

(2) AH-01 原体 (酸) のマウスにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系 SPF マウス (Crj:CD-1)、雌雄、投与開始時 5 週齢、  
投与開始時体重 雄；27.7～32.9 g、雌；22.8～27.3 g、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：13 週間 (雄：2002 年 11 月 26 日～2003 年 2 月 25 日、  
雌：2002 年 12 月 3 日～2003 年 3 月 4 日)

投与方法：検体を 0、30、100、300 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間 (90 日間) にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 ないし 2 週に 1 回調製した。

用量設定根拠：検体を 0、100、300 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し 28 日間マウスに投与した結果、検体投与に関連づけられる変化として 1000 ppm の濃度で雌に体重および摂餌量の減少がみられ、血液学的検査では雄の血色素量と平均赤血球血色素量の減少、臓器重量では雌の卵巣重量減少が認められた。したがって、本試験の最高用量を 1000 ppm とし、公比を約 3 としてその他の投与量を 0、30、100 および 300 ppm とした。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率：一般状態および生死についての観察を毎日少なくとも 1 回行い、触診を含む観察を毎週 1 回行った。

1000 ppm 群の雌 1 例が投与 7 週に死亡した。その他の群では死亡動物はみられなかった。また、検体投与に関連した一般状態の異常は認められなかった。

体重変化：投与期間中全動物の体重を週 1 回測定した。

対照群と比べ有意な変動が認められた投与週を下表に示す。

投与週	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
10	105	↑111	109	101	101	101	104	101

Dunnettの多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$  ↑↓,  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

100 ppm 群の雄において、投与 10 週に体重が有意に増加した。その他の群の雌雄の体重は投与期間を通じて対照群と同様であった。従って 100 ppm 群における変動は偶発的であると推察された。

摂餌量： 全動物の摂餌量を週 1 回測定した。各ケージ毎 (2 匹/ケージ) に週 1 回摂餌量を測定し、1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

対照群と比べ、統計学的有意差の認められた測定週を下表に示す。

投与週	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
6	102	106	100	96	100	109	98	↓85

Dunnettの多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$  ↑↓,  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群の雌では投与 6 週に有意な減少が認められた。この変化は投与量に対応した変化であり、検体投与との関連性が疑われた。その他の投与群では投与期間を通じて対照群と同様であった。

検体摂取量： 投与期間中の平均検体摂取量を下表に示す。

投与量 (ppm)		30	100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.70	12.5	36.4	121
	雌	4.36	15.2	44.6	142

血液学的検査： 13 週間投与後、全生存動物について、エーテル麻酔下で開腹し、後大静脈より採血し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色

素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、網赤血球数、白血球数、白血球のディファレンシャルカウント

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。

項目	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
ヘマトクリット値	102	↑105	102	98	98	100	100	97

Dunnettの多重比較検定： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

100 ppm 群の雄でヘマトクリット値の統計学的に有意な増加が認められた。100 ppm の雌およびその他の投与群の雌雄には有意に変動した項目はなかった。ヘマトクリット値の増加は、300 ppm 以上の群では明らかな変化がみられなかったため、検体投与の影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査：血液学的検査時に採取した血液から得られた血漿を用いて、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ、コリンエステラーゼ、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン

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。

項目	性別および投与量(ppm)									
	雄					雌				
	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
$\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ	1	0	0	↓0	↓0	0	0	0	0	0

Dunnettの多重比較検定： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は実測値 (U/l)

300 ppm 以上の投与群の雄で $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼが有意に減少した。一般に、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼは肝胆道系障害の際に増加

するとされているが、減少の毒性学的意義は低いと考えられている。さらに、本変化には他に関連すると考えられる異常もみられないことから、検体投与とは無関係な変化と推察された。

その他の投与群では有意に変動した項目はなかった。

**臓器重量**：13週間投与終了後、全生存動物をエーテル深麻酔下で放血により安楽死させた後、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、心臓、胸腺、肝臓（胆のうを含む）、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた臓器を下表に示す。

臓器	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
脳: 絶対重量	99	98	99	97	100	100	98	↓95

Dunnettの多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$     ↑↓,  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群の雌で脳の絶対重量が有意に減少した。病理組織学的検査では、1000 ppm 群の雌雄で脳の空胞化の発生頻度が有意に増加しており、雌ではこの組織学的変化と臓器重量の変化との関連性が疑われた。しかし雄では脳重量の影響はなく、今回みられた病変が必ずしも脳重量の減少をもたらすものではないと考えられた。

その他の投与群では有意に重量が変動した臓器はなかった。

**肉眼的病理検査**：投与期間の死亡動物を含め全動物について剖検を行い、肉眼的異常を記録した。

いずれの投与群の雌雄にも、対照群と比べ明らかな差の認められた所見はなかった。

**病理組織学的検査**：対照群および1000 ppm 群の全動物を対象とし、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理組織標本を作製して鏡検した。

脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髄（頸部、胸部および腰部）、坐骨神経（片側）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨および骨髄（胸骨、片側大腿骨および椎骨3カ所）、リンパ

節（頸部および腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、食道、胃（前胃および腺胃）、肝臓、胆のう、脾臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部（鼻腔、副鼻腔、舌、口腔粘膜および中耳を含む）、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巢（両側）、精巢上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（角部および頸部）、膾、眼球（網膜および視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、膝関節（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺、肉眼的異常部位

さらに 30、100 および 300 ppm 群の雌雄全動物（副腎は雌のみ）について以下の組織について病理組織標本を作製して鏡検した。

大脳、副腎、肉眼的異常部位

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
大脳	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10 <sup>a</sup>
	空胞化	0	0	0	0	↑9	0	0	0	0	↑8
副腎	所見\検査動物数	10	0	0	0	10	10	10	10	10	10 <sup>a</sup>
	皮髄境界部 褐色色素沈着	0	-	-	-	1	1	3	2	3	↑6

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

a: 投与7週の死亡動物1例を含む

1000 ppm 群の雌雄において、大脳の空胞化の発生頻度が統計学的に有意に増加した。本病変は投与7週に死亡した雌1例においても観察された。病変の程度はいずれも軽度であり、計画殺動物と死亡動物の程度に差はなかった。観察された空胞は微細で、大脳の尾状核・被殻の神経網領域のみに認められ、神経細胞壊死などはなかった。また、同群の雌では、副腎の皮髄境界部褐色色素沈着の発生頻度が有意に増加した。本病変の程度は軽度もしくは中等度であった。本所見は無処置マウスでも自然発生性病変として認められるが、最高用量群でのみ発生頻度が有意に増加していることから検体投与の影響である可能性が考えられた。

その他の投与群の雌雄では発生頻度が有意に増減した所見は認められなかった。

以上のように、マウスの90日間反復経口投与毒性試験における本検体の影響は1000 ppm群で認められた。したがって、本試験において無毒性量(NOEL)は雌雄とも300 ppm(雄36.4 mg/kg/day、雌44.6 mg/kg/day)と判断された。

(3) AH-01 原体 (酸) のイヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

検体純度： %

供試動物： ビーグル犬、雌雄、投与開始時 6 カ月齢、  
投与開始時体重 雄；8.4～9.9 kg、雌；7.4～8.8 kg、1 群雌雄各 4 匹

投与期間： 13 週間 (2003 年 4 月 8 日～2003 年 7 月 10 日)

投与方法： 0、0.5、1.5 および 5 mg/kg/day の投与量で検体をゼラチンカプセルに封入し、  
13 週間にわたって毎日強制経口投与を行った。

用量設定根拠： 投与量を設定するため、1 群雌雄各 1 匹のビーグル犬に、0、1、3、6 および 9 mg/kg/day の投与量で検体をゼラチンカプセルに封入し、28 日間にわたって毎日強制経口投与を行った。その結果、9 mg/kg/day 群の雌雄で跛行がみられ、6 mg/kg/day 群の雄が神経症状を呈した後に死亡した。雄では 3 mg/kg/day 群でも跛行がみられた。投与終了後の検査では、全検体投与群の甲状腺重量が高値を示し、病理組織学的検査の結果、9 mg/kg/day 群の雄、1、3、6 mg/kg/day 群の雌雄で大型ろ胞の増加が観察された。以上より、神経症状に伴う死亡が発生しないことおよび投与期間を考慮して高用量を 5 mg/kg/day とした。他の用量については、用量反応性の確認および無毒性量把握を期して公比を 3 として 1.5 および 0.5 mg/kg/day とした。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間を通じて死亡動物はみられず、検体投与群において対照群と比較して有意差のみられた一般状態の変化も認められなかった。個体別推移をみると 5 mg/kg/day 群において、雄 1 匹に軽度の跛行および局所の被毛疎ならびに雌 1 匹に軽度の跛行が、投与 8 週以後に認められた。跛行は 28 日間用量設定試験でも観察されていることから、検体投与による神経系への影響と考えられた。

詳細な状態の観察；投与開始前および投与期間中は週 1 回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ホームケージ：姿勢、呼吸、身づくろいの頻度、常同行動の有無、振戦の有

無、筋のひきつりの有無、痙攣の有無

オープンフィールド：飼育ケージから取り出す時の容易さ、眼瞼下垂の程度、  
眼球突出の有無、被毛の状態、立毛の有無、排尿（回数も記録）、排便（回  
数も記録）、下痢の有無、警戒性、立ち上がり姿勢（回数）、異常歩行、発  
声、耳介反射、角膜反射、触反応、疼痛反応

ハンドリング：受動性、流涎の有無、流涙の有無、分泌物の有無、皮膚およ  
び可視粘膜の色の程度、瞳孔径、腹筋緊張度

検体投与群において対照群と比較して出現率に有意差のみられた所見は認めら  
れなかった。個体別推移をみると、一般状態観察で跛行のみられた 5 mg/kg/day  
群の雌雄 1 匹ずつにおいては投与 8 週以後に軽度の異常歩行が認められ、同じ  
雄では投与 8~10 週に耳介反射の低下および皮膚と可視粘膜の赤色調が認めら  
れた。このうち、皮膚と可視粘膜の赤色調には出現頻度と用量あるいは投与期  
間との関連が認められず散発的に認められた変化であり、検体投与と関連はな  
いと考えられた。

体重変化；入荷時、投与開始前 2 回、投与開始日および投与期間中週 1 回、全動物の体  
重を給餌前に測定した。

検体投与群において対照群と比較して体重に有意差はみられなかった。個体別  
推移をみると、対照群を含めた全ての投与群雌雄において、投与 4 週以後一週  
性の体重増加抑制が散見された。0.5 mg/kg/day 群の雌 1 匹において、投与 4 週  
まで体重は増加したが 5 週以後軽度の減少を示し、投与 12 週以後は投与開始時  
の体重を下回った。この 0.5 mg/kg/day 群での体重低下は、用量との関連はな  
く摂餌量の低値も認められていないことから、検体投与と関連はないと考えら  
れた。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

検体投与群において対照群と比較して摂餌量に有意差はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前および試験 13 週時に全動物について眼検査を行った。

すべての動物において異常所見は観察されなかった。

尿検査；投与開始前、試験 3、6 および 13 週時に、全動物について以下の項目を検査した。

定性検査：濁度、色調、比重、pH、ケトン体、総蛋白、糖、潜血、ウロビリノ  
ーゲン、ビリルビン、沈渣

定量検査：尿量

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。

項目	検査週	性別および投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.5	1.5	5	0.5	1.5	5
pH	3	↓					
尿沈渣：円柱	3				↑		

Dunnettの多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

投与3週の検査において、0.5 mg/kg/day 群の雄で尿 pH の有意な低値が、雌で尿沈渣における円柱の有意な増加がみられた。その他、対照群の変動を踏まえた個別別推移についても検討を行ったが検体投与との関連性が疑われる変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、試験3、6および13週時に、全動物について以下の項目を検査した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、白血球百分比、網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリノーゲン量

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。

項目	検査週	性別および投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.5	1.5	5	0.5	1.5	5
白血球百分比：好酸球	投与開始前		↓37				
白血球百分比：単球	6		↓45				

Dunnettの多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1.5 mg/kg/day 群の雄において、投与開始前および投与6週に、それぞれ白血球百分比における好酸球および単球の有意な低値がみられた。その他、対照群の変動を踏まえた個別別推移についても検討を行ったが検体投与との関連性が疑われる変化は認められなかった。

血液生化学的検査；投与開始前、試験3、6および13週時に、全動物について以下の項目を検査した。検査には血液学的検査と同時に採取した血液から得られた血漿を用いた。



アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ、コリンエステラーゼ、尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール (TCHO)、エステル比<sup>a</sup>、中性脂肪、血糖、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール

<sup>a</sup> 遊離コレステロール (FCHO) を測定して (TCHO-FCHO)/TCHO でエステル比算出

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。

項目	検査週	性別および投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.5	1.5	5	0.5	1.5	5
クロール	投与開始前	↓99		↓98			
$\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ	3	↓76		↓71			
	6					↑161	↑188
尿素窒素	3			↑138			

Dunnett の多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

投与 3 週の検査において、5 mg/kg/day 群の雄で尿素窒素の有意な高値がみられた。さらに投与 6 週の検査において、1.5 および 5 mg/kg/day 群の雌で  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼの有意な高値がみられた。雌における  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼの高値および雄における尿素窒素の高値については、投与 13 週において有意差はみられず、個体別の推移でも投与週の経過に応じた変化が認められなかったことから、検体投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。投与 3 週の検査において、0.5 および 5 mg/kg/day 群の雄で  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼの有意な低値が観察されたが、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼの減少については毒性学的な意義はないと判断された。

その他、対照群の変動を踏まえた個体別推移についても検討を行ったが検体投与との関連性が疑われる変化は認められなかった。

臓器重量；計画殺の全動物を剖検した時に、以下の臓器重量（絶対重量）を測定し、剖検直前の体重に基づき臓器の体重比（相対重量）を算出した。

心臓、脾臓、胸腺、肝臓（含胆嚢）、腎臓（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮、脳、下垂体、甲状腺（含上皮小体、両側）、副腎（両側）

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		
		0.5	1.5	5
項目\投与量(mg/kg/day)				
精巢(右側)	相対重量			↓71

Dunnettの多重比較検定： ↓, p<0.05 ↑, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合(%)

5 mg/kg/day 群の雄において、精巢(右側)相対重量の有意な低値がみられたが、絶対重量に有意差は認められなかったことから、検体投与との関連性はないと判断された。イヌの28日間用量設定試験でみられたような甲状腺の変化(重量増加、大型ろ胞の増加)は、本試験では認められなかった。

その他、対照群の変動を踏まえた個体別推移についても検討を行ったが検体投与との関連性が疑われる変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；13週間投与終了後に全ての動物について剖検を行った。

全ての検体投与群において、対照群と比較して有意に出現率が増加した所見は認められなかった。個体別にみても検体投与との関連が示唆されるような所見はなかった。

病理組織学的検査；雌雄全例について以下に示す器官の病理組織学的検査を実施した。顕微鏡観察は通常の方法によって作製したパラフィン切片にヘマトキシリン・エオジン染色を施して行った。

心臓、大動脈、脾臓、胸腺、骨髄・骨(胸骨、右大腿骨+膝関節)、頸部(顎下)リンパ節、腸間膜リンパ節、気管、肺(含気管支)、咽喉頭、唾液腺(下顎腺+耳下腺)、食道、胃(噴門部、胃底部、幽門部)、十二指腸、空腸、回腸(含パイエル氏板)、盲腸、結腸、直腸、肝臓(含胆嚢)、膵臓、腎臓(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、卵巣(両側)、子宮、膣、脳(大脳、小脳、延髄、橋を含む)、脊髄(頸部・胸部・腰部)、脊髄神経節(腰部)、坐骨神経(片側)、眼球(両側、網膜および視神経を含む)、涙腺(両側)、下垂体、甲状腺(含上皮小体、両側)、副腎(両側)、骨格筋、皮膚、乳腺、鼻、肉眼的病変部

