胃 扁平上皮化生	0	0	0	2	0	0	0	25***	
精巣	所見\検査例数	50	50	50	50	-	-	-	-	
	精細管上皮萎縮	35	34	33	48***	-	-	-	-	
	精細管上皮空胞化	5	11	19**	22***	-	-	-	-	
子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	49	50	50	50	
	内膜過形成	-	-	-	-	20	28	29	8**	
	扁平上皮化生	-	-	-	-	5	0*	1	0*	

Fisher の直接確率計算法: *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001

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；死亡・切迫殺]

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査例数	12	12	13	8	16	13	15	20
		皮質腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		肝細胞腺腫(B)	0	3	1	0	0	0	0	0
		肝芽細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	肺	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		細気管支・肺胞腺腫(B)	4	2	3	1	1	1	0	0
		細気管支・肺胞腺癌(M)	2	2	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胃	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		扁平上皮乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査例数	13	12	13	8	-	-	-	-
		精巣網膜腫(B)	0	0	0	1	-	-	-	-
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	15	13	15	20
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	0
	造血組織	所見\検査例数	13	12	13	8	16	13	15	20
		リンパ球性/リンパ芽球性リンパ腫(M)	2	1	2	0	1	2	2	2
		多形成型リンパ腫(M)	4	6	3	3	0	4	1	2
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	0	2	0
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	2	0	1	0
	ハダ腺	所見\検査例数	0	0	1	0	0	0	1	0
		腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	所見\検査例数	0	0	1	0	1	0	4	1
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	4	1
線維肉腫(M)		0	0	0	0	1	0	0	0	
筋肉	所見\検査例数	0	1	0	1	0	1	1	1	
	骨肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
皮膚	所見\検査例数	6	0	3	4	4	7	1	14	
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	

注) (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, ***, p < 0.001

表 2-2 (腫瘍性病変：最終解剖)

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
最終解剖	副腎	所見\検査例数	37	2	4	42	34	37	35	30
		皮質腺腫(B)	1	1	2	4	0	0	0	0
		褐色細胞腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		副腎皮質腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	大腸	所見\検査例数	37	0	0	42	34	0	0	30
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	精巣 上体	所見\検査例数	37	38	37	42	-	-	-	-
		間細胞腫(B)	0	0	1	0	-	-	-	-
		管状腺癌(M)	0	0	0	1	-	-	-	-
	腎臓	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		尿細管腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		肝細胞腺腫(B)	7	6	7	2	1	1	0	0
		血管腫(B)	1	0	0	1	0	1	0	0
		肝細胞癌(M)	0	2	1	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30
		細気管支・肺胞腺腫(B)	8	9	14	14	6	7	5	0
		細気管支・肺胞腺癌(M)	4	2	1	0	2	2	0	0
	卵巣	所見\検査例数	-	-	-	-	34	37	35	30
		黄体腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	1
		嚢胞状腺腫(B)	-	-	-	-	0	1	2	0
		管状腺腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
	唾液腺	所見\検査例数	37	0	0	42	34	0	0	30
		筋上皮腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	精囊	所見\検査例数	37	5	4	41	-	-	-	-
		腺腫(B)	0	0	0	1	-	-	-	-
胃	所見\検査例数	37	38	37	42	34	37	35	30	
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
甲状腺	所見\検査例数	37	0	0	42	34	0	0	30	
	濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
子宮 頸部	所見\検査例数	-	-	-	-	33	4	1	30	
	平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	1	0	1	

注) (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、 ***; p < 0.001

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：最終解剖 (続き))

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
最終解剖	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	34	37	35	30
		脱落膜腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
		内膜腺腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	1
		顆粒細胞腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
		血管腫(B)	-	-	-	-	0	2	0	0
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	1	1	1	0
		線維肉腫(M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	脂肪組織	所見\検査例数	2	4	2	0	2	3	0	1
		脂肪腫(B)	2	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	造血組織	所見\検査例数	37	38	33	42	34	37	35	30
		リンパ球性リンパ芽球性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		多形成型リンパ腫(M)	2	1	0	4	0	2	1	3
		骨髄性白血病(M)	1	0	0	0	0	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	2	1	2	0
		免疫芽球性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性リンパ腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	ハダ腺	所見\検査例数	0	1	1	0	0	0	0	0
		腺腫(B)	0	1	1	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査例数	0	2	0	0	0	0	1	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚	所見\検査例数	4	6	4	12	4	1	2	10
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	尾	所見\検査例数	1	1	1	3	1	2	0	2
		神経鞘腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	尿管	所見\検査例数	1	0	0	0	0	0	0	0
		移行上皮腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0

注) (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、***; p < 0.001

表 2-3 [腫瘍性病変：全動物]

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
全動物	副腎	所見\検査例数	49	14	17	50	50	50	50	50
		皮質腺腫(B)	1	1	3	4	0	0	0	0
		褐色細胞腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		副腎皮質腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	大腸	所見\検査例数	50	12	13	50	49	12	15	50
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	精巣 上体	所見\検査例数	50	50	50	50	-	-	-	-
		間細胞腫(B)	0	0	1	0	-	-	-	-
		管状腺癌(M)	0	0	0	1	-	-	-	-
	腎臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		尿細管腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫(B)	7	9	8	2	1	1	0	0
		肝芽細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	1	0	0	1	0	1	0	0
	肺/ 気管支	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		細気管支・肺胞腺腫(B)	12	11	17	15	7	8	5	0
		細気管支・肺胞腺癌(M)	6	4	1	0	2	2	0	0
	卵巢	所見\検査例数	-	-	-	-	50	50	50	50
		黄体腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	1
		嚢胞状腺腫(B)	-	-	-	-	0	1	2	0
		管状腺腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
	唾液腺	所見\検査例数	50	12	13	50	50	13	15	50
		筋上皮腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	精囊	所見\検査例数	50	17	17	49	-	-	-	-
		腺腫(B)	0	0	0	1	-	-	-	-
	脾臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	胃	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50
扁平上皮乳頭腫(B)		1	0	0	0	0	0	1	0	
腺腫(B)		0	0	0	0	0	0	1	0	
精巣	所見\検査例数	50	50	50	50	-	-	-	-	
	精巣網腺腫(B)	0	0	0	1	-	-	-	-	
甲状腺	所見\検査例数	50	12	13	50	50	13	15	50	
	濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	

注) (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、 ***; p < 0.001

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)〕

時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
全動物	子宮頸部	所見\検査例数	-	-	-	-	48	17	16	50
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	1	0	1
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	49	50	50	50
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		脱落膜腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
		内膜腺腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	1
		顆粒細胞腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
		血管腫(B)	-	-	-	-	0	2	0	0
		内膜ポリープ(B)	-	-	-	-	1	1	1	0
		線維肉腫(M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	脂肪組織	所見\検査例数	4	5	2	1	2	4	2	2
		脂肪腫(B)	2	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	造血組織	所見\検査例数	50	50	46	50	50	50	50	50
		リンパ球性/リンパ芽球性リンパ腫(M)	2	1	2	0	1	3	2	2
		多形成型リンパ腫(M)	6	7	3	7	0	6	2	5
		骨髄性白血病(M)	1	0	0	0	0	1	2	0
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	4	1	3	0
		免疫芽球性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性リンパ腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	ハダ腺	所見\検査例数	0	1	2	0	0	0	1	0
		腺腫(B)	0	1	2	0	0	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	所見\検査例数	0	2	1	0	1	0	5	1
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	5	1
		線維肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	筋肉	所見\検査例数	1	2	0	1	0	1	1	1
骨肉腫(M)		0	1	0	0	0	0	0	0	
皮膚	所見\検査例数	10	6	7	16	8	8	3	24	
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	1	0	1	0	0	0	0	
尾	所見\検査例数	3	1	1	3	2	3	1	6	
	神経鞘腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
尿管	所見\検査例数	1	1	1	2	0	0	0	0	
	移行上皮細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	

注) (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, ***, p < 0.001

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			
投与群 (ppm)		0	320	1600	8000	0	320	1600	8000
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
腫瘍数	良性	25	23	31	28	13	17	12	3
	悪性	18	15	8*	12	11	13	15	9
腫瘍総数		43	38	39	40	24	30	27	12*
担腫瘍動物数	良性	23	19	26	23	11	15	9	3*
	悪性	18	13	7**	11	10	12	14	8
担腫瘍動物数		36	29	31	29	20	23	21	10*

Fisher の直接確率計算法: *; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$, ***; $p < 0.001$

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 繁殖性及び催奇形性

8.6.1 ラットを用いた繁殖毒性試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関 Huntingdon Life Sciences Ltd.
報告書作成 2004 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： Han Wistar 系ラット、P 世代；1 群雌雄各 28 匹、F1 世代；1 群雌雄各 24 匹
投与開始時 6 週齢

