

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

⑬ 慢性毒性/発がん性試験

(1) ラットを用いた慢性毒性/発がん性試験

(資料 No. 毒 A26)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1984 年

検体純度 :

試験動物 : Fischer 344 系ラット、1 群雌雄各 80 匹、試験開始時約 6 週齢。但し、各群雌雄各 50 匹は発がん性試験に用い、他の各群各性 30 匹は衛星群として反復経口投与毒性試験に用いた。また、衛星群の内各群各性 10 匹を投与 52 週時に中間屠殺した。投与開始時体重; 雄 97~121 g、雌 78~91 g

投与期間 : 24 ヶ月間(1981 年 11 月 24 日~1983 年 11 月 30 日)

投与方法 : 検体を直接粉末飼料に 0、60、430 及び 3000 ppm の濃度で混合し、ラットに自由摂取させた。試験飼料は週 1 回調製した。

投与用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察し、詳細な観察(外観、状態、行動、活動、排泄、呼吸、開口部、眼及び触知可能な腫瘤)を週 1 回実施した。

各群間に一般症状の差異はなく、検体投与に関連する死亡例は認められなかった。

試験期間中における死亡数(死亡率)を以下の表に示す。

投与量(ppm)			0	60	430	3000
死亡数	52 週時*	雄	0/80 (0)	0/80 (0)	0/80 (0)	1/80 (1.3)
		雌	0/80 (0)	1/80 (1.3)	0/80 (0)	0/80 (0)
	78 週時	雄	1/70 (1.4)	4/70 (5.7)	2/70 (2.9)	3/70 (4.3)
		雌	3/70 (4.3)	7/70 (10.0)	0/70 (0)	2/70 (2.9)
	104 週時	雄	20/70 (28.6)	13/70 (18.6)	11/70 (15.7)	17/70 (24.3)
		雌	13/70 (18.6)	21/70 (30.0)	9/70 (12.9)	14/70 (20.0)

*52 週時に各群各性 10 匹を中間屠殺、括弧内は死亡率(%)

雄における顕著な所見として、触診可能な腫瘤(腹腔内腫瘤)、精巣の腫脹/停留精巣であった。両所見とも対照群を含む全群の雄にみられ、430 及び 3000 ppm 群に多かった。その他の所見として、眼周囲の発赤、角膜混濁、腹部の硬結、努力呼吸等が観察されたが、雌雄ともに各群間に発現率の差は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

主な所見の発生率(%)を以下の表に示す。

性別		雄				雌			
所見\投与量(ppm)		0	60	430	3000	0	60	430	3000
触診可能な腫瘤	79-91 週	40	29	46	57	25	21	24	18
	92-106 週	62	55	75	80	42	27	27	26
精巣腫脹/ 停留精巣	79-91 週	34	29	63	76	—	—	—	—
	92-106 週	51	44	70	68	—	—	—	—
眼周囲発赤	79-91 週	21	11	12	10	45	49	34	47
	92-106 週	27	15	13	12	39	41	41	42
角膜混濁	79-91 週	13	9	15	9	6	8	6	4
	92-106 週	10	17	22	15	9	9	8	6
腹部の硬結	79-91 週	3	0	0	0	1	2	0	0
	92-106 週	17	6	11	20	10	9	6	10
努力呼吸	79-91 週	6	0	4	4	3	6	4	6
	92-106 週	8	11	16	12	13	9	6	8

発生率(%)は検査週の始めの生存数に対する罹患動物のパーセント

体重変化; 試験開始から 14 週間は週 1 回、その後は 2 週に 1 回個別体重を測定した。

ほぼ試験期間を通じて、3000 ppm 群雌雄の体重は対照群に比較して統計学的に有意な低値を示した。また、60 及び 430 ppm 群においても有意差が散見されたが、減少の程度は軽微であり、投与の影響とは考えられなかった。試験 26、52、78 及び 104 週時における統計学的有意差の認められた平均体重の対照群に対する割合を以下の表に示す。

投与量(ppm)			60	430	3000
体重	26 週	雄	↓97	↓98	↓96
		雌		↓97	↓92
	52 週	雄	↓98		↓96
		雌	↓98	↓97	↓92
	78 週	雄		↓97	↓94
		雌	↓97	↓97	↓88
	104 週	雄			↓92
		雌		↓97	↓88

t 検定 (Dunnett 多重比較表) ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜慢性毒性/発がん性試験＞

摂餌量及び食餌効率；摂餌量を週 1 回個体別に測定し、試験開始から 14 週間の食餌効率を算出した。

3000 ppm 群雌雄及び 430 ppm 群雌の摂餌量(g/kg/day)は対照群に比較して有意な高値を示し、また、60 及び 430 ppm 群でも投与量相関性のある軽度の増加が散見された。しかし、1 匹あたりの摂餌量(g/animal/day)では、3000 ppm 群雌で有意な低値がみられた以外に投与群は対照と同等の値を示した。また、食餌効率は全投与群で変動(増減)し、有意差が散見された。試験 14、26、52、78 及び 104 週時における有意差の認められた摂餌量(g/kg/day)、14 週の摂餌量(g/animal/day)と食餌効率の対照群に対する割合を以下の表に示す。

投与量(ppm)			60	430	3000
摂餌量 (g/kg/day)	14 週	雄	↑102	↑103	↑104
		雌		↑106	↑103
	26 週	雄			↑104
		雌	↑104	↑106	↑106
	52 週	雄	↑103	↑104	↑106
		雌	↑104	↑105	↑106
	78 週	雄		↑106	↑104
		雌		↑108	↑112
	104 週	雄	↑103	↑105	↑111
		雌		↑106	↑113
摂餌量 (g/animal/day)	14 週	雄			
		雌			↓95
食餌効率 (%)	14 週	雄	↑126	↓58	↓53
		雌		↓64	↓53

t 検定 (Dunnett 多重比較表) ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

検体摂取量；投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量を以下の表に示す。

投与量(ppm)		60	430	3000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.20	23.1	163
	雌	4.02	29.3	207

飲水量；各衛星群から無作為に抽出した雌雄各 10 匹を対象として、試験 25、51、77 及び 103 週時に個体別飲水量を測定した。

全ての投与群で対照群に比較して統計学的有意差は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜慢性毒性/発がん性試験＞

眼科学的検査；試験開始前の全てのラットを対象に、また、衛星群を除く対照群及び 3000 ppm 群の全動物を対象として、試験 6、13、25、52、78 及び 104 週時に、1% tropicamide 液の点眼で散瞳させたのち間接検眼鏡を用いて検査した。

観察された病変は動物の週齢、性、系統に普通にみられるものであり、検体投与との関連は認められなかった。白内障及び眼球癆の発現頻度が高かったが、対照群と投与群に差はみられなかった。

血液学的検査；試験開始前及び試験期間中は 26 週時に衛星群から選抜した各群各性 10 匹を対象として、1 晩絶食後、眼窩静脈叢より採血した。検査は試験 26、52、78 及び 104 週時に実施し、以下の項目について測定した。

総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、網赤血球数、白血球分画、MCV、MCH 及び MCHC

検体投与に起因する変化は認められず、対照群と比較して散見された統計学的有意差も毒性学的意義はないと考えられた。特に、3000 ppm 群雌で MCV 及び MCH の低下は他の基本的検査項目の値と関連していなかった。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)		60	430	3000	60	430	3000
ヘモグロビン濃度	78 週				↓95		
ヘマトクリット値	78 週				↓96		
MCV	78 週						↓98
MCH	52 週						↓98
	78 週						↓97
血小板数	26 週						↓92
	52 週						↓88
	78 週					↓94	
好中球数	78 週			↑119			
リンパ球数	78 週			↓87			

t 検定 (Dunnett 多重比較表) ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

血液生化学的検査；血液学的検査と同時期の同一動物から採取した血液の血清を用いて以下の項目について測定した。

Na、K、Cl、Ca、無機リン、アルカリホスファターゼ (ALP)、総ビリルビン、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)、乳酸脱水素酵素、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、コレステロール及びグルコース

雌雄で ALP、AST、ALT 及び雌で BUN の統計学的に有意な低下がみられたが、これらには生物学的な意義はないと考えられた。3000 ppm 群でグロブリンの軽度な上昇(雄、104 週)、コレステロールの上昇(雌、78 週)がみられたが、関連する検査項目の変動とは一致しておらず、K 及び Cl の変動とも関連しなかった。従って、これらは偶発所見と考えられた。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)		60	430	3000	60	430	3000
ALP	52 週			↓83			
	78 週			↓88		↓90	↓79
	104 週						↓71
AST	26 週			↓83			↓77
	52 週			↓76			
	78 週						↓82
	104 週						↓82
ALT	26 週			↓81			↓75
	52 週			↓74			↓77
	78 週			↓79			
	104 週						↓85
BUN	104 週				↓91		↓88
クレアチニン	104 週				↓83		
グロブリン	104 週	↑118		↑114			
コレステロール	78 週						↑119
Na	104 週	↓97					
K	78 週				↓90		↓82
	104 週						↓85
Cl*	78 週						↓97
	104 週	↓97					

t 検定 (Dunnett 多重比較表) ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01、* Kruskal-Wallis 検定 ↑↓: P<0.05

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

尿検査；血液学的検査と同時期の同一動物から 16 時間絶食の間に代謝ケージに入れて個体別に尿を採取した。採取した尿について以下の項目を検査した。

色調、外観、尿沈渣の鏡検、比重、尿量、pH、蛋白、グルコース、潜血、亜硝酸塩、ビリルビン、ケトン体及びウロビリノーゲン

検体投与に起因する変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜慢性毒性/発がん性試験＞

臓器重量；試験終了時の全生存動物及び12ヶ月中間屠殺動物の各群各性10匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比を算出した。なお、副腎及び卵巣は固定後測定した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、精巣

中間屠殺及び最終屠殺において様々な臓器に統計学的な有意差がみられたが、肝臓を除いて生物学的に意義のある、投与量と関連した、組織学変化とも関連する重量変化はみられなかった。

投与終了時に3000 ppm群の雌雄では肝臓の重量、対体重比及び対脳重量比が対照群に比較して統計学的に有意に増加した。これらの増加と関連した病理組織学的変化が認められなかったことから、同群の肝臓重量増加と投与との関連を明らかにすることはできなかった。対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を以下の表に示す。

12ヶ月中間屠殺動物

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		60	430	3000	60	430	3000
体重				↓95		↓91	
脾臓	重量			↓84			
	対体重比			↓88			
	対脳重比			↓85			
肝臓	重量					↓90	
	対体重比			↑116			↑113
	対脳重比					↓88	
腎臓	重量					↓93	
	対体重比			↑106			
	対脳重比					↓91	
精巣	重量			↑109	-	-	-
	対体重比			↑116	-	-	-
	対脳重比			↑112	-	-	-
卵巣	重量	-	-	-	↑124		
	対体重比	-	-	-	↑130		
	対脳重比	-	-	-	↑123		
副腎	対体重比			↑112			
心臓	対体重比			↑110			
肺	対体重比						↑108
脳	対体重比					↑114	

t検定(Dunnett多重比較表) ↑↓:P<0.05, ↑↓:P<0.01

表中の数値は、対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

24ヶ月最終屠殺動物

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		60	430	3000	60	430	3000
体重			↓96	↓91			↓89
肝臓	重量			↑115			↑110
	対体重比			↑127			↑125
	対脳重比			↑117			↑110
脾臓	重量			↑135			
	対体重比		↑120	↑149			
	対脳重比			↑137			
腎臓	重量						↑108
	対体重比			↑112			↑122
	対脳重比						↑108
精巣	対体重比			↑123	-	-	-
卵巢	対体重比	-	-	-			↑117
副腎	重量	↑109		↑106	↓91	↓93	
	対体重比	↑111		↑116	↓91		↑110
	対脳重比	↑110		↑106	↓91	↓93	
心臓	対体重比		↑106	↑111			↑117
肺	対体重比		↑109	↑119			↑113
脳	対体重比		↑104	↑109			↑113

t検定(Dunnnett 多重比較表) ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01

表中の数値は、対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし、-は該当しないことを示す

肉眼的病理検査; 試験終了時の全生存動物、全ての切迫屠殺動物及び12ヶ月時の中間屠殺動物を対象にして、二酸化炭素吸入により屠殺し、剖検を行った。外観検査後、各動物を切開し、腹腔、胸腔及び頭蓋腔の臓器組織をそのままの位置で検査し、摘出してから断面を検査した。

検体投与に関連する剖検所見は認められなかった。レンズあるいは角膜の混濁、肺の鬱血、下垂体の肥大、精巣の褐色領域及び停留、子宮の腫瘤等が対照群及び検体投与群に高頻度にみられ、本系統の加齢ラットに通常みられる所見であり、偶発所見と考えられた。比較的高頻度に見られた病変を以下の表に示す。

申請者註:

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 1-1> 肉眼病理検査

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	60	430	3000	0	60	430	3000
12ヶ月計画屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		10	10	10	11	10	11	10	10
子宮	腫瘍	-	-	-	-	1(10)	0(0)	1(10)	1(10)
24ヶ月計画屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		50	57	59	53	57	49	61	56
眼球	レンズ/角膜の混濁	10(20)	7(12)	17(29)	7(13)	15(26)	↓3(6)	↓7(11)	↓4(7)
腎臓	変色、緑/黄色	2(4)	0(0)	8(14)	5(9)	2(4)	0(0)	2(3)	0(0)
肝臓	顆粒状	3(6)	5(9)	8(14)	8(15)	3(5)	4(8)	1(2)	3(5)
肺	鬱血	15(30)	16(28)	11(19)	12(23)	5(9)	5(10)	8(13)	5(9)
	赤/黒色領域	7(14)	4(7)	11(19)	5(9)	7(12)	6(12)	11(18)	10(18)
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	9(16)	5(10)	11(18)	10(18)
下垂体	肥大	6(12)	9(16)	5(8)	8(15)	10(18)	11(22)	14(23)	9(16)
精囊	小型	7(14)	10(18)	16(27)	12(23)	-	-	-	-
皮膚、皮下	腫瘍、褐色/潰瘍/ 壊死性/乳頭状	4(8)	4(7)	10(17)	11(21)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
脾臓	肥大	11(22)	8(14)	17(29)	14(26)	6(11)	3(6)	3(5)	3(5)
精巣	褐色領域	46(92)	53(93)	57(97)	52(98)	-	-	-	-
	停留精巣	26(52)	22(39)	34(58)	35(66)	-	-	-	-
子宮	腫瘍	-	-	-	-	7(12)	11(22)	7(11)	11(20)
死亡・切迫屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		20	13	11	16	13	20	9	14
眼球	レンズ/角膜の混濁	1(5)	3(23)	1(9)	3(19)	1(8)	3(15)	0(0)	0(0)
腎臓	変色、緑/黄色	2(10)	0(0)	1(9)	2(13)	0(0)	2(10)	2(22)	2(14)
肝臓	顆粒状	5(25)	0(0)	0(0)	5(31)	0(0)	2(10)	3(33)	2(14)
肺	鬱血	2(10)	3(23)	2(18)	2(13)	0(0)	0(0)	1(11)	1(7)
	赤/黒色領域	4(20)	1(8)	1(9)	4(25)	0(0)	5(25)	0(0)	2(14)
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	2(15)	2(10)	0(0)	1(7)
下垂体	肥大	1(5)	2(15)	3(27)	3(19)	4(31)	9(45)	0(0)	3(21)
精囊	小型	0(0)	0(0)	1(9)	0(0)	-	-	-	-
皮膚、皮下	腫瘍、褐色/潰瘍/ 壊死性/乳頭状	1(5)	2(15)	1(9)	3(19)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
脾臓	肥大	12(60)	7(54)	↓2(18)	11(69)	8(62)	9(45)	6(67)	6(43)
精巣	褐色領域	13(65)	10(77)	5(45)	13(81)	-	-	-	-
	停留精巣	3(15)	1(8)	2(18)	2(13)	-	-	-	-
子宮	腫瘍	-	-	-	-	3(23)	2(10)	1(11)	4(29)

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の数値は発生数、括弧内に発生率(%)、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 1-1> 肉眼病理検査 つづき

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	60	430	3000	0	60	430	3000
全動物									
臓器・所見\検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80
眼球	レンズ/角膜の混濁	11(14)	10(13)	18(23)	10(13)	16(20)	↓6(8)	↓7(9)	↓4(5)
腎臓	変色、緑/黄色	4(5)	0(0)	9(12)	7(9)	2(3)	2(3)	4(5)	2(3)
肝臓	顆粒状	8(10)	5(6)	8(10)	13(16)	3(4)	6(8)	4(5)	5(6)
肺	鬱血	17(21)	19(24)	13(16)	14(18)	5(6)	5(6)	9(12)	6(8)
	赤/黒色領域	11(14)	5(6)	12(15)	9(12)	7(9)	11(14)	11(14)	12(15)
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	11(14)	7(9)	11(14)	11(14)
下垂体	肥大	7(9)	11(14)	8(10)	11(14)	14(18)	20(25)	14(18)	12(15)
精囊	小型	7(9)	10(13)	17(21)	12(15)	-	-	-	-
皮膚、皮下	腫瘍、褐色/潰瘍/壊死性/乳頭状	5(6)	6(8)	11(14)	14(18)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
脾臓	肥大	23(29)	15(19)	19(24)	25(31)	14(18)	12(15)	9(12)	9(12)
精巣	褐色領域	59(74)	63(79)	62(78)	65(81)	-	-	-	-
	停留精巣	29(36)	23(29)	36(45)	37(46)	-	-	-	-
子宮	腫瘍	-	-	-	-	11(14)	13(16)	9(12)	16(20)

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05, ↑↑: P<0.01 (申請者実施)

表中の数値は発生数、括弧内に発生率(%), -は該当しないことを示す

病理組織学的検査; 試験終了時の全生存動物、試験期間中の全ての死亡動物及び切迫屠殺動物ならびに 12 ヶ月時の中間屠殺動物を対象にして、以下の臓器・組織を採取し、固定、薄切してヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製して鏡検した。また、各群各性 10 匹について頭部の横断切片を作製して検査した。なお、抄録の病理組織所見の統計処理は申請者が実施し、リンパ網内系及び軟部組織の病変は検査動物数(臓器数)の代わりに解剖動物数を用いた。

副腎、脳、ハーダー腺、眼球、消化管(食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸)、性腺(卵巣、精巣、精巣上体)、心臓、腎臓、肝臓、肺(気管を含む)、リンパ節(縦隔、腸間膜、必要に応じその他の部位)、乳腺部、膵臓、下垂体、前立腺、精囊、唾液腺、顎下リンパ節を含む顎下腺、坐骨神経、骨格筋(大腿部)、皮膚、脊髄(頸部)、脊髄及び脊椎(腰部)、脾臓、胸骨(骨、骨髄)、胸腺部、甲状腺、上皮小体、気管、膀胱、子宮(角、頸部)、膺、腫瘍及び領域リンパ節、全ての病変部

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 2-1(52 週及び 104 週計画屠殺動物)、表 2-2(死亡・切迫屠殺動物及び全動物)に示す。

多数の臓器に種々の炎症性病変、肝臓の胆管過形成、副腎の毛細血管拡張症、肺の鬱血、心臓の変性及び線維化、慢性腎炎(進行性糸球体腎炎)、膵臓の萎縮、卵巣嚢胞、眼球角膜の石灰化等が観察された。これらの所見は対照群を含む各投与群に観察され、この系統の加齢ラットに通常みられる病変であって、検体投与に関連する所見ではないと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

申請者註: _____

<表 2-1>病理組織学的検査 非腫瘍性病変 (52 週及び 104 週計画屠殺動物)

性別		雄				雌			
		0	60	430	3000	0	60	430	3000
52 週計画屠殺動物*									
副腎皮質	空胞化	2/10	1/10	5/10	↑9/11	0/10	0/11	0/10	0/10
ハーター腺	リンパ球浸潤	0/10	0/10	2/10	1/11	2/10	1/11	0/10	2/10
心臓	変性	2/10	0/10	0/10	0/11	0/10	0/11	0/10	0/10
腎臓	慢性腎炎	7/10	6/10	9/10	8/11	2/10	1/11	2/10	0/10
肝臓	胆管過形成	0/10	0/10	0/10	0/11	1/10	0/11	0/10	0/10
	慢性肝炎	1/10	1/10	0/10	0/11	1/10	3/11	0/10	0/10
下垂体	嚢胞	0/10	0/10	1/10	2/11	1/10	0/11	1/10	0/10
前立腺	化膿性炎	0/10	1/10	1/10	1/11	-	-	-	-
精巣	間細胞過形成	5/10	3/10	3/10	6/11	-	-	-	-
104 週計画屠殺動物									
副腎皮質	空胞化	11/50	9/57	14/59	18/53	15/57	17/49	25/61	21/56
	毛細血管拡張症	25/50	27/57	36/59	20/53	41/57	22/49	35/61	21/56
眼球	石灰化	27/48	48/57	40/59	33/53	23/57	19/49	9/61	5/56
ハーター腺	リンパ球浸潤	13/48	22/57	22/59	16/53	29/57	22/49	41/61	22/56
心臓	変性	31/50	36/57	47/59	36/53	39/57	16/49	23/61	23/56
	線維化	29/50	36/57	47/59	36/53	37/57	16/49	22/61	23/56
腎臓	慢性腎炎	50/50	57/57	59/59	53/53	52/57	49/49	60/61	56/56
肝臓	胆管過形成	49/50	54/57	56/59	51/53	18/57	3/49	17/61	10/56
	慢性肝炎	12/50	13/57	11/59	15/53	28/57	24/49	37/61	23/56
肺	鬱血	8/50	14/57	13/59	13/53	16/57	7/49	10/61	8/56
	気管支周囲リンパ球浸潤	13/50	19/57	20/59	19/53	14/57	14/49	13/61	10/56
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	7/57	6/49	10/61	12/56
脾臓	萎縮	3/50	14/57	12/59	11/53	5/57	5/49	7/61	8/56
下垂体	嚢胞	5/50	1/57	3/59	0/53	5/57	7/48	12/61	12/56
前立腺	化膿性炎	11/50	20/57	15/58	3/53	-	-	-	-

Fisher's exact test ↑↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、-は該当しないことを示す

*: 3000 ppm 群の 11 匹には途中死亡動物が含まれる

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 2-2> 病理組織学的検査 非腫瘍性病変(死亡・切迫屠殺動物及び全動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	60	430	3000	0	60	430	3000
死亡・切迫屠殺動物									
副腎皮質	空胞化	2/20	3/12	3/11	6/16	3/13	3/20	5/9	7/14
	毛細血管拡張症	1/20	0/12	2/11	0/16	0/13	5/20	3/9	2/14
眼球	石灰化	3/20	2/13	5/11	3/16	0/13	1/20	0/9	0/14
ハーター腺	リンパ球浸潤	2/20	5/13	1/11	1/16	6/13	9/20	3/9	2/14
心臓	変性	14/20	4/13	4/11	8/16	3/13	4/20	3/9	0/14
	線維化	14/20	5/13	4/11	8/16	3/13	4/20	3/9	0/14
腎臓	慢性腎炎	18/20	9/13	11/11	16/16	9/13	11/20	7/9	10/14
肝臓	胆管過形成	8/20	5/13	6/11	7/16	3/13	2/20	1/9	2/14
	慢性肝炎	1/20	0/13	0/11	1/16	1/13	1/20	2/9	2/14
肺	鬱血	4/20	1/13	3/11	1/16	0/13	2/20	0/9	1/14
	気管支周囲リンパ球浸潤	1/20	2/13	1/11	0/16	1/13	3/20	0/9	0/14
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	1/13	4/20	0/9	2/14
脾臓	萎縮	4/19	1/13	0/11	1/15	0/13	3/20	0/9	0/14
下垂体	嚢胞	2/20	0/13	0/11	0/15	4/13	0/20	0/9	1/14
前立腺	化膿性炎	4/20	4/13	4/11	2/16	-	-	-	-
全動物									
副腎皮質	空胞化	15/80	13/79	22/80	↑33/80	18/80	20/80	30/80	28/80
	毛細血管拡張症	26/80	27/79	38/80	20/80	41/80	27/80	38/80	23/80
眼球	石灰化	30/78	50/80	45/80	36/80	23/80	20/80	9/80	5/80
ハーター腺	リンパ球浸潤	15/78	27/80	25/80	18/80	37/80	32/80	44/80	26/80
心臓	変性	47/80	40/80	51/80	44/80	42/80	20/80	26/80	23/80
	線維化	43/80	41/80	51/80	44/80	40/80	20/80	25/80	23/80
腎臓	慢性腎炎	75/80	72/80	79/80	77/80	63/80	61/80	69/80	66/80
肝臓	胆管過形成	57/80	59/80	62/80	58/80	22/80	5/80	18/80	12/80
	慢性肝炎	14/80	14/80	11/80	16/80	30/80	28/80	39/80	25/80
肺	鬱血	12/80	15/80	16/80	14/80	16/80	9/80	10/80	9/80
	気管支周囲リンパ球浸潤	14/80	21/80	21/80	19/80	15/80	17/80	13/80	10/80
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	8/80	10/80	10/80	14/80
脾臓	萎縮	7/79	15/80	12/80	12/79	5/80	8/79	7/80	8/80
下垂体	嚢胞	7/80	1/80	4/80	2/79	10/80	7/79	13/80	13/80
前立腺	化膿性炎	15/80	25/80	20/79	6/80	-	-	-	-
精巣	間細胞過形成	5/80	3/80	3/80	6/80	-	-	-	-