全ての検体投与群において、対照群と比較して有意に出現率が増加した所見は認められなかった。個体別にみても検体投与との関連が示唆されるような所見はなかった。

以上の結果から、本検体を90日間反復経口投与することにより、5 mg/kg/dayの用量で雌

雄において跛行、異常歩行などの発現がみられ、神経症状が示唆された。従って本試験条件下における無毒性量は 1.5 mg/kg/day であると判断された。

7) 21 日間反復経皮投与毒性

急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験成績提出の除外に該当する。

8) 90 日間反復吸入毒性

急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められるため、試験成績提出の除外に該当する。

9) 反復経口投与神経毒性

(1) AH-01 原体 (酸) のラットにおける 90 日間反復経口投与神経毒性試験 (資料 毒-10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

検体純度: %

供試動物: Fischer 系 SPF ラット (F344/DuCrjCrlj)、雌雄、  
投与開始時 6 週齢、投与開始時体重 雄: 121~142 g、雌: 98~114 g、  
1 群雌雄各 10 匹

投与期間: 13 週間 (雄: 2005 年 5 月 3 日~2005 年 8 月 3 日、  
雌: 2005 年 5 月 5 日~2005 年 8 月 5 日)

投与方法: 検体を 0、30、300 および 3000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間 (90 日間)  
にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠: 投与量を設定するため、1 群雌雄各 10 匹の Fischer 系ラット (F344/DuCrj)  
に、検体を 0、10、30、300 および 3000 ppm の濃度で 90 日間混餌投与した (資  
料 毒-7)。その結果、300 ppm 以上の群で血液生化学的検査における種々の検  
査値の変動および臓器重量における腎臓重量の増加が認められ、さらに 3000  
ppm 群の雌雄では投与初期の摂餌忌避による一過性の体重増加抑制、血液学的  
検査におけるリンパ球減少に伴う白血球数の減少が認められた。以上の結果か  
ら、本試験の最高用量として 3000 ppm を設定した。その他の用量としては、用  
量-反応相関性に関する情報が得られるように、公比を 10 として 300 ppm を設  
定し、さらに無毒性量把握を期して 30 ppm を設けた。また、無処置対照群 (0 ppm  
群) を設けた。

観察・検査項目および結果:

死亡率: 観察期間中 1 日 2 回 (土、日曜日および祝日は少なくとも 1 日 1 回)、全動物に  
ついて凍死状態ないし死亡の有無を観察した。

投与期間中、いずれの用量群の雌雄においても死亡は認められなかった。

一般状態: 全動物について少なくとも 1 日 1 回一般状態を観察した。

認められた所見を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
投与量(ppm)	0	30	300	3000	0	30	300	3000
症状\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
眼周囲被毛赤色付着物	1	0	1	0	0	0	0	0
眼球混濁	0	0	0	2	0	0	1	0
眼球腫大	0	0	0	1	0	0	0	1

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

300 ppm 群の雄 1 例で認められた眼周囲被毛赤色付着物、300 ppm 群の雌 1 例と 3000 ppm 群の雄 2 例で認められたみられた眼球混濁および 3000 ppm 群の雌雄各 1 例で認められた眼球腫大は、いずれも発生頻度が低く、ラットではしばしば自然発生的に認められる所見であることから、検体投与とは無関係な偶発的な変化であると考えられた。

詳細な症状の観察；投与開始前および投与 2、4、8 および 13 週に、全動物について詳細な症状の観察を行った。観察はケージ内あるいは外（オープンフィールド）で以下の項目を対象として実施し、それらの程度をスコアリングして記録した。

外観（皮膚、被毛、眼および粘膜、分泌物等）、体位、姿勢（円背位等）、自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸状態、糞および尿の状態等）、運動協調性、歩行の異常、動物の取り扱い操作および環境刺激に対する反応、神経系（振戦、痙攣、筋緊張等）、探索行動の変化、常同行動（身繕い、首振り、旋回等）、異常行動（自咬、後ずさり、異常発声等）、攻撃性

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。

項目	検査週	性別および投与量(ppm)					
		雄			雌		
		30	300	3000	30	300	3000
探索行動	13				↑	↑	↑
瞳孔径	4						↓
	8			↓			
瞳孔機能	4			↓			↓
	13			↓			↓

Dunnnett の多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$     ↑↓,  $p < 0.01$

投与 13 週に 30、300 および 3000 ppm 群の雌で探索行動が有意に増加した。しかし、本項目の他に探索行動および行動量変化に関連する立ち上がり回数、活

動性および自発運動量の投与 13 週における成績には変化が認められなかったことから、この有意差は検体投与とは無関係な偶発的な変化であると考えられた。瞳孔径が 3000 ppm 群の雄で投与 8 週、雌で投与 4 週に有意に縮小し、瞳孔機能が 3000 ppm 群の雌雄で投与 4 週および 13 週で有意に低下した。これらの変化は無処置ラットにおいても偶発的に認められるが、本試験においては最高用量の雌雄で同時期に認められたことから検体投与に関連した変化であると考えられた。

機能検査(FOB)：投与開始前および投与第 2、4、8 および 13 週の詳細な症状観察と同時に、以下の項目について機能検査を実施した。

- 感覚運動反応：位置視覚、接近反応、触覚反応、痛覚反応、聴覚反応、空中立ち直り反射
- 体温：直腸温
- 握力：前肢および後肢
- 着地時開脚幅
- 自発運動量

対照群と比べ統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

項目	検査週	性別および投与量(ppm)					
		雄			雌		
		30	300	3000	30	300	3000
直腸温	8		↓	↓			
	13	↑					
前肢握力	2						↓
	4						↓
着地時開脚幅	8				↓		
自発運動量	-1	↓(30-40分)			↓(合計)		↓(合計)
	2	↓(40-50分)	↓(0-10分), ↓(合計)	↓(0-10分, 40-50分と 合計)			

Dunnett の多重比較検定： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

-1 週：投与開始前

直腸温において投与 8 週に 300 および 3000 ppm 群の雄で低下方向、投与 13 週に 30 ppm 群の雄で上昇方向に有意差が認められたが、いずれの値（順に平均値が 37.7、37.7 および 38.0℃）もラット体温の正常範囲内（雄の背景的対照値は 36.9-38.6℃）であった。3000 ppm 群の雌において投与 2 週および 4 週に有意に低下した前肢握力は、投与 8 週および 13 週では対照群と比較して有意な差はな

くなったものの、最高用量群における 2 時点続けての低下であったため、検体投与に関連した一過性の変化である可能性が示唆された。着地時開脚幅測定では、30 ppm 群の雌において投与 8 週に有意な低下が認められたが、1 時点のみであり用量との関連性もなかったため、検体投与とは無関係な偶発的な変化であると考えられた。自発運動量の測定では、投与 2 週において 300 ppm 群の雄で測定開始から 10 分間および 60 分合計値で、3000 ppm 群の雄で測定開始から 10 分間、測定開始後 40-50 分および 60 分合計値で有意な減少が認められた。投与 4 週以後の観察時点においては有意差が認められなかった。自発運動抑制が生じた場合は、特に測定開始から 10 分間の運動量が減少することから、両群の投与 2 週における自発運動量の減少は検体投与に関連した一過性の変化であると思われた。なお、30 ppm 群の雄で測定開始後 40-50 分に有意な減少が認められたが、対照群の平均カウント 19 に対して 30 ppm 群は 0 であり、両群の自発運動量に実質的な差はなかった。

体重変化；群分け実施日、投与開始前の機能検査実施日、投与開始日および投与期間中毎週 1 回、体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差が認められた週を下表に示す。

投与週	性別および投与量(ppm)					
	雄			雌		
	30	300	3000	30	300	3000
1			↓87	↑104		↓95
2			↓88			
3			↓91	↑105		
4			↓93	↑105		
5			↓94			
6			↓95			
7			↓95			
8			↓94			
11		↓96	↓95			
12		↓96	↓95			
13		↓96	↓95			

Dunnett の多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

300 ppm 群の雄で投与 11 から 13 週に対照群と比較して有意な減少が認められた。また、3000 ppm 群の雄ではほぼ全投与期間を通して、3000 ppm 群の雌では投与 1 週でのみ対照群と比較して有意な減少が認められた。30 ppm 群の雌では投与 1、

3および4週に有意な増加が認められたが、毒性学的意義のない偶発的な変動であると考えられた。

摂餌量；投与期間中毎週1回、全動物の摂餌量を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を下表に示す。

投与週	性別および投与量(ppm)					
	雄			雌		
	30	300	3000	30	300	3000
1			↓75			↓83
2			↓88			
3			↓92	↑106		
4						↓93

Dunnnettの多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合(%)

3000 ppm 群の雄で投与1から3週に、雌で投与1および4週に対照群と比較して有意な減少が認められた。30 ppm 群の雌では投与3週に有意な増加が認められたが、毒性学的意義のない偶発的な変動であると考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		30	300	3000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.74	17.8	174
	雌	2.07	20.7	204

眼科学的検査；ラットにおける90日間反復経口投与毒性試験(資料 毒-8)において、本試験と同一の用量群について眼科学的検査を実施した結果、検体投与に起因すると考えられる異常は認められなかったことから、本試験での検査は省略した。

肉眼的病理検査；13週間投与終了後に、各群各性5匹ずつを剖検した。剖検対象動物は、詳細な症状観察および機能検査で異常が認められた動物を優先的に選択し、不足分は残りの動物から選出した。剖検に供されなかった残りの動物はエーテル麻酔によって安楽死させた。

剖検ではいずれの動物にも異常はみられなかった。



病理組織学的検査；剖検動物をリン酸緩衝1%グルタルアルデヒド：2%パラホルムアルデヒド混合液を用いて全身灌流固定した後、0および3000 ppm 群の剖検に供した全動物（5匹/性/群）から採取した以下の組織について病理標本を作成し、病理組織学的に検査した。その結果3000 ppm 群の動物には検体投与に関連する可能性がある神経病理学的変化が観察されなかったため、300および30 ppm 群の動物については検査しなかった。

前脳（大脳皮質、基底核、海馬、視床、視床下部を含む）、中脳、小脳、橋、延髄、眼球（網膜を含む）、視神経、脊髄（頸膨大および腰膨大）、脊髄神経節（頸部および腰部）、脊髄神経の前根および後根（頸部および腰部）、近位の坐骨神経（坐骨切痕部）、近位の脛骨神経（膝部）、脛骨神経の腓腹筋分岐部、腓腹筋

坐骨神経および脛骨神経は樹脂包埋後、厚切り切片をトルイジンブルー染色した。その他の組織はパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。

認められた病理組織学的所見を下表に示す。

性別	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
投与量 (ppm)								
所見\検査動物数	5	0	0	5	5	0	0	5
橋：軸索変性	1	-	-	2	2	-	-	3
延髄：軸索ジストロフィー	1	-	-	1	0	-	-	0
眼球：限局性網膜萎縮	1	-	-	0	0	-	-	0
虹彩前癒着	0	-	-	0	0	-	-	1
網膜低形成	0	-	-	0	0	-	-	2
視神経：膠細胞過形成	0	-	-	0	0	-	-	2
脊髄(頸膨大)：軸索変性	3	-	-	1	3	-	-	1
脊髄(腰膨大)：軸索変性	0	-	-	1	0	-	-	1
表皮のう胞	1	-	-	1	1	-	-	0
坐骨神経(近位部)：軸索変性	0	-	-	0	1	-	-	0
脛骨神経(近位部)：軸索変性	1	-	-	0	0	-	-	0
脛骨神経(腓腹筋分岐部)： 軸索変性	1	-	-	2	2	-	-	0

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

3000 ppm 群の雌2例で眼球の網膜低形成とそれに伴うと考えられる視神経の膠細胞過形成が観察された。網膜低形成は発生分化異常であるので、3000 ppm 群の雌でみられた眼球の異常およびそれに伴う視神経の変化はいずれも検体投与とは無関係であると考えられた。腰膨大部脊髄、橋、脛骨神経（腓腹筋分岐部）

の軸索変性が対照群より 3000 ppm 群で多くみられる傾向があったが、対照群との間に有意差はみられず、いずれの病変も軽微であった。上記以外の病変の発生頻度および程度はすべて対照群と同じかあるいは対照群の方が高く、検体投与とは無関係な自然発生病変と考えられた。従って、3000 ppm 群では検体による神経病変の発生はなかったものと判断された。

以上、本剤をラットに投与した場合、雄が 300 ppm 以上、雌が 3000 ppm の用量で神経系機能に影響を及ぼすものの、その構造には変化を及ぼさないことが示唆された。また、雄では 300 ppm 以上の用量で投与期間終了まで、雌では 3000 ppm で投与開始初期の体重増加抑制が生じた。したがって、今回の試験条件下で本剤を 90 日間 Fischer 系ラットに反復経口投与した場合の、神経毒性に関する無毒性量 (NOAEL) は雄では 30 ppm (1.74 mg/kg/day)、雌では 300 ppm (20.7 mg/kg/day) と判断された。

1 0) 28 日間反復経口投与遅発性神経毒性

急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められるため、試験成績提出の除外に該当する。

1 1) 1年間反復経口投与毒性および発がん性試験

(1) AH-01 原体 (酸) のラットにおける 1年間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-11)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

検体純度: %

供試動物: Fischer 系 SPF ラット (F344/DuCrj)、雌雄、投与開始時 6 週齢

投与開始時体重 雄: 111~133 g、雌: 91~110 g、1 群雌雄各 24 匹

投与期間: 52 週間 (雄: 2003 年 10 月 13 日~2004 年 10 月 13 日、

雌: 2003 年 10 月 20 日~2004 年 10 月 20 日)

投与方法: 検体を 0、15、30、300 および 3000 ppm の濃度で飼料に混入し、52 週間にあたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 から 3 週に 1 度調製した。

用量設定根拠: 投与量を設定するため、1 群雌雄各 10 匹の Fischer 系ラット (F344/DuCrj) に、検体を 0、10、30、300 および 3000 ppm の濃度で 90 日間混餌投与した。その結果、3000 ppm 群の雌雄で投与 5 週まで摂餌量減少を伴う体重減少が観察され、300 ppm 群雌では体重に影響はなかったものの摂餌量減少が認められた。血液学的検査では、雄の 300 ppm 以上の群および雌の 10 ppm 以上の群の白血球数が減少し、3000 ppm 群の雌雄でリンパ球百分比が減少した。血液生化学的検査では、雌雄の 10 ppm 以上の群の血糖および雌雄の 300 ppm 以上の群のクレアチニンが減少した。さらに、雄の 3000 ppm 群および雌の 300 ppm 以上の群のコリンエステラーゼが、雄の 300 ppm 以上の群および雌の 3000 ppm 群のエステル比が増加した。臓器重量では、雄の 300 ppm 以上の群の腎臓絶対および相対重量が、雌の 3000 ppm 群の腎臓相対重量が増加した。以上の結果から、最高用量として明らかな毒性発現が期待される 3000 ppm を設定した。その他の用量としては、公比 10 として 300 および 30 ppm を設定し、さらに無毒性量を期して 15 ppm を設けた。また無処置対照群 (0 ppm 群) を設けた。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間中、投与 49 週に 15 ppm 群の雄 1 匹が死亡したが、死因は回腸に発生した自然発生性の平滑筋肉腫で、検体投与との関連はないと考えられた。検体投与に関連すると思われる一般状態の変化も認められなかった。

詳細な状態の観察：投与開始前および投与期間中は週1回、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ホームケージ：姿勢、呼吸、身づくろいの頻度、常同行動の有無、振戦の有無、筋のひきつりの有無、痙攣の有無