投与期間： P 世代；投与開始から F1 児離乳までの 18 週間
F1 世代；離乳時から F2 児離乳までの 18 週間
F2 世代；離乳後 10 日間
(2002 年 10 月 7 日～2003 年 6 月 9 日)

試験方法： 0, 50, 500, 1500 ppm の検体を含有した飼料を自由に摂食させた。
投与量設定根拠：

方法及び試験項目： 概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡率： 全動物の全試験期間中死亡及び毒性徴候の観察を毎日行い、詳しい臨床徴候の観察を週 1 回行った。

交配及び妊娠の確認： 雌雄 1 対 1 で同居させ翌日膣栓或いは精子の有無により交尾成立の有無を確認した。生存あるいは死亡児を出産した雌、あるいは解剖時に子宮内に児動物がいた雌動物を妊娠動物とした。

繁殖性に関する指標： 交配、妊娠、分娩及び哺育期間の観察に基づき次の指標を算出した。

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。

親動物指数：

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交尾を認めた動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾を認めた動物数}} \times 100$$

$$\text{繁殖率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{生存胎児出産動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

産児指数：

$$\text{着床後生存率} = \frac{\text{1日齢の全児動物数}}{\text{子宮着床数}} \times 100$$

$$\text{出産児生存率} = \frac{\text{1日齢の生存児動物数}}{\text{1日齢の全児動物数}} \times 100$$

$$\text{生後4日生存率} = \frac{\text{4日齢の生存児動物数}}{\text{1日齢の生存児動物数}} \times 100$$

$$\text{哺育率} = \frac{\text{生存児動物数}}{\text{4日齢の生存児動物数}} \times 100$$

精子検査：全てのP及びF1雄親動物について、剖検時に精管、精巣及び精巣上体(原則として左側)を摘出し、精子運動能、精子形態、精子細胞数および精子数を調べた。

臓器重量：最終計画殺時まで生存した全てのP及びF1親動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、下垂体、甲状腺と上皮小体(固定後)、胸腺、肝臓、腎臓(両側)、副腎(両側)、脾臓、卵管付き卵巣(両側)、子宮(頸部を含む)、精巣(両側)、精巣上体(両側)、凝固腺付き精囊、前立腺(腹側葉)

選抜されなかったF1世代及びF2世代の児動物について、以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺

病理組織学的検査：P及びF1世代の、対照群及び1500ppm群の親動物及び全ての群の死亡動物について副腎、精巣上体(右のみ)、肝臓、卵管付き卵巣(F1については原始卵胞数のカウントも行った)、下垂体、前立腺(腹側葉)、精囊及び凝固腺、精巣(右のみ)、胸腺、子宮(頸部含む)、腔について病理標本を作成し、鏡検した。生殖器については、非妊娠または胎児が得られなかった、繁殖性に疑いのある50及び500ppm群の動物についても検査した。肉眼的病変を有する器官及び組織は、児動物を含めた全動物について

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。

組織学的検査を実施した。

表 1 試験手順

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・試験項目
P	生育 (10 週)		体重、摂餌量を週 1 回測定 7 週時から発情周期を検査(交配前 22 日間と交配成立が確認されるまで)
	交配 (3 週)	雌雄 1 対 1 で交配 膣栓/膣垢中精子の存在で交尾確認 (妊娠 0 H)	交配状況の観察
	妊娠 (3 週)		妊娠 0、6、13、20 日に体重を測定 摂餌量を週 1 回測定 投与開始後 18 週で雄動物を屠殺し、剖検、 臓器重量測定、病理組織学的検査、精子検査
	出産		出産状況の観察 児の一般状態、新生児数、死産児数、外表異常、性別及び同腹生存児体重測定
	哺育 (3 週)	出生後 4 日目に、各同腹児数を雌雄各 4 匹に調整(不可能な場合、雌雄計 8 匹)	分娩後 1、4、7、14、21、28 日目に母獣体重を測定 摂餌量を分娩後 1 週目は 2 回、以降は週 1 回測定 哺育 1、4、7、14、21 日目に生存児数、児体重測定 途中死亡及び 4 日目に屠殺した児動物について異常の検査
F1	離乳 哺育 21 日	継代用に各群雌雄 1 匹ずつ 28 腹から無作為に選抜(各腹雌雄 1 匹)	分娩後 28 日に母動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査を実施 継代用以外の児動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定、肉眼的異常部位の病理組織学的検査 性成熟(雄の包皮分離、雌の膣開口 H)の観察
	生育 (10 週)		
	交配 (3 週)	(P 世代に準ずる)	(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)	分娩後 28 日に母動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査(卵巣の原始卵胞数測定を含む)を実施 (P 世代に準ずる)
	離乳 生育 (生後 30 日まで)		生後 30 日目に、児動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定、肉眼的異常部の病理組織学的検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 果： 概要を表 2 に示した (性周期は表 4、妊娠期間は表 5 に詳細を示した)。
親動物の一般症状および死亡に検体投与の影響は認められなかった。
1500 ppm 群の P 世代雄親動物は、試験期間中わずかの摂餌量低下を示し、体重増加量に有意な低値を示した。2 世代目の 1500 ppm 群の F1 親動物は、最初、わずかの摂餌量低下を示していたが、交配前の摂餌量、体重増加量および摂餌効率に影響は認められなかった。
妊娠期間中の体重増加量は、1500 ppm 群で P 世代および F1 世代、そして 500 ppm 群の F1 世代で有意な低下が認められたが、影響が認められた段階は 2 世代の間で一貫性がなく、2 世代目の影響は同腹児数の低下によると示唆された。
1500 ppm 群において、対照群と比較して性周期の分布が有意に延長方向へ移動した。この投与群における交配成立までの期間の延長は、性周期への影響による二次的なものと考えられたが、交尾率は低下しなかった。性周期は F1 雌親では影響を認められなかった。P 世代および F1 世代の受胎率、繁殖率および妊娠率は対照群との間で有意な差は認められなかった。しかし、F1 世代の 1500 ppm 群では、24 匹中 4 匹に受胎の証拠が認められず、20 匹の妊娠雌のうち 4 匹が異常に低い着床数を示し、背景対照データと比較してわずかに低かった。
1500 ppm 群の P 雌親および F1 雌親は、対照群と比較して妊娠期間の分布が有意に延長方向に移動した。1 世代目においては、子宮内または出生児数に明らかな影響は認められなかったが、2 世代目では 500 および 1500 ppm 群で着床数および出生児数において有意な低下が認められた。
児動物では、1500 ppm 群の F1 雄児動物の哺育後期の体重増加量で有意な低値を示した。これは、これらの動物が投与飼料を食べ始めた頃と一致するが、総体重増加量は対照群と同様であった。F1 雌児動物は、哺育 7 日目から低い体重増加量を示し、総体重増加量は対照群と比較して有意に低値であった。2 世代目の F2 児動物の体重増加量は、投与による影響は認められなかった。
2 世代目を構成するために選抜された 1500 ppm 群の F1 雌は、膣開口がわずかに遅延したが、膣開口時の体重は対照群と同様であった。性成熟の遅延は身体的発育の遅延と関連しているとされる。しかし、1500 ppm 群の F1 雄の性成熟の遅延は認められなかったが、包皮分離時の体重は対照群よりも低かった。
臓器重量分析結果を表 3 に示した。
臓器重量分析では、P 雄親動物では、1500 ppm 群で腎臓重量および精巣相対重量に統計学的有意な変動が認められたが、これは最終体重の群間差による。P 雌親動物では、1500 ppm 群で対照群と比較して甲状腺の相対重量の明らかな増加と胸腺重量でわずかな低下が認められた。F1 雄親動物では、1500 ppm 群で脳重量のわずかな低下、そして F1 雌親動物の 1500 ppm 群で、脳重量および絶対および相対下垂体重量の明らかな低下と相対腎臓重量のわずかな増加が対照群と比較して認められた。
これらの変化は毒性学的に重要であるとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

非選択 F1 児動物では、1500 ppm 群で脳重量が雄で、胸腺の絶対および相対重量が雌雄で低値を示した。さらに、500 及び 1500 ppm 群で脾臓の絶対および相対重量が雌雄で対照群より高値を示した。F2 児動物では、1500 ppm 群の雌で胸腺相対重量のみが対照群と比較して低値を示した。脳および脾臓重量は影響を認められなかった。P 雌、F1 および F2 児動物で認められた胸腺重量の低下はストレスと関係しているかも知れない。全体的に肉眼的および顕微鏡学的異常は認められず、本試験における群間の違いの原因は明確にならなかった。

以上の結果より、二世代に亘って検体を飼料中に混入して投与した場合、1500 ppm 群では、親動物の体重減少 (P および F1 雌)、性周期の延長 (P)、妊娠期間の延長 (P および F1)、着床数および出生児数の減少 (F1)、体重増加量の低下および性成熟の遅延 (F1 雌児動物) および臓器重量に対する影響 (P 雌、F1 および F2 児動物) が認められた。500 ppm 群では妊娠後期の体重増加量の軽微な低下 (F1)、着床数および出生児数の減少 (F1) および脾臓重量増加 (F1 児動物) の影響に限定されていた。50 ppm 群は投与に関連したいかなる変化も認められなかった。したがって、無影響量 (NOEL) は親動物、児動物および繁殖性に対して 50 ppm (雄 ; 4.1~4.8 mg/kg/day、雌 ; 4.5~8.1 mg/kg/day) 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。