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜慢性毒性/発がん性試験＞

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 3-1(52 週計画屠殺動物)、表 3-2(104 週計画屠殺動物)、表 3-3(死亡・切迫屠殺動物)及び表 3-4(全動物)に、総腫瘍数及び担腫瘍動物数のまとめを表 4 にそれぞれ示す。

本試験における主な死因は単核細胞性白血病(下記申請者註も参照)及び下垂体腺腫であった(表 3-3)。これら腫瘍発生に群間の差はみられなかった。

さらに、Fischer 344 ラットに頻発する子宮ポリープ(子宮内膜間質腫瘍)、精巣の間細胞腫(良性)もみられた。生存中に観察された「精巣腫脹/停留精巣」は間細胞腫との関連性が考えられた。

その他に乳腺の線維腺腫、副腎髄質の褐色細胞腫、副腎皮質の腺腫、陰核腺あるいは包皮腺の腺腫または癌、肝臓の腫瘍性結節、肝細胞癌、甲状腺及び上皮小体の腫瘍及び様々な皮膚腫瘍が観察された。

以上の所見は Fischer344 ラットに通常自然発生し、あるいはまた加齢によって発現する病理組織学的所見であって、検体投与に関連するものではないと考えられた。

乳腺線維腺腫の統計学的に有意な増加が 3000 ppm 群雄(中間屠殺を除いた 70 匹中 6 匹、8.6%)にみられたが、本試験における対照群での発生率が異常に低かった(0%)ために得られた結果であり、毒性学的意義は疑わしいと考えられた。報告書では下記文献を引用し、Fischer 344 雄ラットの乳腺腫瘍(37 例中 34 例が線維腺腫)の発生頻度が高いと述べている(雄 160 匹中の 21.3%)。

B Sass, LS Rabstein, R Madison, RM Nims, RL Peters & GJ Kelloff:
Incidence of spontaneous neoplasms in F344 rats throughout the natural life span. J Natl Cancer Inst 54, 1449-1456, (1975)

他に統計学的有意差のある腫瘍の発現(リンパ網内系の単核細胞性白血病、前立腺の腺腫)もみられたが、投与量との関連性が乏しく、検体の影響とは考えられなかった。また、担腫瘍動物数(良性、悪性、何れかの腫瘍を有する)にも統計学的な有意差は認められなかった(表 4)。従って本検体は本試験条件下において、この系統のラットに対し、催腫瘍性はないと判断された。

申請者註:

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

申請者註: _____

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 3-1> 病理組織学的検査 腫瘍性病変 (52 週計画屠殺動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	60	430	3000	0	60	430	3000
52 週計画屠殺動物*									
副腎髓質	褐色細胞腫 (B)	0/10	0/10	1/10	0/11	0/10	0/11	0/10	0/10
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0/10	1/10	0/10	0/11	0/10	0/11	1/10	0/10
肺	肺胞気管支腺癌 (M)	0/10	0/10	0/10	0/11	0/10	1/11	0/10	0/10
下垂体	腺腫 (B)	0/10	0/10	1/10	0/11	0/10	0/11	0/10	0/10
精巣	間細胞腫 (B)	0/10	0/10	2/10	3/11	-	-	-	-
子宮	ポリープ (B)	-	-	-	-	1/10	0/11	1/10	0/10

Fisher's exact test で有意差なし (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍、-は該当しないことを示す

*: 3000 ppm 群雄の 11 匹には途中死亡動物が含まれる

<表 3-2> 病理組織学的検査 腫瘍性病変 (104 週計画屠殺動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	60	430	3000	0	60	430	3000
104 週計画屠殺動物									
副腎髓質	褐色細胞腫 (B)	4/50	6/57	9/59	5/53	0/57	2/49	0/61	2/56
	皮質腺腫 (B)	0/50	0/57	0/59	1/53	3/57	2/49	0/61	0/56
脳	膠細胞腫 (B)	0/50	1/57	1/59	1/53	0/57	0/49	0/61	0/56
陰核腺	腺腫 (B)	-	-	-	-	0/2	0/1	1/2	0/2
	癌 (M)	-	-	-	-	1/2	0/1	0/2	0/2
	皮脂腺癌 (M)	-	-	-	-	1/2	0/1	0/2	0/2
眼球	平滑筋腫 (B)	0/48	0/57	0/59	1/53	0/57	0/49	0/61	0/56
腎臓	脂肪腫 (B)	0/50	0/57	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	混合腫瘍 (B)	0/50	0/57	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	混合腫瘍 (M)	0/50	1/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
肝臓	腫瘍性結節 (B)	2/50	1/57	1/59	1/53	0/57	0/49	2/61	2/56
	肝細胞癌 (M)	0/50	2/57	0/59	1/53	0/57	0/49	0/61	0/56
肺	肺胞気管支腺腫 (B)	0/50	0/57	0/59	2/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	肺胞気管支腺癌 (M)	0/50	0/57	0/59	1/53	0/57	0/49	0/61	0/56
リンパ網内系	単核細胞性白血病 (M)	6/6	10/10	↑20/20	↑15/15	7/7	6/6	10/10	8/8
乳腺	線維腺腫 (B)	0/50	1/56	1/59	↑6/53	5/57	3/49	1/61	4/56
	腺癌 (M)	0/50	0/56	0/59	1/53	1/57	0/49	1/61	0/56
鼻	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/11	0/11
口腔	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/11	1/11	0/11	0/10	1/12	0/11
卵巣	顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	1/57	0/49	0/61	0/56
脾臓	島細胞腺腫 (B)	4/50	2/57	2/59	2/53	0/57	1/49	0/61	1/56
上皮小体	腺腫 (B)	0/35	0/49	0/43	0/45	1/45	0/40	0/51	0/46
下垂体	腺腫 (B)	18/50	20/57	13/59	11/53	27/57	23/48	24/61	23/56

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05, ↑↓↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 3-2> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(104 週計画屠殺動物) つづき

性別		雄				雌			
		0	60	430	3000	0	60	430	3000
104 週計画屠殺動物									
包皮腺	癌 (M)	1/3	0/0	0/4	0/0	-	-	-	-
前立腺	腺腫 (B)	7/50	↓0/57	↓0/58	7/53	-	-	-	-
唾液腺	線維肉腫 (M)	0/50	0/57	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	扁平上皮癌 (M)	0/50	0/57	0/59	0/53	1/57	0/49	0/61	0/56
精囊	腺腫 (B)	0/50	0/57	0/58	1/53	-	-	-	-
骨格筋	横紋筋肉腫 (M)	1/50	0/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
皮膚	基底細胞腫 (B)	0/50	1/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	線維腫 (B)	4/50	1/57	2/59	3/53	1/57	0/49	0/61	0/56
	角化棘細胞腫 (B)	0/50	0/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	2/56
	脂肪腫 (B)	0/50	0/57	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	1/56
	乳頭腫 (B)	1/50	3/57	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	皮脂腺腫 (B)	1/50	0/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	線維肉腫 (M)	0/50	0/57	2/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	扁平上皮癌 (M)	0/50	0/57	0/59	1/53	0/57	0/49	0/61	0/56
軟部組織	中皮腫 (B)	0/50	0/57	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	傍神経節腫 (B)	0/50	0/57	0/59	1/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	線維腫 (B)	0/50	1/57	0/59	0/53	0/57	1/49	0/61	0/56
	脂肪腫 (B)	0/50	0/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	1/56
	血管腫 (B)	0/50	1/57	0/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
	腺癌 (M)	0/50	0/57	0/59	0/53	0/57	0/49	1/61	0/56
	血管肉腫 (M)	0/50	0/57	0/59	0/53	0/57	0/49	1/61	0/56
	線維肉腫 (M)	0/50	0/57	2/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
精巣	間細胞腫 (B)	49/50	56/57	58/59	52/53	-	-	-	-
	悪性中皮腫 (M)	1/50	0/57	0/59	0/53	-	-	-	-
胸腺	胸腺腫 (B)	0/38	0/46	1/46	1/39	0/46	0/38	0/50	0/42
甲状腺	傍濾胞細胞腺腫 (B)	2/50	3/56	2/59	6/53	2/57	3/49	3/61	3/56
	濾胞細胞腺癌 (M)	0/50	0/56	1/59	1/53	0/57	0/49	0/61	1/56
	傍濾胞細胞腺癌 (M)	0/50	0/56	1/59	0/53	0/57	0/49	0/61	0/56
舌	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/11
子宮	ホリープ (B)	-	-	-	-	11/57	14/49	13/61	14/56
	腺癌 (M)	-	-	-	-	0/57	1/49	0/61	1/56
子宮頸部	ホリープ (B)	-	-	-	-	0/57	1/49	0/61	0/56

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↑: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 3-3> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(死亡・切迫屠殺動物)

性別		雄				雌			
		臓器・所見\投与量(ppm)							
		0	60	430	3000	0	60	430	3000
死亡・切迫屠殺動物									
副腎髓質	褐色細胞腫 (B)	1/20	3/12	0/11	2/16	0/13	1/20	0/9	0/14
	悪性褐色細胞腫 (M)	0/20	0/12	0/11	1/16	0/13	0/20	0/9	1/14
	皮質腺腫 (B)	1/20	0/12	0/11	0/16	0/13	1/20	0/9	0/14
	皮質腺癌 (M)	1/20	0/12	0/11	0/16	0/13	0/20	0/9	0/14
骨	骨肉腫 (M)	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	1/3	0/0	0/1
脳	膠細胞腫 (B)	1/20	0/13	0/11	0/16	0/13	1/20	0/9	0/14
	脳室上衣腫 (B)	0/20	0/13	0/11	0/16	0/13	0/20	0/9	1/14
陰核腺	腺腫 (B)	-	-	-	-	0/1	0/0	1/1	0/0
	悪性基底細胞腫 (M)	-	-	-	-	1/1	0/0	0/1	0/0
肝臓	腫瘍性結節 (B)	1/20	0/13	0/11	2/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	肝細胞癌 (M)	0/20	0/13	0/11	0/16	0/13	0/20	1/9	0/14
リンパ ^o 網内系	単核細胞性 白血病 (M)	13/14	7/7	5/5	12/12	9/9	11/11	6/6	9/9
	悪性リンパ ^o 腫、 組織球性 (M)	1/14	0/7	0/5	0/12	0/9	0/11	0/6	0/9
乳腺	線維腺腫 (B)	0/20	0/13	1/10	0/14	1/13	0/19	0/9	1/14
	線維腫 (B)	0/20	0/13	0/10	1/14	0/13	0/19	0/9	0/14
耳	乳頭腫 (B)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
脾臓	島細胞腺腫 (B)	0/19	0/13	0/11	1/15	0/13	0/20	0/9	0/14
下垂体	腺腫 (B)	4/20	3/13	5/11	4/15	5/13	9/20	3/9	3/14
包皮腺	癌 (M)	0/0	1/1	0/0	0/0	-	-	-	-
皮膚	基底細胞腫 (B)	1/20	0/13	0/11	0/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	線維腫 (B)	0/20	0/13	0/11	2/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	扁平上皮癌 (M)	0/20	0/13	0/11	0/16	0/13	0/20	0/9	1/14
軟部組織	中皮腫 (B)	1/20	1/13	0/11	0/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	線維腫 (B)	1/20	0/13	1/11	0/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	脂肪腫 (B)	0/20	0/13	0/11	1/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	線維肉腫 (M)	1/20	1/13	1/11	2/16	0/13	0/20	0/9	0/14
	扁平上皮癌 (M)	0/20	1/13	2/11	0/16	0/13	0/20	0/9	1/14
精巣	間細胞腫 (B)	18/20	10/13	8/11	16/16	-	-	-	-
	中皮腫 (B)	1/20	0/13	0/11	0/16	-	-	-	-
甲状腺	傍濾胞細胞腺腫 (B)	1/20	0/13	0/11	1/15	1/13	0/20	0/8	0/14
子宮	ポリープ (B)	-	-	-	-	4/13	3/20	2/9	4/14
	腺癌 (M)	-	-	-	-	1/13	0/20	0/9	0/14
子宮頸部	腺癌 (M)	-	-	-	-	1/13	0/20	0/9	0/14
膣	乳頭腫 (B)	-	-	-	-	0/13	0/20	0/9	1/14
	線維肉腫 (M)	-	-	-	-	0/13	1/20	0/9	0/14

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↑: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 3-4> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(全動物)

性別		雄				雌			
		臓器・所見\投与量(ppm)							
		0	60	430	3000	0	60	430	3000
全動物									
副腎髓質	褐色細胞腫 (B)	5/80	9/79	10/80	7/80	0/80	3/80	0/80	2/80
	悪性褐色細胞腫 (M)	0/80	0/79	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	1/80
	皮質腺腫 (B)	1/80	0/79	0/80	1/80	3/80	3/80	0/80	0/80
	皮質腺癌 (M)	1/80	0/79	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
骨	骨肉腫 (M)	0/11	0/12	0/12	0/11	0/18	1/18	0/16	0/18
脳	膠細胞腫 (B)	1/80	1/80	1/80	1/80	0/80	1/80	0/80	0/80
	脳室上衣腫 (B)	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	1/80
陰核腺	腺腫 (B)	-	-	-	-	0/3	0/1	2/3	0/2
	悪性基底細胞腫 (M)	-	-	-	-	1/3	0/1	0/3	0/2
	癌 (M)	-	-	-	-	1/3	0/1	0/3	0/2
	皮脂腺癌 (M)	-	-	-	-	1/3	0/1	0/3	0/2
眼球	平滑筋腫 (B)	0/78	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80
腎臓	脂肪腫 (B)	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	混合腫瘍 (B)	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	混合腫瘍 (M)	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80
	腫瘍性結節 (B)	3/80	1/80	1/80	3/80	0/80	0/80	2/80	2/80
	肝細胞癌 (M)	0/80	2/80	0/80	1/80	0/80	0/80	1/80	0/80
肺	肺胞気管支腺腫 (B)	0/80	0/80	0/80	2/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	肺胞気管支腺癌 (M)	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80	1/80	0/80	0/80
リンパ網内系	単核細胞性白血病 (M)	19/20	17/17	25/25	27/27	16/16	17/17	16/16	17/17
	悪性リンパ腫、組織球性 (M)	1/20	0/17	0/25	0/27	0/16	0/17	0/16	0/17
乳腺	線維腺腫 (B)	0/80	1/79	2/79	↑6/78	6/80	3/79	1/80	5/80
	線維腫 (B)	0/80	0/79	0/79	1/78	0/80	0/79	0/80	0/80
	腺癌 (M)	0/80	0/79	0/79	1/78	1/80	0/79	1/80	0/80
鼻	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/11	0/11
口腔	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/11	1/11	0/11	0/11	1/12	0/11
耳	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/9	1/11	0/10	0/11
卵巣	顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	1/80	0/80	0/80	0/80
膵臓	島細胞腺腫 (B)	4/79	2/80	2/80	3/79	0/80	1/79	0/80	1/80
上皮小体	腺腫 (B)	0/60	0/65	0/57	0/67	1/60	0/65	0/64	0/63
下垂体	腺腫 (B)	22/80	23/80	19/80	15/79	32/80	32/79	27/80	26/80

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05, ↑↑: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表 3-4> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(全動物)つづき

性別		雄				雌			
		0	60	430	3000	0	60	430	3000
全動物									
包皮腺	癌 (M)	1/3	1/1	0/5	0/0	-	-	-	-
前立腺	腺腫 (B)	7/80	↓0/80	↓0/79	7/80	-	-	-	-
唾液腺	線維肉腫 (M)	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	扁平上皮癌 (M)	0/80	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80
精囊	腺腫 (B)	0/80	0/80	0/79	1/80	-	-	-	-
骨格筋	横紋筋肉腫 (M)	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
皮膚	基底細胞腫 (B)	1/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	線維腫 (B)	4/80	1/80	2/80	5/80	1/80	0/80	0/80	0/80
	角化棘細胞腫 (B)	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	2/80
	脂肪腫 (B)	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	1/80
	乳頭腫 (B)	1/80	3/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	皮脂腺腫 (B)	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	線維肉腫 (M)	0/80	0/80	2/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	扁平上皮癌 (M)	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	1/80
軟部組織	中皮腫 (B)	1/80	1/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	傍神経節腫 (B)	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	線維腫 (B)	1/80	1/80	1/80	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80
	脂肪腫 (B)	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	1/80
	血管腫 (B)	0/80	1/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80
	腺癌 (M)	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80
	血管肉腫 (M)	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	0/80	1/80	0/80
	線維肉腫 (M)	1/80	1/80	3/80	2/80	0/80	0/80	0/80	0/80
精巣	間細胞腫 (B)	67/80	66/80	68/80	71/80	-	-	-	-
	中皮腫 (B)	1/80	0/80	0/80	0/80	-	-	-	-
	悪性中皮腫 (M)	1/80	0/80	0/80	0/80	-	-	-	-
胸腺	胸腺腫 (B)	0/61	0/64	1/64	1/64	0/65	0/63	0/66	0/65
甲状腺	傍濾胞細胞腺腫 (B)	3/80	3/79	2/80	7/79	3/80	3/80	3/79	3/80
	濾胞細胞腺癌 (M)	0/80	0/79	1/80	1/79	0/80	0/80	0/79	1/80
	傍濾胞細胞腺癌 (M)	0/80	0/79	1/80	0/79	0/80	0/80	0/79	0/80
舌	乳頭腫 (B)	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/11
子宮	ホリープ (B)	-	-	-	-	16/80	17/80	16/80	18/80
	腺癌 (M)	-	-	-	-	1/80	1/80	0/80	1/80
子宮頸部	ホリープ (B)	-	-	-	-	0/80	1/80	0/80	0/79
	腺癌 (M)	-	-	-	-	1/80	0/80	0/80	0/79
膣	乳頭腫 (B)	-	-	-	-	0/80	0/80	0/80	1/79
	線維肉腫 (M)	-	-	-	-	0/80	1/80	0/80	0/79

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↑↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<慢性毒性/発がん性試験>

<表4>病理組織学的検査 腫瘍発生数及び担腫瘍動物数

性別	雄				雌				
投与量(ppm)	0	60	430	3000	0	60	430	3000	
検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80	
腫瘍数	(B)	123	115	113	135	63	66	55	63
	(M)	25	23	36	36	24	21	23	22
腫瘍総数	148	138	149	170	87	87	78	84	
担腫瘍動物数 ^s	(B)	69	68	72	72	46	46	45	44
	(M)	25	22	31	32	21	20	21	20
担腫瘍動物数 ^s	70	70	74	72	53	56	53	55	

\$Fisherの直接確率計算法で有意差なし(申請者実施)

(B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

以上の結果から、検体のラットに対する24ヶ月間飼料混入投与による慢性毒性発がん性試験における影響として、3000 ppm群雌雄で統計学的に有意な体重増加抑制が認められ、肝臓重量の上昇が認められた。しかし、肝臓重量の上昇に関連する血液学的あるいは生化学的所見及び病理組織学的所見が認められなかったことから、その毒性学的意義は明らかではなかった。従って、本試験における無毒性量は430 ppm(雄23.1 mg/kg、雌29.3 mg/kg)と判断される。また、催腫瘍性はないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-マウス発がん性 >

⑬ 慢性毒性/発がん性試験

(2) マウスを用いた慢性毒性/発がん性試験

(資料 No. 毒 A27)

試験機関:

報告書作成年: 1984 年、改訂 2009 年

検体純度 :

供試動物 : B₆C₃F₁ 系マウス、1 群雌雄各 80 匹、試験開始時 5 週齢但し、各群雌雄各 50 匹は発がん性試験に用い、他の各群雌雄各 30 匹は衛星群として投与 26、52 及び 78 週時に 1 群雌雄各 9~10 匹を計画屠殺した。

投与開始時平均体重 : 雄 22.0~22.2 g、雌 17.9~18.0 g

投与期間 : 24 ヶ月間(1981 年 12 月 2 日~1983 年 11 月 30 日)

投与方法 : 検体を直接粉末飼料に 0、40、250 及び 1500 ppm の濃度で混合し、マウスに自由摂取させた。試験飼料は 2 週に 1 回調製した。3 ヶ月毎に飼料中検体濃度と均一性を調べ、適切に調製されたことを確認した。

投与用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験開始から 52 週時までに観察された一般症状は歯の異常、立毛、削瘦、運動不活発、腫瘤及び脱毛で、これらは対照群を含む各投与群雌雄にみられ、検体投与に関連する所見はみられなかった。更に 52 週以降、試験終了時までに認められた所見は立毛、削瘦、眼脂、貧血、運動不活発、耳充血、被毛光沢消失、被毛汚染、脱毛、歯の異常及び腫瘤等であったが、各群間に発現率の差異はなく、加齢に伴う所見であり、検体投与に関連するものではなかった。

試験期間中の死亡数(死亡率)を次表に示す。なお、死亡率の算出は生命表解析法を改良して行った。死亡率に検体投与による影響は認められなかった。

投与量(ppm)		0	40	250	1500	
死亡数	26 週*	雄	0/80 (0)	0/80 (0)	0/80 (0)	0/80 (0)
		雌	0/80 (0)	0/80 (0)	0/80 (0)	0/80 (0)
	52 週*	雄	1/70 (1.4)	0/70 (0)	0/70 (0)	1/70 (1.4)
		雌	2/70 (2.9)	0/70 (0)	0/70 (0)	0/70 (0)
	78 週*	雄	4/60 (6.4)	3/60 (5.0)	3/60 (5.0)	2/60 (3.1)
		雌	5/60 (7.9)	1/60 (1.7)	0/60 (0)	2/60 (3.3)
	104 週	雄	11/50 (20.7)	12/50 (24.8)	13/50 (26.8)	12/50 (23.3)
		雌	8/50 (15.9)	6/50 (11.7)	5/50 (10.0)	6/50 (13.2)

*26、52、78 週時に 1 群雌雄各 9~10 匹を計画屠殺

表中の数字は「死亡数/供試動物数」及び「死亡率(%)」

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

体重変化; 試験開始から26週間は週1回、その後は2週に1回体重を測定した。

雄では1500 ppm群で投与20週から、250 ppm群で28週から、40 ppm群で74週から、いずれも試験終了時まで対照群雄に比較して有意な体重増加抑制が認められた。これらの抑制は雄の対照群の体重が試験後半に高値(後述の背景データと比較して52週では1.9g、78週で2.8g、104週で3.3g大きい値)となったことにも起因すると考えられた。一方、雌ではいずれの投与群とも対照群との間に差はなく、検体投与による影響はみられなかった。試験20、28、52、74及び104週時に有意差の認められた平均体重の対照群に対する割合を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		40	250	1500	40	250	1500
体重	20週			↓95			
	28週		↓94	↓93			
	52週		↓93	↓91			
	74週	↓95	↓91	↓89			
	104週	↓89	↓92	↓82			

Dunnnettのt検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01

表中の数値は、対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし

対照および投与群雄の体重を報告書に添付された背景データと比較した結果(下表)、250 ppm群では試験期間後半に背景データと差がなく、40 ppm群では試験期間を通じて背景データとの間に差はみられなかった。従って、雄の体重への影響を纏めると、1500 ppm群では全期間を通して体重増加抑制がみられ、250 ppm群では投与28週から中間期まで体重増加が抑制された。40 ppm群に投与の影響はみられなかった。

投与量(ppm)		背景データ [動物数]	0	40	250	1500
雄の体重	26週	39.0±4.5 [n=649]	39.4±5.3	38.9±5.4	↓37.6±5.2	○36.5±4.6
	52週	45.2±4.4 [n=597]	↑47.1±5.1	45.4±5.5	43.9±6.0	↓42.7±6.1
	78週	45.4±5.0 [n=490]	○48.2±5.2	45.7±5.9	44.0±6.5	↓42.9±5.8
	104週	42.7±5.9 [n=362]	↑46.0±6.7	41.0±6.4	42.3±6.6	○37.8±4.5

Student t検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、○◇:P<0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-マウス発がん性 >

摂餌量及び食餌効率；摂餌量を週 1 回測定し、週の平均と共に期間毎 (0~13 週、0~26.0 ~39、0~52、0~65、0~78、0~91、0~104) の総量を求めた。試験 26 週までは毎週食餌効率を算出し、その後は 2 週に 1 回計算した。

1500 ppm 群雌で 0~13 週まで摂餌量総量の増加がみられたが、その後の期間は対照群と同等になった。一方、雄では試験期間中いずれの投与群も対照群との間に差はみられなかった。統計学的に有意差のみられた摂餌量を下表に示す。摂餌量の変化に伴った体重の変動はみられなかった。

性別 投与量(ppm)	雄			雌		
	40	250	1500	40	250	1500
0~13 週						↑102
0~39 週					↓99	

Student t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

食餌効率は、250 及び 1500 ppm 群雄で投与 26 週、52 週、78 週、104 週まで低下が見られ、40 ppm 群雄で 78 週、104 週まで低下し、有意差が認められた。40 ppm 群の低下は、雄の対照群の体重が試験後半に高値となったことによる変化で、投与による影響とは考えられなかった。1500 ppm 群雌で投与 13 週まで低下がみられたが、体重への影響が全くみられないことから、投与による影響とは考えられなかった。