オープンフィールド：飼育ケージから取り出す時の容易さ、眼瞼下垂の程度、眼球突出の有無、被毛の状態、立毛の有無、排尿の有無（回数も計測）、排便の有無（回数）、下痢の有無、警戒性、立ち上がり姿勢、異常歩行、発声、耳介反射、角膜反射、触反応、疼痛反応

ハンドリング：受動性、流涎の有無、流涙の有無、分泌物の有無、皮膚および可視粘膜の色の程度、瞳孔径、腹筋緊張度、空中立ち直り反射（正向反射）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

所見	投与週	性別および投与量(ppm)							
		雄				雌			
		15	30	300	3000	15	30	300	3000
排便回数 <sup>a</sup>	18				↑				
	20				↑				
	22				↑				
	29				↑				
排尿回数 <sup>a</sup>	19								↑
	31					↓	↓	↓	↓
	36				↑				
立ち上がり回数 <sup>a</sup>	3			↑					
	5					↓		↓	
	6						↓	↓	
	7							↓	
	32					↑			

<sup>a</sup>：オープンフィールドで30秒間の回数・回数

Dunnettの多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

詳細な状態の観察において、雄でみられた排便回数の有意な増加（3000 ppm 群の投与 18、20、22 および 29 週）、排尿回数の有意な増加（3000 ppm 群の投与 36 週）および立ち上がり回数の有意な増加（300 ppm 群の投与 3 週）は一過性であり、投与用量との関連性が低いことから偶発性の変化と考えられた。また、雌でみられた排尿回数の増加（3000 ppm 群の投与 19 週）あるいは低下（全検体投与群の投与 31 週）ならびに立ち上がり回数の有意な増加（15 ppm 群の投与 32 週）あるいは減少（15 と 300 ppm 群の投与 5 週、30 と 300 ppm 群の投与 6 週、300 ppm 群の投与 7 週）も一過性であり、投与用量との関連性が低いことか

ら偶発性の変化と考えられた。

機能検査；試験 49 週時に、個体番号の小さい順に各群雌雄 10 匹を対象として以下の項目を検査した。

聴覚刺激、視覚刺激（視覚位置）、固有受容器刺激（同側性屈曲反射）、握力（前肢および後肢別に測定）、自発運動量

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	雌			
	15	30	300	3000
投与量 (ppm)	15	30	300	3000
前肢握力	<109>	<106>	<108>	<97>
後肢握力	<97>	<88>	<97>	↓72

Dunnett の多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

<>：統計学的有意差はないが参考値として提示

機能検査において、3000 ppm 群の雌における後肢握力に有意な低下がみられたが、投与用量との関連性はなく、前肢握力に異常がないことから偶発性の変化と考えられた。

体重変化；全生存動物について、試験 1 週から 13 週までは毎週 1 回、試験 16 週以降は 4 週に 1 回個体別体重を測定した。また、剖検前あるいは死亡発見時に最終体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を下表に示す。

投与週	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	15	30	300	3000	15	30	300	3000
2				↓89				↓95
3				↓90				↓97
4				↓91				
5				↓94				
6				↓96				
7							↑104	
8	↓97			↓96				
9	↓97			↓96			↑104	

投与週	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	15	30	300	3000	15	30	300	3000
10	↓96		↓97	↓95			↑103	
11	↓97		↓97	↓95			↑104	
12	↓97		↓97	↓96				
13	↓97		↓97	↓96			↑104	↑103
16	↓97		↓96	↓95			↑104	
20				↓96			↑105	↑103
24							↑104	
28				↓96			↑104	
32				↓96			↑104	
36								
40			↓96	↓95			↑103	
44			↓96	↓95			↑103	
48			↓96	↓96				
52			↓95	↓95			↑103	

Dunnettの多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雄では、15 ppm 群の投与 8 から 16 週に体重増加が有意に抑制され、後述する摂餌量減少との関連性がみられたが、30 ppm 群では体重増加抑制がみられず、投与期間を通じた両群の体重変化は毒性学的意義が低いと考えられた。雄の 3000 ppm 群において投与 2 週からほぼ全投与期間にわたって、300 ppm 群では投与 10 週から 16 週ならびに 40 週から 52 週にかけて体重の有意な増加抑制がみられ、摂餌量減少との関連が認められた。これらの変動は長期にわたる検体投与の影響と考えられた。雌では、3000 ppm 群において投与初期に摂餌量減少を伴って一過性の体重増加抑制がみられ、先に実施した 28 日間および 90 日間反復投与毒性試験（資料 毒-8）と同様、検体投与に対する動物の摂餌忌避に関連したものと考えられた。雌の 15 ppm 以上の摂餌量（後述）は投与 5 週以降散発的に有意に減少あるいは増加したが、体重は 300 および 3000 ppm 群で投与 7 週以降散発的に有意に増加した。従って、雌における体重増加は検体投与に関連しない変動と考えられた。

摂餌量および食餌効率；全ケージについて、試験 1 週から 13 週までは毎週 1 回、試験 16 週以降は 4 週に 1 回、連続 3 日あるいは 4 日分のケージ別摂餌量を測定し、1 日 1 匹当りの摂餌量を算出した。また、試験 1 週から 13 週まで毎週、群平均体重増加量を群平均摂餌量で除して群平均食餌効率を算出した。

平均摂餌量において対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を下表に示す。

投与週	性別および投与量(ppm)							
	雄				雌			
	15	30	300	3000	15	30	300	3000
1				↓80	↓93	↓91	↓89	↓77
2				↓93	↓94	↓91	↓93	↓89
3				↓96				
4	↓92	↓89	↓88	↓88				
5	↓91	↓89	↓88	↓90		↑106	↑107	
6	↓91	↓90	↓89	↓91				
7	↓96			↓95		↓93		
8						↓92		
10		↓91	↓90	↓92				
11	↓91	↓88	↓87	↓91				
12	↓91	↓87	↓86	↓87	↓94	↓94	↓94	
13	↓92	↓93	↓91	↓96	↓93	↓92		
16	↓95	↓94	↓91	↓95				
20						↓89		↓95
24	↓91	↓87	↓85	↓83		↓93		
28			↓92	↓91				
32			↓95	↓94		↓89	↓92	↓92
36	↓94	↓90	↓90	↓90				
40	↓96	↓94	↓94	↓94			↑109	
44	↓96		↓96	↓92	↓94	↓89	↓95	↓94
48	↓90	↓91	↓90	↓89				
52	↓96	↓95	↓95	↓94				
総平均	↓95	↓94	↓93	↓92		↓96		↓96

Dunnnett の多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雄では、投与初期（投与 1 から 3 週）に 3000 ppm 群で摂餌量が減少し、4 週以降は全ての投与群で頻繁に有意な減少が認められた。総平均摂餌量は全ての投与群で有意な減少がみられた。雌では、投与初期（投与 1 から 2 週）に全ての投与群で摂餌量が減少し、それ以降は有意な減少や増加が散発的に認められた。投与 13 週までの対照、15、30、300 および 3000 ppm 群の総平均食餌効率は、雄がそれぞれ 16.1、15.7、16.3、16.0 および 16.1%、雌が 9.0、9.5、9.6、10.1 および 10.1%であり、検体投与群における平均食餌効率の対照群に対する割合は、

雄が 98-101%、雌が 106-112%の範囲であった。

<申請者追記> 投与初期にみられた雌雄の摂餌量減少は、検体投与に対する動物の摂餌忌避に関連したものと考えられた。また、平均食餌効率が対照群と同じかそれを上回っていることから、4週以降に雌雄で頻繁にみられた摂餌量減少（一部増加）の毒性学的意義は低いものと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		15	30	300	3000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.8	1.6	16.0	161.5
	雌	0.9	1.9	18.6	185.3

眼科学的検査；投与開始前は入荷全動物について、試験 52 週は対照群と最高用量群の全生存動物について検査した。

試験 52 週の検査で最高用量群の動物に検体投与に関連した異常所見は観察されなかった。従って、試験 52 週では他の投与群の動物の検査は実施しなかった。

尿検査；試験 13 および 26 週に各群雌雄 10 匹ずつを、また試験 51 週に各群の個体番号の小さい方から雌雄各 10 匹を対象として以下の項目を検査した。

定性検査：濁度、色調、比重、pH、ケトン体、総蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、沈渣

定量検査：尿量



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。

項目	投与週	性別および投与量(ppm)							
		雄				雌			
		15	30	300	3000	15	30	300	3000
比重	26						↑	↑	↑
	51						↑		↑
pH	51						↓		↓
ケトン体	13		↑		↑				
	51								↑
ウロビリノーゲン	26							↑	
上皮細胞 (沈渣にて)	26						↑		↑
尿量	13		↓				↓		↓
	26						↓		
	51						↓	↓	↓

Dunnett の多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$     ↑↓,  $p < 0.01$

雄では、投与 13 週において 30 と 3000 ppm 群でケトン体の有意な増加および 30 ppm 群で尿量の有意な減少がみられたが、これらの群の変化に投与用量との関連性はなく、投与 26 と 51 週の検査では異常がなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。雌では、投与 13 週に 30 と 3000 ppm 群で尿量の有意な減少、投与 26 週に 30 と 3000 ppm 群で比重および尿沈渣中の上皮細胞数の有意な増加、300 ppm 群で比重およびウロビリノーゲンの有意な増加ならびに 30 ppm 群で尿量の有意な減少、投与 51 週に 30 と 3000 ppm 群で比重の有意な増加および pH の有意な減少、3000 ppm 群でケトン体の有意な増加ならびに 30 ppm 以上の群で有意な減少がみられたが、これらには投与用量との関連性はなかった。以上のように、尿検査ではいずれの項目にも検体投与に関連付けられる変化は認められなかった。

血液学的検査：13 および 26 週間投与終了後に各群雌雄 10 匹ずつを対象として、一晩絶食後、頸静脈から採取した血液を用いて以下の項目の測定を行った。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、白血球数 (WBC)、血小板数 (Platelets)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、白血球百分比

また、52 週間投与終了後に尿検査に用いた雌雄各 10 匹を対象として、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から血液を採取し、上記の検査項目に加えて、以下の項目の測定を行った。

網赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、フィブリノーゲン濃度

対照群に比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目	投与週	性別および投与量(ppm)							
		雄				雌			
		15	30	300	3000	15	30	300	3000
HGB	53		↑102						
HCT	53				↓98				↓97
WBC	14	↓81	↓79		↓78				
	53	↓80		↓84					
Platelets	14	↓87		↓88					
	27						↑112	↑110	↑113
白血球百分比: 好塩基球	53		↑600						

Dunnett の多重比較検定： ↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雄における投与 14 週の 15、30 と 3000 ppm 群の白血球数 (WBC) および 15 と 300 ppm 群の血小板数 (Platelets) の有意な減少、投与 53 週における 30 ppm 群のヘモグロビン量 (HGB) および好塩基球百分比の有意な増加ならびに 3000 ppm 群のヘマトクリット値 (HCT) および 15 と 300 ppm 群の白血球数 (WBC) の有意な減少には投与用量との関連性はなく、投与 27 週においてはこれらの変化は認められなかった。雌における投与 27 週の 30 ppm 以上の群の血小板数 (Platelets) の有意な増加、投与 53 週における 3000 ppm 群のヘマトクリット値 (HCT) の有意な減少には投与用量との関連性はなく、投与 14 週においてはこれらの変化は認められなかった。以上のように、血液学的検査ではいずれの項目にも検体投与に関連付けられる変化は認められなかった。

血液生化学的検査；13、26 および 52 週間投与終了後に、血液学的検査を行った動物を対象として、血漿を用いて以下の項目の測定を行った。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ ( $\gamma$ -GT)、コリンエステラーゼ (CHE)、尿素窒素 (UN)、クレアチニン (CRE)、総コレステロール (TCHO)、エステル比 (E/T)<sup>a</sup>、中性脂肪 (TGL)、血糖 (GLU)、総ビリルビン (TB)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)

<sup>a</sup> 遊離コレステロール (FCHO) を測定して (TCHO-FCHO)/TCHO でエステル比算出

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。

項目	投与週	性別および投与量(ppm)							
		雄				雌			
		15	30	300	3000	15	30	300	3000
E/T	14	↑101	↑104	↑103	↑105				
TGL	14							↑221	↑172
	27				↓54				
	53		↑155						
CRE	53				↓87				↓91
UN	14			↑112	↑114				
ALT	53			↓75					
ALP	27				↓84				
γ-GT	27	↓56	↓49	↓52					
Cl	14			↓96	↓95				
	27								↓98
	53								↓97

Dunnettの多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$     ↑↓,  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雄における投与 14 週の 15 ppm 以上の群のエステル比 (E/T) および 300 と 3000 ppm 群の尿素窒素 (UN) の有意な増加ならびにクロール (Cl) の有意な減少、投与 27 週における 3000 ppm 群の中性脂肪 (TGL) およびアルカリホスファターゼ (ALP) ならびに 15、30 と 300 ppm 群の  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ ( $\gamma$ -GT) の有意な減少、投与 53 週における 30 ppm 群の中性脂肪 (TGL) の有意な増加ならびに 3000 ppm 群のクレアチニン (CRE) および 300 ppm 群のアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の有意な減少は、検査時期に共通の変化ではないかまたは投与用量との関連性がない変化であった。雌における投与 14 週の 300 と 3000 ppm 群の中性脂肪 (TGL) の有意な増加、投与 27 週における 3000 ppm 群のクロール (Cl) の有意な減少、投与 53 週における 3000 ppm 群のクレアチニン (CRE) およびクロール (Cl) の有意な減少は、検査時期に共通の変化ではないかまたは投与用量との関連性がない変化であった。以上のように、血液生化学的検査ではいずれの項目にも検体投与に関連付けられる変化は認められなかった。

臓器重量；計画殺動物のうち個体番号の小さい順から各群雌雄各 10 匹 (尿検査に用いた動物) を対象として、以下の臓器の固定前の重量 (絶対重量) を測定し、対体重比 (相対重量) も算出した。なお、甲状腺のみは軽度固定された状態で秤

量した。

心臓、脾臓、肝臓、腎臓（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮、脳、下垂体、甲状腺（含上皮小体）、副腎（両側）

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目			性別および投与量(ppm)									
			雄				雌					
			15	30	300	3000	15	30	300	3000		
脾臓	絶対重量							↑109				
腎臓	絶対重量	左				↑114						↑113
		右				↑105				↑109		↑116
		両側				↑115				↑109		↑114
	相対重量	左			↑107	↑116						↑112
		右				↑106						↑114
		両側				↑117						↑113
下垂体	絶対重量		<98>	<103>	<101>	↑116						
	相対重量		<109>	<109>	<101>	↑118						
精巣	絶対重量	右				↑113						
	相対重量	右				↑115						

Dunnettの多重比較検定： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合（%）

<>：統計学的有意差はないが参考値として提示

3000 ppm 群雌雄の腎臓の絶対および相対重量ならびに 300 ppm 群雄の腎臓の相対重量および雌の腎臓の絶対重量が有意に増加した。これらの変化にはいずれも投与用量と関連性がみられていることから検体投与の影響と考えられた。病理組織学的検査において、3000 ppm 群の雄 3 匹、雌 4 匹の腎臓の近位尿管直部に上皮細胞肥大が観察され、腎臓重量増加との関連性が推察されたが、この所見は対照群においても軽度の変化がみられること、発生頻度に統計学的有意差がなかったこと、その他の検体投与の影響とみられる器質的な変化がないこと、尿検査および血液生化学的検査でも検体投与による腎臓障害を示唆する変化がないことから、その毒性学的意義は低いものと考えられた。一方、3000 ppm 群の雄でみられた下垂体および右精巣の絶対および相対重量の有意な増加は、投与用量との関連性が低く偶発的な変化と考えられた。また、15 ppm 群雌の脾臓の絶対重量が有意に増加したが、相対重量には差がみられず、病理組織学的にも変化が認められなかったことから、毒性学的意義はないと判断した。