表 2-1 結果の概要

世代		親 : P		児 : F1		親 : F1		児 : F2	
投与量 (ppm)		0	50	500	1500	0	50	500	1500
動物数	雄	28	28	28	28	24	24	24	24
	雌	28	28	28	28	24	24	24	24
親 動 物	一般状態	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	死亡数 (切迫殺含む)	雄 雌	1 1	0 0	0 0	1 0	0 0	0 0	0 0
	体重 ;								
	雄 生育期	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	雌 生育期	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	妊娠期	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	哺育期	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	体重増加量 ;								
	雄 生育期	-	NE	NE	↓	-	NE	NE	NE
	雌 生育期	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	妊娠期	-	NE	NE	0.6 日↓	-	NE	13-20 日↓	13-20 日↓
	哺育期	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
摂餌量 ;									
雄	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
雌	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
摂餌効率(生育期)									
雄	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
雌	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
検体摂取量 ; (mg/kg/day)									
雄 生育期	-	4.1	40.6	120.2	-	4.8	48.7	145.1	
雌 生育期	-	4.6	45.7	135.4	-	5.1	51.4	153.9	
妊娠期	-	4.5	43.6	131.5	-	4.6	45.4	141.1	
哺育期	-	7.5	75.1	216.4	-	8.1	71.6	237.7	
肉眼的病理検査									
雄	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
雌	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
病理組織検査									
雄	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	
雌	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE	

Dunnnett の検定 ; ↓ : p < 0.05、 ↓↑ : p < 0.01

NE : 投与によると考えられる影響なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 結果の概要

世代		親 : P		兄 : F1		親 : F1		兄 : F2	
投与量 (ppm)		0	50	500	1500	0	50	500	1500
雄 の 繁 殖 能 力	交尾率 (%)	100	100	100	96	96	100	100	100
	受胎率 (%)	93	96	96	93	91	96	92	83
	繁殖率 (%)	93	96	96	89	88	96	92	83
	精巢上体精子数 ^a	645	—	—	669	569	—	—	535
	精巢精子数 ¹⁾	130	—	—	138	119	—	—	116
	運動精子率 (%)	93	91	93	91	95	93	95	88
	良好運動精子 (%)	51	49	53	51	54	48	49	48
	正常精子率 (%)	97	—	—	96	98	—	—	93
雌 の 繁 殖 能 力	性周期 ²⁾	-	NE	NE	有意な 変化	-	NE	NE	NE
	交配成立迄の期間(%);								
	1-4 日	96	96	96	79	88	96	92	92
	5~21 日	4	4	4	21↑	12	4	8	8
	交尾率 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
	受胎率 (%)	93	96	96	93	92	96	92	83
	繁殖率 (%)	93	96	96	93	92	96	92	83
	妊娠率 (%)	100	100	100	96	100	100	100	90
	着床数(平均)	11.4	11.6	11.2	11.2	12.5	12.2	10.0 ↓	10.1 ↓
	全同腹児死亡	0/25	0/27	0/27	1/26	0/22	1/23	1/22	4/20
	原始卵胞数(平均);								
分娩後 28 日齢母獣	—	—	—	—	9.5	—	—	9.1	
非妊娠母獣	—	—	—	—	10.1	—	—	11.6	
全同腹児死亡母獣	—	—	—	—	-	—	—	9.4	

Dunnnett の検定 ; ↑↓ : p < 0.05、↓↑ : p < 0.01

1) : 単位は x 10⁶ 個/g

2) : 表 4 参照

— : 未実施

NE : 投与によると考えられる影響なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 結果の概要

世代		親 : P		児 : F1		親 : F1		児 : F2	
投与量 (ppm)		0	50	500	1500	0	50	500	1500
児 動 物	生存児数 (平均)								
	1日齢/出生児数 ^a (雄/雌 : 平均)	10.8 (5.5/5.3)	10.9 (5.6/5.3)	11.1 (5.3/5.8)	10.4 (4.4/5.7)	11.6 (5.8/5.6)	12.0 (5.5/6.3)	8.8 ↓ (4.2/4.6)	8.8 ↓ (4.2/4.6)
	1日齢/生存児数 ^b (雄/雌 : 平均)	10.7 (5.5/5.2)	10.6 (5.5/5.1)	11.0 (5.3/5.7)	10.0 (4.3/5.7)	11.2 (5.7/5.5)	12.1 (5.6/6.5)	8.7 (4.2/4.5)	10.0 (4.9/5.1)
	生存率 (%)								
	着床後	95.3	93.0	96.2	92.9	92.0	97.5	86.7	82.4
	1日齢	99.0	96.5	99.4	95.0	95.1	93.0	99.6	83.5
	4日齢	99.3	100	99.2	99.2	98.9	99.7	95.5	92.9
	21日齢	99.5	100	98.1	98.5	97.1	97.7	99.2	100
	外表異常	-	NE	NE	NE	-	NE	NE	NE
	性比 (雄%)	49.4	51.8	47.6	42.7	50.6	47.3	47.1	47.9
	生存児体重 (g:平均)								
	雄 :								
	1日齢	6.5	6.4	6.4	6.7	6.3	6.2	6.9	6.6
	4日齢	9.8	9.8	9.7	9.7	9.1	9.1	10.4	10.0
	21日齢	48.5	48.7	48.8	46.6	48.0	48.8	51.3	49.3
	増加量 7-14日	16.3	16.0	16.5	16.0	16.0	17.0	16.7	15.9
	14-21日	17.0	17.4	17.3	15.8 ↓	17.9	17.6	18.5	17.6
	1-21日	42.0	42.2	42.3	39.9	41.6	42.6	44.4	42.7
	雌 :								
	1日齢	6.1	6.2	6.2	6.4 ↑	6.0	6.0	6.7	6.3
4日齢	9.3	9.5	9.4	9.5	8.9	8.8	10.1	9.7	
21日齢	46.5	47.5	46.9	44.6	46.0	47.4	50.1	47.0	
増加量 7-14日	15.9	15.9	15.9	15.3 ↓	15.9	16.1	16.6	15.6	
14-21日	16.0	16.7	16.4	14.8 ↓	16.5	16.9	17.7	16.3	
1-21日	40.4	41.3	40.7	38.2 ↓	40.0	41.4	43.5	40.8	
性成熟									
肉眼病理検査	-	NE	NE	NE	-	-	-	-	
包皮分離 (日齢:平均)	46	46	45	46	-	-	-	-	
体重 (g:平均)	198	194	191	184*	-	-	-	-	
膈開口 (日齢:平均)	34	34	34	36**	-	-	-	-	
体重 (g:平均)	108	112	109	112	-	-	-	-	

Dunnett の検定 : ↑↓ : p < 0.05、 ↓↑ : p < 0.01

Williams の検定 : * : p < 0.05、 ** : p < 0.01

a : 1日齢とする前に死亡 (性別不明児含む)した児動物を含む

b : 全同腹児死亡を有する雌を除外して算出

NE : 投与によると考えられる影響なし

- : 未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表3 臓器重量分析^c

性別	臓器	親：P			親：F1		
		50 ppm	500 ppm	1500 ppm	50 ppm	500 ppm	1500 ppm
雄	剖検時体重	98	99	93 ↓	98	98	97
	脳(絶対)	98	100	99	99	100	96 ↓
	腎臓(絶対)	95	98	94 ↓	99	100	100
	精巣(相対)	104	105	112 ↑	101	101	100
雌	剖検時体重	100	99	96	103	104	98
	脳(絶対)	99	99	98	100	101	95 ↓
	下垂体(絶対)	100	100	100	93	93	86 ↓
	(相対)	94	98	96	92	92	85 ↓
	腎臓(相対)	100	99	102	102	101	105 ↑
	胸腺(絶対)	99	95	87 ↓	98	101	91
	甲状腺(相対)	104	102	115 ↑	109	96	107

性別	臓器	児：F1			児：F2		
		50 ppm	500 ppm	1500 ppm	50 ppm	500 ppm	1500 ppm
雄	剖検時体重	101	100	96	100	107	102
	脳(絶対)	99	99	96 ↓	99	102	99
	脾臓(絶対)	105	112 ↑	108 ↑	96	108	107
	(相対)	104	112 ↑	110 ↑	96	101	105
	胸腺(絶対)	102	97	84 ↓	98	96	99
(相対)	101	97	88 ↓	99	90	97	
雌	剖検時体重	104	105	99	100	108	101
	脾臓(絶対)	103	113 ↑	109 ↑	93	106	98
	(相対)	99	107 ↑	110 ↑	93	98	97
	胸腺(絶対)	105	100	88 ↓	94	103	90
(相対)	101	95	88 ↓	94	95	90 ↓	