性別 投与量(ppm)	雄			雌		
	40	250	1500	40	250	1500
0~13 週						↓89
0~26 週		↓89	↓84			
0~52 週		↓86	↓86			
0~78 週	↓89	↓89	↓78			
0~104 週	↓83	↓83	↓67			

Student t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、○○:P<0.001

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

検体摂取量；体重及び摂餌量から計算した投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量を下表に示す。

投与量(ppm)		40	250	1500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	6.72	41.6	267
	雌	8.38	51.2	318

血液学的検査；試験開始時、試験期間中は 26、52、78 及び 104 週時に 1 群雌雄各 8~10 匹を対象として、検査前に約 24 時間絶食後、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大動脈から採血した。なお、26、52 及び 78 週時には衛星群から選抜した動物を使用した。以下の項目について測定した。

白血球数、赤血球数、網赤血球数、白血球分画、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、MCV、MCH 及び MCHC

1500 ppm 群の雌雄でヘマトクリット値、ヘモグロビン量及び赤血球数の軽度な低下、MCV、MCH 及び血小板数の増加が幾つかの検査時期にみられた。同群雄では MCHC の増加もみられた。雌の 1500 ppm 群では 26 週に網赤血球

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

数の増加がみられた。雄の投与群にも網赤血球数の軽度な増加がみられたが(26週の0,40,250,1500 ppm 群の値は15,19,21,21、また52週は11,15,14,16)、背景データの正常値(雄26週30匹の平均とSDは 18 ± 5 、雄52週42匹では 16 ± 7)の範囲内であった。

雄の250及び1500 ppm 群では白血球数の低下がみられたが、雌の1500 ppm 群では104週で僅かに増加した。

これらの変化を除いて、40及び250 ppm 群の雌雄に有意な変化が散見されたが、いずれも対照群との差が僅かで、用量と関連のないものであった。統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

(申請者註:背景データは報告書に添付されているが、次頁に抜粋を示す)。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		40	250	1500	40	250	1500
ヘマトクリット値	26週	↓96		↓97			↓97
	52週		↓96	↓95			
	78週			↓95			
ヘモグロビン量	26週						↓97
	78週			↓94			
赤血球数	26週	↓95		↓97			○96
	52週		↓95	○93			
	78週			↓91			↓96
MCV	52週			↑102	↑102	↑102	↑102
	78週			↑104			
	104週					↑103	↑105
MCH	26週	↑102		↑103			↑102
	52週		↑102	○104		○103	↑102
	78週			↑104		↑102	
	104週					↑102	
MCHC	26週	↑101		○102			
	52週		↑101	○102	○97		
	104週			↑102			
血小板数	52週			↑112			↑109
	104週			↑122			
白血球数	52週		↓60	↓40			
	78週		↓57	↓53			
	104週		↓50	↓38			↑127
網赤血球数	26週	↑127	↑140	↑140			↑141
	52週			↑145			

Student t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、○:P<0.001

表中の数値は、対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-マウス発がん性 >

血液学的検査における B6C3F1 マウスの背景データ

背景データは項目、検査週、検査匹数、平均±標準偏差 (1500 ppm 群の列) を網掛けで示す。比較のため前表の計測値を併記した。

性別 投与量(ppm)	週	雄				雌					
		例数	40	250	1500	例数	40	250	1500		
ヘマトクリット値	26週	10	↓39.1±0.8	↓39.1±1.2	↓41.1±1.1	10			↓42.0±0.8		
		51			41.8±2.2	53			42.8±2.1		
	52週	8or10			↓38.6±1.5	10					
		89			40.8±2.5	93			41.0±2.4		
	78週	9			↓37.2±0.8	9or10					
		72			41.2±4.6	71			41.1±3.4		
ヘモグロビン量	26週	10			↓8.66±0.18	10			↓15.3±0.3		
		51			14.5±0.7	53			15.5±0.4		
	78週	9			↓13.6±0.3	9or10					
		72			14.2±1.4	71			14.6±1.2		
赤血球数	26週	10	↓8.45±0.17	↓8.43±0.20	↓8.66±0.18	10			↓8.91±0.20		
		51			8.98±0.41	53			9.27±0.42		
	52週	8or10			↓8.24±0.30	10					
		89			8.78±0.52	93			8.84±0.54		
	78週	9			↓8.01±0.31	9or10					
		72			9.14±1.18	71			9.02±0.74		
MCV	52週	8or10			↑46.8±0.6	10	↑46.5±0.2	↑46.8±0.7	↑46.4±0.6		
		89			46.4±1.0	93			46.4±1.4		
	78週	9			↑46.4±1.0	9or10					
		72			45.1±1.5	71			45.5±0.9		
	104週	10				10			↑45.8±0.8	↑46.8±2.5	
110	44.6±1.8	106	45.9±2.0								
MCH	26週	10	↑16.0±0.2	↑16.0±0.2	↑17.2±0.3	10			↑17.2±0.4		
		51			16.1±0.6	53			16.7±0.6		
	52週	8or10			↑16.3±0.2	10			↑16.3±0.3	↑16.2±0.2	
		89			16.0±0.9	93					16.5±0.7
	78週	9			↑17.0±0.4	9or10					↑17.0±0.3
		72			15.6±0.8	71					16.2±0.5
104週	10		10	↑16.5±0.3							
110	16.0±1.1	106	16.5±0.8								
MCHC	26週	10	↑34.6±0.2	↑34.5±0.3	↑36.2±0.4	10			36.2±1.3		
		51			34.6±1.4	53			34.3±0.8		
	52週	8or10			↑34.8±0.3	10			↓33.8±0.3		
		89			34.5±1.8	93					34.3±0.8
104週	10	↑35.8±0.6	10								
	110	35.7±2.1	106	36.0±1.1							
血小板数	52週	8or10			↑1588±162	10			↑1471±121		
		89			1379±261	93			1313±250		
	104週	10			↑1852±218	10					
110		1423±452	106	1134±361							
白血球数	52週	8or10		↓1.8±0.7	↓1.2±0.5	10			1.6±0.8		
		89			3.1±1.4	93			1.6±0.7		
	78週	9			↓1.7±0.6	9or10					
		72			3.3±1.5	71			1.6±0.7		
	104週	10			↓2.1±1.0	10			↑1.4±0.3		
110		3.5±1.8	106	2.2±2.5							
網赤血球数	26週	10	↑19±5	↑21±5	↑21±6	10			↑24±7		
		30			18±5	28			17±4		
	52週	8or10			↑16±3	10					
		42			16±7	43			17±6		

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

血液生化学検査；血液学的検査と同時期の同一動物から採取した血液の血清を用いて以下の項目について測定した。

血糖、尿素窒素、尿酸、無機りん、総蛋白、アルブミン、総コレステロール、アルカリホスファターゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)及びコリンエステラーゼ

1500 ppm 群の雌雄に無機りんの増加(26 週)、尿酸の減少(52 または 78 週)、総コレステロールの変化(雄で減少、雌で増加)、コリンエステラーゼの増加(26 または 78 週)が、同群雄に GPT の増加(104 週)が観察された。なお、雌の投与群で無機りんの増加が 78 週にみられたが(0,40,250,1500 ppm 群の値は 4.4,5.0,5.2,5.9 mg/dl)、対照群の値が背景データ(6.25±1.36 mg/dl、補足資料では N=28,5.31±1.15 mg/dl)に比較して低値なためであり、投与群の値はいずれも正常範囲内であった。

250 及び/または 1500 ppm 群の雌に血糖の増加(104 週)、尿酸の減少(52 及び 78 週)がみられた。

以上の他、統計学的有意差のみられた検査項目もあったが、いずれも対照群との差が僅かで、用量と関連のないものであった。統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

[申請者註:]

]

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		40	250	1500	40	250	1500
無機りん	26 週			↑118			○140
	78 週				↑114	↑118	○134
尿素窒素	26 週					↓85	
総蛋白	26 週	↓96					
	52 週			↓96	↓98	↓98	
	78 週				↑106	↑104	↑104
アルカリホスファターゼ	26 週				↓89		↓89
	52 週			↓93			
尿酸	52 週			○65		↓66	↓69
	78 週						○77
血糖	78 週					↓78	
	104 週					↑149	○180
総コレステロール	52 週		↓87	○67			
	78 週			↓76			↑128
	104 週						↑128
アルブミン	52 週			↓94	↑103		
	104 週					↓94	↓97
コリンエステラーゼ	26 週			○115			
	78 週			↑111			○118
GPT	104 週			↑284			

Student t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、○◇:P<0.001

表中の数値は、対照群を 100 とした場合の数、空欄は有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体-マウス発がん性＞

尿検査；血液学的検査と同時期の同一動物から下腹部圧迫法により 1 回尿を採取し、以下の項目を検査した。

pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン及びビリルビン

いずれの投与群にも検体投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物、26、52 及び 78 週時の計画屠殺動物を対象に剖検を行い、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣及び卵巣

1500 ppm 群の雌雄で肝臓重量及び対体重比の増加が多くの検査時期に認められた。同群では湿重量の増加が副腎(雄、104 週)、脾臓(雌、26 と 78 週)にみられ、対体重比の増加を伴っていたが、脾臓については雄で 52 週に湿重量が減少した。同群の卵巣重量及び対体重比は 26 週に減少した。1500 ppm 群の体重は雄では 52、78、104 週で、雌では 52 週で低く、このため脳(雄)、心臓(雌雄)、肺(雌)、腎臓(雄)、副腎(雄)、精巣の対体重比が該当する検査時期に増加し、脳(雌雄)、肺(雄)、腎臓(雄)の湿重量が減少したと考えられた。

試験 78 及び 104 週に、雄の 40 及び/または 250 ppm 群で対体重比の有意な増加が脳、腎臓、副腎、精巣に認められたが、対照群の体重が前述の背景データと比較して極めて高い値を示したことによるものと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

これら以外にも有意差が散見されたが、いずれも対照群との間に大差がなく偶発所見と判断された。対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		40	250	1500	40	250	1500
体重	26週	(97)	(101)	(94)	(103)	(105)	(109)
	52週	(98)	(93)	↓80	(96)	(97)	(88)
	78週	(102)	(91)	↓88	(113)	(105)	(101)
	104週	↓89	↓92	○82	(97)	(103)	(96)
脳	重量	52週				↓98	↓96
		104週			↓98		↓98
	対体重比	52週			↑128		
		78週		↑111	↑115		
	104週	↑112	↑109	○119			
心臓	重量	52週		↓89			
	対体重比	52週		↑115			↑114
		104週			○116		
肝臓	重量	26週			↑114		↑115
		52週					↑109
		78週					○119
		104週			↑133		↑116
	対体重比	26週			○121		
		52週			○116		○123
		78週					↑115
		104週			↑157		○119
肺	重量	52週		↓89			
	104週			↓90			
	対体重比	52週				↑115	
腎臓	重量	104週		↓96			
	対体重比	52週		↑121			
		78週		↑113	○116		
		104週	↑110	↑109	○116		
脾臓	重量	26週					↑117
		52週			↓71		
		78週					↑129
	対体重比	26週			↑107		
	78週					↑125	
副腎	重量	104週		↑117			
	対体重比	52週		↑178			
		104週		↑131	○146		
卵巢	重量	26週	-	-	-		↓72
	対体重比	26週	-	-	-		↓68
精巣	重量	52週			○126	-	-
	対体重比	78週		↑111	↑112	-	-
		104週	↑111	↑108	○118	-	-

Student t-検定 ↑↓:P<0.05, ↑↓:P<0.01, ○○:P<0.001、空欄は有意差なし

表中の数値は対照群を100とした場合の数、体重については有意差がない場合も括弧内に示した

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物、死亡及び切迫屠殺動物ならびに 26、52 及び 78 週時の計画屠殺動物を対象にして、剖検を行った。

計画屠殺動物、死亡及び切迫屠殺動物に検体投与に起因する所見はみられなかった。試験 104 週時の剖検所見として、1500 ppm 群の雌で肝臓の結節の発現頻度に増加がみられた(申請者註:

)。主な肉眼的病理所見の発現動物数を表 1-1 及び表 1-2 に示す。

<表1-1>肉眼病理検査

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
26 週計画屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	結節	0(0)	2(20)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
52 週計画屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
肺	結節	0(0)	0(0)	0(0)	1(10)	1(10)	0(0)	0(0)	0(0)
肝臓	結節	2(20)	0(0)	1(11)	0(0)	1(10)	0(0)	1(10)	0(0)
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	0(0)	1(10)	0(0)	1(10)
子宮	腔拡大	-	-	-	-	2(20)	1(10)	0(0)	0(0)
78 週計画屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		10	9	9	10	9	10	10	9
胸腺	萎縮	9(90)	6(67)	6(67)	9(90)	8(89)	9(90)	10(100)	7(78)
肺	結節	1(10)	0(0)	1(11)	0(0)	1(11)	0(0)	1(10)	0(0)
肝臓	結節	4(40)	3(33)	2(22)	3(30)	0(0)	1(10)	1(10)	1(11)
脾臓	腫大	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(11)	1(10)	0(0)	1(11)
包皮腺	結節	0(0)	1(11)	0(0)	1(10)	-	-	-	-
子宮	腔拡大	-	-	-	-	2(22)	4(40)	3(30)	6(67)

Fisher's exact test で有意差なし(申請者実施)

表中の数値は発生数、括弧内に発生率(%）、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

<表1-2>肉眼病理検査

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
104週計画屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		39	38	37	38	42	44	45	44
胸腺	萎縮	37(95)	36(95)	36(97)	38(100)	41(98)	43(98)	45(100)	44(100)
肺	結節	8(21)	6(16)	3(8)	5(13)	6(14)	6(14)	2(4)	1(2)
肝臓	結節	18(46)	19(50)	20(54)	↑26(68)	6(14)	6(14)	7(16)	↑21(48)
脾臓	腫大	2(5)	3(8)	3(8)	2(5)	8(19)	6(14)	4(9)	8(18)
前立腺	萎縮	4(10)	3(8)	2(5)	4(11)	-	-	-	-
包皮腺	結節	4(10)	8(21)	3(8)	3(8)	-	-	-	-
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	5(12)	9(20)	6(13)	6(14)
子宮	腔拡大	-	-	-	-	25(60)	33(75)	35(78)	24(55)
死亡・切迫屠殺動物									
臓器・所見\検査動物数		11	13	14	12	9	6	5	7
胸腺	萎縮	9(82)	11(85)	14(100)	11(92)	5(56)	4(67)	5(100)	6(86)
肺	結節	2(18)	4(31)	3(21)	1(8)	2(22)	1(17)	0(0)	1(14)
肝臓	結節	9(82)	7(54)	7(50)	8(67)	1(11)	2(33)	1(20)	2(29)
脾臓	腫大	3(27)	6(46)	4(29)	5(42)	4(44)	6(100)	1(20)	4(57)
前立腺	萎縮	0(0)	1(8)	0(0)	0(0)	-	-	-	-
包皮腺	結節	3(27)	1(8)	2(14)	1(8)	-	-	-	-
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	1(11)	1(17)	0(0)	4(57)
子宮	腔拡大	-	-	-	-	4(44)	4(67)	2(40)	4(57)
全動物									
臓器・所見\検査動物数		80	80	80	80	80	80	80	80
胸腺	萎縮	55(69)	53(66)	56(70)	58(73)	54(68)	56(70)	60(75)	57(71)
肺	結節	11(14)	10(13)	7(9)	7(9)	10(13)	7(9)	↓3(4)	↓2(3)
肝臓	結節	33(41)	31(39)	30(38)	37(46)	8(10)	9(11)	10(13)	↑24(30)
脾臓	腫大	5(6)	9(11)	7(9)	7(9)	13(16)	13(16)	↓5(6)	13(16)
前立腺	萎縮	4(5)	4(5)	2(3)	4(5)	-	-	-	-
包皮腺	結節	7(9)	10(13)	5(6)	5(6)	-	-	-	-
卵巣	嚢胞	-	-	-	-	6(8)	11(14)	6(8)	11(14)
子宮	腔拡大	-	-	-	-	33(41)	42(53)	40(50)	34(43)

Fisher's exact test ↑↓:P<0.05、↑↑:P<0.01 (申請者実施)

表中の数値は発生数、括弧内に発生率(%)、-は該当しないことを示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

病理組織学的検査；試験終了時の全生存動物、死亡及び切迫屠殺動物、52 及び 78 週の計画屠殺動物を対象として、以下の臓器・組織を採取し、固定、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製して鏡検した。なお、病理組織所見の統計処理は申請者が実施した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、卵巣、全ての病変部、腫瘍及び付属リンパ節、下垂体、胆嚢、肺、気管支、脊髄、眼、唾液腺、気管、甲状腺、胸腺、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸管、頸部リンパ節、坐骨神経、皮膚、乳腺、骨(骨髄を含む)及び骨格筋(大腿部)

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 2-1(52 週及び 78 週計画屠殺動物)、表 2-2(104 週計画屠殺動物)、表 2-3(死亡・切迫屠殺動物)及び表 2-4(全動物)に示す。

52 週の計画屠殺時に雄の投与群では肝細胞核大小不同が増加した(有意)。104 週では雄の全群で高頻度に観察された(高用量群で有意)が、雌ではほとんど観察されなかった。死亡・切迫屠殺動物では雄の高用量で頻度が高かった(250 ppm 群で有意)。これらの所見から、試験責任者は雄の最小毒性量を 250 ppm、無毒性量を 40 ppm と判断した。その後、肝臓について 78 週の病理組織検査が追加実施され、雌雄の全群で高頻度に本所見が認められた。

申請者註:

52 週の計画屠殺時に卵巣の色素沈着が雌の投与群で頻繁にみられたが、104 週及び死亡・切迫屠殺動物では対照群と同頻度であり、検体の影響とは考えられなかった。

肝結節が 1500 ppm 群雌雄で増加した(78 週の雌、104 週の雌雄)。肝結節の用語は 1987 の英文報告書(RD-8754:肝臓組織所見の再検査)でも所見として残され、米国 NTP による分類の変異肝細胞巣を含む所見と定義された。

本系マウスの通常みられる所見として、52 週計画屠殺動物の雌雄に肝臓及び腎臓の脂肪変性、脾臓の色素沈着、副腎の紡錘細胞増生、雌に子宮の嚢胞状内膜増生が投与量と関連なく頻繁にみられた。これらの所見は 104 週計画屠殺及び死亡・切迫屠殺動物でも低～高頻度にみられた。

その他に、対照群を含む全投与群雌雄に、視床下部の石灰化、延髄上部の硝子体、腎臓の蛋白円柱及び糸球体硬化(雄に顕著)、胸腺の萎縮、雌に子宮の水腫、卵巣の萎縮、雄に骨髄の色素沈着、過形成(造血亢進)が 104 週計画屠殺及び死亡・切迫屠殺動物に見られたが、この系統の加齢マウスに通常みられる病変であって、検体投与に関連する所見ではないと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 3-1(52 週及び 78 週計画屠殺動物)、表 3-2(104 週計画屠殺動物)、表 3-3(死亡・切迫屠殺動物)及び表 3-4(全動物)に示す。総腫瘍数及び担腫瘍動物数のまとめを表 4 にそれぞれ示す。

肝臓の増殖性病変の集計を下表に示す。[非腫瘍性病変]に記したが 1500 ppm 群の雌雄では肝細胞増殖による肝結節(非腫瘍性病変)の有意な増加がみられた。同群雌では肝細胞腺腫も有意に増加した。肝細胞腺腫、肝細胞癌あるいは肝芽腫の何れかを有する動物数は 1500 ppm 群の雄では増加の傾向($P=0.1179$)、同群雌では有意に増加した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-マウス発がん性 >

病理組織学的検査 肝臓の増殖性病変(全動物)

性別 臓器・所見\投与量(ppm)	雄				雌			
	0	40	250	1500	0	40	250	1500
検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
肝結節	15	9	16	↑35	6	6	3	↑19
肝細胞腺腫	20	23	17	27	7	↓1	5	↑16
肝細胞癌	11	9	10	14	0	3	3	3
肝芽腫	0	0	0	3	0	0	0	1
肝腫瘍(RD-8754の集計)	31	32	27	↑44	7	4	8	↑20
腺腫/癌/肝芽腫の何れか#	29	30	25	37	7	4	8	↑20

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

#:

他の全ての腫瘍は投与群と対照群の間で同等の発生率で分布していたか、または自然発生性とみなされた。また、担腫瘍動物数に投与と関連した有意な増加はみられなかった(表4)。

< 表2-1 > 病理組織学的検査 非腫瘍性病変(52週及び78週計画屠殺動物)

性別 臓器・所見\投与量(ppm)	雄				雌				
	0	40	250	1500	0	40	250	1500	
52週計画屠殺動物									
中枢神経	硝子体	3/10	1/10	0/10	3/10	3/10	0/10	0/10	0/10
肝臓	肝細胞核大小不同	0/10	↑5/10	↑5/10	↑9/10	0/10	0/10	1/10	0/10
	脂肪変性	10/10	8/10	7/10	↓6/10	4/10	↑9/10	7/10	5/10
	肝結節	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
腎臓	石灰化	0/10	0/10	1/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
	再生上皮	2/10	0/10	0/10	1/10	0/10	3/10	0/10	0/10
	脂肪変性	10/10	10/10	10/10	10/10	0/10	2/10	0/10	0/10
	蛋白円柱	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	2/10	0/10	0/10
子宮	子宮水腫	-	-	-	-	1/10	0/10	0/10	0/10
	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	10/10	10/10	10/10	10/10
脾臓	色素沈着	4/10	6/10	5/10	5/10	10/10	10/10	10/10	10/10
副腎	紡錘細胞増生	2/10	5/10	5/10	6/10	9/10	10/10	10/10	10/10
卵巣	色素沈着	-	-	-	-	0/9	↑7/10	↑9/10	↑6/10
骨髄	過形成	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
78週計画屠殺動物									
肝臓	壊死	0/10	0/9	1/9	1/10	0/9	0/10	0/10	0/9
	肝細胞核大小不同	9/10	8/9	7/9	9/10	4/9	5/10	7/10	8/9
	脂肪変性	9/10	7/9	↓1/9	7/10	1/9	3/10	3/10	↑7/9
	肝結節	5/10	1/9	2/9	5/10	0/9	1/10	1/10	↑4/9

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

<表2-2> 病理組織学的検査 非腫瘍性病変(104週計画屠殺動物)

性別		雄				雌			
		0	40	250	1500	0	40	250	1500
臓器・所見\投与量(ppm)									
104 週計画屠殺動物									
中枢神経	石灰化	2/39	7/38	↑9/37	4/38	27/42	26/44	23/45	25/44
	硝子体	17/39	16/38	18/37	↑30/38	30/42	↑40/44	38/45	↑41/44
甲状腺	嚢胞	3/39	5/38	7/36	4/38	6/42	6/43	4/44	11/44
	過形成	1/39	0/38	0/36	5/38	4/42	0/43	2/44	10/44
肝臓	壊死	0/39	1/38	3/37	↑7/38	2/42	1/44	1/45	1/44
	肝細胞核大小不同	31/39	33/38	35/37	↑37/38	1/42	3/44	1/45	0/44
	脂肪変性	26/39	19/38	18/37	19/38	12/42	17/44	↑25/45	10/44
	肝結節	8/39	8/38	13/37	↑26/38	4/42	5/44	2/45	↑14/44
腎臓	石灰化	14/39	11/38	13/37	↓6/38	7/42	3/44	4/45	4/44
	再生上皮	18/39	17/38	24/37	19/38	4/42	8/44	5/45	8/44
	脂肪変性	38/39	38/38	37/37	38/38	5/42	6/44	11/45	3/44
	蛋白円柱	8/39	4/38	↑15/37	13/38	22/42	25/44	34/45	30/44
	糸球体硬化	30/39	↓7/38	↓8/37	22/38	2/42	4/44	1/45	2/44
子宮	子宮水腫	-	-	-	-	17/42	18/44	↑36/45	18/44
	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	12/42	21/44	7/45	16/44
脾臓	色素沈着	6/39	↓0/38	↓0/37	6/38	35/42	35/44	39/45	39/44
	赤血球産生	4/39	7/38	7/37	7/38	1/42	0/44	0/45	0/44
胸腺	萎縮	37/39	37/38	37/37	36/38	41/42	41/44	45/45	43/44
リンパ節	リンパ球増生	8/39	10/38	11/37	9/38	0/42	2/44	2/45	4/44
下垂体	過形成	0/35	1/37	0/36	0/32	3/42	6/43	6/41	5/41
副腎	紡錘細胞増生	35/39	34/38	34/37	↓25/38	42/42	43/44	44/45	44/44
卵巢	萎縮	-	-	-	-	28/42	↑38/44	↑42/45	↑39/44
	色素沈着	-	-	-	-	7/42	6/44	13/45	11/44
骨髓	色素沈着	5/39	8/38	5/37	8/38	0/42	0/44	0/45	0/44
	過形成	2/39	↑15/38	7/37	6/38	0/42	0/44	0/45	1/44

Fisher's exact test ↑↓:P<0.05、↑↑↓↓:P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