肉眼的病理検査；投与期間中の全ての死亡および計画殺動物について剖検を行った。

検体投与群にみられたすべての剖検所見頻度には、対照群との間に統計学的有意差はなかった。15 ppm群で途中死亡した雄1匹の剖検では回腸の結節等が観察された。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物のうち、対照（0 ppm）群および最高用量（3000 ppm）群の全動物ならびに低用量（15 ppm）群の死亡した雄1匹から採取した以下の組織について、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。

心臓、大動脈、脾臓、胸腺、骨・骨髄（胸骨、右大腿骨・膝関節、頸部・胸部・腰部椎骨）、頸部（顎下）リンパ節、腸間膜リンパ節、鼻腔、咽喉頭、気管、肺（含気管支）、唾液腺（顎下腺・舌下腺）、食道、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、膵臓、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、精囊・凝固腺（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮（角部および頸部）、膣、脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髄（頸部・胸部・腰部）、坐骨神経（片側）、眼球（含網膜・視神経、両側）、ハーダー腺（両側）、下垂体、甲状腺（含上皮小体、両側）、副腎（両側）、骨格筋、皮膚（背部）、乳腺（第2・3乳頭付近）、肉眼的病変部

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた病変を下表に示す。

臓器	性別	雄					雌				
	投与量 (ppm)	0	15	30	300	3000	0	15	30	300	3000
肝臓	所見検査動物数	24	3	1	1	24	24	0	0	2	24
	小肉芽腫	13	0	1	0	↓6	22	-	-	0	22
下垂体	所見検査動物数	24	0	0	0	24	24	1	1	1	24
	過形成巣	6	-	-	-	↓1	0				1

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

3000 ppm群の雄において、肝臓の小肉芽腫および下垂体の過形成巣の発生率が有意に低下したが、これらの所見は本系統ラットにおいて自然発生病変として観察され、しかも発生率の減少であることから、毒性学的意義はないと判断した。その他3000 ppm群の雌雄に観察された組織学的変化も、本系統ラットの自然発生病変として知られている変化であり、対照群との間に有意な差がないことから、検体投与との関連性はないものと考えられた。

以上の結果から、本試験において検体投与に関連付けられる変化、すなわち投与後期の雄の体重増加抑制、臓器重量における腎臓重量の増加が300 ppm以上の群に認められた。従

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

って、本試験実施条件下での本検体の Fischer 系 SPF ラット (F344/DuCrj) における無毒性量 (NOAEL) は、雌雄とも 30 ppm (雄 1.6 mg/kg/day、雌 1.9 mg/kg/day) と結論された。

(2) AH-01 原体 (酸) のイヌにおける 1 年間反復経口投与毒性試験 (資料 毒-12)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

検体純度: %

供試動物: ビーグル犬、雌雄、投与開始時 6 カ月齢、

試験開始時体重 雄; 8.5~10.0 kg、雌; 8.0~9.8 kg、1 群雌雄各 4 匹

投与期間: 1 年間 (2004 年 2 月 17 日~2005 年 2 月 17 日)

投与方法: 0、0.5、1.5 および 5 mg/kg/day の投与量で検体をゼラチンカプセルに封入し、1 年間毎日強制経口投与した。5 mg/kg/day 群の雄 1 匹が投与 10 週に強直性痙攣を主徴とする流涎、反射反応消失、瞳孔縮小などの神経症状を示したため、回復困難と判断し切迫殺した。そこで試験 12 週以降は高用量のみを雌雄とも 3 mg/kg/day に下げて投与期間終了まで投与を行った。高用量群は 5(3) mg/kg/day 群と表記した。

用量設定根拠: 投与量を設定するため、1 群雌雄各 4 匹のビーグル犬に、0、0.5、1.5 および 5 mg/kg/day の用量で検体をゼラチンカプセルに封入し、90 日間にわたって毎日強制経口投与を行った。その結果、5 mg/kg/day 群の雌雄各 1 匹で跛行が認められ、詳細な状態観察においても異常歩行が観察された。以上より、5 mg/kg/day 群の雌雄各 1 匹ではあるが跛行が認められたこと、投与期間が 1 年間となるが 90 日間試験では神経症状以外に明らかな毒性変化がみられなかったことから、明らかな毒性の発現および無毒性量の把握を期して 90 日間試験と同様の用量 (0.5、1.5 および 5 mg/kg/day) で試験を行うこととした。また、空のカプセルを投与する対照群も設けた。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察した。

5(3) mg/kg/day 群の雄 1 匹が投与 10 週に強直性痙攣、浅速呼吸および流涎を呈し、回復困難と判断されたため切迫殺されたが、雌雄とも全ての検体投与群と対照群の死亡率に有意差はみられなかった。また、一般状態においても対照群と比較して検体投与群の出現率に有意差のみられた所見はなかった。

詳細な状態の観察: 投与開始前および投与期間中は週 1 回、全動物を対象として以下の項目を観察・測定した。

ホームケージ：姿勢、呼吸、身づくろいの頻度、常同行動の有無、振戦の有無、筋のひきつりの有無、痙攣の有無

オープンフィールド：飼育ケージから取り出す時の容易さ、眼瞼下垂の程度、眼球突出の有無、被毛の状態、立毛の有無、排尿（回数も記録）、排便（回数も記録）、下痢の有無、警戒性、立ち上がり姿勢（回数）、異常歩行、発声、耳介反射、角膜反射、触反応、疼痛反応

ハンドリング：受動性、流涎の有無、流涙の有無、分泌物の有無、皮膚および可視粘膜の色の程度、瞳孔径、腹筋緊張度

投与 10 週に切迫殺された 5(3) mg/kg/day 群の雄 1 匹において、体位の維持不能、浅速呼吸、強直性痙攣、警戒行動の消失、重度の異常歩行（歩行不能）、耳介反射の消失、触反応の消失、疼痛反応の消失、逃避反応の消失、重度の流涎、重度の流涙、分泌物、皮膚および可視粘膜の赤色調（中等度）、瞳孔の縮小、腹筋緊張度の低下が観察された。投与 3 週時に 0.5 mg/kg/day 群の雄で対照群に比して立ち上がり回数の有意な低値がみられたが、用量との関連がなく偶発的変化と考えられた。

体重変化；入荷時、投与開始前 2 回、投与開始日および投与期間中週 1 回、全動物の体重を給餌前に測定した。また、切迫殺動物および計画殺動物は剖検前に最終体重を測定した。

雌雄とも全ての検体投与群において、対照群と比較して体重および体重増加量に有意差はみられず、各群雌雄の平均体重は概ね順調に増加した。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

雌雄とも全ての検体投与群において、対照群と比較して摂餌量に有意差はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前および試験 52 週時にスリットランプおよび眼底カメラを用いて、全動物について眼検査を行った。

対照群と比較して出現率に有意差の認められた所見はなかった。

尿検査；投与開始前、試験 13、26 および 52 週時に、全動物について以下の項目を検査した。

定性検査：濁度、色調、比重、pH、ケトン体、総蛋白、糖、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン、沈渣

定量検査：尿量



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。

項目	検査週	性別および投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.5	1.5	5(3)	0.5	1.5	5(3)
尿比重	投与開始前				↑		
尿潜血	13	↑					
尿沈渣:上皮細胞	13						↓

Dunnettの多重比較法： ↑↓、p<0.05    ↑↓、p<0.01

投与開始前において、0.5 mg/kg/day 群の雌で尿比重の有意な増加がみられた。投与 13 週において、5(3) mg/kg/day 群の雌で尿沈渣における上皮細胞数の有意な減少および 0.5 mg/kg/day 群の雄で尿潜血の有意な増加がみられた。しかし用量との関連がない変化あるいは毒性学的に意味のない変化であることから、検体投与とは関連のない偶発性変化と考えられた。

血液学的検査：投与開始前、試験 13、26 および 52 週時に、切迫殺動物を除く全動物について以下の項目を検査した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、白血球百分比、網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリノーゲン量

切迫殺動物についてはプロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量を除くその他の項目を検査した。

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。

項目	検査週	性別および投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.5	1.5	5(3)	0.5	1.5	5(3)
血小板数	投与開始前	↓70		↓78			

Dunnettの多重比較法： ↑↓、p<0.05    ↑↓、p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

投与開始前において、5(3)および 0.5 mg/kg/day 群の雄で血小板数の有意な低値がみられたが、投与 13、26 および 52 週の検査で対照群と比較して有意差はみられなかった。

投与 10 週に切迫殺した 5(3) mg/kg/day 群の雄 1 匹において、投与開始前の値と

比較すると白血球百分比における桿状核および分葉核好中球相対数の高値ならびにリンパ球相対数の低値が認められたが、後述するように病理組織学的検査で明らかな毒性変化がみられなかったことから検体の直接的な影響ではないと推測した。

血液生化学的検査：投与開始前、試験 13、26 および 52 週時に、全動物について以下の項目を検査した。検査には血液学的検査と同時に採取した血液から得られた血漿を用いた。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ、コリンエステラーゼ、尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール (TCHO)、エステル比<sup>a</sup>、中性脂肪、血糖、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール

<sup>a</sup> 遊離コレステロール (FCHO) を測定して (TCHO-FCHO)/TCHO でエステル比算出

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。

項目	検査週	性別および投与量(mg/kg/day)					
		雄			雌		
		0.5	1.5	5(3)	0.5	1.5	5(3)
総蛋白	投与開始前	↑107					
	26		↓91				
アルブミン	26		↓92				
クレアチニン	13					↑117	
	26					↑119	
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ <sup>a</sup>	13			↓73			
	26			↓79			
無機リン	26		↓88	↓86			

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

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

投与開始前において、0.5 mg/kg/day 群の雄で総蛋白の有意な高値がみられた。投与 13 週において、5(3) mg/kg/day 群の雄でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの有意な低値が、1.5 mg/kg/day 群の雌でクレアチニンの有意な高値がみられた。投与 26 週において、5(3) mg/kg/day 群の雄でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼおよび無機リンの有意な低値が、1.5 mg/kg/day 群の雄で総蛋白、アルブミンおよび無機リンの有意な低値が、雌でクレアチニンの有意な高値がみられた。しかし、これらの変化は毒性学的に意味のない変化あるいは用量

との関連または投与期間との関連がないことから、検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

投与10週に切迫殺した5(3) mg/kg/day群の雄1匹において、投与開始前の値と比較すると尿素窒素およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの高値がみられたが、後述するように病理組織学的検査で肝臓や腎臓等に明らかな毒性変化が認められなかったことから検体の直接的な影響ではないと推測した。

臓器重量；切迫殺および計画殺の全動物を剖検した時に、以下の臓器重量（絶対重量）を測定し、剖検直前の体重に基づき臓器の体重比（相対重量）を算出した。

心臓、脾臓、胸腺、肝臓（含胆嚢）、腎臓（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮、脳、下垂体、甲状腺（含上皮小体、両側）、副腎（両側）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目および高値ないし低値傾向のみられた項目を下表に示す。

性別	投与量 (mg/kg/day)		0	0.5	1.5	5(3)	
雄	腎臓	相対重量 (g/kg 体重)	左	2.26	2.16	↓1.88	2.44
			右	2.21	2.18	↓1.84	2.34
			合計	<4.48>	<4.34>	<3.73>	<4.78>
	精巣	絶対重量(g)	左	<8.95>	<7.58>	<7.47>	<7.19>
			右	<9.31>	<7.36>	<7.76>	<7.20>
			合計	<18.26>	<14.94>	<15.23>	<14.39>
		相対重量 (g/kg 体重)	左	<0.86>	<0.69>	<0.64>	<0.65>
			右	<0.89>	<0.67>	<0.67>	<0.65>
			合計	<1.75>	<1.36>	<1.31>	<1.30>
	甲状腺	絶対重量(mg)	左	<411>	<407>	<442>	<545>
			右	<413>	<413>	<406>	<556>
			合計	<824>	<820>	<848>	<1102>
		相対重量 (mg/kg 体重)	左	<38.6>	<36.7>	<39.2>	<49.1>
			右	<39.1>	<36.9>	<35.9>	<49.9>
			合計	<77.6>	<73.6>	<75.0>	<99.1>

Dunnettの多重比較法： ↑↓、p<0.05    ↑↓、p<0.01

表中の数値は群平均値である。

<>：統計学的有意差はないが参考値として提示

性別	投与量 (mg/kg/day)		0	0.5	1.5	5(3)	
雌	卵巢	絶対重量(mg)	左	<924>	<927>	<538>	<437>
			右	<639>	<825>	<583>	<437>
			合計	<1536>	<1752>	<1121>	<874>
		相対重量 (mg/kg 体重)	左	<83.2>	<82.8>	<50.2>	<41.2>
			右	<57.8>	<72.9>	<54.5>	<41.9>
			合計	<141.0>	<155.7>	<104.7>	<83.1>
	子宮	絶対重量(g)		<14.46>	<9.60>	<9.01>	<4.65>
		相対重量(g/kg 体重)		<1.27>	<0.85>	<0.83>	<0.43>

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

表中の数値は群平均値である。

< : 統計学的有意差はないが参考値として提示

1.5 mg/kg/day 群の雄において、対照群に比して腎臓の相対重量の有意な低値がみられたが、絶対重量に変化はなく、用量との関連もなかった。また、5(3) mg/kg/day 群の雄の甲状腺の絶対および相対重量の高値傾向と5(3)、1.5 および0.5 mg/kg/day 群の精巣の絶対および相対重量の低値傾向が認められた。雌では、5(3) mg/kg/day 群の卵巢ならびに子宮の絶対および相対重量の低値傾向が認められた。しかし、下記する試験実施施設の背景データと比較するとこれらの値は概ね背景データ範囲内であったことおよび病理組織学的検査でこれらの臓器に検体投与の影響を示唆する所見が認められなかったことから、今回の高値ないし低値傾向は生理的変動範囲内の変化あるいは検体投与とは関連のない偶発的変化と考えられた。

試験実施施設の背景データ(19-22ヶ月齢のビーグルイヌ)

性別			平均値±標準偏差	変動範囲
雄	甲状腺	絶対重量(mg)	1191±444	594-1982
		相対重量(mg/kg 体重)	89.8±25.9	52.1-135.2
	精巣	絶対重量(g)	15.53±3.00	12.38-20.95
		相対重量(g/kg 体重)	1.19±0.16	0.95-1.48
雌	卵巢	絶対重量(mg)	1234±605	636-2472
		相対重量(mg/kg 体重)	106.3±56.6	55.0-220.7
	子宮	絶対重量(g)	8.10±5.37	4.12-17.26
		相対重量(g/kg 体重)	0.73±0.52	0.35-1.54

両側臓器は合計値である。

肉眼的病理検査；切迫殺および計画殺の全動物について剖検を行った。

全ての検体投与群において、対照群と比較して有意に出現率が増加した所見は認められなかった。

病理組織学的検査；雌雄全例について以下に示す器官の病理組織学的検査を実施した。顕微鏡観察は通常の方法によって作製したパラフィン切片にヘマトキシリン・エオジン染色を施して行った。

心臓、大動脈、脾臓、胸腺、骨髄・骨（胸骨、右大腿骨+膝関節）、頸部（顎下）リンパ節、腸間膜リンパ節、気管、肺（含気管支）、咽喉頭、唾液腺（下顎腺+耳下腺）、食道、胃（噴門部、胃底部、幽門部）、十二指腸、空腸、回腸（含パイエル氏板）、盲腸、結腸、直腸、肝臓（含胆嚢）、膵臓、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮、膈、脳（大脳、小脳、延髄、橋を含む）、脊髄（頸部・胸部・腰部）、脊髄神経節（腰部）、坐骨神経（右）、眼球（両側、網膜および視神経を含む）、涙腺（両側）、下垂体、甲状腺（含上皮小体、両側）、副腎（両側）、骨格筋、皮膚、乳腺、鼻、肉眼的病変部