Dunnett の検定； ↑↓：p<0.05、 ↓↑：p<0.01

^c：対照群を 100 とした場合の値

表4 性周期

群(ppm)	動物数	周期				持続発情 (%)	周期停止 ^c (%)	
		4日	4及び5日	5日	<4日または>6日			
P	0	27	22 (81%)	4 (15%)	0	0	1 (4%)	
	50	28	21 (75%)	2 (7%)	1 (4%)	0	4 (14%)	
	500	28	19 (68%)	5 (18%)	0	1 (4%)	3 (11%)	
	1500*	28	9 (32%)	5 (18%)	6 (21%)	5 (18%)	3 (11%)	
F1	0	24	18 (75%)	2 (8%)	2 (8%)	0	2 (8%)	
	50	24	22 (92%)	2 (8%)	0	0	0	
	500	24	20 (83%)	3 (13%)	0	1 (4%)	0	
	1500	24	13 (54%)	5 (21%)	2 (8%)	0	2 (8%)	
背景対象 データ (13 試験)	平均		85.8%	6.0%	1.5%	1.9%	1.1%	3.8%
	最小		64%	0%	0%	0%	0%	0%
	最大		96%	16%	4%	7%	4%	18%

持続発情：少なくとも4日間の発情期継続

周期停止：少なくとも10日間、発情期なし

*：線形・線形関連検定で有意、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石原産業株式会社にある。

表5 妊娠期間

群 (ppm)	動物数	妊娠期間 (日)								
		21.5	22	22.5	23	23.5	24	24.5	25	
P	0	25	0	9 (36.0%)	8 (32.0%)	8 (32.0%)	0	0	0	0
	50	27	0	7 (25.9%)	10 (37.0%)	8 (29.6%)	2 (7.4%)	0	0	0
	500	27	0	5 (18.5%)	16 (59.3%)	6 (22.2%)	0	0	0	0
	1500*	25	0	0	5 (20.0%)	13 (52.0%)	4 (16.0%)	2 (8.0%)	1 (4.0%)	0
F1	0	22	0	3 (13.6%)	9 (40.9%)	9 (40.9%)	0	1 (4.5%)	0	0
	50	23	0	3 (13.0%)	10 (43.5%)	9 (39.1%)	0	1 (4.3%)	0	0
	500	22	0	1 (4.5%)	5 (22.7%)	15 (68.2%)	0	0	1 (4.5%)	0
	1500*	20	0	0	3 (15.0%)	10 (50.0%)	3 (15.0%)	2 (10.0%)	1 (5.0%)	1 (5.0%)
背景対象 データ (8 試験)	平均		0.5%	15.3%	36.1%	45.5%	2.1%	0%	0.4%	0%
	最小		0%	7%	21%	32%	0%	0%	0%	0%
	最大		4%	24%	55%	68%	7%	0%	4%	0%

表中の数値は該当する性周期を示した動物数、()内は百分率を示す。

*: 線形・線形関連検定で有意、 $p < 0.01$

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 Huntingdon Life Sciences Ltd.
報告書作成年 2006 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： CD 系性成熟未経産雌ラット (10～11 週齢、試験開始時体重 231～279 g)、1 群 22 匹

投与期間： 妊娠期間中 14 日間 (2002 年 8 月 19 日～2002 年 9 月 1 日)

投与方法： 検体を 0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、0、12.5、50 及び 200 mg/kg/day の投与量で妊娠 6 日目から 19 日目(陰栓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。尚、対照群には 0.5 %カルボキシ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、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、3、6～20 日目に体重を測定し、摂餌量は妊娠 0～2、3～5、6～9、10～13、14～17、18～19 日の期間について測定した。妊娠 20 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、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

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。

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。各同腹児群 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を作製して骨格異常を検査した。

結 果： 概要を添付の表に示した。

親動物： 全ての投与群において、臨床症状、肉眼病理学的観察、体重および摂餌量で投与による影響は認められなかった。黄体数、着床数、吸収数、生存数、着床前および着床後胚死亡率については、全ての群で投与による影響は認められなかった。被験物質に対する母動物の薬剤耐性に対して、子宮および子宮内検査では、特に 50 および 200 mg/kg/day 群において明らかな影響(胎児体重減少および胎盤重量増加)が認められた。

生存胎児： 200 mg/kg/day 群では胎児体重が有意に減少し (18%)、大異常を呈した胎児の発生頻度が増加した。認められた異常は、心臓における心室中隔欠損、大動脈弓および主要血管形成の異常、肋骨の発達および骨化異常、頭蓋骨における蝶形骨基底の異常であった。小異常に分類される軽度な内臓異常、特に心臓血管系の発生頻度もまた 200 mg/kg/day 群で増加していた。部分的胸腺下降不全および痕跡的/小型甲状腺の発生頻度が非常に高かった。痕跡的/欠損腎乳頭、光沢皮膚の発生頻度および出血領域もまた増加していたが、これらは胎児の未成熟との関連が示唆された。小異常に分類される軽度な骨格異常の発生頻度もまた、200 mg/kg/day 群で増加していた。即ち、それらは肋骨の骨化異常と過剰肋骨/胸椎を伴う胎児であり、頭蓋中央、脊椎、胸骨分節、骨盤骨および中手骨/中足骨の著しい骨化減少であった。

50 および 12.5mg/kg/day 群においては、投与に関連した重要な異常の発生は認められなかった。軽度な内臓異常の発生頻度は、大部分は本試験の対照群の値と同様であり、投与の影響と考えられる証拠は認められなかった。骨格観察では、投与と関連した構造的異常は対照群と比較して有意な増加は認められなかったが、骨化の減少が認められた。50 mg/kg/day 群では頭蓋中央、脊椎、胸骨分節、骨盤骨および中手骨/中足骨で骨化の減少が認められたが、200 mg/kg/day 群で認められた頻度よりはるかに低い値であった。12.5 mg/kg/day 群で認められた影響は、頭蓋中央、仙尾椎および胸骨分節の比較的軽度な影響であった。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したとき、最高投与量の 200 mg/kg/day 群において、母動物の一般状態、体重、摂餌量および肉眼病理学的観察に投与による影響は認められなく、十分な薬剤耐性を示したことから、母動物の無影響量 (NOEL) は 200 mg/kg/day であった。

胎児に対する影響では、200 mg/kg/day 群で重要な異常の増加、胎児体重の減少、発生における軽度な変異の増加、骨化の減少が投与と関連していた。50 mg/kg/day 群は、胎児体重のわずかの減少および骨化の減少に限定されていた。12.5 mg/kg/day 群における影響は、限られた種類の骨における比較的重要なでない変化である骨化減少

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。

の怪微な増加に限られており、これらの所見は悪影響であるとはみなされないと考えた。よって、12.5 mg/kg/day 群は本試験における胎児の無毒性量(NOEL)であると考えた。

催奇形性とその無影響量 (NOEL)に関して(申請者注)

本試験条件下、母動物に明白な影響が認められない200 mg/kg/day 群において、胚胎児毒性が認められたことから、この用量では催奇形性が示唆された。一方、50 mg/kg/day 群以下の用量では、大異常および骨格変異或いはその他、残存する異常は認められなかった。50 mg/kg/day 群の胎児体重は本試験の対照群の値を約6%下回っており、認められた骨化の減少や部分的胸腺降不全は発育遅延/未成熟に起因した影響と考えられた。したがって、催奇形性作用に対する無影響量 (NOEL)は 50 mg/kg/day と考えられた。

1) : 大異常、小異常の定義

大異常	妊娠期間が延長しても回復するとは考えられない、胎児への構造的もしくは機能的変化。発育遅延には起因せず、特異的な臓器への催奇形性を示唆するものであると考えられる。
小異常	時間の経過とともに回復する、または有害な構造的もしくは機能的変化とならない、胎児の発生程度の変化のこと。

2) : 12.5mg/kg/day 群において有意差が認められた、骨化不全の背景データとの比較

(Hantingdon Life sciences Ltd.: 2001~2004年の27試験)

所見項目	背景データ		12.5mg/kg/day 群
	胎児(同腹児群) : 発生頻度(%)		胎児(同腹児群) : 発生頻度(%)
頭部中央	3.6 (4.5)	~ 20.5 (36.4)	26.2 (68.2)
仙尾椎	1.8 (4.5)	~ 14.7 (45.5)	16.1 (59.1)
胸骨分節:第5 and/or 第6	35.1(77.3)	~ 78.8 (100)	76.0 (100)