<表2-3> 病理組織学的検査 非腫瘍性病変(死亡・切迫屠殺動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
死亡・切迫屠殺動物									
中枢神経	石灰化	1/11	0/12	2/13	1/12	3/8	4/6	5/5	4/6
	硝子体	4/11	2/12	6/13	7/12	5/8	4/6	4/5	3/6
甲状腺	嚢胞	2/11	1/11	3/13	0/12	3/8	0/5	1/5	3/6
肝臓	壊死	4/11	5/13	3/14	1/12	0/9	2/6	2/5	4/7
	肝細胞核大小不同	5/11	9/13	↑12/14	10/12	2/9	1/6	1/5	2/7
	脂肪変性	2/11	1/13	3/14	6/12	2/9	1/6	0/5	2/7
	肝結節	2/11	0/13	1/14	4/12	1/9	0/6	0/5	1/7
腎臓	石灰化	3/11	2/12	1/13	3/12	0/8	0/6	0/5	2/6
	再生上皮	3/11	4/12	4/13	6/12	0/8	0/6	0/5	0/6
	脂肪変性	11/11	12/12	11/13	10/12	1/8	0/6	0/5	0/6
	蛋白円柱	4/11	5/12	6/13	6/12	2/8	4/6	3/5	2/6
	糸球体硬化	7/11	6/12	6/13	5/12	1/8	0/6	0/5	1/6
子宮	子宮水腫	-	-	-	-	3/8	2/6	3/5	1/6
	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	2/8	3/6	0/5	1/6
脾臓	色素沈着	0/11	1/12	1/13	4/12	4/8	1/6	2/5	1/5
	赤血球産生	2/11	6/12	6/13	4/12	0/8	0/6	0/5	1/5
胸腺	萎縮	11/11	10/12	13/13	12/12	6/8	5/6	4/5	5/6
リンパ節	リンパ球増生	2/11	0/12	3/13	2/12	1/8	0/6	0/5	1/6
下垂体	過形成	0/9	1/9	0/8	0/9	0/8	1/4	0/4	0/5
副腎	紡錘細胞増生	6/10	7/12	5/12	8/12	8/8	5/6	5/5	4/5
卵巣	萎縮	-	-	-	-	3/8	3/6	5/5	4/6
	色素沈着	-	-	-	-	1/8	2/6	0/5	0/6
骨髓	色素沈着	1/11	3/12	1/12	↑6/11	0/8	0/6	0/5	0/6
	過形成	2/11	3/12	↑8/12	3/11	0/8	0/6	0/5	0/6

Fisher's exact test ↑↓:P<0.05、↑↑↓:P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-マウス発がん性 >

< 表2-4 > 病理組織学的検査 非腫瘍性病変 (全動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
全動物									
中枢神経	石灰化	3/60	7/60	↑11/60	5/60	30/60	30/60	28/60	29/60
	硝子体	24/60	19/60	24/60	↑40/60	38/60	44/60	42/60	44/60
甲状腺	嚢胞	5/60	6/59	10/59	4/60	9/60	6/58	5/59	14/60
	過形成	1/60	0/59	0/59	5/60	4/60	0/58	2/59	10/60
肝臓	壊死	4/70	6/70	7/70	9/70	2/70	3/70	3/70	5/70
	肝細胞核大小不同	45/70	↑55/70	↑59/70	↑65/70	7/70	9/70	10/70	10/70
	脂肪変性	47/70	↓35/70	↓29/70	38/70	19/70	↑30/70	↑35/70	24/70
	肝結節	15/70	9/70	16/70	↑35/70	6/70	6/70	3/70	↑19/70
腎臓	石灰化	17/60	13/60	15/60	9/60	8/60	3/60	4/60	6/60
	再生上皮	23/60	21/60	28/60	26/60	4/60	↑11/60	5/60	8/60
	脂肪変性	59/60	60/60	58/60	58/60	6/60	8/60	11/60	3/60
	蛋白円柱	12/60	9/60	↑22/60	19/60	24/60	31/60	↑37/60	32/60
	糸球体硬化	37/60	↓13/60	↓14/60	↓27/60	3/60	4/60	1/60	3/60
子宮	子宮水腫	-	-	-	-	21/60	20/60	↑39/60	19/60
	嚢胞状内膜増生	-	-	-	-	24/60	↑34/60	17/60	27/60
脾臓	色素沈着	10/60	7/60	6/60	15/60	49/60	46/60	51/60	50/59
	赤血球産生	6/60	13/60	13/60	11/60	1/60	0/60	0/60	1/59
胸腺	萎縮	48/60	47/60	50/60	48/60	47/60	46/60	49/60	48/60
リンパ節	リンパ球増生	10/59	10/60	14/60	11/59	1/60	2/60	2/60	5/60
下垂体	過形成	0/54	2/56	0/53	0/51	3/60	7/57	6/55	5/56
副腎	紡錘細胞増生	43/59	46/60	44/59	39/60	59/60	58/60	59/60	58/60
卵巣	萎縮	-	-	-	-	31/59	41/60	47/60	↑43/60
	色素沈着	-	-	-	-	8/59	15/60	↑22/60	↑17/60
骨髄	色素沈着	6/60	11/60	6/59	↑14/59	0/60	0/60	0/60	0/60
	過形成	4/60	↑18/60	↑16/59	9/59	0/60	0/60	0/60	1/60

Fisher's exact test ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数

< 表3-1 > 病理組織学的検査 腫瘍性病変 (52週及び78週計画屠殺動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
52 週計画屠殺動物									
肺	肺泡/気管支腺腫 (B)	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	2/10	0/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
卵巣	悪性顆粒膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	0/9	1/10	0/10	0/10
78 週計画屠殺動物									
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	4/10	3/9	2/9	2/10	0/9	0/10	0/10	0/9

Fisher's exact test で有意差なし (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

<表3-2>病理組織学的検査 腫瘍性病変(104週計画屠殺動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
104 週計画屠殺動物									
肺	肺胞/気管支腺腫 (B)	6/39	6/38	3/37	2/38	4/42	0/44	1/45	1/44
	腺癌 (M)	1/39	0/38	0/37	0/38	1/42	1/44	1/45	0/44
甲状腺	腺腫 (B)	1/39	1/38	0/36	1/38	2/42	0/43	2/44	0/44
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	10/39	↑18/38	13/37	↑20/38	5/42	1/44	5/45	↑16/44
	肝細胞癌 (M)	6/39	5/38	4/37	10/38	0/42	2/44	2/45	3/44
	肝芽腫 (M)	0/39	0/38	0/37	3/38	0/42	0/44	0/45	0/44
胃	乳頭腫 (B)	5/39	4/38	5/37	7/38	0/42	0/44	0/45	0/44
	扁平上皮癌 (M)	0/39	0/38	1/37	0/38	0/42	0/44	0/45	0/44
子宮	内膜間質ホリープ° (B)	-	-	-	-	1/42	0/44	0/45	0/44
	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	1/42	0/44	0/45	0/44
	血管肉腫 (M)	-	-	-	-	0/42	0/44	0/45	1/44
脾臓	血管内皮腫 (B)	0/39	0/38	0/37	0/38	0/42	0/44	1/45	0/44
	血管腫 (B)	0/39	1/38	0/37	1/38	5/42	↓0/44	1/45	0/44
	悪性リンパ腫 (M)	0/39	0/38	0/37	0/38	1/42	0/44	1/45	0/44
リンパ節	悪性リンパ腫 (M)	1/39	1/38	0/37	1/38	3/42	5/44	2/45	4/44
膵島	島細胞腺腫 (B)	0/39	0/38	0/37	0/38	0/42	0/44	0/45	1/44
乳腺	腺腫 (B)	-	-	-	-	0/34	1/27	0/24	1/29
	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	1/34	0/27	0/24	0/29
皮膚/皮下	血管周皮腫 (B)	1/39	0/38	0/37	0/38	0/42	0/43	0/45	0/44
	線維腫 (B)	0/39	0/38	0/37	0/38	0/42	0/43	1/45	0/44
	血管腫 (B)	0/39	0/38	0/37	1/38	0/42	0/43	0/45	0/44
舌	扁平上皮癌 (M)	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0
下垂体	腺腫 (B)	0/35	0/37	0/36	0/32	3/42	4/43	5/41	4/41
	血管腫 (B)	0/35	0/37	0/36	0/32	1/42	0/43	0/41	0/41
	腺癌 (M)	0/35	0/37	0/36	0/32	0/42	1/43	0/41	0/41
卵巢	黄体腫 (B)	-	-	-	-	1/42	0/44	0/45	0/44
	線維腫 (B)	-	-	-	-	0/42	0/44	1/45	0/44
	血管腫 (B)	-	-	-	-	0/42	0/44	0/45	1/44
	悪性顆粒膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	0/42	0/44	1/45	0/44
ハーター腺	腺腫 (B)	6/6	5/7	2/4	1/1	1/2	3/3	2/2	0/0
	腺癌 (M)	0/6	1/7	0/4	0/1	0/2	0/3	0/2	0/0
骨髄	血管腫 (B)	0/39	0/38	0/37	1/38	0/42	0/44	1/45	0/44
骨	骨腫 (B)	0/39	0/38	0/37	0/38	1/42	0/44	0/45	0/44
部位不明	血管腫 (B)	0/1	0/3	0/0	0/0	0/2	0/0	0/1	1/1

Fisher's exact test ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01 (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

<表3-3> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(死亡・切迫屠殺動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
死亡・切迫屠殺動物									
肺	肺泡/気管支腺腫 (B)	2/11	0/12	1/13	0/12	0/8	0/6	0/5	0/6
	腺癌 (M)	0/11	1/12	0/13	1/12	1/8	0/6	0/5	0/6
甲状腺	C-細胞癌 (M)	1/11	0/11	0/13	0/12	0/8	0/5	0/5	0/6
肝臓	血管腫 (B)	0/11	0/13	0/14	0/12	0/9	1/6	0/5	0/7
	肝細胞腺腫 (B)	4/11	2/13	1/14	5/12	2/9	0/6	0/5	0/7
	肝細胞癌 (M)	5/11	4/13	6/14	4/12	0/9	1/6	1/5	0/7
	肝芽腫 (M)	0/11	0/13	0/14	0/12	0/9	0/6	0/5	1/7
胃	乳頭腫 (B)	0/11	0/12	0/13	1/12	0/8	0/6	0/5	0/5
精囊	平滑筋腫 (B)	0/1	0/2	0/4	1/2	-	-	-	-
子宮	血管肉腫 (M)	-	-	-	-	0/8	0/6	1/5	0/6
	悪性線維性組織球腫 (M)	-	-	-	-	0/8	0/6	0/5	1/6
脾臓	血管腫 (B)	1/11	1/12	0/13	2/12	1/8	1/6	0/5	0/5
	悪性リンパ腫 (M)	0/11	0/12	0/13	0/12	0/8	1/6	0/5	0/5
リンパ節	悪性リンパ腫 (M)	0/11	1/12	0/13	0/12	3/8	3/6	0/5	0/6
皮膚/皮下	線維肉腫 (M)	0/11	0/12	0/11	1/11	0/8	0/6	0/5	1/6
	悪性線維性組織球腫 (M)	0/11	0/12	0/11	0/11	0/8	0/6	0/5	1/6
	血管腫 (B)	0/11	2/12	0/11	1/11	0/8	1/6	0/5	0/6
下垂体	腺腫 (B)	0/9	0/9	0/8	0/9	0/8	1/4	0/4	0/5
ハダゲ腺	未分化肉腫 (M)	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
骨髓	血管腫 (B)	0/11	0/12	0/12	0/11	0/8	1/6	0/5	0/6
骨	骨肉腫 (M)	0/11	0/12	0/13	0/12	1/8	0/6	0/5	0/6
血液	白血病 (M)	1/1	0/0	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0

Fisher's exact test で有意差なし(申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍

<表3-4> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(全動物)

性別		雄				雌			
臓器・所見\投与量(ppm)		0	40	250	1500	0	40	250	1500
全動物									
肺	肺泡/気管支腺腫 (B)	8/60	6/60	4/60	↓2/60	5/60	↓0/60	1/60	1/60
	腺癌 (M)	1/60	1/60	0/60	1/60	2/60	1/60	1/60	0/60
甲状腺	腺腫 (B)	1/60	1/59	0/59	1/60	2/60	0/58	2/59	0/60
	C-細胞癌 (M)	1/60	0/59	0/59	0/60	0/60	0/58	0/59	0/60
肝臓	血管腫 (B)	0/70	0/70	0/70	0/70	0/70	1/70	0/70	0/70
	肝細胞腺腫 (B)	20/70	23/70	17/70	27/70	7/70	↓1/70	5/70	↑16/70
	肝細胞癌 (M)	11/70	9/70	10/70	14/70	0/70	3/70	3/70	3/70
	肝芽腫 (M)	0/70	0/70	0/70	3/70	0/70	0/70	0/70	1/70
胃	乳頭腫 (B)	5/60	4/60	5/60	8/60	0/60	0/60	0/60	0/59
	扁平上皮癌 (M)	0/60	0/60	1/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/59

Fisher's exact test ↑↓:P<0.05(申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-マウス発がん性>

<表3-4> 病理組織学的検査 腫瘍性病変(全動物) つづき

性別		雄				雌			
		臓器・所見\投与量(ppm)							
		0	40	250	1500	0	40	250	1500
全動物									
精囊	平滑筋腫 (B)	0/10	0/7	0/5	1/9	-	-	-	-
子宮	内膜間質ホリフ (B)	-	-	-	-	1/60	0/60	0/60	0/60
	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	1/60	0/60	0/60	0/60
	血管肉腫 (M)	-	-	-	-	0/60	0/60	1/60	1/60
	悪性線維性組織球腫 (M)	-	-	-	-	0/60	0/60	0/60	1/60
脾臓	血管内皮腫 (B)	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	0/60	1/60	0/59
	血管腫 (B)	1/60	2/60	0/60	3/60	6/60	1/60	1/60	10/59
	悪性リンパ腫 (M)	0/60	0/60	0/60	0/60	1/60	1/60	1/60	0/59
リンパ節	悪性リンパ腫 (M)	1/59	2/60	0/60	1/59	6/60	8/60	2/60	4/60
膵島	島細胞腺腫 (B)	0/59	0/60	0/60	0/59	0/60	0/60	0/59	1/59
乳腺	腺腫 (B)	-	-	-	-	0/46	1/36	0/31	1/42
	線維腺腫 (B)	-	-	-	-	1/46	0/36	0/31	0/42
皮膚/皮下	血管周皮腫 (B)	1/60	0/60	0/58	0/59	0/60	0/59	0/60	0/60
	線維腫 (B)	0/60	0/60	0/58	0/59	0/60	0/59	1/60	0/60
	線維肉腫 (M)	0/60	0/60	0/58	1/59	0/60	0/59	0/60	1/60
	悪性線維性組織球腫 (M)	0/60	0/60	0/58	0/59	0/60	0/59	0/60	1/60
	血管腫 (B)	0/60	2/60	0/58	2/59	0/60	1/59	0/60	0/60
舌	扁平上皮癌 (M)	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0
下垂体	腺腫 (B)	0/54	0/56	0/53	0/51	3/60	5/57	5/55	4/56
	血管腫 (B)	0/54	0/56	0/53	0/51	1/60	0/57	0/55	0/56
	腺癌 (M)	0/54	0/56	0/53	0/51	0/60	1/57	0/55	0/56
卵巢	黄体腫 (B)	-	-	-	-	1/59	0/60	0/60	0/60
	線維腫 (B)	-	-	-	-	0/59	0/60	1/60	0/60
	血管腫 (B)	-	-	-	-	0/59	0/60	0/60	1/60
	悪性顆粒膜細胞腫 (M)	-	-	-	-	0/59	1/60	1/60	0/60
ハート腺	腺腫 (B)	6/7	5/7	2/4	1/2	1/2	3/3	2/2	0/0
	腺癌 (M)	0/7	1/7	0/4	0/2	0/2	0/3	0/2	0/0
	未分化肉腫 (M)	1/7	0/7	0/4	0/2	0/2	0/3	0/2	0/0
骨髄	血管腫 (B)	0/60	0/60	0/59	1/59	0/60	1/60	1/60	0/60
骨	骨腫 (B)	0/60	0/60	0/59	0/59	1/60	0/60	0/60	0/60
	骨肉腫 (M)	0/60	0/60	0/59	0/59	1/60	0/60	0/60	0/60
血液	白血病 (M)	1/1	0/0	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0
部位不明	血管腫 (B)	0/1	0/3	0/0	0/1	0/2	0/1	0/2	1/3

Fisher's exact test $\uparrow\downarrow$: $P < 0.05$ (申請者実施)

表中の分数は病変発生数/検査動物数、(B)は良性、(M)は悪性腫瘍

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-マウス発がん性 >

< 表4 > 病理組織学的検査 腫瘍発生数及び担腫瘍動物数

性別	雄				雌				
	0	40	250	1500	0	40	250	1500	
投与量 (ppm)									
検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
腫瘍数	(B)	42	43	28	46	30	14	20	25
	(M)	16	13	12	21	11	15	9	12
腫瘍総数		58	56	40	67	41	29	29	37
担腫瘍動物数 [§]	(B)	34	32	↓22	36	23	↓9	17	22
	(M)	15	13	12	18	10	15	8	11
担腫瘍動物数 [§]		42	38	32	44	31	21	23	30

[§]Fisher の直接確率計算法 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01 (申請者実施)

(B)は良性、(M)は悪性腫瘍

以上の結果から、検体のマウスに対する 24 ヶ月間飼料混入投与による影響を列挙する。

1500 ppm 群の雌雄で、血液学的変化(ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数の減少、MCV、MCH、血小板数の増加)、血液生化学的変化(無機リン、コリンエステラーゼの増加、尿酸の減少、総コレステロールの変化<雄で減少、雌で増加>)、臓器重量の変化(肝臓重量及び対体重比の増加)、病理組織所見(肝結節の増加)がみられた。

1500 ppm 群の雄で、体重増加抑制、食餌効率減少、血液学的変化(MCHC の増加、白血球数の減少)、血液生化学的変化(GPT の増加)、臓器重量の変化(脾臓重量の減少、副腎重量の増加)、病理組織所見(肝細胞核大小不同の増加、肝腫瘍<腺腫/癌/肝芽腫の何れか>の増加傾向)がみられた。

1500 ppm 群の雌で、血液学的変化(白血球数、網赤血球数の増加)、血液生化学的変化(血糖の増加)、臓器重量の変化(脾臓重量の増加、卵巣重量及び対体重比の減少)、病理組織所見(肝細胞腺腫及び肝腫瘍<腺腫/癌/肝芽腫の何れか>の増加)がみられた。

250 ppm 群の雄で、体重増加抑制、食餌効率減少、血液学的変化(白血球数の減少)、同群の雌で、血液生化学的変化(血糖の増加、尿酸の減少)がみられた。

従って、本試験における無毒性量は 40 ppm(雄 6.72 mg/kg、雌 8.38 mg/kg)と判断される。

申請者註:肝臓腫瘍に関する考察

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-イヌ慢毒>

⑭ 1年間反復経口投与毒性試験

イヌを用いた1年間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 毒 A28)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:1984年

検体純度 :

試験動物 : ビーグル犬、1群雌雄各4匹、6~7ヶ月齢、体重:雄8.2~13.4kg、雌6.5~10.7kg

試験期間 : 1年間(1982年12月22日~1983年12月22日)

投与方法 : 検体を直接粉末飼料に混入、乳鉢で混合してプレミックスを調製、更に適切な濃度となるように飼料を加えて混合し、0、100、500及び5000 ppmの試験飼料を調製して、1年間自由摂取させた。混餌飼料は毎週1回調製した。なお、対照群には検体を混入しない飼料を同様に与えた。

投与量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態および死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。また、詳細な検査(外観、状態、行動、活動性、排泄機能、呼吸、開口部、眼及び触診可能な腫瘤)は個体別に毎週1回実施した。

全群に死亡例は認められなかった。試験期間中、検体投与に関連する臨床所見は認められなかった。流涎が検体投与動物数例で散発的に観察され、対照群動物には認められず、検体投与による所見とは考えられなかった。次のような一般的所見が全群に観察された。

鼻鏡乾燥、軟便/下痢、嘔吐、眼分泌物、瞬膜弛緩、強膜充血、流涙、皮膚炎(耳介)及び赤色臍分泌物。

体重変化; 毎週1回、全ての動物の個体別体重を測定した。

試験期間を通じて、対照群に比較していずれの投与群の体重にも統計学的有意差は認められなかった。5000 ppm 群雄及び検体投与群雌で体重増加抑制傾向がみられたが、検体投与の影響とは考えられなかった。試験終了時における群平均体重及び体重増加量の対照群に対する比率を以下の表に示す。

投与量(ppm)		100	500	5000
平均体重	雄	102	107	91
	雌	89	92	96
体重増加量	雄	113	108	42
	雌	71	64	71

t-検定(Dunnett 多重比較表)で有意差なし(有意水準は $P < 0.05$)

表中の数値は対照群を100とした場合の数

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体－イヌ慢毒＞

摂餌量、検体摂取量及び食餌効率；毎週個体別に測定した摂餌量と体重から検体摂取量及び食餌効率を計算した。

試験期間を通じて全般的に全ての検体投与群の摂餌量(g/kg 体重/day)が対照群に比較して低下した。しかし、週毎の値にはバラツキがみられ、用量相関性はみられなかった。

10 週毎の摂餌量の対照群に対する割合を以下の表に示す。

投与量(ppm)		100	500	5000	
摂餌量 (g/kg/day)	1 週間	雄	91	101	77
		雌	90	87	↓86
	10 週間	雄	86	79	99
		雌	80	↓76	84
	20 週間	雄	95	↓67	95
		雌	82	71	78
	30 週間	雄	71	↓55	77
		雌	89	82	85
	40 週間	雄	89	91	98
		雌	70	78	75
	50 週間	雄	82	↓68	93
		雌	85	72	79

t-検定 (Dunnnett多重比較表) ↓:P<0.05、↓↓:P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の数

食餌効率には週毎の値に変動傾向がみられたが、検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量を以下の表に示す。

投与量(ppm)		100	500	5000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.87	13.1	153
	雌	3.17	13.9	148

身体検査；全動物を対象として試験開始前、試験 3、6、9 及び 12 ヶ月時に以下について検査した。

頭部、頸部、胸部、腹部、外部生殖器官、皮膚及び四肢の一般的な状態の詳細な観察を実施した。心音、呼吸音を打診及び聴診により検査した。

観察された所見は偶発所見であり、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体－イヌ慢毒＞

血液学的検査；試験開始前、試験 3、6 及び 12 ヶ月時に全動物を対象として、約 24 時間絶食後、頸静脈から採血して、以下の項目について測定を行った。

総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血小板数、網赤血球数及び白血球分画、MCV、MCH 及び MCHC

試験 3 ヶ月の検査時には、500 及び 5000 ppm 群雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値に軽度ではあるが統計学的有意な低下がみられた。しかし、他の検査時にそれらの変動は観察されず、また、これらの所見は雌に認められなかった。

その他の変動は偶発的所見であり生物学的意義はないと考えられた。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた検査項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		100	500	5000	100	500	5000
赤血球数	3 ヶ月		↓92	↓90			
ヘモグロビン濃度	3 ヶ月		↓92	↓91			
ヘマトクリット値	3 ヶ月		↓93	↓91			
網赤血球数	6 ヶ月		↓40		↓33		
白血球数	0 ヶ月						↓77
MCV	3 ヶ月						↑101
好中球数	0 ヶ月					↓81	↓66
リンパ球数	12 ヶ月						↓56

t-検定 (Dunnnett 多重比較表) ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-イヌ慢毒>

血液生化学検査；血液学的検査と同一の検査時期に、全動物から採取した血液の血清を用いて以下の項目の測定を行った。

Na、K、Cl、Ca、P、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、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)、オルニチンカルバモイルトランスフェラーゼ (OCT)、クレアチニンホスホキナーゼ (CPK)、赤血球コリンエステラーゼ、血清コリンエステラーゼ、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン (計算値)、コレステロール及びグルコース

5000 ppm 群雌雄でアルカリホスファターゼ値の有意な上昇が認められ、これは検体投与による影響であると考えられた。5000 ppm 群で ALT に軽度の上昇がみられ、12 ヶ月時に雌で有意差が認められた。

100 及び 500 ppm 群雌にアルカリホスファターゼの低下がみられ、5000 ppm 群雄でクレアチニンの軽微な低下がみられた。また、500 及び 5000 ppm 群雄及び 5000 ppm 群雌の 12 ヶ月時に総蛋白の低下がみられたが、これらの値は各群の各検査時において一定であり、生物学的有意差は疑わしい。これらの他に有意差の散見された偶発所見がみられたが、検体投与による影響ではないと考えられた。赤血球及び血清中コリンエステラーゼ値には有意差は認められなかった。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた検査項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		100	500	5000	100	500	5000
アルカリ ホスファターゼ	0 ヶ月				↓67		
	3 ヶ月				↓54		↑182
	12 ヶ月			↑270	↓43	↓55	↑183
ALT	12 ヶ月						↑148
クレアチニン	3 ヶ月			↓90			
総蛋白	12 ヶ月		↓86	↓86			↓85
グロブリン	12 ヶ月		↓71			↓68	
Ca	6 ヶ月						↓93
P	12 ヶ月						↓86

t-検定 (Dunnett 多重比較表) ↑↓: P<0.05, ↑↑↓↓: P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし

尿検査；血液学的検査と同時期に、24 時間の絶食期間中後半 16 時間に採取した尿について以下の項目を検査した。

色調、外観、尿沈渣の顕微鏡検査、比重、尿量、pH、蛋白、グルコース、潜血、亜硝酸塩、ビリルビン、ケトン体及びウロビリノーゲン

検体投与に起因する変化は認められなかった。

眼科学的検査；試験開始前及び試験 27 週時及び 51 週時に 1-2 滴の散瞳剤 (1% tropicamide) を点眼して間接検眼鏡を用いて眼を検査した。必要に応じ直接あるいはスリットランプによる検査も行った。

検体投与による影響は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体－イヌ慢毒＞

臓器重量；試験終了時の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重に対する体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、脾臓、精巣、甲状腺及び上皮小体

5000 ppm 群雌雄で副腎重量及びその対体重比が統計学的に有意な増加を示した。この重量増加は病理組織学的に副腎皮質の肥大によるものであった。更に、5000 ppm 群雄で肝臓重量対体重比の有意な増加がみられた。5000 ppm 群雌雄で統計学的有意差はなかったが、明らかな肝臓重量の増加がみられ、これは病理組織学的に肝細胞肥大と関連していた。

100 ppm 群雌にみられた脾臓重量の増加には用量相関性はなく脾臓に形態学的変化がみられないことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。

対照群に比較して統計学的に有意差の認められた検査項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		100	500	5000	100	500	5000
体重		101	106	89	91	95	102
副腎	重量			↑160			↑177
	対体重比			↑179			↑170
肝臓	対体重比			↑130			
脾臓	重量				↑191		
	対体重比				↑208		

t-検定 (Dunnett多重比較表) ↑↓: P<0.05, ↑↓: P<0.01

表中の数値は対照群を100とした場合の数、空欄は有意差なし

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物を対象として、ペントバルビタールナトリウムの静脈内注射による麻酔後、放血により屠殺、剖検した。外部検査ののち各動物を切開し、腹腔、胸腔及び頭蓋腔の臓器をその位置で観察して、臓器を摘出し、表面及び断面を検査した。試験計画書に沿って組織を採取して中性リン酸緩衝ホルマリン液中に保存した。

検体投与に起因する肉眼的変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－イヌ慢毒>

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した全動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色を行い、病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、骨(肋骨)、骨髓(肋骨)、骨髓塗抹標本、脳(大脳、中脳、後脳)、眼球、消化管(食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、性腺[卵巣、精巣及び精巣上部]、心臓、腎臓、肝臓、胆嚢、肺及び気管支、リンパ節(下顎、腸間膜、必要な部位)、乳腺(雌のみ)、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺、顎下リンパ節と顎下腺、坐骨神経、骨格筋(大腿部)、脊髓(頸、胸及び腰部)、脾臓、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、肉眼的病変部、全ての腫瘍

検体投与による影響として副腎皮質の肥大及び肝細胞肥大が観察された。

500 及び 5000 ppm 群雌雄に副腎皮質肥大が認められ、この所見は皮質の球状帯、束状帯、網状帯の全てにみられ、脂肪空胞化を伴う皮質細胞の軽度な肥大であった。5000 ppm 群雌雄に認められた副腎重量及び対体重比の有意な増加は皮質の肥大に関連した。

5000 ppm 群雌雄に認められた肝細胞肥大は肝臓重量及びその対体重比の増加に関連すると考えられた。

その他は自然発生的所見であり、検体投与に関連性はないと考えられた。

主な病理組織学的所見を以下の表に示す。

性別		雄				雌			
		0	100	500	5000	0	100	500	5000
投与量(ppm)		0	100	500	5000	0	100	500	5000
臓器・所見\検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
副腎	皮質肥大			4	4			4	4
肝臓	肝細胞肥大				4				4
腎臓	石灰沈着	2	4	4	4	4	4	4	3
骨髓	低細胞性変化				1				
精巣上部	動脈炎				1	-	-	-	-
胆嚢	リンパ球浸潤				1				
下垂体	嚢胞		1	2		1	1	3	2
胃(腺胃部)	リンパ球浸潤	3		1	1		3	2	1
甲状腺	傍濾胞細胞過形成	1	3	1	3	3	1		2

空欄は所見なし、-は該当しないことを示す

統計解析は実施していない(申請者註)

以上の結果から、検体のビーグル犬に対する 1 年間飼料混入投与による毒性試験における影響として、5000 ppm 群雌雄でアルカリホスファターゼの上昇、同群雌で ALT の軽度な上昇がみられた。500 及び 5000 ppm 群雌雄に副腎皮質の軽度な肥大並びに 5000 ppm 群雌雄で軽度の肝細胞肥大が認められた。従って、本試験における無毒性量は 100 ppm(雄 2.87 mg/kg/day、雌 3.17 mg/kg/day)であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体ーイヌ 28 日間>

⑮ 28 日間反復投与

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-イヌ28日間>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

⑩ 繁殖毒性試験

ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No. 毒 A30)

試験期間:

報告書作成年:1985年

検体純度 :

試験動物 : Wistar 系ラット、5 週齢、F0 及び F1 世代は 1 群雌雄各 30 匹、F2 世代は 1 群雌雄各 20 匹、試験開始時体重:雄 98~111 g、雌 83~92 g

試験期間 : F0 世代;5 週齢時から F1b 児離乳時までの 32 週間、雄は第 2 回交配終了までの 26 週間

F1 世代;F1b 離乳時から F2b 児離乳までの 32 週間、雄は第 2 回交配終了までの 26 週間

F2 世代;F2b 離乳から雌雄とも 13 週間(1982 年 5 月 14 日~1983 年 11 月 4 日)

投与方法 : 検体を直接基礎飼料に混合し、0、60、400 及び 2400 ppm の濃度の試験飼料を調製して 3 世代(F0、F1 及び F2 世代)にわたり自由摂取させた。試験飼料は 2 週に 1 回調製し、調製後投与時まで冷蔵庫に保管した(2~6℃)。

投与量設定根拠;

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

試験群の構成；試験群の構成を以下の表に示す。

世代	投与量(ppm)	0		60		400		2400	
	性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
F0	親動物数	30	30	30	30	30	30	30	30
	第1回交配妊娠動物数		29		29		27		26
	出産後観察用動物数		29		29		27		26
	第2回交配妊娠動物数		25		25		26		24
	催奇形性試験用動物数		5		5		5		5
	出産後観察用動物数		5		5		5		5
	継代選抜用動物数		15		15		16		14
F1	親動物数	30	30	30	30	30	30	30	30
	第1回交配妊娠動物数		27		26		25		25
	出産後観察用動物数		27		26		25		25
	第2回交配妊娠動物数		25		23		23		25
	催奇形性試験用動物数		5		5		5		5
	出産後観察用動物数		5		5		5		5
	継代選抜用動物数		15		13		13		15
F2	離乳後観察用動物数	20	20	20	20	20	20	20	20

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁以降の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；試験期間中全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌の発情を膣垢検査による性周期で確認し、発情前期に雌雄1対1で同居させ、翌日膣栓及び膣垢中の精子の検査により交尾を確認、確認日を妊娠0日と定めた。膣栓のみの確認の場合は更に性周期を確認し、発情前期に交配した。交配は3回を限度とした。妊娠の最終的な確認は分娩時及び帝王切開時に行った。

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

交尾率(%)：(交尾動物数/同居動物数)×100

妊娠率(%)：(妊娠動物数/交尾動物数)×100

出産率(%)：(生児出産雌数/妊娠雌数)×100

胎児生存率(%)：(生存胎児数/着床数)×100

新生児の性比(%)：雄数/雌数

新生児生存率(%)：(生後4日の生児数/出産児数)×100

哺育率：(離乳時生児数/生後4日調整後の生児数)×100

妊娠期間：交尾確認日(妊娠0日)から出産までの日数

体重変化；以下の通り測定した。

親動物(F0、F1、F2世代)は雌雄とも毎週1回体重を測定し、妊娠期間中は妊娠0、7、14及び20日に測定、また、哺育期間中は出産後0、7、14及び21日

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

に測定した。

F1b 及び F2b 新生児は出産後 0、4、7、14 及び 21 日に体重を測定した。観察用新生児動物については観察終了時の生後 28 日にも体重を測定した。

摂餌量及び食餌効率；摂餌量は投与開始から毎週 1 回測定し、妊娠期間中は妊娠 0、7、14 及び 20 日に測定、また、哺育期間中は出産後 0、7、14 及び 21 日に測定した。

食餌効率及び検体摂取量は体重及び摂餌量から算出した。

生殖性及び新生児の観察；本試験は繁殖性試験及び催奇形性試験を併合して実施した。繁殖試験では交配から自然分娩までの妊娠期間の算出、分娩時における新生児の生死、性別、外観の観察、生存児の体重測定を行い、哺育させた。

生産後 4 日目に哺育児が多い場合は 1 腹 8 匹に調整した。3 週間の保育期間中は哺育児数、発育分化（耳介展開、腹部被毛発生、切歯萌出、眼瞼開裂）を調べ、死亡児及び淘汰児については骨格標本作製した。

F1a は離乳時まで観察した後、屠殺、病理検査を行った。F1a 離乳約 2 週間後に再度 F0 親を交配し、得られた妊娠動物を次の試験に分配した。

妊娠動物 5 匹については催奇形性試験用として妊娠 20 日時に帝王切開した。

妊娠動物 5 匹は自然分娩により F1b を得て、28 日間育成した後、屠殺、病理検査を行った。

残りの F0 妊娠動物から得られた F1b 新生児は生後 21 日に離乳し、各群雌雄 30 匹を継代用（F1 世代）として選抜して、残りの F1b 児は屠殺、病理検査に用いた。

F1 世代から得られた F2a は離乳まで観察した後、屠殺、病理検査を行った。F2a の離乳約 2 週間後に F1 親を再び交配し、得られた妊娠動物を上記同様に配分した。即ち、5 匹を催奇形性試験用として妊娠 20 日時に帝王切開し、5 匹を自然分娩により得られた F2b 新生児を 28 日間観察後、屠殺、病理検査に用い、また、残りの F1 妊娠動物から得られた F2b 新生児は生後 21 日に離乳して、離乳後各群雌雄各 20 匹に対して各試験飼料を 13 週間投与し、観察した後、各群雌雄各 10 匹を屠殺、病理検査に用いた。

催奇形性試験；妊娠 20 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数を観察し、死亡胚は初期あるいは後期死亡胚に分類した。

生存胎児については体重、外形異常、性別、胎盤重量を観察したのち、1/3 をブアン液で固定、Wilson 変法及び西村法により内臓異常の有無を観察した。残りの 2/3 は 70%アルコール水溶液で固定し、Dawson 変法に従い骨格標本作製し、骨格奇形、変異あるいは化骨の進行状態を検査した。

病理学的検査；肉眼的検査により異常の有無、外観、病変、部位、大きさ、硬さ等を検査、記録した。

F0 及び F1 世代の親動物については、雄は 2 回交配終了時、雌は第 2 回離乳時に屠殺、各群雌雄各 10 匹について臓器重量を測定し、各群雌雄各 5 匹に

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

ついて病理組織学的検査を行った。

F2 世代は投与 13 週後に屠殺、各群雌雄各 10 匹について臓器重量測定し、病理組織学的検査を行った。

以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、肝臓、副腎、心臓、腎臓、精巣、卵巣、肺、脾臓

以下の臓器・組織について病理組織学的検査を行った。

脳、肝臓、副腎、心臓、腎臓、精巣、卵巣、肺、脾臓、下垂体、甲状腺、脊髄、眼、唾液腺、胸腺、気管、食道、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸管部、リンパ節、坐骨神経、皮膚、乳腺、骨髄、大腿筋及び病変部

試験の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
親 F0 児 F1	5 週齢時より投与 生育(13 週間)		一般症状、生死を毎日観察 体重、摂餌量を週 1 回測定 投与 13 週時から膣垢塗抹により性周期を検査し、発情を確認
	第 1 回交配 (3 回を限度)	発情前期を示す日の夕刻に雌雄交配状況の観察:膣栓のみ確認の場合、更に性 1 対 1 で交配、翌朝膣栓及び膣垢周期を観察、発情前期を確認して再度交配(3 回中の精子を確認(妊娠 0 日とする)まで)	
	妊娠(3 週間)		妊娠 0、7、14、20 日に体重及び摂餌量を測定
	出産[F1a] 哺育(3 週間)	出産後 4 日目各同腹児数を 8 匹と調整(可能な限り雌雄各 4 匹とする)	出産状況の観察:新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児体重測定、母動物は出産後 0、7、14、21、28 日目に体重、摂餌量を測定
	離乳 休息(2 週間)		出産後 0、4、7、14、21 日に生存児数、児体重測定、なお、途中死亡及び 4 日目屠殺の新生児について異常の検査、骨格標本の作製、検査
	第 2 回交配 (3 回を限度)	(第 1 回交配に準ずる)	(第 1 回交配に準ずる)交配後雄は屠殺、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査
	妊娠(3 週間)		(第 1 回交配に準ずる)
	出産[F1b]	(F1a に準ずる)	(F1a に準ずる)
	哺育(3 週間)		妊娠 20 日に母動物 5 匹を帝王切開 催奇形性試験に使用
	親 F1 児 F2	離乳 生育(13 週間)	継代用の各群雌雄各 30 匹を 30 腹から無作為に選抜
交配(3 回を限度)		(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
妊娠(3 週間)			(F0 世代に準ずる)
出産[F2a]			(F0 世代に準ずる)
哺育(3 週間)		(F1 世代に準ずる)	(F1 世代に準ずる)
離乳 休息(2 週間)			(F1 世代に準ずる)
交配(3 回を限度)		(F0 世代に準ずる)	(F0 世代に準ずる)
出産[F2b]		(F1 世代に準ずる)	(F1 世代に準ずる)
哺育(3 週間)			(F1 世代に準ずる)
離乳			F2b は 13 週間観察後病理解剖を実施、各群雌雄各 10 匹を病理組織学的検査

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

結果:概要を表 1-5 に示す。

一般状態; 両世代とも眼球突出、白内障、皮下腫瘤、流産あるいは早産が散見されたが、投与用量との関連性はなく、検体投与による影響とは考えられなかった。400 及び 2400 ppm 群の F1 および F2 新生児に観察された眼瞼不開裂は、病理組織学的検査結果から先天性の小眼球症と考えられ、また、両世代の催奇形性試験結果で何ら異常所見はみられなかったことから、これらは偶発所見であると考えられた。

体重および摂餌量; 両世代の 2400 ppm 群(雌雄)の育成期間中に体重増加抑制が、両世代の 2400 ppm 群(雌)の育成期間中に摂餌量の減少が認められた。両世代ともに 2400 ppm 群の母動物に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。F1 世代の雄の 400 ppm 群でも体重の増加抑制が認められた。また、各世代の 2400 ppm 群の新生児に体重増加抑制が認められた。F1 世代の 400 ppm 群でも新生児の体重増加抑制の傾向が観察された。

新生児の性比; 対照群に比較して全ての検体群で F1 世代の第 1 回出産による新生児の性比に統計学的有意差が認められたが、対照群の性比が単発的に変動したと考えられた。

親動物の交配能力及び繁殖能力; 交配能力及び繁殖能力に検体投与による影響は認められなかった。

催奇形性試験結果; 胎児の外形検査、内臓検査及び骨格検査で散見された所見には検体投与による影響は考えられず、観察された異常は全て自然発生的所見であると考えられた。

臓器重量; 両世代の終了時において、2400 ppm 群で肝臓重量(雌雄)の有意な増加および脾臓重量(雄)の有意な減少がみられた。また、腎臓、副腎、脳及び精巣重量に増加あるいは減少が散見された。400 ppm 群の肝臓重量(雌雄)にも増加傾向が観察された。

病理組織学的検査; F0 及び F2 の 2400 ppm 群雄で腎臓内に蛋白様円柱が観察されたが、雌には同所見は観察されなかった。

以上の他、検体投与に関連する異常所見は観察されず、散見された所見は全て自然発生的な所見であると判断された。

以上の結果から、3 世代にわたってヘキシチアゾクス原体を飼料中に混入して投与した場合、2400 ppm 群で親動物及び児動物に体重増加抑制がみられ、400 ppm 以上の群で肝臓重量増加及び体重増加抑制傾向が観察された。

従って、親動物に対する無毒性量(NOEL)は 60 ppm(F0 世代:雄 4.22 mg/kg/day、雌 5.21 mg/kg/day、F1 世代:雄 4.30 mg/kg/day、雌 5.27 mg/kg/day)、児動物に対する無毒性量も 60 ppm (F1 世代:雄 4.30 mg/kg/day、雌 5.27 mg/kg/day、F2 世代:雄 4.83 mg/kg/day、雌 5.34 mg/kg/day)と判断される。

繁殖能に対する無毒性量は 2400 ppm(F0 世代:雄 173 mg/kg/day、雌 206 mg/kg/day、F1 世代:雄 177 mg/kg/day、雌 201 mg/kg/day)であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

<表1> 結果概要

世代		親:F0 児:F1a				親:F0 児:F1b			
投与濃度(ppm)		0	60	400	2400	0	60	400	2400
供試動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30
一般状態(動物数)	雄		眼球突出 1						
	雌	白内障 1 皮下腫瘤 1	流産 1		白内障 1				
死亡率(%) 0-26 週	雄	0	0	0	0				
	雌	0	3.3	0	0				
体重変化(%) 0-13 週	雄	(218 g)	100	98	↓95				
	雌	(95 g)	101	99	♁89				
摂餌量(%) 0-13 週	雄	(1526 g)	99	100	98				
	雌	(1046 g)	102	99	↓97				
食餌効率(%) 0-13 週	雄	(14.3)	100	98	↓97				
	雌	(9.1)	98	100	♁92				
検体摂取量 (mg/kg/day)	0-26 週 雄	0	4.22	28.7	173				
	0-13 週 雌	0	5.21	34.0	206				
親動物 F0 臓器重量	肝臓(g)	雄	100		♁131				
		雌	100		♁129				
	肝臓(%)	雄	100		↑106	♁133			
		雌	100		↑108	♁137			
	腎臓(g)	雄	100			♁110			
		雌	100						
	腎臓(%)	雄	100		↑106	♁111			
		雌	100		↑105	♁111			
	脾臓(g)	雄	100			↓94			
		雌	100						
	副腎(g)	雄	100			↑124			
		雌	100			↑119			
	副腎(%)	雄	100		↑118	↑136			
		雌	100			↑122			
	脳(%)	雌	100			↑105			
	精巣(%)	雄	100		♁106	↑105			
主な肉眼的の病理検査	雄		精巣萎縮						
	雌		卵巣嚢胞	肝臓結節	肝臓結節				
主な病理組織検査	雄				腎蛋白様 円柱				
	雌								
交尾率(%)		100	100	96.7	96.4	100	100	100	100
妊娠率(%)		96.7	96.7	93.1	96.3	86.2	89.3	96.3	92.3
出産率(%)		100	96.6	100	100	100	95.0	100	100
妊娠期間(日)		22.0	22.0	22.0	22.0	22.1	22.0	22.0	22.0
妊娠 20 日体重(g)		258	255	257	♁240	270	274	277	↓260
妊娠 20 日摂餌量(g)		89	91	90	♁83	95	98	97	↓90
哺育 21 日体重(g)		217	222	215	♁199	245	249	243	♁226
哺育 21 日摂餌量(g)		296	288	295	♁253	277	↑312	303	285

t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、♁♂:P<0.001

空欄は特記所見なし、あるいは有意差なし体重変化、斜線は該当せず
摂餌量、食餌効率、臓器重量は、対照群に対する比率(%)を示した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

<表2> 結果概要

世代		親:F0 児:F1a				親:F0 児:F1b				
投与濃度(ppm)		0	60	400	2400	0	60	400	2400	
供試動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
平均産児数		10.4	9.5	10.1	9.9	7.9	8.5	↑9.9	↑10.1	
新生児生存率		99.0	97.8	98.9	96.1	98.7	99.4	98.1	96.9	
性比(雄/雌)		0.98	1.04	0.95	0.83	1.08	1.25	0.87	0.90	
同腹生存児 体重(g)	0日	雄					5.3	5.3	5.2	5.2
		雌					5.0	5.0	4.8	4.9
	4日	雄					8.7	8.9	8.5	♁7.8
		雌					8.4	8.5	8.1	♁7.5
	21日	雄					38.7	38.2	37.5	♁31.2
		雌					36.5	36.5	35.0	♁30.1
	28日	雄					61.0	60.5	60.0	↓54.8
		雌					55.2	55.0	54.8	↓50.5
生後4日目生存率		99.7	98.5	98.9	98.0	98.7	99.4	98.1	96.9	
離乳時生存児数		7.7	7.1	7.7	7.4	6.7	6.9	7.3	7.5	
発育分化	腹部被毛発生 (9日)					8.3	↓0	↓0	↓0	
	切歯萌出(9日)					6.0	3.8	3.2	↑14.8	
	水頭症							1(0.6)		
	片眼瞼未開裂								1(0.7)	
骨格検査 4日齢児	胸骨核 非対称					1				
	14肋骨						1	2	1	
	胸椎椎体 分離							1		

t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↑:P<0.01、♁♁:P<0.001

発育分化の統計学的処理 カイ平方検定 ↑:P<0.05、↓:P<0.01

空欄は特記所見なし、あるいは有意差なし体重変化、斜線は該当せず

新生児生存率は、生後4日の生児数/出産児数×100

生後4日目生存率は、生後1-4日の生存児生存率

離乳時生存児数は、生後21日の1腹当りの平均生存児数

発育分化:腹部被毛発生、切歯萌出は生後9日での到達率、水頭症、片眼瞼未開裂は生後21日での発生数(%)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

<表3> 結果概要

世代		親:F1 児:F2a				親:F1 児:F2b				
投与濃度(ppm)		0	60	400	2400	0	60	400	2400	
供試動物数	雄	30	30	30	30	27	26	25	25	
	雌	30	30	30	30	27	26	25	25	
親動物 F1	一般状態	雄	眼球突出 1	眼球突出 1						
		雌	白内障 1		皮下腫瘍 1 早産 1	眼球内出血 1				
	死亡率	雄	0	0	0	0	0	0	0	
		雌	0	0	0	0	0	0	0	
	体重変化% 0-13 週	雄	(232 g)	102	↓96	♁90	(243 g)	102	↓97	↓95
		雌	(106 g)	103	100	♁92	(115 g)	97	97	97
	摂餌量% 0-13 週	雄	(1479 g)	↑103	101	98	(1432 g)	↑104	99	98
		雌	(1047 g)	↑104	↑103	♁95	(1059 g)	99	98	♁92
	食餌効率(% 0-13 週	雄	(15.7)	99	♁95	♁92	(17.0)	98	98	↓96
		雌	(10.1)	99	98	↓97	(10.9)	98	99	↑105
検体摂取量 (mg/kg/day)	0-26*週 雄	0	4.30	29.0	177	0	4.83	31.5	192	
	0-13 週 雌	0	5.27	35.2	201	0	5.34	35.1	216	

t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、♁♂:P<0.001、空欄は特記所見なし、あるいは有意差なし

性比の統計学的処理 カイ平方検定 ↑:P<0.01

体重変化、摂餌量、食餌効率、臓器重量は、対照群に対する比率(%)を示した。

*:雄 F2 世代(F2b)の育成期間は 0-13 週

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

<表3 つづき> 結果概要

世代		親:F1 児:F2a				親:F1 児:F2b				
投与濃度(ppm)		0	60	400	2400	0	60	400	2400	
供試動物数	雄	30	30	30	30	27	26	25	25	
	雌	30	30	30	30	27	26	25	25	
親動物 F1	脳(g)	雄	100			↓97	100			
		雌	100			↓94	100			↓96
	脳(%)	雄	100			↑107	100	↓96		
		雌	100				100			◇108
	心臓(g)	雄	100			↓92	100			
		雌	100		↓90	↓88	100			
	心臓(%)	雄	100				100			
		雌	100		↓92		100			
	肺(g)	雄	100	↓94		↓89	100			
		雌	100	↓94			100			
	肝臓(g)	雄	100		↑111	◇122	100			◇123
		雌	100	↓92		↑115	100			◇119
	肝臓(%)	雄	100			◇134	100		↑105	◇129
		雌	100	↓92		◇126	100			◇133
	腎臓(g)	雄	100		↑110		100			
		雌	100				100			
	腎臓(%)	雄	100			◇116	100		↑105	◇110
		雌	100			↑111	100			
	脾臓(g)	雄	100			↓89	100			↓90
		雌	100				100			↓84
	脾臓(%)	雄	100				100			↓95
		雌	100				100			↓94
	副腎(g)	雄	100				100			
		雌	100				100			
副腎(%)	雄	100			↑125	100	↓92		↑109	
	雌	100				100			↑110	
精巣(g)	雄	100		↓92	↓93	100				
	雌	100		↓93		100				
卵巣(%)	雄	100			↑126	100			↑116	
	雌	100				100				
主な肉眼的病理検査	雄				リンパ節赤色					
	雌									
主な病理組織検査	雄								腎蛋白様円柱	
	雌									
交尾率(%)		100	96.7	100	100	100	96.2	100	100	
妊娠率(%)		90.0	89.7	83.3	83.3	92.6	92.0	92.0	100	
出産率(%)		100	96.2	96.0	100	100	94.4	94.4	100	
妊娠期間(日)		22.0	22.2	22.0	22.1	22.1	22.0	21.8	22.1	
妊娠20日体重(g)		262	265	264	◇242	276	286	280	↓262	
妊娠20日摂餌量(g)		93	↑97	↑96	◇86	97	100	100	↓92	
哺育21日体重(g)		235	239	232	◇215	256	253	252	◇235	
哺育21日摂餌量(g)		303	296	317	↓267	316	294	319	↓284	

t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、◇◇:P<0.001、空欄は特記所見なし、あるいは有意差なし