全ての検体投与群において、対照群と比較して有意に出現率が増加した所見は認められなかった。

投与10週に切迫殺した5(3) mg/kg/day 群の雄1匹の病理組織学的検査において、下顎腺、耳下腺および涙腺の腺房細胞の中等度あるいは重度の萎縮が認められたが、計画殺動物および「イヌにおける90日間反復経口投与毒性試験」（資料毒-10）において当該組織に中等度以上の萎縮は認められなかった。よって、この所見の検体投与との関連は否定できないものの、検体の直接的な毒性影響ではないと推測された。

以上のように、本検体を反復経口投与したところ、5 mg/kg/day の用量で投与10週に雄1匹で神経症状が観察されたため、この個体を回復困難と判断して切迫殺し、投与12週以降は高用量を3 mg/kg/day に変更して、開始から1年間の投与を行った。この試験条件下において、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。従って、無毒性量は3 mg/kg/day であると判断された。

(3) AH-01 原体 (酸) のラットにおける発がん性試験

(資料 毒-13)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度： %

供試動物：Fischer 系 SPF ラット (F344/DuCrj)、雌雄、投与開始時 6 週齢  
投与開始時体重 雄；102～124 g、雌；88～103 g、1 群雌雄各 50 匹

投与期間：104 週間 (雄：2003 年 8 月 19 日～2005 年 8 月 19 日、  
雌：2003 年 8 月 26 日～2005 年 8 月 26 日)

投与方法：検体を 0、30、300 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 から 3 週に 1 回調製した。

用量設定根拠；投与量を設定するため、1 群雌雄各 10 匹の Fischer 系ラット (F344/DuCrj) に、検体を 0、10、30、300 および 3000 ppm の濃度で 90 日間混餌投与した。その結果、3000 ppm 群の雌雄で投与 5 週まで摂餌量減少を伴う体重減少が観察され、300 ppm 群雄では体重に影響はなかったものの摂餌量減少が認められた。血液学的検査では、雄の 300 ppm 以上の群および雌の 3000 ppm 以上の群の白血球数が減少し、3000 ppm 群の雌雄でリンパ球百分比が減少した。血液生化学的検査では、雌雄の 300 ppm 以上の群のクレアチニンが減少した。さらに、雄の 3000 ppm 群および雌の 300 ppm 以上の群のコリンエステラーゼが、雄の 300 ppm 以上の群および雌の 3000 ppm 群のエステル比が増加した。臓器重量では、雄の 300 ppm 以上の群の腎臓絶対および相対重量が、雌の 3000 ppm 群の腎臓相対重量が増加した。以上の結果から、最高用量として明らかな毒性発現が期待される 1000 ppm を設定した。その他の用量としては、公比約 3 として中間用量を 300 ppm に設定し、さらに無毒性量把握を期しての 30 ppm を設定した。また、無処置対照群 (0 ppm 群) を設けた。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

全ての投与群の雌雄における累積死亡率および生命表解析による生存率に投与用量に関連した変化はなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前および投与期間中は毎日、全動物を対象として以下の項目を観察、測定した。

ケージ内：興奮、鎮静、異常姿勢(横臥、腹臥など)、異常行動(後ずさり、常同行動、自傷行動など)

ハンドリング：取り扱い難さ(刺激に対する反応の変化を含む)、筋緊張の変化(亢進、低下)、振戦、眼瞼閉鎖、流涎、流涙、分泌物(鼻孔、耳孔、膈などからの分泌物)、眼球突出、体温の変化(上昇、下降)、呼吸異常音、被毛の変化(外陰部湿潤)、皮膚および可視粘膜の変化

ケージ外：跳躍、旋回、痙攣、歩様異常(運動協調性を含む、よろめき歩行、ひきずり歩行、後肢麻痺など)、自発運動(亢進、低下)、呼吸(促進、緩和)、発声、立毛、異常姿勢(横臥、腹臥など)、異常行動(後ずさり、常同行動、自傷行動など)

また、腫瘍の触診を含む観察を毎週1回実施した。触診により触知された腫瘤については、その発生時期、発生部位、外観および大きさ(長径×短径×厚さ)を記録した。

各観察週において症状の発生頻度において対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を下表に示す。

部位：所見	性別および投与量 (ppm)		
	雄		
	30	300	1000
体幹部：結節		↓(68-76,85-88,90週)	↓(68-70,104週)
眼球(片側)：混濁	↓(78-94週)	↓(78-82,95-101週)	↓(78-88,90-100週)

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

( )内は有意な差のみられた投与週

上記のごとく各被験物質投与群において体幹部結節ならびに片側性眼球混濁の発生頻度が投与期間中散在性に有意に低い発生頻度が示したが、いずれも発生頻度の低下であり、毒性学的に意義のある変化ではなかった。

体重変化；全動物について、投与開始時(給餌開始前、0日)、投与1週から13週までは毎週1回、投与16週以降は4週に1回、午前中に測定した。また、全動物について剖検前あるいは死亡発見時に最終体重を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた投与週を下表に示す。

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

投与週	性別および投与量(ppm)					
	雄			雌		
	30	300	1000	30	300	1000
2			↓96			↓97
3			↓96			
4			↓97			
5	↑102					
60						↓96
68						↓96
72						↓96
76						↓95
80						↓95
84						↓95
92						↓95
96			↓96			↓95
100		↓96	↓95			
104						↓95

Dunnettの多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$     ↑↓,  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm 群において、雄で投与2週から4週、96週および100週後に、雌では投与期間後半において体重増加が有意に抑制された。300および30ppm群では、雄において有意な体重の増加あるいは増加抑制が散在性にみられたが、これらの変化は一過性であり、検体投与との関連性は認められなかった。雌では対照群に比べ有意な変動は観察されなかった。

摂餌量：全ケージについて、試験1週から13週までは毎週1回、試験16週以降は4週に1回、連続3日あるいは4日分のケージ別摂餌量を測定し、1日1匹当りの摂餌量を算出した。

平均摂餌量において対照群と比較して統計学的有意差の認められた週を下表に示す。



投与週	性別および投与量(ppm)					
	雄			雌		
	30	300	1000	30	300	1000
1		↓95	↓89		↓96	↓94
2						↑103
3			↓97			
4				↓97		
8			↓95			
9	↓97	↓97	↓95	↓97		
10			↓97	↓95		
11		↓97	↓96			
12						
13		↓97	↓97			
16				↓95	↓97	↓96
20		↓96	↓95			
24		↓96	↓95			
28		↓96	↓95			↓93
32	↓95	↓96	↓94			
44	↓96		↓94			
52	↑103					
56	↓96	↓96	↓95			
64		↓95	↓95			↓92
68		↓95	↓96		↓94	↓95
72		↓96	↓93		↓94	↓94
76			↓95			
84		↓95	↓94			
88		↓95	↓94			
92	↓88	↓93	↓90			
96		↓95				
100			↓91			
総平均		↓97	↓96			

Dunnettの多重比較検定： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01  
 表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雄では、30 ppm以上の群において投与初期より断続的に摂餌量の有意な減少が観察され、300 ppmおよび1000 ppm群の総平均摂餌量が有意に減少した。雌においても投与期間中散在性に摂餌量が有意に減少した。

これらの摂餌量の有意な減少は先に実施した「ラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験」、「ラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (毒-8)」および「ラットにおける 1 年間反復経口投与毒性試験 (毒-12)」においても観察されており、これらの変化は被験物質を含む飼料に対する摂食忌避に関連したものと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表の通りであった。

投与量 (ppm)		30	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.4	13.7	45.3
	雌	1.6	16.3	54.7

血液学的検査；104 週間投与終了後の全ての計画殺動物についてジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈より血液を採取し、メイグリューンワルドギムザ染色を施した血液塗抹標本を作製した。全ての計画殺動物の白血球数を測定した。対照群および最高用量群の動物の血液塗抹標本を鏡検し、白血球百分比を求めた。

その結果、被験物質投与に関連した異常が認められなかったため、その性の残りの群についての検査は実施しなかった。52 週および 78 週間投与終了後に、全生存動物についてジエチルエーテル麻酔下で尾端より微量の血液を採取し、メイグリューンワルドギムザ染色を施した血液塗抹標本を作製した。104 週間投与終了後の検査で被験物質投与に関連した異常が認められなかったため、投与 53 週および 79 週に作製した動物の血液塗抹標本は検査しなかった。

雌雄とも、計画殺時における全ての投与群の白血球数は対照群に比較して有意な差はなく、1000 mg/kg 群の白血球百分比も対照群に比較して有意な差はなく検体投与の影響は認められなかった。

臓器重量；全ての計画殺動物について、以下の臓器の固定前の重量（絶対重量）を測定し、対体重比（相対重量）も算出した。なお、甲状腺のみは軽度に固定された状態で秤量した。

心臓、脾臓、肝臓、腎臓（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮、脳、副腎（両側）

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目			性別および投与量(ppm)					
			雄			雌		
			30	300	1000	30	300	1000
腎臓	絶対重量	左		↑114	↑109		↑106	↑107
		右	↑105	↑113	↑109		↑107	↑108
		両側		↑113	↑109		↑106	↑107
	相対重量	左		↑117	↑112		↑106	↑107
		右	↑107	↑116	↑112		↑107	↑108
		両側	↑107	↑116	↑112		↑106	↑107
脳	絶対重量			↑102	↑103			

Dunnnettの多重比較法： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000 ppm および 300 ppm 群の雌雄では左右および両側腎臓の絶対重量と相対重量が、30 ppm 群の雄では右腎臓の絶対重量ならびに右および両側腎臓の相対重量が有意に増加した。腎臓の病理組織学的検査では、1000 ppm 群の雌雄各3匹に近位尿細管上皮細胞の肥大が観察され、腎臓重量増加との関連性が推察された。この病理組織所見には対照群との間に統計学的有意差が認められないが、被験物質投与の影響とみられる器質的な変化と考えられた。300 ppm 以下の用量群では、上記のような組織学変化がみられなかったことから、腎臓の重量増加は被験物質投与に対応する腎臓の適応変化であり、毒性学的変化ではないと考えられた。1000 ppm および 300 ppm 群の雄において脳の相対重量が対照群と比較して有意に増加したが、絶対重量に差がないこと、病理組織学的検査においてこれらの群の脳に被験物質投与に関連した変化がなかったことから、これらの変化は剖検時体重の減少に関連する変化であり、その毒性学的な意義はないものと考えられた。

肉眼的病理検査；投与期間中の全ての死亡および計画殺動物について剖検を行った。

対照群と比較して発生頻度に統計学的有意差の認められた病変を下表に示す。

転帰	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
最終計画殺	部位：所見\検査動物数	42	36	42	39	36	41	32	41
	外部所見：腹部結節	7	6	2	↓1	0	0	1	0
	精巣(両側)：水腫	10	8	↓3	↓2				
	子宮：のう胞					4	1	0	↓0
	下垂体：赤色斑	0	2	2	↑5	2	7	5	6
途中死亡 切迫殺	部位：所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
	精巣(両側)：萎縮	1	1	↑6	3				
全動物	部位：所見\検査動物数	50	50	50	50	49	50	47	50
	外部所見：腹部結節	8	6	↓2	↓1	0	0	1	0
	精巣(両側)：水腫	10	8	↓3	↓2				
	子宮：結節					7	9	↑15	12
	眼球(片側)：水晶体混濁	8	3	4	↓2	3	5	4	2
	下垂体：赤色斑	1	2	2	5	2	↑9	6	↑8
	下垂体：嚢胞	0	0	1	0	5	1	↓0	2

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

剖検において、1000 ppm群の雄の計画殺動物における腹部結節、300 ppmおよび1000 ppm群の雄の計画殺動物における両側精巣の水腫の発生率が有意な低値を示したが、発生率の減少であることから毒性学的意義はないと判断した。また、1000 ppm群の雄の計画殺動物における下垂体の赤色斑および300 ppm群の雄の途中死亡動物における精巣の両側萎縮の発生率が有意な高値を示したが、投与用量との関連性がないことから毒性学的意義はないと判断した。雌では30および1000 ppm群の全動物の下垂体の赤色斑が有意に増加したが、投与用量との関連性がなく、かつ病理組織学的検査では、下垂体には特に異常がみられないことから投与との関連性はないと判断された。上記以外にも、いくつかの臓器・組織において統計学的に有意な変化が観察されたが、投与に関連づけられる所見は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物のうち、対照群および最高用量群の全動物ならびに最低用量群および中間用量群で死亡した動物から採取した以下に示す臓器・組織、最低用量群および中間用量群の計画殺動物から採取した肉眼的異常部位について、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。

心臓、大動脈、脾臓、胸腺、骨・骨髓（胸骨、右大腿骨・膝関節、頸部・胸部・腰部椎骨）、頸部（顎下）リンパ節、腸間膜リンパ節、鼻腔、咽喉頭、気管、肺（含気管支）、唾液腺（顎下腺・舌下腺）、食道、胃（前胃・腺胃）、十

二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、脾臓、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、精囊・凝固腺（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮（角部および頸部）、膣、脳（大脳、小脳、橋および延髄）、脊髓（頸部・胸部・腰部）、坐骨神経（右）、眼球（含網膜・視神経、両側）、ハーダー腺（両側）、下垂体、甲状腺（含上皮小体、両側）、副腎（両側）、骨格筋、皮膚（背部）、乳腺（第2・3乳頭付近）、肉眼的病変部

**腫瘍性病変**

観察されたすべての腫瘍性病変を別表1に示す。

雄では1000 ppm群において途中死亡・切迫殺動物および全動物の精巣の間細胞腫の発生率(全動物 78.0%)が対照群に比較して有意に低かった。当所の「2年間発がん性試験の背景資料」における当該腫瘍の発生率の範囲は72.4%から100.0%であり、本試験の全ての群の当該腫瘍の発生率がこの範囲に含まれることから、1000 ppm群の有意な低値は偶発性の変化と考えられた。また、本試験に先行して実施した「ラットにおける農薬発がん性試験のための対照試験」における精巣の間細胞腫の全動物の発生は84.0%であり、1000 ppm群の同腫瘍の発生率と大きな差はなかった。

雌では1000 ppm群において対照群に比較して有意な差を示した腫瘍性病変は観察されなかった。

臓器	性別		雄			
	投与量 (ppm)		0	30	300	1000
精巣	途中死亡・切迫殺動物	所見\検査動物数	8	14	8	11
	間細胞腫		8	11	3	↓4
	全動物	所見\検査動物数	50	49#	49#	50
	間細胞腫		49	45	43	↓39