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	12.5	50	200
1群当りの動物数		22	22	22	22
親動物	一般状態	-	-	-	-
	死亡または切迫屠殺動物数	0	0	0	0
	妊娠動物数(%)	22(100)	22(100)	22(100)	22(100)
	流産動物数	0	0	0	0
	全胎児死亡動物数	0	0	0	0
	検査親動物数	22	22	22	22
	体重増加量(妊娠6-20日)(g)	140	138	140	138
	摂餌量	-	-	-	-
	肉眼病理学的検査	-	-	-	-
	妊娠子宮重量(g)	87	88	85	85
補正体重 ⁽¹⁾ (g)	340	332	344	343	
着床所見	黄体数(平均)	16.2	17.1	17.0	16.5
	着床数(平均)	15.7	16.0	15.7	15.2
	生存胎児数(平均)	14.9	15.3	14.8	14.3
	吸収胚数(平均)	0.8	0.7	0.9	0.9
	着床前胚死亡率 ⁽²⁾ (%)	5.7	5.6	8.3	9.5
	着床後胚死亡率 ⁽³⁾ (%)	5.8	4.5	6.6	5.6
胎児	胎児体重(g) : 雄	3.86	3.80	3.63 ⁺⁺	3.15 ⁺⁺
	雌	3.62	3.59	3.41 ⁺⁺	2.98 ⁺⁺
	胎盤重量(g)	0.56	0.56	0.63	0.67 ⁺⁺
	性比(%雄)	46.3	51.7	45.3	54.2
大異物	検査胎児数	328	337	325	314
	外表 :	0	0	0	0
	内臓 : 後食道右鎖骨下動脈	0	0	0	1
	重複大動脈弓	0	0	0	2
	重複大動脈弓と食道狭窄	0	0	0	1
	重複大動脈弓と心室中隔欠損	0	0	0	2
	後食道大動脈弓	0	0	0	2
	大動脈弓拡張と心室中隔欠損	0	0	0	1
	狭い大動脈弓と心室中隔欠損	0	0	0	1
	心室中隔欠損	0	0	0	11 ^{**}
	左腎臓及び尿管欠損	0	0	0	1
	臍帯ヘルニア	0	0	0	1
	骨格 : 変形蝶形骨基底	0	0	0	8 ^{**}
	顕著な胸腰椎側湾、変形肋骨、肋骨不整化骨/中央肥厚/屈曲	0	0	0	1
顕著な肋骨不整化骨/中央肥厚/屈曲	0	0	0	14 ^{**}	

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。

投与群(mg/kg/day)		0	12.5	50	200
1群当りの動物数		22	22	22	22
児 小	外表：検査胎児数	328	337	325	314
	舌突出	0	0	0	7**
	光沢皮膚/頭部	4	2	0	38**
	胎盤腫大	0	1	3	33**
	短く/鋭い/上向いた鼻	0	0	0	9**
	内臓：検査胎児数	162	169	163	158
	甲状腺：痕跡的/小型	1	2	3	31**
	胸腺：部分的下降不全	1	2	8*	88**
	食道：内側に変位	0	0	0	7**
	頸動脈分枝像変異	0	0	1	28**
	小さな心室中隔欠損	0	0	2	15**
	奇静脈異常：右奇静脈遺残	0	0	0	16**
	分枝	0	0	1	8**
	狭窄	0	0	0	2
	腎臓：乳頭痕跡的/欠損	2	9*	4	35**
精巣：位置異常	7	5	6	14	
出血：脳/脊髄	1	4	5	13**	
皮下	12	4*	7	20	
動 異	骨格：検査胎児数	166	168	162	156
	異常				
	肋骨：中央肥厚/屈曲	2	5	5	27**
	不整化骨	0	1	3	44**
	胸骨分節：分裂骨化	1	0	1	4
	変異				
	頸肋骨	0	0	2	5*
	13/14 or 14/14 肋骨	27	32	29	61**
	20 胸腰椎	0	0	0	12**
	骨盤帯線列分枝	0	1	0	9**
	骨化不全				
	頭部中央	17	44**	63**	130**
	脊椎：頸椎	1	2	3	19**
	胸椎	15	7	42**	139**
	腰椎	1	0	3	36**
仙尾椎	12	27*	70**	151**	
胸骨分節：第5 and/or 第6	98	128**	150**	156**	
その他	5	7	27**	114**	
骨盤骨	11	10	27**	125**	
中手骨/中足骨	3	4	20**	136**	
物 常					

(1) 妊娠 20 日の体重-妊娠子宮重量 * : P<0.05, ** : P<0.01 (Fisher の直接確率法)

(2) (黄体数-着床数)/黄体数×100 で求めた。+ : P<0.05, ++ : P<0.01 (William 検定または Shirley 検定)

(3) (着床数-生存胎児数)/着床数×100 で求めた。

— 検体投与による影響なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.3 ラットにおける催奇形性試験（資料 No. T-4.3）

試験機関 三菱化学安全科学研究所
報告書作成年 2006年 [GLP 対応]

試験実施理由：先に実施したラット催奇形性試験（資料 No.T-4.2）において、最低用量群（12.5 mg/kg/day）に認められた所見を明らかにするため、本試験を実施した。

検体純度：

試験動物： SD系 [Crj;CD(SD)]性成熟未経産雌ラット（11週齢、試験開始時体重 230～280 g）、
1群 22匹

投与期間： 妊娠期間中 14日間（2006年1月17日～2006年1月30日）

投与方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、0、1、3および 10 mg/kg/day
の投与量で妊娠 6日目から 19日目（陰栓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。尚、対照群には 0.5%カルボキシ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、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、17、19 および 20
日に体重及び摂餌量を測定した。妊娠 20日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存・死
亡および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観察を実
施した。

生存胎児： 体重、胎盤重量を測定し、性別および外表異常の観察を行った。各同腹児群 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。

結 果： 概要を添付の表に示した。

親動物： いずれの群においても、一般状態、体重、摂餌量、肉眼病理学的検査および妊娠子宮重量のいずれにも被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。また、黄体数、着床数、死亡胚数、生存胎児数、着床前および着床後胚死亡率について、全ての群で投与による影響は認められなかった。

生存胎児： 胎児体重、性比、胎盤重量および胎盤所見のいずれにも、投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。また、外表、内臓および骨格検査において、全ての群で異常、変異および骨化遅延の増加は認められなかった。尚、すべての投与群で中足骨数が有意に増加したが、これは、投与群ではすべて骨化しているのに対して対照群で骨化数の少ない胎児が散発したことに起因しているため、検体投与による影響ではないと考えられる。

以上の結果より、本試験条件下における母動物及び胎児の無毒性量 (NOAEL)は 10 mg/kg/day であり、催奇形作用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。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	1	3	10
1 群当りの動物数		22	22	22	22
親動物	一般状態	-	NE	NE	NE
	死亡または切迫屠殺動物数	0	0	0	0
	妊娠数 (%)	22 (100)	22 (100)	21 (95)	22 (100)
	流産動物数	0	0	0	0
	全胎児死亡動物数	0	0	0	0
	検査親動物数	22	22	21	22
	体重・体重増加量	-	NE	NE	NE
	摂餌量	-	NE	NE	NE
	肉眼病理学的検査	-	NE	NE	NE
	妊娠子宮重量 (g)	76	73	73	74
補正体重 ⁽¹⁾ (g)	331	340	336	333	
動物 着床所見	黄体数 (平均)	15.4	15.0	15.0	15.1
	着床数 (平均)	14.7	14.5	13.9	14.7
	生存胎児数 (平均)	14.0	13.5	13.0	13.7
	死亡胎児数 (平均)	0.0	0.0	0.0	0.0
	吸収胚数 (平均)	0.8	1.0	0.8	1.0
	着床前胚死亡率 ⁽²⁾ (%)	4.0	3.3	7.1	2.9
	着床後胚死亡率 ⁽³⁾ (%)	5.2	7.5	7.0	6.8
胎児	胎児体重 (平均; g) : 雄	3.48	3.44	3.49	3.42
	雌	3.26	3.26	3.28	3.28
	胎盤重量 (平均; g) : 雄	0.42	0.42	0.43	0.41
	雌	0.40	0.39	0.43	0.39
性比 (雄/雌)	0.90	0.99	0.90	0.96	
児	外表異常: 検査胎児数	307	296	274	302
	鎖肛	0	1	0	0
	無尾	0	1	0	0
動物	内臓異常: 検査胎児数	159	153	142	156
	異常: 心室中隔欠損	5	8	10	2
	肝臓分葉異常	1	0	0	0
	変異: 胸腺頭部残留	5	2	3	4
	過剰冠状動脈口	0	1	1	0
	冠状動脈口高位	2	1	0	1
	左臍動脈	2	1	0	2
	腎盂拡張	1	1	8	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。