性比の統計学的処理 カイ平方検定 ↑:P<0.01

体重変化、臓器重量は、対照群に対する比率(%)を示した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

<表4> 結果概要

世代		親:F1 児:F2a				親:F1 児:F2b				
投与濃度(ppm)		0	60	400	2400	0	60	400	2400	
供試動物数	雄	30	30	30	30	27	26	25	25	
	雌	30	30	30	30	27	26	25	25	
平均産児数		9.0	7.9	9.7	8.0	8.7	9.2	9.3	9.2	
新生児生存率		99.2	96.6	98.7	98.5	97.7	90.4	96.4	96.7	
性比(雄/雌)		0.73	↑1.13	↑1.08	↑1.15	1.08	0.90	1.31	1.18	
児動物 F2	同腹生存児 体重(g)	0日	雄				5.3	↓5.1	5.1	5.3
			雌				4.9	4.8	4.8	4.9
		4日	雄				8.0	7.8	7.5	7.2
			雌				7.6	7.6	7.3	6.8
		21日	雄				34.8	33.1	32.4	♁28.6
			雌				33.5	32.2	↓30.9	♁26.9
	28日	雄				55.4	51.0	50.1	↓45.5	
		雌				50.7	48.4	46.0	↓43.6	
	生後4日目生存率		100	97.5	98.7	99.5	98.3	91.6	97.0	97.2
	離乳時生存児数		7.0	6.4	7.4	6.6	6.8	6.3	7.4	7.1
発育分化	腹部被毛発生(10日)					5.8	5.6	1.6	↓0	
	切歯萌出(9日)					5.1	6.4	↓0	2.8	
	眼瞼未開裂							1(0.8)	1(0.7)	
骨格検査	4日 齢	14肋骨				3		3		
		頸肋骨							1	
		胸骨核 非対称				1	1			
		胸椎椎体 分離				1		2	1	

t-検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01、♁♁:P<0.001、空欄は特記所見なし、あるいは有意差なし

性比および発育分化の統計学的処理 カイ平方検定 ↑↓:P<0.05

新生児生存率(%)は、生後4日の生児数/出産児数×100

生後4日目生存率は、生後1-4日の生存児生存率

離乳時生存児数は、生後21日の1腹当りの平均生存児数

発育分化:腹部被毛発生(生後10日)、切歯萌出(生後9日)での到達率、眼瞼未開裂は生後21日での発生数(%)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット繁殖>

<表5>結果概要

妊娠20日目における生殖検査(催奇形性試験)

世代		F1b				F2b				
投与濃度(ppm)		0	60	400	2400	0	60	400	2400	
検査妊娠動物数		5	5	5	5	5	5	5	5	
母動物	平均黄体数	12.4	13.2	13.4	13.6	13.2	12.2	14.0	14.0	
	平均着床数	8.6	8.4	12.0	10.2	8.0	9.6	9.0	↑12.4	
	着床率(%)	69.4	63.6	89.6	75.0	60.6	78.7	64.3	↑88.6	
	平均生存胎児数	7.8	7.8	10.4	8.4	6.2	8.4	8.4	↑11.4	
	平均死亡胎児数	0.2	0	0	0	0	0	0	0	
	平均吸収胚数	0.6	0.6	1.6	1.8	1.8	1.2	0.6	1.0	
	胎児生存率(%)	90.7	92.9	86.7	82.4	77.5	87.5	93.3	91.9	
	生存胎児の性比(雄/雌)	1.1	1.1	0.9	1.2	1.6	0.7	0.9	1.3	
	生存胎児	雄	3.09	3.17	3.08	3.06	3.06	3.19	2.98	3.01
	平均体重(g)	雌	2.92	3.09	2.96	2.80	2.70	2.99	2.74	2.79
平均胎盤重量(mg)		431	414	432	488	449	462	457	464	
外表検査	検査胎児数		39	39	52	42	31	42	42	57
	異常	矮小児数(%)				1(2.4)				
内臓検査	検査胎児数		10	11	16	13	9	13	12	17
	異常	胸腺頸部残留(%)	3(30)	1(9.1)	4(25)	1(7.7)	4(44.4)		3(25.0)	7(41.2)
		肝臓奇形結節(%)	2(20)		2(12.5)	4(30.8)	1(11.1)		1(8.3)	4(23.5)
		停留精巣(%)				1(7.7)				
		左臍動脈(%)	2(20)	1(9.1)	1(6.3)	1(7.7)				
骨格検査	検査胎児数		29	28	36	29	22	29	30	40
	奇形	胸椎椎体分離(%)	1(3.4)	1(3.6)	1(2.8)	2(6.9)			1(3.3)	2(5.0)
		頸肋(%)				1(3.4)				
	変異	胸骨核非対称(%)				1(3.4)	1(4.5)			
		14肋骨(%)	3(10.3)		2(5.6)	1(3.4)		2(6.9)	3(10.0)	
	化骨進行状態			尾椎化骨数増加				胸骨未化骨減少および化骨遅延増加	胸骨化骨遅延増加	

平均着床数、平均生存胎児数の統計処理 t-検定 ↑↓:P<0.05、空欄は特記所見なし
着床率の統計学的処理 カイ平方検定 ↑↓:P<0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット催奇形>

⑰ 催奇形性試験

(1)ラットを用いた催奇形性試験

(資料 No. 毒 A31)

試験機関:

報告書作成年:1984年、改訂 2009年

検体純度 :

試験動物 : CD(SD)系ラット、約 12 週齢、1 群雌 24 匹、平均体重:265.7~270.4 g 交配は臙垢像を毎日観察して発情前期を示した雌を同系統の雄と一夜同居させ、翌日臙栓及び臙垢中の精子を確認し、その日を妊娠 0 日とした。

試験期間 : 妊娠 7~17 日の 11 日間投与(試験期間;1982年3月17日~1982年4月23日)

投与方法 : 検体を粉碎して 5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、240、720 及び 2160 mg/kg/day の投与用量で妊娠 7 日から 17 日までの 11 日間、毎日 1 回胃ゾンデを用いて強制経口投与した。なお、対照群には 5%アラビアゴム水溶液のみを同様に投与した。投与液は毎日調製した。

投与量設定根拠;

申請者註:

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 日から妊娠 21 日まで毎日体重及び摂餌量を個体別に測定した。また、飲水量は給水瓶を用いて妊娠 1、6、11、16 及び 21 日に 1 日当たりの個体別飲水量を測定した。

妊娠 21 日目にクロロホルム麻酔下で帝王切開し、子宮を摘出して重量を測定したのち、切開して生存胎児を摘出した。また、卵巣の黄体数、子宮の着床数、胎児の生存及び死亡ならびに吸収胎児数を検査した。吸収胎児については早期死亡あるいは後期死亡を確認した。

胎児摘出後は母体の病理学的観察を行い、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、卵巣及び副腎の重量を測定して対体重比も算出した。

生存胎児; 体重、胎盤重量を測定し、性別及び外表異常の観察を行った。外表異常を観察したのち各同腹児の約 2/3 の胎児について、エタノールで固定し、McLeod (1980 年)の方法を用いて、骨格標本を作成、骨・軟骨重染色を行って、骨格異常の有無及び化骨進行状況を観察した。残りの約 1/3 の胎児についてはブアン液で固定し、内臓異常の有無について観察した。

申請者註:

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-ラット催奇形 >

結果 : 概要を表 1-2 に示す。

体重変化及び一般症状; 720 及び 2160 mg/kg/day 群で投与期間中、統計学的に有意な体重増加抑制が認められた。

死亡個体は認められず、一般症状に検体投与による影響はみられなかった。

摂餌量; 720 mg/kg/day 群で妊娠 10-12 日目に、また、2160 mg/kg/day 群では妊娠 8、9、12、13 日目に統計学的に有意な摂餌量の減少がみられた。240 mg/kg/day 群で妊娠 8 日にみられた摂餌量の減少は、体重への影響を伴わないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

飲水量; 720 及び 2160 mg/kg/day 群で飲水量の低下傾向がみられたが、対照群との間に統計学的有意差はみられなかった。

臓器重量; 720 mg/kg/day 群で心臓重量、脾臓重量及びその対体重比が対照群に比較して有意に低下したが、投与用量との関連性はみられず、これらは偶発的な所見と考えられた。

720 及び 2160 mg/kg/day 群で卵巣重量及びその対体重比に軽度な上昇がみられ、この変化は検体投与によるものと考えられた。

帝王切開及び母動物の剖検所見; 母動物の肉眼的剖検所見では脾臓の変形、脾臓の赤色化あるいは腎臓の斑状黄色化が対照または 240 mg/kg/day 群に観察され、検体投与による影響ではなかった。240 mg/kg/day 群で妊娠子宮重量の増加が観察されたが、これは 1 母体の胎児数の増加によるものであって、検体投与の影響ではなかった。

着床数、黄体数、生存胎児数及び生存胎児の性比に統計学的有意差は認められなかった。

胎児の観察:

生存胎児体重; 対照群と検体投与群との間に統計学的有意差は認められなかったが、投与用量の増加に伴って低下する傾向が認められた。

[外表観察]

外表変異; 240 及び 2160 mg/kg/day 群に皮下出血、未熟児が散見されたが、対照群との間に有意な差は認められなかった。

外表奇形; 対照群に全身皮下水腫、240 mg/kg/day 群に曲尾、2160 mg/kg/day 群に臍帯ヘルニアがそれぞれ 1 例観察された。これらの所見の発生率に統計学的有意差は認められず、また、用量との関連性もみられなかった。

[内臓観察]

内臓変異; 腎盂拡張が対照群を含む全群に散見されたが、発生率に有意な差は認められなかった。

内臓奇形; 対照群を含む全群に発現は全く認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体-ラット催奇形＞

[骨格観察]

化骨状態； 対照群に比較して、720 及び 2160 mg/kg/day 群で統計学的に有意な中足骨の化骨遅延がみられた。しかし、その他の部位の化骨進行状態に変化はみられなかった。この中足骨の化骨遅延は、生存胎児体重の減少傾向に関連する二次的な変化で、他の部位での化骨遅延が観察されないことから、極めて軽微な変化であると考えられる。

骨格変異； 第 14 肋骨、胸骨の不对称及び分離、胸椎椎体分離と二葉型椎体、腰椎の二葉型椎体等が散見されたが、これらの発生数に統計学的有意差はみられず、また、用量との関連性もみられないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

骨格奇形； 2160 mg/kg/day 群で 1 例に肋骨の分岐と欠損の合併症が観察されたが、発生率に統計学的な有意差はみとめられなかった。

外表、内臓、骨格のいずれかの奇形児を有する母動物数は対照群、240、720 及び 2160 mg/kg/day 群で各々 1/23 (4.3%)、1/23 (4.3%)、0/22 及び 2/23 (8.7%)を示し、2160 mg/kg/day 群ではやや高い傾向を示したが、発現頻度に統計学的有意差は認められなかった。本試験で観察された所見は全て自然発生的な所見であると考えられた。

以上の結果、親動物には 720 及び 2160 mg/kg/day 群で統計学的に有意な体重増加抑制および摂餌量の減少、卵巣重量及びその対体重比の増加がみられた。

胎児の観察では、720 及び 2160 mg/kg/day 群で生存胎児体重が用量の増加に伴って低下する傾向がみられた。720 及び 2160 mg/kg/day 群では有意な中足骨の化骨遅延がみられたが、生存胎児体重の減少傾向に関連する二次的な変化で、他の部位での化骨遅延が観察されないことから、極めて軽微な変化であると考えられる。

従って、本検体を妊娠ラットに投与した場合における母動物及び胎児に対する無毒性量は 240 mg/kg/day であった。また、最高投与量の 2160 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性はないと判断される。

申請者註：

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体-ラット催奇形 >

< 表 1 > 結果概要 (母動物)

投与量(mg/kg/day)		0	240	720	2160	
1 群当たりの動物数		24	24	24	24	
親動物	一般状態	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	異常所見なし	
	死亡数	死亡例なし	死亡例なし	死亡例なし	死亡例なし	
	妊娠数	23(95.8)	23(95.8)	22(91.7)	23(95.8)	
	体重変化 (g)	妊娠 0 日	265.7	267.1	270.4	266.5
		妊娠 7 日	295.2	296.8	298.8	296.3
		妊娠 8 日	294.6	292.4	296.5	289.1
		妊娠 9 日	298.0	296.4	295.6	290.3
		妊娠 10 日	301.6	300.7	298.5	293.6
		妊娠 11 日	309.0	307.4	301.9	298.6
		妊娠 21 日	401.5	407.8	399.0	395.2
		妊娠 7~8 日間増体重	-0.5	-4.4	-2.3	↓-7.2
		妊娠 8~9 日間増体重	3.4	4.0	↓-1.0	1.2
		妊娠 9~10 日間増体重	3.6	4.3	2.9	3.3
		妊娠 10~11 日間増体重	7.4	6.7	↓3.4	5.1
		妊娠 7~17 日間増体重	54.5	54.0	↓43.6	↓41.9
	妊娠 0~21 日間増体重	135.8	140.7	128.5	128.7	
	摂餌量(g)	妊娠 8 日	21.3	↓18.1	20.7	↓17.1
		妊娠 9 日	21.1	20.1	18.3	↓17.5
		妊娠 10 日	21.8	21.3	↓18.9	18.6
		妊娠 11 日	22.6	22.2	↓18.5	19.6
		妊娠 12 日	23.2	23.7	↓19.4	↓19.4
		妊娠 13 日	23.8	23.8	21.8	↓20.5
	飲水量(g)		33.0-42.2	34.1-44.1	33.1-42.6	32.9-43.4
	臓器重量	心臓	重量(g)	(100)		0.969(↓94)
			対体重比	(100)		0.184(↓92)
		脾臓	重量(g)	(100)		0.546(↓90)
			対体重比	(100)		0.0472(↑112)
卵巣	重量(g)	(100)			0.1448(↑114)	
	対体重比	(100)		0.0492(↑116)		
着床所見	検査動物数		23	23	22	23
	黄体数*		17.7	18.5	19.2	18.5
	着床数*		15.1	16.2	16.2	15.3
	生存胎児数*		14.4	15.6	15.4	14.6
	死亡胎児数*		15(4.3)	14(3.8)	19(5.3)	15(4.3)
	早期吸収胚数*		14(4.0)	13(3.5)	18(5.0)	15(4.3)
	後期吸収胚数*		1(0.3)	1(0.3)	1(0.3)	0(0.0)
	妊娠子宮重量(g)		98.9	↑105.8	102.6	97.9
肉眼所見	脾臓	変形		1(4.3)		
		副脾				1(4.3)
	腎臓	斑状黄色化	1(4.3)			

母動物体重、摂餌量、臓器重量は t 検定 ↑↓: p<0.05、↑↓: P<0.01、空欄は所見なし
括弧内は検査動物数に対する発生率(%)、臓器重量は対照群を 100 とした場合の数、
着床所見の括弧内数字は母体毎の発生率(%)で、Mann-Whitney の U 検定

*: 1 母体当たりの数

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ラット催奇形>

<表 2> 結果概要(胎児動物)

投与量(mg/kg/day)		0	240	720	2160			
1 群当たりの検査母動物数		23	23	22	23			
胎児体重(g)	雄	5.290	5.263	5.203	5.170			
	雌	5.044	4.980	4.925	4.874			
胎盤重量(g)		0.464	0.461	0.455	0.484			
胎児数(雄/雌)		167/165(1.01)	169/189(0.89)	175/163(1.07)	162/174(0.93)			
胎児動物	外表観察	検査胎児数		332	358	338	336	
		変異	皮下出血		1(0.3)	3(0.8)		6(1.8)
			未熟児					1(0.3)
	奇形	全身皮下水腫		1(0.3)				
		曲尾			1(0.3)			
		臍帯ヘルニア					1(0.3)	
内臓観察	検査胎児数		110	118	112	111		
	変異	腎盂拡張	片側	2(1.8)	4(3.4)	4(3.6)	3(2.7)	
			両側	5(4.5)	5(4.2)	5(4.5)	8(7.2)	
	奇形		なし	なし	なし	なし		
骨格観察	検査胎児数		222	240	226	225		
	化骨状態(数)	頸椎椎体		5.1	5.6	5.2	4.5	
		胸骨分節		6.0	6.0	6.0	6.0	
		腰椎		10.1	10.4	10.1	10.3	
		遠位指節骨(未節骨)	前肢	10.0	10.0	10.0	9.9	
			後肢	10.0	10.0	10.0	10.0	
		近位指節骨(基節骨)	前肢	6.4	6.5	5.6	6.1	
			後肢	2.9	3.1	2.8	2.9	
		中手骨		8.0	8.0	8.0	8.0	
		中足骨		9.9	9.9	↓9.7	↓9.5	
		14 肋骨		24(10.8)	22(9.2)	14(6.2)	22(9.8)	
	変異	過剰椎骨		1(0.5)		1(0.4)		
		胸骨不対称			1(0.4)	1(0.4)		
		胸骨分離					1(0.4)	
		胸椎椎体分離			1(0.4)	2(0.9)		
		胸椎二葉型椎体			5(2.1)	6(2.7)	1(0.4)	
		腰椎二葉型椎体				1(0.4)		
		肋骨分岐					1(0.4)	
	肋骨欠損					1(0.4)		
奇形を有する胎児数		1(0.3)	1(0.3)	0	2(0.6)			
奇形児を有する母体数		1(4.3)	1(4.3)	0	2(8.7)			

胎児異常数および化骨状態は Mann-Whitney の U 検定 ↑↓:P<0.01、空欄は所見なし

胎児重量および胎盤重量は、t 検定

括弧内は検査動物数(母体または胎児)に対する発生率(%)、胎児数は雄/雌、空欄は所見なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ウサギ催奇形>

⑰ 催奇形性試験

(2)ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 No. 毒 A32)

試験機関:

報告書作成年:1984年

検体純度 :

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、5ヶ月齢、1群雌15匹、平均体重:3.18~3.30 kg
交配は雌雄を同一ケージに同居させ、交尾を肉眼で観察して確認し、その翌日を妊娠0日とした。飼料は市販の固形飼料を随時与え、飲水は自動給水装置で自由摂取させた。

試験期間 : 妊娠6~18日の13日間投与(試験期間;1983年11月12日~1983年12月27日)

投与方法 : 検体を粉砕して5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、0、120、360及び1080 mg/kg/dayの投与用量で妊娠6日から18日までの13日間、毎日1回ゴム製カテーテルを用いて強制経口投与した。投与用量は投与開始日(妊娠6日)の体重を基準にした。なお、対照群には5%アラビアゴム水溶液のみを同様に投与した。投与液は毎日調製した。

投与量設定根拠;

申請者註:

観察・検査項目:

親動物; 一般状態及び生死を毎日観察した。

体重及び摂餌量; 体重は妊娠0、6、7、8、10、12、14、16、18、20、24及び28日目に個別別に測定し、摂餌量は妊娠6、7、8、10、12、14、16、18、20、24及び28日目に測定した。

帝王切開及び臓器重量測定; 母動物を妊娠28日にネンブタール静注による麻酔下で頸動脈から放血、屠殺、帝王切開し、直ちに子宮を摘出して重量を測定した。

子宮から胎児を摘出して胎児の生死を確認し、吸収胎児数、総着床数及び卵巣の妊娠黄体数を検査した。死亡・吸収胎児については死亡・吸収時期を早期あるいは後期に分類した。

胎児摘出後の母体は各臓器における検体投与による影響について病理学的検査を行った。

臓器重量は心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎及び卵巣について測定し、対体重比も算出した。

帝王切開により摘出した生存胎児の体重及び胎盤重量を測定し、外表異常の観察を行ったのち、内臓及び骨格の観察のためにエタノールで固定した。

固定後、胎児の性別判定、胸腔、腹腔、骨盤腔における臓器の異常について西村(1974年)の方法により観察した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体-ウサギ催奇形＞

骨格については Dawson(1926 年)の変法により骨格透明標本を作製して骨格異常を観察した。

結果 : 概要を表 1-2 に示す。

体重変化及び一般症状; 体重は投与開始 1~2 日に減少傾向がみられたが、対照群にも同様な傾向がみられ、統計学的な有意差はみられなかった。

120 mg/kg/day 群の 1 例が脱臼による後肢麻痺で妊娠 21 日に死亡した。また、360 mg/kg/day 群で不妊の 1 例が 13 日目に死亡した、死因は不明であった。

検体投与に関連する一般症状及び死亡例は認められなかった。

摂餌量; いずれの投与群にも検体投与による影響はみられなかった。

母動物の臓器重量; 360 mg/kg/day 群で肺の重量及びその対体重比が低下したが、用量との関連性はみられず、検体投与の影響ではないと判断した。

その他の臓器重量及び対体重比に有意な変動はみられなかった。

帝王切開及び母動物の剖検所見; 母動物の肉眼的剖検所見では脾臓の肥大、肺の鬱血、出血斑、結節、肝臓の黄色化、腎臓の白色シスト、先天的な腎臓(右側)の欠如、膀胱の拡張、副腎の白色シスト等が対照群を含めた投与群に散見された。

妊娠母動物数、生存胎児数、早期及び後期吸収胚数、生存胎児の性比及び平均胎児体重には対照群と検体投与群間に統計学的有意差は認められなかった。120 mg/kg/day 群の着床数で対照群に比較して統計学的有意な高値がみられたが、用量との関連性がみられなかったことから検体投与による影響ではないと考えた。

胎児の観察:

[外表観察]

外表変異; 対照群を含む全群に外表変異は認められなかった。

外表奇形; 360 mg/kg/day 群で口蓋裂が 1 例、1080 mg/kg/day 群で尾の欠損が 1 例観察された。これらの発生率に対照群との間に有意差なく、用量との関連もなかったことから、これらの所見は検体投与によるものではないと判断された。

[内臓観察]

内臓変異; 腎盂拡張が対照群及び 1080 mg/kg/day 群にみられたが、有意な差は認められなかった。

内臓奇形; 対照群に二分裂心尖 2 例、心室中隔欠損 1 例が観察されたが、検体群には全く認められなかった。

[骨格観察]

化骨状態; 頸椎椎体、胸骨、尾椎及び指骨の化骨状態は対照群と群の間に差はなく、化骨進行状態に変化はみられなかった。

骨格変異; 胸骨の不对称及び分離、胸椎の二葉型椎体、胸椎椎弓の部分的欠損等が散見されたが、用量との関連性はなく、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体-ウサギ催奇形＞

骨格奇形；胸骨の癒合が 360 mg/kg/day 群と 1080 mg/kg/day 群でそれぞれ 1 例と 2 例にみられ、肋骨の癒合が 360 mg/kg/day 群で 2 例、胸椎椎弓の癒合が 360 mg/kg/day 群で 1 例観察された。しかし、各奇形の発現率は低く、対照群と検体投与群間に統計学的な差はみられなかった。

外表、内臓、骨格のいずれかの異常胎児を有する母動物数は対照群、120、360 及び 1080 mg/kg/day 群で各々 2/13 (15.4%)、0/11 (0%)、3/12 (25.0%) 及び 3/13 (23.1%) を示した。これらの発現率に統計学的有意差は認められなかった。

以上の結果から、本検体を妊娠ウサギに投与した場合における母動物及び胎児に対する無毒性量は 1080 mg/kg/day であった。また、最高投与量の 1080 mg/kg/day においても胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

申請者註：

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ウサギ催奇形>

<表 1> 結果概要 (母動物)

投与量(mg/kg/day)		0	120	360	1080	
1 群当たりの供試動物数		15	15	15	15	
親動物	一般状態			1(6.7)		
	後肢麻痺					
	死亡数		1(6.7)	1(6.7)		
	妊娠数	14(93.3)	13(86.7)	12(80.0)	13(86.7)	
	全胎児吸収母動物数	1(7.1)	1(8.3)			
	体重変化(kg)	妊娠 0 日	3.30	3.18	3.25	3.30
		妊娠 28 日	3.69	3.70	3.81	3.78
		0~28 日間増体重	0.39	0.52	↑0.56	0.48
	摂餌量(g)	126.6-177.5	149.5-187.7	120.1-179.2	143.9-194.2	
	臓器重量	肺	重量(g)*	(100)		11.32(↓80)
			対体重比*	(100)		0.339(↓79)
	1 群当たりの検査母動物数		13	11	12	13
	着床所見	黄体数	10.2	11.1	11.0	10.8
		着床数	8.2	↑9.7	9.3	7.9
		生存胎児数	7.0	8.3	8.3	6.8
		吸収胎児数	17(14.8)	16(13.8)	12(10.7)	15(14.6)
		早期吸収胚数	12(10.4)	14(12.1)	5(4.5)	7(6.8)
		後期吸収胚数	5(4.3)	2(1.7)	7(6.3)	8(7.8)
		妊娠子宮重量(g)	374	422	461	358
	肉眼所見	脾臓	肥大		1(7.7)	
肺		鬱血	1(7.1)		1(8.3)	
		出血斑	4(28.6)		1(8.3)	3(23.1)
		結節	1(7.1)			
肝臓		黄色化		1(7.7)		
腎臓		白色シスト			1(8.3)	
		右側-先天的欠如	1(7.1)			
膀胱		拡張		1(7.7)		
副腎	白色シスト				1(7.7)	
後躯	麻痺		1(7.7)			