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

#：統計検定実施せず。

非腫瘍性病変

対照群に比較して発生頻度に統計学的有意差の認められた病変を下表に示す。

転帰	臓器	性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000	
途中死亡・切迫殺	胸腺	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9	
		うっ血+	2	9	4	↑9	6	3	9	4	
	肺	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9	
		うっ血+	3	10	6	↑10	5	4	7	5	
		うっ血++	4	3	1	↓0	3	1	2	1	
	骨髄	うっ血(全程度)	7	13	7	10	8	5	9	6	
		所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9	
	子宮	造血亢進	1	5	1	3	9	2	8	2	
		所見\検査動物数	/				13	9	15	9	
		子宮内膜過形成+					1	2	1	↑6	
	子宮内膜過形成(全程度)	2					2	2	↑6		
	脊髄	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9	
		神経根神経症+	2	7	5	4	4	3	8	↑7	
	眼球	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9	
網膜変性+		1	0	0	0	5	0	0	↓0		
網膜変性(全程度)		1	0	0	0	5	0	1	↓0		
最終計画殺	肝臓	所見\検査動物数	42	10#	10#	39	36	10#	11#	41	
		小肉芽腫+	17	3	3	↓6	25	5	5	32	
	精巣	所見\検査動物数	42	35#	41#	39	/				
		精子形成の低下+	2	0	2	↑8					
		精子形成の低下++	6	1	3	7					
		精子形成の低下+++	34	34	34	↓24					
		精子形成の低下(全程度)	42	35	39	39					
	間質の水腫	19	22	27	↑26						
	ハーダ腺	所見\検査動物数	42	0#	0#	39	36	0#	0#	41	
		リンパ球系細胞の集簇+	16	-	-	↓6	26	-	-	↓19	
全動物	胸腺	所見\検査動物数	50	16#	9#	50	49	10#	15#	50	
		嚢胞+	5	0	0	↓0	8	1	0	12	
		うっ血+	2	9	4	↑9	6	3	9	4	
		うっ血++	1	1	0	0	0	0	0	0	
		うっ血(全程度)	3	10	4	9	6	3	9	4	
	肝臓	所見\検査動物数	50	24#	18#	50	49	19#	26#	50	
		小肉芽腫+	17	3	3	↓6	28	8	7	34	
	精巣	所見\検査動物数	50	49#	49#	50	/				
		精子形成の低下+++	38	41	38	↓28					
	ハーダ腺	所見\検査動物数	50	14#	8#	50	49	9#	15#	50	
		リンパ球系細胞の集簇+	16	1	0	↓6	29	4	0	23	
	肺	所見\検査動物数	50	16#	10#	50	49	9#	16#	50	
		うっ血+	3	11	7	↑10	5	4	7	5	
		うっ血++	4	3	1	0	3	1	2	1	
骨髄	うっ血(全程度)	7	14	8	10	8	5	9	6		
	所見\検査動物数	50	14#	8#	50	49	9#	15#	50		
	造血亢進	5	5	1	5	12	2	8	↓4		

Fisherの直接確率計算法： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01    #: 統計検定実施せず。  
 +: 軽度, ++: 中等度, +++: 高度

途中死亡・切迫殺動物において、雌の 1000 ppm 群の子宮内膜過形成および脊髄の神経根神経症の発生頻度が有意に高値を示したが、計画殺動物ならびに全動物の発生頻度には異常はみられなかったことから検体投与とは関連性のない偶発性変化であると判断された。

計画殺動物の雄では、1000 ppm 群の精巢の精子形成の低下（軽度）の発生率が対照群に比較して有意に高く、精子形成の低下（高度）が有意に低かったが、精子形成の低下の合計発生率は対照群に比較して有意な差はなかったことから検体投与との関連性はないと判断された。

全動物および途中死亡・切迫殺動物の雄では、1000 ppm 群の胸腺のうっ血（軽度）および肺のうっ血（軽度）の発生率が対照群に比較して有意に高く、途中死亡・切迫殺動物の肺のうっ血（中等度）の発生率が有意に低かったが、これらの合計発生率には有意な差がみられなかったことから、検体投与との関連性はないと判断された。

上記のその他の所見においても対照群と 1000 ppm 群間に有意な変化が観察されたが、これらの所見は本系統ラットにおいて自然発生病変として観察され、しかも発生率の減少であることから、毒性学的意義は低いと判断した。

以上の結果から、本試験において、1000 ppm 群の雌雄において摂食忌避による体重増加抑制が認められた。しかし、いずれの投与群の雌雄においても被験物質による腫瘍性病変の増加は見られなかったことから、本試験において本検体には発がん性は認められなかった。本試験実施条件下での本検体の Fischer 系 SPF ラット (F344/DuCrj) における無毒性量 (NOAEL) は、雌雄とも 300 ppm (雄 13.7 mg/kg/day、雌 16.3 mg/kg/day) と結論された。

表1. 腫瘍性病変

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
途中死亡・切迫殺	血液 リンパ系	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
		LGL白血病(M)	3	7	2	1	1	2	3	2
	脾臓	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		肝細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	空腸	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		平滑筋肉腫(M)	0	1	1	0	0	0	0	0
	腎臓	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		腎間葉腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脳	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		星状膠細胞腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	1
		神経鞘腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性細網症(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		前葉腺腫(B)	0	2	2	1	0	6	4	2
		前葉腺癌(M)	0	0	0	0	3	0	2	1
		悪性神経鞘腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
		C細胞腺腫(B)	2	1	2	2	0	0	0	0
		C細胞腺癌(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
		濾胞細胞腺癌(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	副腎	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9
良性褐色細胞腫(B)		0	0	0	0	0	1	1	0	
悪性褐色細胞腫(M)		0	1	0	0	1	0	0	1	
骨	所見\検査動物数	8	14	8	11	13	9	15	9	
	骨腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	

(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



表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別		雄				雌								
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000						
途中死亡・切迫殺	精巣	所見\検査動物数	8	14	8	11	/									
		間細胞腫(B)	8	11	3	↓4										
	包皮腺	所見\検査動物数	1	0	0	1										
		腺腫(B)	1	-	-	1										
	卵巢	所見\検査動物数										13	9	15	9	
		神経鞘腫(B)										0	0	1	0	
	子宮	所見\検査動物数										13	9	15	9	
		内膜間質ホリブ(B)										1	1	2	0	
		血管腫(B)										1	0	0	0	
		扁平上皮癌(M)										0	0	0	1	
		平滑筋腫(B)										0	0	1	0	
		内膜間質肉腫(M)										2	3	4	1	
		組織球性肉腫(M)										0	0	1	0	
		腺癌(M)										0	0	1	0	
		悪性神経鞘腫(M)										0	0	0	1	
		陰核腺	所見\検査動物数										3	0	0	0
			腺腫(B)										2	-	-	-
	腺癌(M)											1	-	-	-	
	皮膚	所見\検査動物数	8	14	8	11						13	9	15	9	
		線維腫(B)	1	2	0	1						0	0	0	1	
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	1						1	0	0	0	
		脂肪腫(B)	0	0	0	0						0	0	1	0	
		神経鞘腫(B)	0	0	1	0						0	0	0	0	
	乳腺	所見\検査動物数	8	14	8	11						13	9	15	9	
		線維腫(B)	0	0	0	0						0	0	1	0	
		線維腺腫(B)	0	1	0	0						3	1	1	0	
		腺癌(M)	0	0	0	0						2	0	1	0	
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0						0	0	1	0	
胸腔	所見\検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0							
	中皮腫(M)	-	-	-	-	-	-	1	-							

(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

表1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
途中死亡・ 切迫殺	腹腔	所見\検査動物数	1	0	0	1	0	0	0	0
		神経鞘腫(B)	1	-	-	0	-	-	-	-
		中皮腫(B)	0	-	-	1	-	-	-	-
	良性腫瘍数		14	17	8	11	7	9	11	3
	悪性腫瘍数		6	9	6	5	11	7	16	10
	腫瘍総数		20	26	14	16	18	16	27	13
	担良性腫瘍動物数		8	11	6	6	6	6	10	3
	担悪性腫瘍動物数		6	9	6	5	8	7	13	8
	担腫瘍動物数		8	12	8	9	11	9	15	9

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

表1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
最終計画殺	心臓	所見\検査動物数	42	1#	0#	39	36	0#	1#	41
		粘液腫(B)	0	1	-	0	0	-	1	0
		神経鞘腫(B)	0	0	-	0	2	-	0	0
	血液リンパ系	所見\検査動物数	42	36	42	39	36	33	25	41
		悪性リンパ腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		LGL白血病(M)	2	4	3	0	3	1	1	3
	脾臓	所見\検査動物数	42	7#	3#	39	36	1#	1#	41
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	42	2#	2#	39	36	0#	1#	41
		腺腫(B)	3	1	1	0	0	-	0	1
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	42	10#	10#	39	36	10#	11#	41
		肝細胞腺腫(B)	0	1	1	1	2	0	0	1
		肝細胞癌(M)	0	1	0	0	1	0	0	0
		胆管腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	1	2
	膵臓	所見\検査動物数	42	0#	0#	39	36	0#	1#	41
		島細胞腺腫(B)	0	-	-	1	0	-	0	1
		島細胞癌(M)	1	-	-	0	1	-	1	0
	腎臓	所見\検査動物数	42	5#	6#	39	36	1#	0#	41
		腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	-	2
	下垂体	所見\検査動物数	42	10#	11#	39	36	22#	15#	41
		前葉腺腫(B)	10	10	10	7	13	18	13	19
		前葉腺癌(M)	0	0	0	0	2	0	0	1
	甲状腺	所見\検査動物数	42	11#	9#	39	36	5#	6#	41
		C細胞腺腫(B)	17	11	9	12	9	5	5	10
		C細胞腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
副腎	所見\検査動物数	42	1#	3#	39	36	1#	0#	41	
	皮質腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	-	1	
	良性褐色細胞腫(B)	1	1	3	4	0	1	-	1	

(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

# : 統計検定実施せず。

表1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌																			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000																
最終計画殺	精巣	所見\検査動物数	42	35#	41#	39	/																			
		間細胞腫(B)	41	34	40	35																				
	包皮腺	所見\検査動物数	0	3#	3#	0#																				
		腺腫(B)	-	2	3	-																				
		腺癌(M)	-	1	0	-																				
	卵巣	所見\検査動物数	/								36	3#	0#	41												
		顆粒膜細胞腫(B)									0	2	-	0												
	子宮	所見\検査動物数									/				36	7#	7#	41								
		内膜間質ホリフ(B)													5	5	3	12								
		腺腫(B)													1	0	0	1								
		血管腫(B)													0	0	1	1								
		平滑筋腫(B)													1	0	2	0								
		腺癌(M)													0	1	0	0								
		脱落膜腫(B)													0	1	0	0								
		陰核腺													所見\検査動物数	/				0	1#	0#	2#			
	腺腫(B)														-					1	-	2				
	皮膚	所見\検査動物数													42					13#	8#	39	36	3#	3#	41
		線維腫(B)													8					7	2	2	0	0	1	0
		毛のう上皮腫(B)													0					0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)													3					1	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)													0					0	0	1	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)													5					3	2	1	0	0	0	0
		皮脂腺腫(B)													0					0	1	0	0	0	0	1
		脂肪腫(B)													0					1	2	0	0	0	0	0
		神経鞘腫(B)													1					0	0	0	1	0	0	0
		線維肉腫(M)													3					0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数													42					5#	5#	39	36	9#	7#	41
		線維腫(B)													0					0	0	1	0	0	0	0
線維腺腫(B)		2					5	2	0	5					9					6	4					
腺腫(B)		0					0	0	0	2					0					0	2					
腺癌(M)		0					0	1	1	0					0					0	0					

(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

# : 統計検定実施せず。

表1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
最終 計回 殺	腹腔	所見\検査動物数	3	0#	2#	0	0	0#	0#	0
		中皮腫(B)	3	-	2	-	-	-	-	-
		良性腫瘍数	92	78	77	65	43	42	31	61
		悪性腫瘍数	11	6	6	3	8	2	5	4
		腫瘍総数	103	84	83	68	51	44	36	65
		担良性腫瘍動物数	42	36	42	39	27	28	21	36
		担悪性腫瘍動物数	11	6	6	3	7	2	5	4
		担腫瘍動物数	42	36	42	39	29	29	21	36

(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

# : 統計検定実施せず。

表1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000
全動物	心臓	所見\検査動物数	50	15#	8#	50	49	9#	16#	50
		粘液腫(B)	0	1	0	0	0	0	1	0
		神経鞘腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	0
		血液リンパ系	所見\検査動物数	50	50	50	50	49	42	40
	血液リンパ系	組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(M)	1	0	1	0	0	1	0	0
		LGL 性白血病(M)	5	11	5	1	4	3	4	5
	脾臓	所見\検査動物数	50	21#	11#	50	49	10#	16#	50
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	所見\検査動物数	50	16#	10#	50	49	9#	16#	50
		腺腫(B)	3	1	1	0	0	0	0	1
		腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	空腸	所見\検査動物数	50	14#	8#	50	49	9#	15#	50
		平滑筋肉腫(M)	0	1	1	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	50	24#	18#	50	49	19#	26#	50
		肝細胞腺腫(B)	0	1	1	2	2	0	0	1
		肝細胞癌(M)	0	1	0	0	1	0	0	0
		胆管腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	1	2
	膵臓	所見\検査動物数	50	14#	8#	50	49	9#	16#	50
		島細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	1
		島細胞癌(M)	1	0	0	0	1	0	1	0
	腎臓	所見\検査動物数	50	19#	14#	50	49	10#	15#	50
		腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	2
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		腎間葉腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脳	所見\検査動物数	50	14#	8#	50	49	9#	15#	50
		星状膠細胞腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	1
神経鞘腫(B)		1	0	0	0	0	0	0	0	
悪性細網症(B)		0	0	1	0	0	0	0	0	

(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

# : 統計検定実施せず。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別		雄				雌						
		投与量 (ppm)	0	30	300	1000	0	30	300	1000				
全動物	下垂体	所見\検査動物数	50	24#	19#	50	49	31#	30#	50				
		前葉腺腫(B)	10	12	12	8	13	24	17	21				
		前葉腺癌(M)	0	0	0	0	5	0	2	2				
		悪性神経鞘腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0				
	甲状腺	所見\検査動物数	50	25#	17#	50	49	14#	21#	50				
		C細胞腺腫(B)	19	12	11	14	9	5	5	10				
		C細胞腺癌(M)	1	0	1	1	0	0	0	0				
		濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0				
		濾胞細胞腺癌(M)	1	0	0	1	0	0	1	0				
	副腎	所見\検査動物数	50	15#	11#	50	49	10#	15#	50				
		皮質腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	1				
		良性褐色細胞腫(B)	1	1	3	4	0	2	1	1				
		悪性褐色細胞腫(M)	0	1	0	0	1	0	0	1				
	骨	所見\検査動物数	50	14#	8#	50	49	9	15	50				
		骨腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0				
	精巣	所見\検査動物数	50	49#	49#	50	/							
		間細胞腫(B)	49	45	43	↓39								
	包皮腺	所見\検査動物数	1	3#	3#	1#								
		腺腫(B)	1	2	3	1								
		腺癌(M)	0	1	0	0								
	卵巢	所見\検査動物数									49	12#	15#	50
		顆粒膜細胞腫(B)									0	2	0	0
		神経鞘腫(B)									0	0	1	0
	子宮	所見\検査動物数									49	16#	22#	50
		内膜間質ホリ-フ(B)									6	6	5	12
		腺腫(B)					1	0	0	1				
		血管腫(B)					1	0	1	1				
		扁平上皮癌(M)					0	0	0	1				
平滑筋腫(B)						1	0	3	0					
内膜間質肉腫(M)						2	3	4	1					