投与群 (mg/kg/day)		0	1	3	10
1 群当りの動物数		22	22	22	22
胎 児 動 物	骨格異常：検査胎児数	148	143	132	146
	異常；波状肋骨	1	0	0	0
	結節状肋骨	1	0	0	0
	胸骨裂	0	0	0	1
	変異；過剰舌下神経孔	3	6	3	6
	頸椎椎弓横突起閉鎖	5	8	7	4
	第7頸椎椎弓横突起開口	0	0	1	1
	頸椎椎体分離	1	1	0	0
	腰椎数 7	0	0	1	0
	仙椎の腰椎化	0	0	0	1
	頸肋骨	0	0	0	1
	短小過剰肋骨 (14)	14	7	23	11
	第 13 肋骨短小	0	0	0	1
	胸骨分節分離	1	1	1	3
	胸骨分節非対称	0	0	0	1
	骨化進行度；				
	頸椎椎体数	0.35	0.25	0.44	0.21
	胸骨数	5.58	5.61	5.66	5.61
	中手骨数	6.93	6.90	6.96	7.00
	中足骨数 (4)	7.97	8.00 *	8.00 *	8.00 *
仙・尾椎椎体数	7.89	7.84	8.03	7.83	

(1) 妊娠 20 日の体重—妊娠子宮重量

(2) (黄体数-着床数)/黄体数×100 で求めた。

(3) (着床数-生存胎仔数)/着床数×100 で求めた。

(4) 被験物質投与群では、全ての中足骨の骨化が認められた。

NE 検体投与による影響なし。

*； p<0.05 (Kruskal-Wallis の検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は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（資料 No. T-4.4）

試験機関 Huntingdon Life Sciences Ltd.
報告書作成年 2006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 18～26 週齢、体重 3.24～5.32 kg）、
1 群 24 匹

投与期間： 妊娠期間中 23 日間（2002 年 9 月 1 日～2002 年 9 月 23 日）

投与方法： 検体を 0.5 %メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、10、25 及び 100 mg/kg/day の投与
量で妊娠 6 日から 28 日（人工授精した日を妊娠 0 日として起算）の 23 日間、毎日 1 回経
口投与した。尚、対照群には 0.5 %メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

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、体重及び摂餌量測定を毎日行った。妊娠 29 日に帝王
切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数を検査した。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、体重及び胎盤重量測定、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。

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。

結 果： 概要を添付の表に示した。

親動物： 100mg/kg/day 群では、体重増加量の低下および摂餌量の減少が認められた。妊娠子宮重量で補正した体重増加量および一般状態では投与による影響は認められなかった。10 および 25mg/kg/day 群では、投与開始時の妊娠初期 (妊娠 6-12 日)においてわずかに体重増加量が低下したが、残りの妊娠期間においては同時期の対照群よりも高く総体重増加量 (妊娠 6-29 日)は対照群と同等であった。摂餌量および一般状態に投与の影響は認められなかった。妊娠 29 日の肉眼病理学的検査については全ての群で投与による影響は認められなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、着床前および着床後胚死亡率の着床所見では、100mg/kg/day 群で生存胎児数の減少が対照群と比較して認められた。10 および 25mg/kg/day 群では、投与の影響は認められなかった。

また、100mg/kg/day 群では妊娠子宮重量の低下が認められた。これは、平均胎児体重の減少と共に着床前および着床後死亡の増加による同腹児数(同腹児重量)の減少に起因した。この群で認められた骨化程度の低下は、平均胎児体重の軽微な減少に関連しているかもしれない。平均胎児体重の低下は未成熟を表すと考えられている。各データを調べたところ、平均胎児体重の低い腹において骨化の減少傾向が認められた。

生存胎児：胎児の形態学的な観察では、投与に関連した重要な異常の発生は認められなかった。100 mg/kg/day 群では、前肢屈曲、胸骨分節;二分骨化/非線列/変形、胸骨分節;過剰中心体、14 肋骨および 20 胸腰椎が増加した。さらに、胸骨分節、尾椎、距骨、骨端及び中手骨/指骨の不完全骨化/未骨化を伴う胎児が増加した。これらの軽度な発生障害および骨化低下は未熟胎児に関連して認められた。

10 および 25 mg/kg/day 群では胸骨分節;過剰中心体および 20 胸腰椎の発生頻度が増加した。しかし、10mg/kg/day 群の増加はいずれも背景対照データの範囲内であった。一方、25 mg/kg/day 群では、胸骨分節;過剰中心体の発生頻度が背景対照データの範囲をわずかに超えて増加していた。しかし、この 25 mg/kg/day 群における胸骨分節;過剰中心体の単独的な発生は、その後の成長に悪影響をもたらさないと考えられた。

表：背景対照データ

Highgate ウサギの 背景対照データ (2001 年～2004 年：16 試験)		試験 平均値 (%)	試験 最小値 (%)	試験 最大値 (%)	本試験値 (LKH/019) (mg/kg/day)		
					10	25	100
胸骨分節： 過剰/欠損中心体	胎 児	6.3	1.1	15.4	7.1	16.7	13.9
	同産群	25.9	10.0	42.9	39.1	47.8	52.4
20 胸腰椎	胎 児	30.8	20.3	57.7	40.1	44.4	66.7
	同産群	73.3	55.6	94.7	73.9	82.6	95.2

ゆえに、本剤を妊娠ウサギに投与したときの無毒性量 (NOAEL)は、母獣及び胎児ともに 25 mg/kg/day であると考えられた。また、最高投与量の 100 mg/kg/day でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	10	25	100
1群当りの動物数		24	24	24	24
胎 児 動 物	骨格異常： 検査胎児数	181	182	180	144
	異常： 胸骨分節：二分骨化/非線列/変形 変異：	0(0.0)	1(0.5)	0(0.0)	9(6.3)**
	14肋骨 (%)	0	0	0	6(4.2)**
	胸骨分節：過剰中心体 (%)	1(0.6)	13(7.1)**	30(16.7)**	20(13.9)**
	20胸腰椎 (%)	31(17.1)	73(40.1)**	80(44.4)**	96(66.7)**
	骨化不全/未骨化：				
	胸骨分節 (%)	7(3.9)	7(1.1)	8(4.4)	25(17.4)**
	中手骨/指節骨 (%)	8(4.4)	12(6.6)	8(4.4)	48(33.3)**
	骨端 (%)	9(4.9)	13(7.1)	7(3.9)	22(15.3)**
	距骨 (%)	2(1.1)	1(0.5)	1(0.5)	31(21.5)**
	尾椎 (%)	1(0.5)	0	0	10(6.9)**

(1) (黄体数-着床数) / 黄体数 × 100 で求めた。

(2) (着床数-生存胎児数) / 着床数 × 100 で求めた。

— 検体投与による影響なし

* : P<0.05、** : P<0.01 (Fisher の直接確率法)

+ : P<0.05、++ : P<0.01 (William 検定または Shirley 検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7 変異原性

8.7.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関 KRICT
報告書作成年 2006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、3連制で2回行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

検体は S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株及び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 SA、2-NF、4-NQO 及び 9AA では S9 Mix の非添加で、また 2AA 及び BP 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突然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。

本試験 1：サルモネラ菌の結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (3枚の平均 \pm 標準偏差)			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	116 \pm 17	10 \pm 1	14 \pm 2	5 \pm 1
検体	9.4	-	102 \pm 2	12 \pm 2	14 \pm 3	5 \pm 1
	18.7	-	109 \pm 3	10 \pm 4	13 \pm 5	3 \pm 1
	37.5	-	79 \pm 4	4 \pm 1*	17 \pm 1	2 \pm 1*
	75	-	43 \pm 7*	1 \pm 1*	5 \pm 1*	1 \pm 2*
	150	-	0 \pm 1*	0 \pm 1*	1 \pm 1*	0*
	300	-	0*	0 \pm 1*	0*	0*
	600	-	0*	0 \pm 1*	0*	0*
対照 (DMSO)	0	+	114 \pm 8	10 \pm 2	27 \pm 2	5 \pm 1
検体	9.4	+	125 \pm 10	12 \pm 3	23 \pm 3	4 \pm 1
	18.7	+	118 \pm 9	8 \pm 3	23 \pm 3	3 \pm 1
	37.5	+	90 \pm 8	8 \pm 3	22 \pm 4	2 \pm 1*
	75	+	28 \pm 9*	3 \pm 2*	9 \pm 1*	1 \pm 1*
	150	+	8 \pm 7*	1 \pm 0*	4 \pm 3*	0*
	300	+	1 \pm 2*	0*	0*	0*
	600	+	1 \pm 2*	0 \pm 1*	0*	0*
SA	0.5	-	519 \pm 20	411 \pm 10		
2-NF	2	-			287 \pm 25	
9-AA	50	-				324 \pm 27
2-AA	2	+		300 \pm 11		
BP	2	+	790 \pm 10		437 \pm 60	241 \pm 20