母体重、臓器重量は t 検定 ↑↓:P<0.05、着床数は Mann-Whitney の U 検定 ↑↓:P<0.01*

括弧内は母体に対する発生率(%), 着床所見の括弧内は母体毎の発生率(%), 空欄は所見なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-ウサギ催奇形>

<表 2> 結果概要 (胎児動物)

投与量(mg/kg/日)		0	120	360	1080		
1 群当たりの検査母動物数		13	11	12	13		
胎児体重(g)	雄	35.43	34.24	38.02	34.42		
	雌	35.37	33.70	36.50	34.90		
胎盤重量(g)		5.481	5.499	5.630	5.405		
胎児数(雄/雌)性比		50/48(1.04)	49/51(0.96)	51/49(1.04)	38/50(0.76)		
外 表 観 察	検査胎児数		98	100	100	88	
	外表異常		異常なし				
	奇形	口蓋裂			1(1.0)		
		尾欠損(無尾症)				1(1.1)	
内 臓 観 察	検査胎児数		98	100	100	88	
	変異	腎盂拡張	片側	1(1.0)		1(1.1)	
			両側			1(1.1)	
	奇形	二分裂心尖		2(2.0)			
心室中隔欠損		1(1.0)					
胎 児 動 物 骨 格 観 察	検査胎児数		98	100	100	88	
	化 骨 状 態 (数)	頸椎椎体		7.0	7.0	7.0	7.0
		胸骨		5.7	5.7	5.9	5.7
		腰椎		19.5	19.2	19.5	18.9
		遠位指節骨	前肢	10.0	10.0	10.0	10.0
			後肢	8.0	8.0	8.0	8.0
		中位指節骨	前肢	8.0	8.0	8.0	8.0
			後肢	8.0	8.0	8.0	7.9
		近位指節骨	前肢	10.0	10.0	10.0	10.0
			後肢	8.0	8.0	8.0	7.9
		12 肋骨胎児数		18	22	26	11
	13 肋骨胎児数		80	78	74	77	
	変異	二葉型胸骨		1(1.0)			1(1.1)
		胸骨分離		1(1.0)		1(1.0)	2(2.3)
		胸椎二葉型椎体		1(1.0)	1(1.0)	1(1.0)	1(1.1)
		胸骨不対称			1(1.0)		2(2.3)
		胸椎椎弓部分欠損					1(1.1)
奇形	胸骨癒合				1(1.0)	2(2.3)	
	肋骨癒合				2(2.0)		
	胸椎椎弓癒合				1(1.0)		
奇形を有する胎児数		3(3.1)		4(4.0)	3(3.4)		
奇形児を有する母体数		2(15.4)		3(25.0)	3(23.1)		

括弧内は検査動物数(母体または胎児)に対する発生率(%), 胎児数の括弧内は雄/雌、空欄は所見なし

胎児異常数および化骨状態は Mann-Whitney の U 検定

胎児重量および胎盤重量は、t 検定

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－変異原>

⑱ 変異原性試験

(1) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No. 毒 A33)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:2005 年

検体純度 :

試験期間 : 16 日間(2005 年 8 月 9 日～2005 年 8 月 25 日)

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* /pKM101 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、OECD ガイドライン (1997)、農林水産省農産第 8147 (2000) 及び EEC Annex to Directive 67/548/EEC, No.L 136/57 (2000) に従って変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、通常ガイドラインで推奨されている 5000 µg/プレート を最高濃度とし、公比 1/2 で 2500、1250、625 及び 313 µg/プレートの 5 濃度を設定して 2 回試験を実施した。なお、試験は 3 連制とした。

試験結果 : 試験結果を表 1-2 に示す。検体は全ての濃度において、いずれの菌株に対しても生育阻害を示さなかった。また、代謝活性化の有無にかかわらず、全ての菌株のいずれの濃度においても対照群に比較して復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。但し、全ての濃度で検体がプレート表面に析出した。

以上の結果から、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下では復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

<表1>試験結果(第1回)(表中の数値は3反復の平均値)

検体	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix 有 無	復帰突然変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	(100 $\mu\text{L}/$ プレート)	+	133	9	96	28	21	
検体	313*	+	119	9	102	26	18	
	625*	+	114	11	97	32	13	
	1250*	+	120	7	97	32	20	
	2500*	+	122	9	95	20	16	
	5000*	+	110	6	88	27	15	
陽性 対照	2-AA	1.0	+	912				
		2.0	+		275	612		147
		0.5	+				455	
対照	(100 $\mu\text{L}/$ プレート)	-	118	10	76	15	11	
検体	313*	-	120	14	75	15	9	
	625*	-	103	9	61	16	12	
	1250*	-	105	7	69	13	11	
	2500*	-	113	13	61	19	11	
	5000*	-	104	9	58	17	8	
陽性 対照	ENNG	3.0	-	663				
		5.0	-		565			
		2.0	-			1132		
	2-NF	1.0	-				242	
	9-AA	80	-					508

ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2-NF: 2-ニトロフルオレン

9-AA: 9-アミノアクリジンヒドロクロリド

2-AA: 2-アミノアントラセン

*: 検体析出

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

<表2>試験結果(第2回)(表中の数値は3反復の平均値)

検体	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix 有 無	復帰突然変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	(100 $\mu\text{L}/$ プレート)	+	95	6	121	36	14	
検体	313*	+	84	8	122	32	15	
	625*	+	102	6	96	26	9	
	1250*	+	111	7	87	28	21	
	2500*	+	120	9	76	26	19	
	5000*	+	123	9	68	28	13	
陽性 対照	2-AA	1.0	+	1003				
		2.0	+		303	677		173
		0.5	+				517	
対照	(100 $\mu\text{L}/$ プレート)	-	109	7	78	29	13	
検体	313*	-	110	11	70	25	9	
	625*	-	119	9	68	19	14	
	1250*	-	101	11	63	22	10	
	2500*	-	105	9	67	16	9	
	5000*	-	93	9	47	18	9	
陽性 対照	ENNG	3.0	-	706				
		5.0	-		440			
		2.0	-			1332		
	2-NF	1.0	-				241	
	9-AA	80	-					427

ENNG: N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン

2-NF: 2-ニトロフルオレン

9-AA: 9-アミノアクリジンヒドロクロリド

2-AA: 2-アミノアントラセン

*: 検体析出

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑱ 変異原性試験

(2) 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No. 毒 A34)

試験機関:

報告書作成年: 1983 年

検体純度 :

試験期間 : 7 日間(1983 年 8 月 17 日~1983 年 8 月 24 日)

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA98、TA1535、TA1537、TA1538) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *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(S-9 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 DMSO に溶解し、100~6400 µg/プレートの範囲の 7 濃度で試験を実施した。試験は 2 反復とした。

用量設定根拠:

試験結果 : 本試験結果表 1 に示す。

検体は溶解限度の 6400 µg/プレートの濃度において、いずれの菌株に対しても生育阻害を示さなかった。また、100~6400 µg/プレートのいずれの濃度においても対照群に比較して復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。但し、3200 µg/プレート以上の濃度では検体がプレート表面に析出し、コロニーが不明確であった。

一方、陽性対照として用いた化合物(AF-2、ENNG、ACR、2-NF、2-AA)は全て検定株に対して顕著な復帰突然変異を誘発した。

以上の結果から、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本試験条件下では復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体 - 変異原 >

< 表 1 > 試験結果 (表中の数値は 2 反復の平均値)

検体名	濃度 (µg/ プレート)	S-9 Mix 有無	復帰突然変異コロニー数/プレート						
			塩基対置換型			フレームシフト型			
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538	
対照	0	-	121	12	21	26	10	19	
検体	100	-	110	15	19	23	10	18	
	200	-	99	13	18	25	11	16	
	400	-	115	16	24	27	8	16	
	800	-	104	16	20	26	7	11	
	1600	-	119	15	15	28	6	14	
	3200	-	96	14	21	22	7	15	
	6400	-	98	10	15	27	4	14	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	701		185			
		0.1	-				431		
	ENNG	5	-		210				
	ACR	80	-				764		
	2-NF	2	-					426	
対照	0	+	113	17	23	35	11	18	
検体	100	+	110	14	20	32	13	24	
	200	+	114	16	21	29	10	20	
	400	+	100	10	21	30	9	24	
	800	+	108	12	21	32	8	22	
	1600	+	114	11	18	31	8	16	
	3200	+	102	14	16	23	6	10	
	6400	+	96	14	14	17	4	9	
陽性 対照	2-AA	0.5	+	363			169		175
		2	+		143			238	
		40	+			1520			

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

ENNG: 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン

ACR: 9-アミノアクリジン

2-NF: 2-ニトロフルオレン

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑱ 変異原性試験

(3) チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. 毒 A35)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体純度 :

試験期間 : 36 日間(1985 年 9 月 30 日~1985 年 11 月 5 日)

試験方法 : チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞(CHO)を用い、代謝活性化法及び非活性化法によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。各濃度 2 枚のシャーレを用い、観察は 1 シャーレ当たり 100 個の分裂中期像について行った。

用量設定根拠;

試験結果 : 試験結果を表 1-2 に示す。

非代謝活性化法では検体 50 µg/mL の濃度で培養 20 及び 30 時間において細胞層形成は約 15%及び 60%抑制されたが、溶媒対照の DMSO では培養時間による試験結果への影響はみられなかった。検体の染色体に対する影響はみられず、陰性と考えられた。

代謝活性化法では 500 µg/mL 濃度の 20 及び 30 時間培養により有糸分裂細胞の減少及び細胞層形成の抑制がみられた。溶媒対照の DMSO では培養時間による試験結果への影響はみられなかった。検体の染色体に対する影響はみられず、陰性と考えられた。

以上より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、全ての処理群で、いずれの処理後培養時間においても染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びシクロホスファミドには染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

以上の結果から、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下におけるチャイニーズハムスター卵巣細胞の染色体異常誘発性は有しないものと考えられる。

<表 1> 試験結果(非代謝活性化法)

培養時間 (hr)	検体名	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	検査細胞数	染色体異常を有する細胞数													細胞当たりの染色体異常数	染色体異常を有する細胞 (%)	判定 >1 (%)	
				染色分体型				染色体型					ギャップ			他				
				TB	TR	QR	TD	SB	D	CR	CI	TC	R	TG	SG					PU
20	無処理	McCoy 5a	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0.01	1.0	0.0
	DMSO	10 $\mu\text{L/mL}$	200	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0.02	2.0	0.0
	MMC	80 ng/mL	25	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0.24	↑24.0	0.0
	検体	5.0	200	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	1	3	1	1	>0.04	3.5	0.5
		20.0	200	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	5	0	0	0.02	1.5	0.0
		35.0	200	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	8	3	1	>0.03	2.5	0.5
50.0	200	1	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	6	1	1	>0.03	3.0	0.5		
30	無処理	McCoy 5a	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0.01	1.0	0.0
	DMSO	10 $\mu\text{L/mL}$	200	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	1	>0.02	2.0	0.5
	MMC	80 ng/mL	25	6	2	4	0	6	0	1	2	0	0	2	2	1	1	>0.88	↑48.0	↑24.0
	検体	5.0	200	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	3	3	>0.03	3.0	1.5
		20.0	200	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4	0	0	0.01	0.5	0.0
		35.0	200	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	9	2	1	>0.03	2.5	0.5
50.0	200	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	2	1	0	0.02	1.5	0.0		

表中の検体の数値は、2 反復の合計値

Fischer 直接法 \uparrow : $P < 0.01$

TB: 染色分体切断、TR: 三放射状交換、QR: 四放射状交換、TD: 染色分体欠失、SB: 染色体切断、D: 二動原体、CR: 複合転位、CI: 染色体間交換、TC: 三動原体、R: 環状染色体、TG: 染色分体型ギャップ、SG: 染色体型ギャップ、PU: 細粉化染色体

McCoy 5a: McCoy's 5a 培地

MMC: マイトマイシン C

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

<表2>試験結果(代謝活性化法)

培養時間 (hr)	検体名	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	検査細胞数	染色体異常を有する細胞数											細胞当たりの染色体異常数	染色体異常を有する細胞(%)	判定 >1 (%)		
				染色分体型				染色体型				ギャップ		他					
				TB	TR	QR	TD	SB	D	DF	CR	R	TG					SG	PU
10	無処理	McCoy 5a	100	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	>0.04	4.0	1.0
	DMSO	10 $\mu\text{L/mL}$	200	2	1	0	0	1	2	0	0	2	5	5	0	0	0.04	3.5	0.5
	CP	25	25	4	2	1	1	1	0	0	0	0	5	1	0	0	0.36	↑28.0	↑8.0
	検体	35	200	0	1	0	0	0	5	1	0	0	5	0	1	0	>0.04	4.0	0.5
		50	200	0	0	0	0	2	3	0	0	0	5	1	1	0	>0.03	3.0	0.5
20	無処理	McCoy 5a	100	1	0	0	0	2	1	1	0	0	2	0	0	0	0.05	4.0	1.0
	DMSO	10 $\mu\text{L/mL}$	200	0	0	0	0	2	7	0	0	1	12	0	3	0	>0.07	6.0	2.0
	CP	17.5	25	10	7	4	3	4	0	0	2	0	6	4	0	0	1.20	↑68.0	↑40.0
	検体	35	200	1	0	0	0	1	5	0	0	1	6	0	2	0	>0.05	5.0	1.0
		50	200	0	1	0	0	0	1	0	0	0	5	0	0	0	0.01	1.0	0.0
		200*	200	0	2	0	1	0	1	0	0	0	5	1	1	0	>0.03	2.0	1.0
		350*	200	1	1	1	0	1	2	0	0	0	6	2	2	0	>0.04	4.0	1.0
500*	200	0	1	0	0	2	4	0	0	0	7	2	0	0	0.04	3.0	0.5		
30	無処理	McCoy 5a	100	1	0	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0.01	1.0	0.0	
	DMSO	10 $\mu\text{L/mL}$	200	0	0	0	0	0	1	0	0	0	12	1	1	0	>0.01	1.0	0.5
	CP	17.5	25	4	5	0	2	9	0	0	0	0	3	0	2	0	>0.88	↑48.0	↑28.0
	検体	200*	200	0	0	0	0	2	1	0	0	0	5	0	0	0	0.02	1.5	0.0
		350*	200	0	0	0	0	2	1	1	0	0	13	2	1	0	>0.03	2.5	0.5
500*		200	0	1	0	0	1	1	0	0	0	8	2	2	0	>0.03	2.5	1.0	

表中の検体の数値は、2反復の合計値

Fischer 直接法 ↑:P<0.01

TB: 染色分体切断、TR: 三放射状交換、QR: 四放射状交換、TD: 染色分体欠失、SB: 染色体切断、

D: 二動原体、DF: 断片を有する二動原体、CR: 複合転位、R: 環状染色体、TG: 染色分体型ギャップ、

SG: 染色体型ギャップ、PU: 細粉化染色体

McCoy 5a: McCoy's 5a 培地

CP: シクロホスファミド

*: 検体沈澱

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑩ 変異原性試験

(4) チャイニーズハムスターの卵巢細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. 毒 A36)

試験機関:

報告書作成年: 1984 年

検体純度 :

試験期間 : 29 日間(1983 年 11 月 1 日~1983 年 11 月 30 日)

試験方法 : チャイニーズハムスターの継代培養した卵巢細胞(CHO)を用い、代謝活性化法及び非活性化法によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。各濃度 2 枚のシャーレを用い、観察は 1 シャーレ当たり 100 個の分裂中期像について行った。

用量設定根拠;

試験結果 : 試験結果を表 1 に示す。

検体は細胞毒性を含む濃度(非代謝活性化法 20~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化法 40~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$)で代謝活性化法の有無にかかわらず、全ての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C 及びシクロホスファミドでは染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加が認められた。

以上の結果から、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、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。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

<表1>試験結果

S-9 Mixの有無	検体名	濃度 (µg/mL)	検査細胞数	染色体異常を有する細胞数									細胞当たりの染色体異常数	染色体異常を有する細胞 (%)	判定 >1 (%)
				染色分体型				染色体型				他			
				TB	F	TR	QR	SB	AF	D	R	PU			
-	無処理	培地	100	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.01	1	0
	DMSO	10 µL/mL	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MMC	80 ng/mL	25	6	0	7	3	2	1	0	0	1	>0.840	↑40.0	↑32.0
	検体	20a	200	2	1	0	0	0	4	1	0	1	>0.045	↑3.0	1.0
		30a	200	0	0	0	0	1	1	2	0	1	>0.025	2.5	0.5
		40ab	200	0	0	0	0	0	0	2	0	2	>0.020	2.0	1.0
		50ab	200	1	0	0	0	0	0	0	0	1	>0.001	1.0	0.5
+	無処理	培地	100	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0.02	2	0
	DMSO	10 µL/mL	100	0	0	0	0	0	0	0	1	>0.01	1	1	
	CPA	12.5	25	5	0	7	5	1	1	0	0	0	0.760	↑52.0	↑20.0
	検体	40	200	1	1	0	0	1	1	2	0	2	0.040	4.0	1.0
		100*	200	0	0	0	0	1	0	1	0	0	>0.025	2.5	0.5
		150*ab	200	1	0	0	1	0	1	2	1	4	>0.060	5.5	2.0
		200*ab	200	4	0	0	0	2	0	1	0	1	>0.040	3.5	1.0
		300*ab	200	2	0	0	0	0	0	1	0	1	>0.020	2.0	0.5
400*c	毒性		0	0	0	0	0	0	0	0	0	細胞毒性			

表中の検体の数値は、2反復の合計値

Fischerの直接法 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01

TB:染色分体切断、F:染色分体断片、TR:三放射状交換、QR:四放射状交換、SB:染色体切断、AF:断片、D:二動原体、R:環状染色体、PU:細粉化染色体

MMC:マイトマイシンC

CPA:シクロホスファミド

*:検体沈澱、a:死亡細胞数多い、b:中期像極少、c:採取せず

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体 - 変異原 >

⑱ 変異原性試験

(5) チャイニーズハムスターの V79 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. 毒 A37)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体純度 :

試験期間 : 34 日間(1986 年 6 月 10 日~1986 年 7 月 14 日)

試験方法 : チャイニーズハムスターの雄胎児肺由来の継代培養した V79 細胞を用い、代謝活性化法及び非活性化法によって 6-チオグアニン耐性細胞の出現を指標にして突然変異性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して用いた。

検体処理前日に 75cm² のフラスコ中の 10% 牛胎児血清入り DMEM 培地に 2×10⁶ 個の V79 細胞を播き、5% 二酸化炭素存在下、37°C で 1 夜培養後、検体を含む培養液(S9 添加および無添加)を加えて 37°C、3 時間処理した。検体処理後 PBS で洗浄し、そのフラスコ中に DMEM 培養液を加えて細胞の生存及び増殖を確認しながら更に 6 日間及び 9 日間培養した。培養後トリプシン処理により細胞懸濁液を調製して、5 個の直径 100 mm の組織培養シャーレ中に各々 10⁵ 個の細胞を播き、3 時間後に 6-チオグアニンの 7.5 µg/mL を加えた。HGPRT 変異コロニーのみが 6-チオグアニン存在下で生育可能である。次に細胞約 200 個を 3 枚の直径 60 mm の組織培養シャーレに播き、7 日間以上培養して、ギムザ染色して 6-チオグアニン耐性細胞数を計数した。試験は 2 回実施した。

用量設定根拠;

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体－変異原 >

試験結果 : 試験結果を以下の表に示す。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、全ての処理群で変異細胞数の増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において検体のチャイニーズハムスターV79 細胞に対する染色体異常は陰性と判断される。

チャイニーズハムスターV79 細胞に対する染色体異常試験結果

検体名	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	非代謝活性化法		検体名	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	代謝活性化法	
		6 日	9 日			6 日	9 日
対照 (DMSO)	—	60.82 41.72	47.04 41.23	対照 (DMSO)	—	53.10 57.20	50.57 36.16
検体	9.38	38.64 55.91	52.66 42.86	検体	9.38	68.42 33.49	34.93 34.22
	18.8	48.54 31.32	24.10 20.82		18.8	48.55 36.12	63.53 24.41
	37.5	59.19 14.41	45.08 20.94		37.5	63.56 18.88	30.88 20.48
	75.0	88.96 37.38	34.78 38.91		75.0	60.31 67.67	38.13 23.65
	150	65.59 26.43	53.98 17.93		150	116.62 25.87	20.19 16.27
EMS	5.00 mM	735.03 535.45	576.45 459.83	DMN	5.00 mM	306.89 310.55	336.00 297.87
	10.0 mM	1339.53 1302.51	990.25 1157.07		10.0 mM	437.33 566.15	281.60 491.60

表中の数値は生存細胞数 10^6 個中の変異細胞数
判定基準: 対照群に比較して 5 倍以上の数値を陽性

EMS: エチルメタンスルホネート

DMN: ジメチルニトロサミン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑱ 変異原性試験

(6) マウスを用いた小核試験 (*in vivo*)

(資料 No. 毒 A38)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2001 年

検体純度 :

試験期間 : 44 日間(2001 年 4 月 3 日~2001 年 5 月 17 日)

供試動物 : ICR 系マウス、1 群雌雄各 5 匹、6~8 週齢、体重; 雄 24.4~31.4 g、雌 24.5~29.3 g

試験方法 : 検体をコーンオイルに懸濁し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で、1 回腹腔内投与した。なお、陽性対照物質シクロホスファミド(CP)を滅菌蒸留水に溶解し、50 mg/kg を腹腔内投与した。投与容量は 20 mL/kg(体重)とし、また、陰性対照群には溶媒であるコーンオイルのみを同容量腹腔内投与した。

検体投与群動物は投与 24 時間後あるいは 48 時間後に、また、陽性対照物質投与群動物は投与 24 時間後に二酸化炭素吸入により屠殺した。

各動物から大腿骨を摘出して骨の下端を切断し、骨髓を牛胎児血清の入った注射器中に吸引し、約 1 mL の牛胎児血清を含む遠心管に移した。約 100×g で 5 分間、遠心分離して上清を除き、血清を 1 滴加えて細胞を浮遊させた。その細胞浮遊液をスライドグラスに塗抹して風乾後、メタノールで固定しメイグリュンワルドーギムザ染色を施して、骨髓標本を作製した。

各標本について、多染性赤血球 2000 個を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。また、赤血球 1000 個当たりの多染性赤血球数も計数した。

用量設定根拠;

試験結果 : 骨髓標本の観察結果を以下の表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体－変異原＞

全ての投与群雌雄に死亡例はみられなかった。検体投与による影響としては 1000 及び 2000 mg/kg 群雌雄に嗜眠及び立毛が観察された。

対照群に比較して検体投与群の全赤血球に対する多染性赤血球数は 4%から 24% の減少を示した。これらの減少は検体が骨髄組織に対し生物学的影響を与えたことを示唆している。

検体投与群雌雄における多染性赤血球 2000 個当たりの小核を有する多染性赤血球数は溶媒対照群と同等であった。

一方、陽性対照のシクロホスファミド投与群雌雄には統計学的に有意な小核を有する多染性赤血球の増加が観察された。

検体名	投与量 (mg/kg)	性別	屠殺時間	動物数	PCE/全赤血球 (平均値±SD)	対対照 (%)	小核を有する PCE	
							PCE1000 当たりの数 (平均値±SD)	PCE10000 当たりの数
陰性対照 (コーンオイル)	—	雄	24	5	0.521±0.06	—	0.4±0.42	4
		雌	24	5	0.485±0.05	—	0.4±0.22	4
陽性対照 CP (シクロホスファミド)	50	雄	24	5	0.313±0.03	-40	27.7±4.56	↑277
		雌	24	5	0.293±0.04	-40	28.4±3.80	↑284
検体	500	雄	24	5	0.416±0.10	-20	0.3±0.27	3
		雌	24	5	0.489±0.02	1	0.5±0.00	5
	1000	雄	24	5	0.431±0.07	-17	0.3±0.27	3
		雌	24	5	0.500±0.04	3	0.3±0.27	3
	2000	雄	24	5	0.435±0.04	-17	0.2±0.27	2
		雌	24	5	0.369±0.05	-24	0.5±0.35	5
	2000	雄	48	5	0.483±0.05	-6	0.3±0.27	3
		雌	48	5	0.454±0.01	-4	0.4±0.22	4
陰性対照 (コーンオイル)	—	雄	48	5	0.514±0.04	—	0.3±0.45	3
		雌	48	5	0.472±0.03	—	0.3±0.27	3

Kastenbaum-Bowman Tables ^{申請者注} ↑: P ≤ 0.05, PCE: 多染性赤血球

申請者注: Kastenbaum, M.A. and K.O. Bowman (1970) Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutation Res.*, 9, 527-549.