(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

# : 統計検定実施せず。

表1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別		雄				雌											
		投与量 (ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000								
全動物	子宮	所見\検査動物数		/				49	16#	22#	50								
		組織球性肉腫(M)						0	0	1	0								
		腺癌(M)						0	1	1	0								
		悪性神経鞘腫(M)						0	0	0	1								
		脱落膜腫(B)						0	1	0	0								
	陰核腺	所見\検査動物数						/				3	1#	0#	2				
		腺腫(B)										2	1	-	2				
		腺癌(M)										1	0	-	0				
	皮膚	所見\検査動物数										50	27#	16#	50	49	12#	18#	50
		線維腫(B)										9	9	2	3	0	0	1	1
		毛のう上皮腫(B)		0	0	1	0					0	0	0	0				
		扁平上皮乳頭腫(B)		3	1	0	0					0	0	0	0				
		扁平上皮癌(M)		0	0	0	2					1	0	0	0				
		角化棘細胞腫(B)		5	3	2	1					0	0	0	0				
		皮脂腺腫(B)		0	0	1	0					0	0	0	1				
		脂肪腫(B)		0	1	2	0	0	0	1	0								
		神経鞘腫(B)		1	0	1	0	1	0	0	0								
		線維肉腫(M)		3	0	0	0	0	0	0	0								
	乳腺	所見\検査動物数		50	19#	13#	50	49	18#	22#	50								
		線維腫(B)		0	0	0	1	0	0	1	0								
		線維肉腫(M)		2	6	2	0	8	10	7	4								
		腺腫(B)		0	0	0	0	2	0	0	2								
		腺癌(M)		0	0	1	1	2	0	1	0								
		扁平上皮癌(M)		0	0	0	0	0	0	1	0								
	胸腔	所見\検査動物数		0	0#	0#	0#	0	0#	1#	0#								
		中皮腫(B)		-	-	-	-	-	-	1	-								
	腹腔	所見\検査動物数		4	0#	2#	1#	0	0#	0#	0								
神経鞘腫(B)		1	-	0	0	-	-	-	-										
中皮腫(B)		3	-	2	1	-	-	-	-										

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

# : 統計検定実施せず。



表1. 腫瘍性病変 (続き)

	性 別	雄				雌			
		0	30	300	1000	0	30	300	1000
全 動 物	投与量 (ppm)								
	良性腫瘍数	106	95	85	76	50	51	42	64
	悪性腫瘍数	17	15	12	8	19	9	21	14
	腫瘍総数	123	110	97	84	69	60	63	78
	担良性腫瘍動物数	50	47	48	45	33	34	31	39
	担悪性腫瘍動物数	17	15	12	8	15	9	18	12
	担腫瘍動物数	50	48	50	48	40	38	36	45

(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

(4) AH-01原体(酸)のマウスにおける発がん性試験

(資料 毒-14)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2006年

検体純度： %

供試動物：ICR系SPFマウス(Crj:CD-1)、雌雄、投与開始時週齢 5週齢

投与開始時体重 雄、26.8～33.9g；雌、23.2～28.4g、1群雌雄各52匹

投与期間：18ヵ月 (雄：2003年9月22日～2005年3月24日、

雌：2003年9月30日～2005年3月31日)

投与方法：検体を0、100、300および1000ppmの濃度で飼料に混入し、動物に18ヵ月間自由摂取させる方法で試験を開始した。しかし、最高用量群では雌雄とも検体投与に関連付けられる死亡・切迫殺動物が発生したため、投与用量を雄は投与26週以降1000ppmから600ppmに変更し(1000/600ppm)、雌は投与19週以降1000ppmから600ppmに、さらに投与63週以降600ppmから450ppmに変更した(1000/600/450ppm)。検体を混入した飼料は1から3週に1回の頻度で調製した。よって、高用量群の雄は1000/600ppm、雌は1000/600/450ppmと表記した。

用量設定根拠：1群雌雄各10匹ずつのICR系マウス(Crj:CD-1)に検体を0、30、100、300および1000ppmの濃度で90日間混餌投与した。その結果、1000ppm群の雌で、投与6週時の摂餌量減少と投与7週時の雌1例の死亡がみられた。死亡例の病理組織学的検査で大脳尾状核・被殻に微細な空胞化が観察された。また、投与13週間後の計画殺動物では、1000ppm群の雌で脳の絶対重量が有意に減少した。病理組織学的検査では、1000ppm群の雌雄で上述した大脳の空胞化の発生頻度が有意に増加し、さらに雌では副腎の皮髄境界部褐色色素沈着の発生頻度も有意に増加した。以上の結果に基づき、当該試験の高用量として1000ppmを設定した。高用量以外の用量は、用量-反応相関性に関するデータが得られるように、公比を約3として300ppmを設定し、さらに無毒性量把握を期して100ppmを設けた。また、無処置対照群を設けた。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。さらに、触診を含む詳細な臨床症状を週1回観察した。

雌雄のいずれの投与群においても、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

雌雄ともいずれの投与群の死亡率にも対照群と比較して統計学的に有意な差は認められなかった。しかし、最高用量群では、検体投与の影響が疑われる死亡・瀕死動物が認められ、雌は投与 17 週、雄は投与 25 週時の累積死亡率が雌雄とも対照群 0/52 に対し、最高用量群では 3/52 となった。これらのうち 2 例では瀕死期に触発運動、痙攣、跳躍ないし挙尾を呈していた。これらの死亡あるいは瀕死は被験物質投与に起因したものと考えられたため、用量を雌は投与 19 週以降、雄は投与 26 週以降、1000 ppm から 600 ppm に変更した。その後雌では再び検体投与の影響が疑われる死亡・瀕死動物がみられ、投与 58 週時の累積死亡率が 10/52 (対照群 5/52) となったため、雌については投与 63 週以降に用量を再度変更し、450 ppm とした。

投与 78 週後の累積死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	16/52 (31%)	13/52 (25%)
100	15/52 (29%)	13/52 (25%)
300	20/52 (38%)	13/52 (25%)
1000/600	24/52 (46%)	—
1000/600/450	—	15/52 (29%)

生命表解析で統計検定を実施した。

78 週間の投与が終了した時点での最終死亡率は、雌では対照群と大差はなく、雄では若干高い傾向にあったものの、対照群と統計学的に有意差はなかった。また、本試験では、試験終了時に供試動物の 50%以上が生存していたことから、発がん性を評価する上で支障はないと考えられた。

体重変化；全動物について、投与開始から 13 週まで毎週 1 回、投与 16 週から 76 週までは 4 週に 1 回、また投与終了時 (78 週) に体重を測定した。

検体投与群の雌雄の体重は、全投与期間を通じて対照群の値とほぼ同様であり、統計学的有意差は認められなかった。

摂餌量；全ケージについて、投与 1 週から 14 週までは毎週 1 回、投与 16 週から 76 週までは 4 週に 1 回の頻度で、連続 3 日分の摂餌量を測定した。

対照群と比べ、統計学的有意差の認められた測定週を下表に示す。(雄は有意差みられず)。

投与週	性別および投与量 (ppm)		
	雌		
	100	300	1000/600/450
2	98	98	↓90
8	98	98	↓88
12	105	95	↓86
28	102	98	↑109

Dunnnettの多重比較検定： ↑↓, p<0.05    ↑↓, p<0.01

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

雌では 1000/600/450 ppm 群で投与 2 週、8 週、12 週時の摂餌量が対照群と比較して統計学的に有意に低く、投与 28 週時の摂餌量が統計学的に有意に高かった。しかし、全期間を通じた雌の総平均摂餌量は、0、100、300 および 1000/600/450 ppm 群で 4.3、4.3、4.2 および 4.3 g/mouse/day であった。摂餌量にみられた有意な変化は持続性のない一時的なもので偶発的であると考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量を次の下表に示す。

投与量 (ppm)		100	300	1000/600	1000/600/450
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	9.18	28.1	69.5	—
	雌	9.06	27.6	—	66.0

血液学的検査；78 週間投与終了後の全生存動物を対象として、エーテル麻酔下で開腹後後大静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。また、各血液試料から血液塗抹標本作製し、大型非染色球 (LUC) が  $0.3 \times 10^3 / \mu\text{L}$  を超えていた時に鏡検する白血球百分率算定用標本とした。

白血球数 (WBC)、好中球数 (N)、リンパ球数 (L)、単球数 (M)、好酸球数 (E)、好塩基球数 (B)、大型非染色球数 (LUC)

また、投与期間中の切迫殺動物および 52 週間投与終了後の全生存動物について、エーテル麻酔下で尾端切断により血液塗抹標本作製した。この内、切迫殺動物について白血球百分率算定を行ったが、52 週間投与終了後の標本は、78 週間投与終了後の検査で検体投与に関連した異常 (造血器系腫瘍を疑わせる変化) が認められなかったため、白血球百分率算定は実施しなかった。

78 週間投与後の検査では、雌雄のいずれの投与群においても白血球数および白

血球ディファレンシャルカウントに検体投与の影響は認められなかった。大型非染色球 (LUC) が  $0.3 \times 10^3 / \mu\text{L}$  を超えていた動物について血液塗抹標本を鏡検したが、腫瘍性形態を示す血液細胞がみられたのは 100 ppm 群の雌の 1 例におけるリンパ球系腫瘍細胞のみであった。また、投与期間中の切迫殺動物の血液塗抹標本の検査ではリンパ球系腫瘍細胞を有する個体が散見されたが、その発生数に群間で差はみられなかった。

臓器重量；78 週間投与終了後の全生存動物の中から、動物番号順に選んだ各群各性 10 匹ずつについて、以下の臓器の固定前の重量（絶対重量）を測定し、それらの値と最終体重から比体重値（相対重量）を算出した。

脳、下垂体、心臓、肝臓（胆のうを含む）、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮

統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

項目		性別および投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000/600	100	300	1000/600/450
心臓	相対重量	100	113	100	↑116	103	113
腎臓	絶対重量	104	95	106	110	106	↑118
	相対重量	111	101	107	114	104	↑125
精巣	絶対重量	↓78	86	96	-	-	-

Dunnett の多重比較検定： ↑↓,  $p < 0.05$     ↑↓,  $p < 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1000/600/450 ppm 群の雌では、腎臓の絶対および相対重量が統計学的に有意に増加したが、本変化に対応する所見として病理組織学的検査において腎臓の近位尿管直部上皮細胞肥大が観察され、検体投与との関連性が認められた。その他に投与用量に関連する変化ではない 100 ppm 群雄の精巣絶対重量減少および同群雌の心臓相対重量増加がみられた。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行い、肉眼的異常を記録した。

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた所見を下表に示す。

剖検 所見	転帰	性別および投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	100	300	1000 /600	0	100	300	1000/600 /450
脾臓: 腫大	78tk	1/36	4/37	1/32	1/28	6/39	7/39	5/39	2/37
	ke/fd	3/16	4/15	6/20	6/24	9/13	5/13	↓3/13	↓4/15
	All	4/52	8/52	7/52	7/52	15/52	12/52	8/52	↓6/52
肝臓: 腫瘍	78tk	16/36	13/37	↓6/32	11/28	1/39	4/39	3/39	2/37
	ke/fd	3/16	4/15	4/20	8/24	0/13	2/13	0/13	3/15
	All	19/52	17/52	↓10/52	19/52	1/52	6/52	3/52	5/52
下垂体: 腫瘍	78tk	0/36	0/37	1/32	0/28	0/39	1/39	4/39	0/37
	ke/fd	0/16	2/15	0/20	0/24	0/13	0/13	1/13	1/15
	All	0/52	2/52	1/52	0/52	0/52	1/52	↑5/52	1/52

転帰: 78tk、78週間投与後の計画殺; ke/fd、投与期間中の死亡・切迫殺; All、全動物表中の数値は「発生动物数/検査動物数」

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

検体投与群で認められた有意な変化はいずれも用量との関連性がないかあるいは発生頻度の減少であった。

病理組織学的検査; 対照群、1000/600 ppm 群 (雄) および 1000/600/450 ppm 群 (雌) の全動物から採取した以下の臓器・組織について、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。また、100 および 300 ppm 群の死亡・切迫殺動物についても同様の検査を行った。

脳 (大脳、小脳、橋および延髄)、脊髄 (頸部、胸部および腰部)、坐骨神経 (片側)、下垂体、胸腺、甲状腺 (両側)、上皮小体 (両側)、副腎 (両側)、脾臓、骨および骨髄 (胸骨、片側大腿骨および椎骨3ヵ所)、リンパ節 (頸部および腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺 (顎下腺および舌下腺)、食道、胃 (前胃および腺胃)、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓 (両側)、膀胱、精巣 (両側)、精巣上体 (両側)、前立腺、精のう (両側)、凝固腺 (両側)、卵巣 (両側)、子宮 (角部および頸部)、膺、眼球 (網膜および視神経を含む、両側)、ハーダー腺 (両側)、下腿三頭筋 (片側)、膝関節 (片側)、皮膚 (腰背部)、乳腺、肉眼的異常部位

さらに、100 および 300 ppm 群の計画殺動物から採取した雄の大脳、雌の腎臓および副腎ならびに雌雄の肉眼的異常部位についても同様に検査するとともに、雌の対照群および 1000/600/450 ppm 群の各2例の副腎について、PAS 反応、シュモール反応およびベルリン青染色を行い、観察した。

[腫瘍性病変]

病理組織学的検査で認められた統計学的に有意な腫瘍性病変発生頻度の変動を下表に示す。

腫瘍性病変	転帰	性別および投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450
全身性: 悪性リンパ腫	78tk	3/36	2/37	1/32	0/28	8/39	↓1/39	↓2/39	4/37
	ke/fd	2/16	3/15	5/20	4/24	5/13	4/13	3/13	2/15
	All	5/52	5/52	6/52	4/52	13/52	↓5/52	↓5/52	6/52

転帰: 78tk、78週間投与後の計画殺; ke/fd、投与期間中の死亡・切迫殺; All、全動物  
表中の数値は「発生動物数/検査動物数」

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

300 および 100 ppm 群の雌の悪性リンパ腫の発生頻度に統計学的に有意な変動が認められたが、それらはいずれも減少であり、毒性学的意義がなかった。すなわち、病理組織学的検査の結果、腫瘍性病変の増加は雌雄いずれにもみられなかった。また、腫瘍発生の早期化、まれな腫瘍の増加、その他発がん性を示唆するような所見も認められなかった。

[非腫瘍性病変]

病理組織学的検査の結果認められた統計学的に有意な非腫瘍性病変発生頻度の変動を下表に示す。

非腫瘍性病変	転帰	性別および投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450
脾臓: 髄外造血亢進	78tk	6/36	2/5#	1/3#	1/28	5/39	5/8#	3/7#	4/37
	ke/fd	8/16	↓1/15	7/20	7/24	6/13	8/13	3/13	3/15
	All	14/52	3/20#	8/23#	8/52	11/52	13/21#	6/20#	7/52
膝関節: 骨関節症	78tk	30/36	-/0#	-/0#	22/28	25/39	-/0#	-/0#	25/37
	ke/fd	15/16	12/15	16/20	18/24	10/13	11/13	↓4/13	8/15
	All	45/52	12/15#	16/20#	40/52	35/52	11/13#	4/13#	33/52
肝臓: 肝細胞小増殖巣(好塩基性細胞)	78tk	6/36	0/16#	2/9#	3/28	0/39	1/6#	0/6#	1/37
	ke/fd	4/16	1/15	↓0/20	↓0/24	0/13	0/13	0/13	0/15
	All	10/52	1/31#	2/29#	↓3/52	0/52	1/19#	0/19#	1/52
腎臓: 近位尿管直部上皮細胞肥大	78tk	0/36	0/11#	0/11#	0/28	0/39	0/39	3/39	↑19/37
	ke/fd	0/16	0/15	0/20	0/24	0/13	0/13	0/13	4/15
	All	0/52	0/26#	0/31#	0/52	0/52	0/52	3/52	↑23/52
副腎: 皮髄境界部褐色色素沈着	78tk	0/36	0/1#	-/0#	0/28	2/39	6/39	3/39	↑10/37
	ke/fd	0/16	1/15	0/20	0/24	1/13	2/13	3/13	1/15
	All	0/52	1/16#	0/20#	0/52	3/52	8/52	6/52	↑11/52
大脳: 神経網空胞化	78tk	0/36	0/37	0/32	0/28	0/39	0/39	0/39	0/37
	ke/fd	0/16	0/15	0/20	↑7/24	0/13	0/13	1/13	4/15
	All	0/52	0/52	0/52	↑7/52	0/52	0/52	1/52	4/52
大脳: 神経細胞壊死	78tk	0/36	0/37	0/32	0/28	0/39	0/39	0/39	0/37
	ke/fd	0/16	0/15	0/20	↑7/24	0/13	0/13	0/13	4/15
	All	0/52	0/52	0/52	↑7/52	0/52	0/52	0/52	4/52