SA : sodium azide

2-NF : 2-nitrofluorene

9-AA : 9-aminoacridine

2-AA : 2-aminoanthracene

BP : benzo(a)pyrene

* : 菌の生育阻害

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。

本試験 2 : サルモネラ菌の結果

検体	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (3枚の平均 \pm 標準偏差)			
			塩基対置換型		フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	115 \pm 10	15 \pm 4	19 \pm 1	8 \pm 3
検体	1.6	-	118 \pm 3	16 \pm 3	21 \pm 2	5 \pm 1
	3.1	-	113 \pm 2	15 \pm 5	21 \pm 3	8 \pm 3
	6.3	-	106 \pm 6	15 \pm 4	22 \pm 3	7 \pm 2
	12.5	-	110 \pm 10	16 \pm 3	22 \pm 3	6 \pm 2
	25	-	77 \pm 6	16 \pm 4	17 \pm 3	4 \pm 2 [*]
	50	-	46 \pm 7 [*]	7 \pm 1 [*]	10 \pm 0 [*]	3 \pm 3 [*]
	100	-	8 \pm 6 [*]	2 \pm 1 [*]	5 \pm 2 [*]	0 [*]
対照 (DMSO)	0	+	122 \pm 13	14 \pm 2	30 \pm 2	15 \pm 2
検体	1.6	+	144 \pm 6	14 \pm 5	31 \pm 1	16 \pm 2
	3.1	+	122 \pm 5	16 \pm 3	33 \pm 2	14 \pm 3
	6.3	+	126 \pm 10	11 \pm 5	35 \pm 3	10 \pm 1
	12.5	+	119 \pm 15	12 \pm 2	32 \pm 2	8 \pm 2 [*]
	25	+	100 \pm 15	12 \pm 3	28 \pm 1	9 \pm 3
	50	+	68 \pm 11	7 \pm 3 [*]	16 \pm 5 [*]	5 \pm 1 [*]
	100	+	15 \pm 3 [*]	2 \pm 1 [*]	5 \pm 3 [*]	2 \pm 1 [*]
SA	0.5	-	615 \pm 36	418 \pm 16		
2-NF	2	-			243 \pm 31	
9-AA	50	-				208 \pm 16
2-AA	2	+		303 \pm 12		
BP	2	+	889 \pm 8		417 \pm 32	220 \pm 36

SA : sodium azide

2-NF :2-nitrofluorene

9-AA : 9-aminoacridine

2-AA : 2-aminoanthracene

BP :benzo(a)pyrene

* :菌の生育阻害

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 WP2 uvrA の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	WP2 uvrA 塩基対置換型	
			復帰変異コロニー数/プレート (3枚の平均 \pm 標準偏差)	
			本試験 1	本試験 2
対照 (DMSO)	0	-	11 \pm 2	19 \pm 2
検体	93.8	-	10 \pm 1	16 \pm 2
	187.5	-	14 \pm 2	19 \pm 1
	375	-	13 \pm 3	18 \pm 3
	750	-	15 \pm 4	13 \pm 2
	1250	-	14 \pm 2	14 \pm 1
	2500	-	14 \pm 4	18 \pm 3
	5000#	-	13 \pm 4	13 \pm 2
対照 (DMSO)	0	+	13 \pm 3	19 \pm 1
検体	93.8	+	14 \pm 0	15 \pm 4
	187.5	+	12 \pm 2	18 \pm 2
	375	+	11 \pm 2	18 \pm 1
	750	+	15 \pm 1	19 \pm 1
	1250	+	14 \pm 1	19 \pm 1
	2500	+	16 \pm 2	13 \pm 1
	5000#	+	11 \pm 2	15 \pm 4
4-NQO	0.5	-	244 \pm 35	179 \pm 54
2-AA	4	+	288 \pm 7	250 \pm 12

4NQO:4-nitroquinoline-1-oxide

2-AA : 2-aminoanthracene

#:結晶析出

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 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-5.2)

試験機関 KRICT
報告書作成年 2006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継代した株化細胞 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い、短時間処理法及び連続処理法の 2 試験を行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

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示す分裂中期像の数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミド・H₂O (CPA)及びエチルメタンサルホネート (EMS)では染色体異常を示す分裂中期像数の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常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。

染色体異常試験 (短時間処理法)

試験物質	濃度 (µg/ml)	処理時間 (時間)	S9 Mix	観察細胞数	数的異常細胞数	構造異常数						構造異常細胞数		判定		
						ギヤップ		染色体型		染色分体型		その他	+G (ギヤップ)		-G (ギヤップ)	
						切断	交換	切断	交換	切断	交換					
陰性対照 (MEM)	0	6-18	+	100	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	-	
	100			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			1.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	-
検体	625#	6-18	+	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
CPA	1250#	6-18	+	100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
陰性対照 (MEM)	0	6-18	-	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	-
検体	625#	6-18	-	100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			1	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	-
EMS	1250#	6-18	-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			1.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
EMS	800	6-18	-	100	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	100			2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	平均			1.5	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0
EMS	800	6-18	-	100	0	5	1	1	1	1	7	40	0	36	36	-
	100			0	3	1	1	5	28	1	33	30	30	-		
	平均			0	4	3	1	6	34	0.5	34.5	33**	33**	-		

** : P<0.01 (フィッシャーの直接確率検定)

: 試験物質の析出がみられたもの

CPA : シクロホスファミド・H₂O

EMS : エチルメタンサルホネート

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。

染色体異常試験 (連続処理法)

被験物質	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理時間 (時間)	S9 Mix	相対 増殖率 (%)	観察細胞数	数的異常 細胞数	構造異常数						構造異常細胞数		判定					
							ギヤップ	染色体型		染色体分体型		その他	+G (ギヤップ)	-G (ギヤップ)						
切断	交換	切断	交換	切断	交換															
陰性対照 (MEM)	0	24-0	-	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0				
					100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
					平均	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5			
検体	625#	24-0	-	94	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0				
					100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
					平均	0.5	0.5	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	1	1		
検体	1250#	24-0	-	82	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					平均	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
検体	2500#	24-0	-	75	100	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					平均	1.5	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0.5	0.5			
検体	5000#	24-0	-	48	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					平均	1.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
EMS	500	24-0	-	71	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					100	0	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					平均	0	3	2.5	0	0	0	6.5	32.5	1	31.5	31**				

** : $P < 0.01$ (フィッシャーの直接確率検定)

: 被験物質の折出がみられたもの

MEM : Minimum Essential Medium

EMS : エチルメタンスタンズルホネート

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

(資料 No.T-5.3)

試験機関 Korea Institute of Toxicology, KRICT

報告書作成年 2007 年 [GLP 対応]

試験の目的: *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No.T-5.2)において用いた原体の erythro/threo 比が明確でなかったため、再度試験を実施した。

検体純度:

試験方法: チャイニーズハムスター肺由来の継代した株化細胞 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い、短時間処理法及び連続処理法の 2 試験を行った。

用量設定根拠:

試験結果: 結果を次表に示した。

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示す分裂中期像の数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミド 1 水和物 (CPA)及びエチルメタンサルホネート (EMS)では染色体異常を示す分裂中期像数の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常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。

染色体異常試験 (短時間処理法)

被験物質	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理時間 (時間)	SB Mix	観察細胞数	数的異常 細胞数	構造異常数						構造異常細胞数		判定		
						ギヤップ		染色体型		染色分体型		その他	+G (ギヤップ)		-G (ギヤップ)	
						切断	交換	切断	交換	切断	交換					
陰性対照 (DMSO)	0	6-18	+	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	-	
				100	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	-
	平均	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	1	1.5	1.5	-		
	625	6-18	+	100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	-
				100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	平均	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	-	
1250	6-18	+	100	1	0	5	0	0	0	0	0	1	3	3	-	
			100	1	1	2	0	0	0	0	0	0	2	2	1	-
平均	1	0.5	3.5	0	0	0	0	0	0	0.5	2.5	2	2	-		
2500#	6-18	+	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	-	
			100	1	0	1	0	0	0	0	1	2	2	2	-	
平均	0.5	0	0.5	0	0	0	0	0	0	1	1.5	1.5	1.5	-		
CPA	6	6-18	+	100	0	2	7	0	5	15	3	25	24	24	+	
				100	0	2	6	0	18	9	0	22	22	22	+	
	平均	0	2	6.5	0	9	12	1.5	23.5	23.5	23.5	23.5	+			
	0	6-18	-	100	0	0	3	0	0	0	0	0	2	2	-	
				100	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	-	
	平均	0	0	1.5	0	0	0	0.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	-		
625	6-18	-	100	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	-		
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
平均	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	-			
1250	6-18	-	100	1	0	3	0	0	0	0	0	3	3	-		
			100	1	1	1	0	0	0	0	2	2	1	1	-	
平均	1	0.5	2	0	0	0	0	0	0	2.5	2	2	-			
2500#	6-18	-	100	0	0	2	0	0	0	0	0	3	3	-		
			100	1	0	2	0	0	0	1	3	3	3	-		
平均	0.5	0	2	0	0	0	0	1	3	3	3	-				
EMS	800	6-18	-	100	0	3	13	0	2	21	1	25	25	+		
				100	1	3	6	0	9	19	3	29	27	+		
平均	0.5	3	9.5	0	6.5	20	2	27	26**	26**	26**	+				