#:統計検定実施せず。

転帰: 78tk、78週間投与後の計画殺; ke/fd、投与期間中の死亡・切迫殺; All、全動物

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



1000/600/450 ppm 群の雌では、計画殺動物および全動物において、腎臓の近位尿細管直部上皮細胞肥大および副腎の皮髄境界部褐色色素沈着の発生頻度が有意に増加した。副腎に沈着した褐色色素は PAS 反応、シュモール反応およびベルリン青染色実施の結果から、高齢のマウスによくみられるセロイド色素あるいはリポフスチンであると考えられた。

腎臓の近位尿細管直部上皮細胞肥大は腎臓重量増加と関連することおよびラットの繁殖毒性試験（資料 毒-16）や 1 年間反復経口投与毒性試験（資料 毒-12）でも認められていることから検体投与の影響と判断した。また、副腎の皮髄境界部褐色色素沈着は無処置マウスでも観察される所見であるが、投与用量との関連性とマウスにおける 90 日間反復投与毒性試験（資料 毒-9）でも認められたことから検体投与の影響と判断した。

1000/600 ppm 群の雄では大脳の神経網空胞化ならびに神経細胞壊死が認められ、これらの発生頻度は死亡・切迫殺動物および全動物において有意に増加した。また、統計学的有意差はみられなかったが、同じ病変が 1000/600/450 ppm 群の雌の死亡・切迫殺動物 15 例中 4 例にも認められ、さらに神経網空胞化は 300 ppm 群の雌の死亡・切迫殺動物 13 例中 1 例においても観察された。大脳の神経網空胞化は本検体のマウスにおける 90 日間反復投与毒性試験（資料 毒-9）において「大脳の空胞化」と記載されていたものと同じ病変であり、主として尾状核・被殻の神経網領域における微細空胞として認められた。本試験では、この変化が投与期間の長期化に伴って増悪し、一部の動物において神経細胞壊死を発現したと考えられた。しかしながら、投与用量を下げた後さらに投与を続けた計画殺動物ではこの病変は全く観察されなかったことを考慮すると、神経網空胞化は可逆的なものであると推察された。

検体投与群で認められた上記以外の統計学的に有意な変動は、いずれも用量との関連性のない変化または発生頻度の減少であり、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

以上のように、雄は 1000/600 ppm、雌は 300 ppm 以上の投与群において検体による種々の毒性学的変化が認められた。しかし、いずれの投与群の雌雄においても被験物質による腫瘍性病変の明らかな増加はみられなかった。また、腫瘍発生の早期化、まれな腫瘍の増加、その他発がん性を示唆するような所見も認められなかった。したがって、本検体は催腫瘍性を示さないものと結論された。当該試験条件下での本検体の ICR 系 (Crj:CD-1) マウスにおける無毒性量 (NOAEL) は雄では 300 ppm (28.1 mg/kg/day)、雌では 100 ppm (9.06 mg/kg/day) と判断された。

表 1. 腫瘍性病変

転帰	臓器	性別	雄				雌			
			投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300
途中死亡・切迫殺	血液リンパ系	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		悪性リンパ腫(M)	2	3	5	4	5	4	3	2
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	1
	皮膚	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性血管周皮腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	1
	乳腺	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	1	0
		悪性筋上皮腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	骨髄	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		血管肉腫(M)	0	1	0	1	0	0	0	1
	胸腺	所見\検査動物数	15	15	20	24	13	13	13	15
		悪性胸腺腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		腺腫(B)	2	1	1	2	1	0	1	1
		腺癌(M)	1	0	1	2	0	0	1	0
	心臓	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	舌	所見\検査動物数	0	1	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌(M)		-	1	-	-	-	-	-	-	
大腸	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15	
	腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	

(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

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌							
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450				
途中死亡・切迫殺	肝臓	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15				
		肝細胞腺腫(B)	1	3	2	4	0	0	0	0				
		肝細胞癌(M)	0	0	0	2	0	0	0	0				
		血管腫(B)	1	0	1	1	0	0	0	0				
		血管肉腫(M)	0	1	1	2	0	1	0	0				
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0				
	膀胱	所見\検査動物数	16	15	20	24	13	13	13	15				
		間葉腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0				
	精巣	所見\検査動物数	16	15	20	24	/							
		間細胞腫(B)	0	0	1	0								
	子宮角	所見\検査動物数									13	13	13	15
		内膜間質ポリープ(B)									0	1	0	0
		内膜間質肉腫(M)									1	0	0	1
	膣	所見\検査動物数									13	13	13	15
		血管肉腫(M)									1	0	0	0
	下垂体	所見\検査動物数	16	15	20	24					13	13	13	15
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0					1	0	1	1
		前葉腺癌(M)	0	1	0	0					0	0	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数	16	15	20	24					13	13	13	15
		濾胞上皮腺腫(B)	0	1	0	1					0	0	0	0
	大脳	所見\検査動物数	16	15	20	24					13	13	13	15
		髄膜腫(B)	0	0	0	0					0	1	0	0
	ハーパー腺	所見\検査動物数	16	15	20	24					13	13	13	15
		腺腫(B)	0	1	0	1					0	0	0	0
		腺癌(M)	0	0	1	0					0	0	0	0
	腹腔	所見\検査動物数	2	0#	1#	1#					0	0#	0#	0#
		悪性血管周皮腫(M)	1	-	1	1					-	-	-	-
	胸腔	所見\検査動物数	0	0#	0#	0#					0	2#	0#	1#
骨肉腫(M)		-	-	-	-	-					0	-	1	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

# : 統計検定実施せず。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450
合計	良性腫瘍数		5	6	5	9	2	2	2	2
	悪性腫瘍数		5	7	11	14	8	9	8	7
	腫瘍総数		10	13	16	23	10	11	10	9
	担良性腫瘍動物数		4	4	5	9	2	2	2	2
	担悪性腫瘍動物数		5	6	9	12	8	8	8	7
	担腫瘍動物数		7	8	10	16	8	9	9	7

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
			投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300
最終計画殺	血液リンパ系	所見\検査動物数	36	37	32	28	39	39	39	37
		悪性リンパ腫(M)	3	2	1	0	8	↓1	↓2	4
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	所見\検査動物数	36	10#	9#	28	39	19#	16#	37
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		悪性血管周皮腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		脂肪腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	0	0#	0#	0#	39	1#	0#	37
		腺癌(M)	0	0	0	0	2	0	-	1
		悪性筋上皮腫(M)	0	0	0	0	0	1	-	0
	脾臓	所見\検査動物数	36	5#	3#	28	39	8#	7#	37
		血管肉腫(M)	1	0	1	0	0	2	2	1
	骨	所見\検査動物数	36	0#	0#	28	39	0#	0#	37
		骨肉腫(M)	0	-	-	0	1	-	-	0
	肺	所見\検査動物数	36	10#	8#	28	39	5#	4#	37
		腺腫(B)	4	6	5	2	6	2	2	6
		腺癌(M)	4	3	3	2	5	3	2	6
	舌	所見\検査動物数	0	1#	0#	0#	0	0#	0#	0#
		扁平上皮癌(M)	-	1	-	-	-	-	-	-
	前胃	所見\検査動物数	36	0#	0#	28	39	0#	0#	37
		扁平上皮癌(M)	0	-	-	0	0	-	-	1
	大腸	所見\検査動物数	36	0#	0#	28	39	0#	0#	37
		腺癌(M)	2	-	-	0	0	-	-	0
	肝臓	所見\検査動物数	36	16#	9#	28	39	6#	6#	37
		肝細胞腺腫(B)	13	11	6	8	1	1	2	1
		肝細胞癌(M)	0	5	1	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	1	0	1	0	1	1	0

(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

# : 統計検定実施せず。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌																			
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000 /600	0	100	300	1000 /600/ 450																
最終計画殺	肝臓	所見\検査動物数	36	16#	9#	28	39	6#	6#	37																
		血管肉腫(M)	4	0	0	1	0	1	0	1																
	腎臓	所見\検査動物数	36	11#	11#	28	39	39	39	37																
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0																
	膀胱	所見\検査動物数	36	1#	6#	28	39	0#	0#	37																
		悪性間葉腫(M)	1	0	0	0	0	-	-	1																
	精巣	所見\検査動物数	36	14#	5#	28	/																			
		間細胞腫(B)	1	0	0	0																				
	卵巢	所見\検査動物数	/								39	27#	22#	37												
		良性顆粒膜細胞腫(B)									0	0	1	0												
		悪性顆粒膜細胞腫(M)									0	0	0	1												
	子宮角	所見\検査動物数									/				39	14#	14#	37								
		平滑筋腫(B)													1	0	1	2								
		平滑筋肉腫(M)													0	3	0	1								
		内膜間質ポリープ(B)													3	0	0	4								
		内膜間質肉腫(M)													0	0	0	1								
	子宮頸部	所見\検査動物数													/				39	1#	0#	37				
		腺癌(M)																	1	0	-	0				
		内膜間質ポリープ(B)																	0	0	-	1				
	下垂体	所見\検査動物数																	36	0#	1#	28	39	2#	5#	37
		前葉腺腫(B)																	0	-	1	0	1	1	4	1
	副腎	所見\検査動物数																	36	1#	0#	28	39	39	39	37
		皮質腺腫(B)																	0	0	0	0	0	1	0	1
		褐色細胞腫(B)																	0	0	0	0	0	0	1	0
		脂肪腫(B)																	0	0	0	0	0	0	0	1
	大脳	所見\検査動物数																	36	37	32	28	39	39	39	37
希突起細胞腫(M)		0																	0	1	0	0	0	0	0	
ハーダー腺	所見\検査動物数	36																	1#	0#	28	39	3#	0#	37	
	腺腫(B)	7																	1	-	1	2	3	-	1	

(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

# : 統計検定実施せず。

表 1 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450
合計	良性腫瘍数		26	20	12	12	14	9	12	18
	悪性腫瘍数		15	11	7	3	17	16	6	18
	腫瘍総数		41	31	19	15	31	25	18	36
	担良性腫瘍動物数		21	17	12	10	12	8	9	15
	担悪性腫瘍動物数		14	11	7	3	14	12	6	15
	担腫瘍動物数		29	21	16	13	22	15	14	22

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450
全動物	血液リンパ系	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		悪性リンパ腫(M)	5	5	6	4	13	↓5	↓5	6
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	2	0	1
	皮膚	所見\検査動物数	52	25#	29#	52	52	32#	29#	52
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	1	0
		横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		悪性血管周皮腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	1
		組織球性肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	52	15#	20#	52	52	14#	13#	52
		腺癌(M)	0	0	0	0	3	0	1	1
		悪性筋上皮腫(M)	0	0	0	0	0	2	0	0
	骨髓	所見\検査動物数	52	13#	13#	52	52	13#	13#	52
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	52	20#	23#	52	52	21#	20#	52
		血管肉腫(M)	1	1	1	1	0	2	2	2
	骨	所見\検査動物数	52	15#	20#	52	52	13#	13#	52
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	胸腺	所見\検査動物数	51	17#	20#	51	52	20#	18#	52
		悪性胸腺腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	52	25#	28#	52	52	18#	17#	52
		腺腫(B)	6	7	6	4	7	2	3	7
		腺癌(M)	5	3	4	4	5	3	3	6
	心臓	所見\検査動物数	52	15#	21#	52	52	13#	13#	52
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0

(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

# : 統計検定実施せず。



表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌										
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000/600	0	100	300	1000/600/450							
全動物	舌	所見\検査動物数	0	2#	0#	0#	0	0#	0#	0#							
		扁平上皮癌(M)	-	2	-	-	-	-	-	-							
	前胃	所見\検査動物数	52	15#	20#	52	52	13#	13#	52							
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1							
	大腸	所見\検査動物数	52	15#	20#	52	52	13#	13#	52							
		腺癌(M)	2	0	0	1	0	0	0	0							
	肝臓	所見\検査動物数	52	31#	29#	52	52	19#	19#	52							
		肝細胞腺腫(B)	14	14	8	12	1	1	2	1							
		肝細胞癌(M)	0	5	1	2	0	0	0	0							
		血管腫(B)	1	1	1	2	0	1	1	0							
		血管肉腫(M)	4	1	1	3	0	2	0	1							
		組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0							
	腎臓	所見\検査動物数	52	26#	31#	52	52	52	52	52							
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0							
	膀胱	所見\検査動物数	52	16#	26#	52	52	13#	13#	52							
		間葉腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0							
		悪性間葉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	1							
	精巣	所見\検査動物数	52	29#	25#	52	/										
		間細胞腫(B)	1	0	1	0											
	卵巣	所見\検査動物数	/								52	40#	35#	52			
良性顆粒膜細胞腫(B)		0									0	1	0				
悪性顆粒膜細胞腫(M)		0									0	0	1				
子宮角	所見\検査動物数	/									52	27#	27#	52			
	平滑筋腫(B)										1	0	1	2			
	平滑筋肉腫(M)										0	3	0	1			
	内膜間質ポリープ(B)										3	1	0	4			
	内膜間質肉腫(M)										0	0	0	1			
血管肉腫(M)	1										0	0	1				

(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

# : 統計検定実施せず。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌							
		投与量 (ppm)	0	100	300	1000 /600	0	100	300	1000 /600/ 450				
全動物	子宮頸部	所見\検査動物数	/				52	14#	13#	52				
		腺癌(M)					1	0	0	0				
		内膜間質ポリープ(B)					0	0	0	1				
	腫	所見\検査動物数					52	13#	13#	52				
		血管肉腫(M)					1	0	0	0				
	下垂体	所見\検査動物数					52	15#	21#	52	52	15#	18#	52
		前葉腺腫(B)					0	0	1	0	2	1	5	2
		前葉腺癌(M)					0	1	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数					52	15#	20#	52	52	13#	13#	52
		濾胞上皮腺腫(B)					0	1	0	1	0	0	0	0
	副腎	所見\検査動物数					52	16#	20#	52	52	52	52	52
		皮質腺腫(B)					0	0	0	0	0	1	0	1
		褐色細胞腫(B)					0	0	0	0	0	0	1	0
		脂肪腫(B)					0	0	0	0	0	0	0	1
	大脳	所見\検査動物数					52	52	52	52	52	52	52	52
		希突起細胞腫(M)					0	0	1	0	0	0	0	0
		髄膜腫(B)					0	0	0	0	0	1	0	0
	ハーダー腺	所見\検査動物数					52	16#	20#	52	52	16#	13#	52
		腺腫(B)					7	2	0	2	2	3	0	1
		腺癌(M)					0	0	1	0	0	0	0	0
腹腔	所見\検査動物数	2	0#	1#	1#	0	0#	0#	0#					
	悪性血管周皮腫(M)	1	-	1	1	-	-	-	-					
胸腔	所見\検査動物数	0	0#	0#	0	0	2#	0#	1					
	骨肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	-	1					
合計	良性腫瘍数	31	26	17	21	16	11	14	20					
	悪性腫瘍数	20	18	18	17	25	25	14	25					
	腫瘍総数	51	44	35	38	41	36	28	45					
	担良性腫瘍動物数	25	21	17	19	14	10	11	17					
	担悪性腫瘍動物数	19	17	16	15	22	20	14	22					
	担腫瘍動物数	36	29	26	29	30	24	23	29					

(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

# : 統計検定実施せず。