** : P<0.01 (フィッシャーの直接確率検定)

: 被験物質の析出がみられたもの

DMSO : ジメチルスルホキシド

CPA : シクロホスファミド 1 水和物

EMS : エチルメタンサルホネート

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。

染色体異常試験 (連続処理法)

被験物質	濃度 (µg/mL)	処理時間 (時間)	S9 Mix	観察細胞数	数的異常細胞数	ギヤップ	構造異常数						構造異常細胞数		判定	
							染色体型		染色分体型		その他	+G (ギヤップ)	-G (ギヤップ)			
							交換	切断	交換	切断						
陰性対照 (DMSO)	0	22-2	-	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
				平均	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	625	22-2	-	100	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	-
				100	0	0	3	0	0	0	3	0	0	3	3	
				平均	0.5	0	2	0	0	0	2	0	0	2	2	
	1250	22-2	-	100	1	0	3	0	0	0	0	0	2	2	2	-
				100	2	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
				平均	1.5	0.5	1.5	0	0	0	0	0	1.5	1	1	
	2500#	22-2	-	100	1	0	3	0	0	0	0	0	1	1	1	-
				100	1	0	4	0	0	0	2	4	4	4		
				平均	1	0	3.5	0	0	0	1	2.5	2.5	2.5		
EMS	600	22-2	-	100	0	1	2	0	18	2	33	32	32	+		
				100	0	2	1	12	1	36	35	35				
				平均	0	1.5	1.5	0	15	1.5	37.5	33.5**	33.5**			

** : P<0.01 (フィッシャーの直接確率検定)

: 被験物質の析出がみられたもの

DMSO : ジメチルスルホキシド

EMS : エチルメタンサルホネート

8.7.4 マウスを用いた小核試験 (資料 No. T-5.4)

試験機関 KRICT
報告書作成年 2006年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ICR系マウス (7週齢、体重 30.6~34.7 g)、1群雄 6匹

試験方法： 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg/day の投与レベルで 24 時間間隔にて 2 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。最終投与の 24 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ染色し骨髓標本作製した。陽性対照群には、シクロフォスファミド 70 mg/kg を 1 回腹腔内投与し、24 時間後に動物を屠殺して骨髓標本作製した。各標本について、細胞毒性を調べるために 500 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後、引き続き 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計数した。

用量設定根拠：

試験結果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

いずれの投与群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。陽性対照であるシクロフォスファミドでは、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。

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、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

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 マウスの小核試験結果

採取 時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg/day)	投与 回数 (回)	観察 動物数 (匹)	MNPCE/2000PCEs (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) (平均値±SD)
24	陰性対照 (0.5%MC)	0	2	6	2.00±1.26	0.54±0.09
	検体	500	2	6	2.00±0.89	0.55±0.10
		1000	2	6	2.50±1.52	0.56±0.07
		2000	2	6	1.33±0.52	0.54±0.07
	陽性対照 (CPA)	70	1	6	79.17±16.15**	0.48±0.11#

0.5%MC : 0.5%メチルセルロース水溶液

CPA : シクロフォスファミド

** : p<0.01 (Mann-Whitney U-検定)

: p<0.05 (Student t-検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.5 ラット肝細胞を用いる in vivo 不定期 DNA 合成 (UDS)試験 (資料 No. T-5.5)

試験機関 三菱安科研
報告書作成年 2006 年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット (8 週齢、雄、体重 285～310 g)、1 群 3 匹

試験方法： 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースに懸濁し、500 及び 2000 mg/kg の投与レベルで 1 回強制経口投与した。なお、対照群に 0.5%カルボキシメチルセルロースを同様に投与した。

全ての生存動物は、投与 2 及び 16 時間後に麻酔下で肝コラゲナーゼ灌流法によって肝細胞を遊離した。遊離肝細胞をプラスチック製スライドグラスに播種し、DNA 修復合成を放射能標識するためにトリチウムラベルしたチミジンを加えて 4 時間培養し、更に、非標識チミジンを添加して 18 時間培養した。固定後オートラジオグラムを作製し、1 匹当たり 100 個の細胞を観察して肝細胞におけるネットグレイン数及び修復細胞率を評価した。結果の評価は、検体投与群において平均ネットグレイン数が 5 以上であり、かつ平均修復細胞率が 20%以上の群が見られる場合を陽性と判定した。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体のいずれの投与群においても死亡は認められなかった。検体はいずれの投与量及びいずれのサンプリング時間においても、平均ネットグレイン数及び平均修復細胞率は溶媒対照群と同程度の値を示した。一方、陽性対照群の dimethylnitrosoamine 及び 2-acetylaminifluorene では明らかな UDS の誘発が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体はラットの肝臓に対して DNA 損傷を誘発しないと結論される。

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。

ラットを用いる *IN VIVO-IN VITRO* 肝・不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

標本作製時間	群	投与量 (mg/kg)	動物数	細胞生存率 (%) (平均±SD)	ネットゲイン数 (平均±SD)	修復細胞率 (%) (平均±SD)
2	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	3	78.4±1.7	0.37±0.28	7.3±4.2
	検体	500	3	84.3±3.7	-0.62±0.42	4.0±2.0
		2000	3	92.2±3.4	-0.27±0.59	6.7±2.5
	陽性対照 (DMN)	10	3	89.7±5.6	8.34±0.43	86.0±1.7
16	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	3	87.4±2.4	-0.59±0.26	8.3±5.1
	検体	500	3	79.6±18.5	-0.11±0.69	9.0±8.9
		2000	3	81.5±3.5	-0.52±0.19	7.0±2.6
	陽性対照 (2-AAF)	50	3	79.4±12.8	7.19±0.62	84.7±3.5

DMN : dimethylnitrosoamine

2-AAF : 2-acetylaminifluorene

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。

8.7.6 マウス腺胃及び肝におけるコメットアッセイ (資料 No. T-5.6)

試験機関	石原産業株式会社中央研究所
試験実施場所	八戸工業高等専門学校物質工学科 佐々木研究室
報告書作成年	2006年

検体純度：

供試動物： ddY系マウス (8週齢、雄)、1群4匹

試験方法： 検体を 0.5%CMC-Na に懸濁し、500, 1000 及び 2000 mg/kg の投与レベルでマウスに 1回強制経口投与した。なお、対照群には 0.5%CMC-Na を同様に投与した。

投与 3 及び 24 時間後に動物を屠殺し、腺胃及び肝を摘出し、コメットアッセイに供した。各臓器に氷冷したホモジナイズ液を加えてホモジナイズした後アガロースゲルを作製し、氷冷した核溶解液にアガロースゲルを浸漬し、4℃で一夜静置して核を溶解させた。低温インキュベータ内で定電圧電気泳動 (25V, 15分間)を行った。電気泳動後、アガロースゲルを中和液及びメタノールに浸漬し乾燥した。

エチジウムブロマイド液で染色後 G 励起系フィルターを付けた蛍光顕微鏡を用いてコメット像を写真撮影し、現像後ネガフィルムを投影してコメット像を測定した。

各動物の各臓器の核 50 個についてコメット像の全長及び核直径を測定し、全長から核直径を減じてテール長を求めた。このテール長を実際の長さに換算した値 (Migration)について投与群と溶媒対照群を比較検定した。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

いずれの投与群のいずれの臓器においてもテール長 (Migration) 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。陽性対照のジエチルニトロソアミンではいずれの臓器においても、溶媒対照群と比較して Migration に統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体はマウスの腺胃及び肝のいずれの臓器にも DNA 損傷誘発性はないと判断される。

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。

マウスの腺胃及び肝におけるコメットアッセイ成績

検体	投与量 (mg/kg)	投与後の サンプリング時間 (hr)	動物数	テール長 (Migration) (μm) (Mean \pm SD)	
				腺胃	肝臓
0.5%CMC-Na (溶媒)	0	3	4	10.32 \pm 0.93	2.73 \pm 0.92
検体	500	3	4	9.57 \pm 0.77	1.91 \pm 0.63
	1000	3	4	10.32 \pm 1.82	2.98 \pm 1.61
	2000	3	4	10.73 \pm 2.14	2.09 \pm 0.98
DEN	320	3	4	30.46 \pm 4.55 *	23.71 \pm 2.04 *
0.5%CMC-Na (溶媒)	0	24	4	8.01 \pm 1.87	1.90 \pm 0.17
検体	500	24	4	8.80 \pm 3.12	2.20 \pm 0.09
	1000	24	4	6.39 \pm 0.70	1.92 \pm 0.28
	2000	24	4	7.29 \pm 1.81	1.86 \pm 0.84
DEN	320	24	4	22.03 \pm 2.69 *	14.84 \pm 2.49 *

DEN : Diethylnitrosoamine

* : P<0.05 (ANOVA 及び Dunnett test)