以上の結果から、本試験条件下において、検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、ICR マウス雌雄を用いた小核試験結果は陰性と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑮ 変異原性試験

(7) マウスを用いた小核試験 (*in vivo*)

(資料 No. 毒 A39)

試験機関:

報告書作成年: 1984 年

検体純度 :

試験期間 : 2ヶ月間(1983年12月2日~1984年2月8日)

供試動物 : CD-1系マウス、1群雌雄各5匹、体重;雄35.7~40.0g、雌26.2~29.4g

試験方法 : 検体をDMSOに溶解し、0.1、0.5及び1.0 g/kgの用量で、1回強制経口投与した。なお、陽性対照物質トリエチレンメラミン(TEM)を生理食塩水に溶解し2.0 mg/kgを腹腔内投与した。また、陰性対照群には溶媒であるDMSOのみを最大用量に合わせて雄0.27 mL/マウス及び雌0.19 mL/マウスを経口投与した。

検体投与群動物は投与24時間後及び48時間後に、また、陽性対照物質投与群動物は投与24時間後に二酸化炭素吸入により屠殺した。

各動物から脛骨を摘出して骨端を切断し、骨髓を採取、3 mLの牛胎児血清の入った遠心管に移した。遠心沈澱ののち上清を除いて血清を1滴加え、細胞を浮遊させた。その細胞浮遊液をスライドグラスに塗抹して風乾後、メタノールで固定しメイ-グリュンワルド染色後ギムザ染色したのち、脱イオン水で洗浄して骨髓標本を作製した。

各標本について、多染性赤血球500個を計測し、200個の多染性赤血球中の小核を有する多染性赤血球数を計数した。

用量設定根拠;

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

試験結果: 骨髄標本の観察結果を以下の表に示す。

48 時間の 0.5 及び 1.0 g/kg 投与群雌で小核を有する多染性赤血球数が統計学的に有意な増加を示したが、この値は本試験実施機関における正常範囲内(平均値±標準誤差 0.23±0.04、幅 0.02~0.45、n=10)の値であり、投与量との関連性はなく、本試験の陰性対照群の値(0.08%)が背景データ(0.23%)より低いことによる結果であって、生物学的に有意な変化ではないと判断された。

一方、陽性対照群(TEM)雌雄にみられた小核を有する多染性赤血球数には明らかな増加が観察された。

検体名	投与量	屠殺時間	動物数	MNPCE%(500/匹) (平均値±SE)			PCE/(PCE+NCE) (平均値±SE)	
				雄	雌	平均	雄	雌
陰性対照	—	24	雌雄各 5	0.08±0.04	0.04±0.04	0.06±0.03	0.61±0.04	0.73±0.04
陽性対照	2.0 mg/kg	24	雌雄各 5	↑6.20±0.83	↑6.20±0.37	↑6.20±0.46	0.47±0.09	0.76±0.16
検体	0.1 g/kg	24	雌雄各 5	0.12±0.07	0.00±0.00	0.06±0.04	0.58±0.07	0.46±0.02
		48	雌雄各 5	0.08±0.07	0.08±0.04	0.08±0.04	0.52±0.10	0.59±0.10
		合計	雌雄 10	0.10±0.05	0.04±0.03	0.07±0.03	-	-
	0.5 g/kg	24	雌雄各 5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.45±0.09	1.00±0.11
		48	雌雄各 5	0.08±0.04	↑0.32±0.09	0.20±0.06	0.44±0.04	0.59±0.10
		合計	雌雄 10	0.04±0.03	0.16±0.07	0.10±0.04	-	-
	1.0 g/kg	24	雌雄各 5	0.08±0.04	0.04±0.04	0.06±0.03	0.62±0.16	0.53±0.06
		48	雌雄各 5	0.00±0.00	↑0.28±0.07	0.14±0.06	0.59±0.03	0.89±0.12
		合計	雌雄 10	0.04±0.03	0.16±0.06	0.10±0.03	-	-

逆正弦変換、分散分析後の多重比較 ↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01

MNPCE: 小核を有する多染性赤血球、PCE: 多染性赤血球、NCE: 正染性赤血球

陽性対照物質(TEM): トリエチレンメラミン

この表は、報告書の第2改訂(1984年12月)の表3を基に、申請者が動物数を追記して作成した

以上の結果から、本試験条件下において、検体は骨髄多染性赤血球中の小核の発生頻度において生物学的に有意な増加を示さなかった。従ってマウスに対する小核試験結果は陰性と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑱ 変異原性試験

(8) チャイニーズハムスターを用いた骨髄細胞染色体異常試験 (*in vivo*) (資料 No. 毒 A40)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

検体純度 :

試験期間 : 76 日間(1986 年 5 月 23 日~1986 年 8 月 7 日)

供試動物 : チャイニーズハムスター、1 群雌雄各 5 匹、体重 21~40 g

試験方法 : 検体をピーナツオイル:DMSO(3:1)に懸濁し、0、1000、2000 及び 4000 mg/kg の用量で、1 回経口投与した。なお、陽性対照物質シクロホスファミド(CP)は 0.5%CMC 溶液に懸濁し、70.0 mg/kg を経口投与した。投与容量は 20 mL/kg(体重)とし、また、陰性対照群には溶媒であるピーナツオイル:DMSO(3:1)のみを同容量経口投与した。

投与群動物には屠殺 3 時間前にコルヒチン 4 mg/kg を腹腔内投与し、投与 6、12 及び 24 時間後に、頸椎脱臼により屠殺して左右の大腿骨を摘出し、下端部をカットして、注射器で生理食塩水を注入、骨髄を採取した。採取した骨髄細胞を低張液に懸濁、室温で 25 分間放置後、再度ペレット化してメタノール:酢酸液で固定、固定後細胞を洗浄した。

その細胞懸濁液数滴をスライドグラスに乗せ、風乾した後、5%ギムザ液で染色し、検鏡した。有糸分裂指数は分裂中期像を示す細胞 1000 個中の割合で示し、染色体異常は動物当り 50 個の有糸分裂像を示す細胞から計数した。

用量設定根拠;

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体－変異原＞

試験結果 : 骨髓標本の観察結果を表 1-3 に示す。

死亡動物が散見されたが、検体投与による影響は認められなかった。

有糸分裂指数には検体投与による影響はみられず、陽性対照化合物シクロホスファミド投与群で低下し、12 及び 24 時間後の試料採取時に顕著であった。

また、有糸分裂像を示す細胞中のギャップを除く染色体異常を有する細胞の割合（雌雄合計）にも検体投与による影響はみられず、陽性対照群では有意な増加が観察された。

以上の結果から検体の経口投与によるチャイニーズハムスターに対する染色体異常誘発は陰性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

<表1>投与6時間後の骨髄細胞観察結果

投与群		対照群 (溶媒*)		検体(mg/kg)						陽性対照群 CP (シクロホスファミド)	
		20mL/kg		1000		2000		4000		70 mg/kg**	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
骨髄細胞 観察所見	有糸分裂細胞 総数	218	250	114	209	112	218	150	180	200	169
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを除く)	1.4	0.8	2.6	1.9	0	1.4	0.7	1.1	0.5	2.4
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを含む)	1.4	0.8	2.6	1.9	0	1.4	1.3	1.1	3.0	3.0
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを除く)	0.8±1.0		1.7±1.9		0.8±1.0		0.8±1.5		1.3±3.0	
	有糸分裂指数	3.4±1.3		2.3±2.7		2.9±1.6		4.2±2.2		3.3±2.6	

*:ピーナツオイル:DMSO(3:1)、**:溶媒は0.5%CMC水溶液

<表2>投与12時間後の骨髄細胞観察結果

投与群		対照群 (溶媒*)		検体(mg/kg)						陽性対照群 CP (シクロホスファミド)	
		20 mL/kg		1000		2000		4000		70 mg/kg**	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
骨髄細胞 観察所見	有糸分裂細胞 総数	250	250	250	163	200	142	211	138	250	250
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを除く)	0.8	0.4	1.6	0	0	1.4	0	0	4.4	7.2
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを含む)	0.8	0.8	2.0	0	0	2.8	0	2.2	7.6	8.4
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを除く)	0.6±1.3		0.9±1.5		0.8±1.9		0.0±0.0		◇5.8±4.8	
	有糸分裂指数	4.3±1.8		4.4±2.8		4.7±3.6		4.7±4.6		2.9±1.0	

*:ピーナツオイル:DMSO(3:1)、**:溶媒は0.5%CMC水溶液

カイ平方検定 ◇:P<0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

<表3> 投与24時間後の骨髓細胞観察結果

投与群		対照群 (溶媒*)		検体(mg/kg)						陽性対照群 CP (シクロホスファミド)	
		20mL/kg		1000		2000		4000		70 mg/kg**	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
骨髓細胞 観察所見	有糸分裂細胞 総数	250	250	219	235	231	250	250	170	196	240
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを除く)	1.2	0.8	0.5	0.9	2.2	0.8	0	1.2	17.3	10.4
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを含む)	1.6	1.2	0.9	1.3	2.2	1.2	0.4	1.2	17.3	14.2
	染色体異常を有する 細胞%(ギャップを除く)	1.0±1.1		1.0±1.8		1.5±2.0		0.8±1.7		◇12.7±9.7	
	有糸分裂指数	5.9±1.3		5.1±3.4		6.5±1.5		6.7±2.5		3.0±1.8	

*:ピーナツオイル:DMSO(3:1)、**:溶媒は0.5%CMC水溶液
カイ平方検定 ◇:P<0.001

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体 - 変異原 >

⑱ 変異原性試験

(9) ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

(資料 No. 毒 A41)

試験機関:

報告書作成年: 1984 年

検体純度 :

試験期間 : 3 ヶ月間 (1983 年 11 月 29 日 ~ 1984 年 2 月 26 日)

供試細胞 : Fischer344 成熟ラット雄 (体重 150 ~ 300 g) から採取した初代培養肝細胞

試験方法 : 検体を細胞毒性の低い DMSO に溶解して原液を調製し、その原液を希釈して牛胎児血清 1% 含有 WME 培地 (Williams' Medium E) に添加、予備試験の結果に基づき 2.5、5、10、25、50、100 及び 250 µg/mL の試験液を調製した。

成熟ラット雄 (体重 150 ~ 300 g) から採取した初代培養肝細胞を培養皿に付着させ、その単層細胞を 2.5 ~ 3 時間培養した後、1% 牛胎児血清、1 µCi/mL の ³H-チミジン及び所定の濃度の検体を含む WME を加えて 18 時間、5%CO₂ 条件下、37°C で培養した。

陽性対照群 [2-アセチル アミノフルオレン (2-AAF) 0.1 µg/mL]、溶媒対照群 (DMSO 1%) 及び各検体処理群では各々 5 枚の培養皿を作製し、うち 2 枚を細胞毒性評価に用い、3 枚を UDS 評価に使用した。

18 時間処理後、単細胞層を WME で 2 回洗浄して UDS 試験を終了させ、細胞毒性評価の 2 枚は再度 WME を加えてインキュベータに戻して処理開始 20 ~ 24 時間後まで培養、トリパンブルー染色により細胞の生存率を確認した。UDS 検査用の 3 枚は標識された細胞の核を 1% クエン酸ナトリウム液で膨潤させた後、細胞を酢酸: エタノール (1:3) で固定し、乾燥させた。標本を現像液で現像し、定着液で定着後 William の変法ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。各 3 枚の標本から各々 50 細胞を観察して、核グレインを計数した。

用量設定根拠;

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

試験結果 : 試験結果を以下の表に示す。

検体名	濃度	UDS グレイン/核*	>6 グレインを 持つ核の割合(%)	>20 グレインを 持つ核の割合(%)	20hr 培養後の 生存率(%)
溶媒対照 (DMSO)	1%	1.38	4.7	0.0	100.0
陽性対照 (2-AAF)	0.1 µg/mL	20.05	92.0	44.0	91.0
検体	250 µg/mL	細胞毒性	—	—	0.0
	100 µg/mL	1.11	2.0	0.0	21.2
	50 µg/mL	1.60	4.0	0.0	62.5
	25 µg/mL	1.61	6.0	0.0	99.0
	10 µg/mL	1.69	4.7	0.0	103.4
	5 µg/mL	1.28	5.3	0.0	102.5
	2.5 µg/mL	1.63	8.0	0.0	検査せず

*:細胞数 150

2-AAF:2-アセチルアミノフルオレン

250 µg/mL の濃度では細胞の生存が認められなかった。100 µg/mL で毒性が強く発現し、50 µg/mL では中等度の毒性が認められた。25 µg/mL 及びそれ以下の濃度では細胞に対する毒性はみられなかった。

検体で処理した標本のグレインを有する核の割合は対照群と同等であり、UDS の誘発は認められなかった。一方、陽性対照の 2-AAF には明らかな UDS 誘発が認められた。

以上の結果から、検体はラットの初代培養肝細胞を用いた UDS 検査で陰性と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑱ 変異原性試験

(10) 酵母 D₄, S138, S211 株を用いた有糸分裂期の遺伝子転換及び
復帰突然変異誘発試験

(資料 No. 毒 A42)

試験機関:

報告書作成年: 1984 年

検体純度 :

試験期間 : 48 日間(1983 年 12 月 1 日~1984 年 1 月 17 日)

供試酵母 : メチオニン要求性の 1 倍体 *Saccharomyces cerevisiae* S138 株(フレームシフト型)、
同 S211 株(塩基対置換型)及び 2 倍体の D₄ 株(アデニン 2 及びトリプトファン 5 の
座位にヘテロ対立遺伝形質)を用いた。

試験方法 :

- 1) 有糸分裂期遺伝子変換性試験は少量のトリプトファンを含む 0.6%寒天溶液に所定濃度の検体、指標酵母培養液及び燐酸緩衝液を加えて攪拌し、最小寒天培地上に播き広げ、30°C、4 日間培養後、プレート上に生育したトリプトファン非要求性のコロニーを計数した。代謝活性化法では同処理に S-9Mix を加えた。なお、溶媒対照として DMSO を用いた。
- 2) 復帰突然変異性試験は 16~18 時間培養した各酵母液に所定濃度の検体及び燐酸緩衝液を加えた懸濁液を 30°C、15 時間振盪培養後、希釈して寒天溶液を加えて酵母用完全寒天培地上に播き広げ 3 日間培養、また、懸濁液をメチオニン添加寒天液に加えて、メチオニン無添加最小寒天培地上に播き広げ、5~7 日間培養して、生存コロニー及び復帰体を計数した。代謝活性化法では同処理に S-9Mix を加えた。なお、溶媒対照として DMSO を用いた。
- 3) 陽性対照化合物を以下の表に示す。

S-9Mix の有無	検体名	溶媒	濃度	検査株
-	キナクリンマスタード	DMSO	10 µg/mL	S138
	エチルメタンサルホネート	DMSO	1%	S211
	N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン	DMSO	10 µg/プレート	D ₄
+	ステリグマトシスチン	DMSO	5 µg/mL	S138, 211
		DMSO	15 µg/プレート	D ₄

用量設定根拠;

試験結果 : 試験結果を以下の表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体 - 変異原 >

復帰突然変異

供試株	S-9Mix の有無	検体名	濃度(μg/mL)	生存率(%)	変異数/mL	変異頻度 ($\times 10^{-7}$)
S211	-	溶媒(DMSO)	50(μL/mL)	100	103	22.97
		陽性対照(EMS)	1(%)	0	794	細胞毒性
		検体	312	90	82	20.19
			625	83	86	23.06
			1250	98	85	19.45
			2500	>100	53	10.86
			5000	>100	84	16.83
			10000	>100	90	18.18
	+	溶媒(DMSO)	50(μL/mL)	100	68	18.21
		陽性対照(SM)	5	79	121	40.88
		検体	312	>100	48	8.26
			625	>100	68	11.15
			1250	>100	53	8.79
			2500	>100	61	10.39
5000	>100		55	8.70		
10000	>100	73	11.59			
S138	-	溶媒(DMSO)	50(μL/mL)	100	19	5.43
		陽性対照(QM)	10	66	490	213.04
		検体	312	>100	17	4.44
			625	>100	20	5.24
			1250	>100	26	5.69
			2500	>100	12	2.55
			5000	>100	18	3.62
			10000	>100	19	4.34
	+	溶媒(DMSO)	50(μL/mL)	100	12	2.73
		陽性対照(SM)	10	>100	34	7.39
		検体	312	>100	21	3.83
			625	>100	21	3.81
			1250	>100	23	4.04
			2500	>100	22	4.26
5000	>100		27	4.92		
10000	93	22	5.37			

EMS: エチルメタンスルホネート

QM: キナクリンマスタード

SM: ステリグマトシスチン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

有糸分裂期の遺伝子変換

供試株	S-9Mix の有無	検体名	濃度(μg/プレート)	変異数/プレート (*:2プレート平均)
D ₄	-	溶媒(DMSO)	50(μL/プレート)	66.5 *
		陽性対照 (MNNG)	10	1079.5 *
		検体	1	59
			10	62
			100	58
			500	74
			1000	69
			2500	61
			5000	60
	10000	57		
	+	溶媒(DMSO)	50(μL/プレート)	66 *
		陽性対照(SM)	15	216 *
		検体	1	74
			10	71
			100	76
			500	75
			1000	79
			2500	57
5000			55	
10000	53			

MNNG: N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

SM: ステリグマトシスチン

酵母 S211 株及び S138 株における復帰突然変異試験の結果、検体は代謝活性化の有無にかかわらず両株に対し復帰変異性誘発は認められなかった。一方、陽性対照化合物のエチルメタンサルホネート、キナクリンマスタード及びステリグマトシスチンには明らかな復帰変異誘発性が観察された。

また、酵母 D₄ 株における有糸分裂期の遺伝子変換試験の結果、検体は代謝活性化の有無にかかわらず本株に対し遺伝子変換誘発性は認められなかった。一方、陽性対照化合物の N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン及びステリグマトシスチンには明らかな遺伝子変換誘発性が観察された。

以上の結果から、検体は本試験条件下において酵母の 1 倍体株 S211 及び S138 に対し突然変異誘発性はなく、また、2 倍体の D₄ 株の有糸分裂期の遺伝子変換の誘発性も認められず、変異原性は陰性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-変異原>

⑱ 変異原性試験

(11) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No. 毒 A43)

試験機関:

報告書作成年: 1983 年

検体純度 :

試験期間 : 9 日間(1983 年 7 月 18 日~1983 年 7 月 27 日)

試験方法 : B-2 寒天培地の表面に枯草菌(*Bacillus subtilis*)H17(Rec⁺)あるいは M45(Rec⁻)株の融解懸濁液をストリークして、菌液を乾燥させた後、培地表面に DMSO で溶解した検体の希釈液 50 μ L を浸みこませた直径 10 mm の円型濾紙(ディスク)を置き、プレートを 5°C に 24 時間放置した後、37°C で 24 時間培養した。

培養後、円型濾紙の周囲にできる両菌株の生育阻止帯を測定した。

1 用量につき 3 枚のプレートを作製した。

なお、溶媒対照として DMSO 50 μ L/ディスクを用い、陰性対照にはカナマイシンを滅菌蒸留水に溶解しディスク当たり 10 μ g を吸着させ、また、陽性対照としてマイトマイシン C を蒸留水に溶解して 0.1 μ g/ディスクとして使用した。

試験結果 : 試験結果を以下の表に示す。

検体の 400、800、1600 及び DMSO に対する溶解限度である 3200 μ g/ディスクのいずれの濃度においても、両株に生育阻止は認められなかった。一方、陽性対照物質であるマイトマイシン C は DNA 損傷性を有するため、H17 株で DNA 修復がみられ、M45 株では修復されず Rec⁺ に比較し Rec⁻ の生育阻害が著しかった。また、陰性対照剤であるカナマイシンはタンパク合成阻害作用を有するため両菌株に同程度の生育阻止帯が認められた。

以上の結果から、検体は DNA 損傷を誘発しないと判断された。

試験結果

検体名	濃度 (μ g/ディスク)	生育阻止帯 (mm)		生育阻止帯差 (mm) (Rec ⁻ - Rec ⁺)	評価
		M45(Rec ⁻)	H17(Rec ⁺)		
DMSO	-	0	0	0	-
検体	400	0	0	0	-
	800	0	0	0	-
	1600	0	0	0	-
	3200	0	0	0	-
カナマイシン	10	9	8	1	-
マイトマイシン C	0.1	11	1	10	+

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

①9 生体の機能に及ぼす影響に関する試験

薬理試験

(資料 No. 毒 A44)

試験機関:

報告書作成年:1984年

検体純度 :

試験期間 : 1982年6月～1983年10月

1. 中枢神経系に対する作用

1) マウスの一般症状

供試動物 : Slc:ddY 系マウス、1 群雄 3 匹、体重 25～32 g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、200、1000 及び 5000 mg/kg を腹腔内に投与した。

観察方法 : 検体を腹腔内に投与して経時的に症状を観察した。

結果 : 検体 200 mg/kg の腹腔内投与により、投与 10 分後より反応性の低下、苦悶反応、呼吸数の低下、立毛等が観察されたが、それらは軽度であり、投与 120 分後には回復した。

1000 mg/kg 投与 1 分後に反応性低下が観察され、5 分後に強度の苦悶反応が発現し、自発運動の低下及び立毛も認められた。これらの反応は投与 180 分後に回復した。

5000 mg/kg 投与では 1000 mg/kg 群にみられた所見に加えて、受動態及び痛覚反応の鈍化が観察された。これらの所見は投与 180 分後にほとんど消失したが、反応性の低下は観察された。

2) マウスを用いたペントバルビタール睡眠延長作用

供試動物 : Slc:ddY 系マウス、1 群雄 6～7 匹、体重 25～32g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、200、1000 及び 5000 mg/kg を腹腔内に投与した。検体投与 15 分後に生理食塩水に溶解したペントバルビタール 50 mg/kg を腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水のみを投与した。

観察方法 : 睡眠開始はペントバルビタール投与後正向反射が消失した時点とし、また、覚醒は正向反射が再度復活した時として、その間の時間を睡眠時間とした。

結果 : 検体 1000 mg/kg 以上の群で睡眠時間の延長がみられた。

試験結果を以下の表に示す。

投与量(mg/kg)	0	200	1000	5000
睡眠時間(分)±SD	72.2±17.0	68.4±21.9	123.8±52.1	↑180.2±68.0
対照群に対する比率	100	95	171	250

t-検定 ↑:P<0.05

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

3) マウスを用いたペンテトゾールにより誘発される痙攣に対する作用

供試動物 : Slc:ddY 系マウス、1 群雄 6 匹(対照群 12 匹)、体重約 28 g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、30、45、60 及び 120 mg/kg を腹腔内に投与した。検体投与 30 分後にペンテトゾール 100 mg/kg を腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水のみを投与した。

観察方法 : ペンテトゾール投与後、痙攣が発現するまでの時間及び生死を観察した。

結果 : 対照群マウスではペンテトゾール投与後、約 40 秒で間代性痙攣を発現し、平均 5 分 58 秒後に死亡した。

検体投与群の全例に痙攣発現時間の遅延傾向がみられ、死亡例も減少した。

死亡例数は 30 mg/kg 群で 4/6、45 mg/kg 群で 1/6 であったが、60 及び 120 mg/kg 群では死亡例がみられなかった。

試験結果を以下の表に示す。

投与量(mg/kg)	0	30	45	60	120
痙攣発現時間(秒)±SD	46.3±11.5	53.0±13.7	↑68.3±9.4*	↑57.3±4.8	↑71.8±9.2*
対照群に対する比率	100	114	148	124	155
死亡動物数/動物数	11/12	4/6	↓1/6	↓0/6	↓0/6

t-検定および Fisher の直接確率計算法 ↑:P<0.05、↑↓:P<0.01 (申請者註:両法が実施されたと考えられる)

* 報告書では有意差がP<0.05 と記載されていたが、申請者が計算したところP<0.01 であった

4) マウスを用いたストリキニーネにより誘発される痙攣に対する作用

供試動物 : Slc:ddY 系マウス、1 群雄 6 匹(対照群 12 匹)、体重約 24~31 g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、29、42、57、114 及び 228 mg/kg を腹腔内に投与した。検体投与 30 分後にストリキニーネ 1 mg/kg を腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水のみを投与した。

観察方法 : ストリキニーネ投与後、痙攣が発現するまでの時間及び生死を観察した。

結果 : 対照群マウスではストリキニーネ投与後、約 5 分で間代性痙攣を発現し、平均 6 分 24 秒後に死亡した。

検体 42 及び 57 mg/kg 群では、対照群に比較して痙攣発現までの時間が有意に短く、死亡動物数は 42、57、114 及び 228 mg/kg で各々 6/6、6/6、5/6 及び 4/6 例であった。

試験結果を以下の表に示す。

投与量(mg/kg)	0	29	42	57	114	228
痙攣発現時間(秒)	332.6	250.2	↓234.8	↓240.8	395.0	429.5
±SD	±95.9	±54.9	±39.7	±30.2	±141.2	±145.0
対照群に対する比率	100	75	71	72	119	129
死亡動物数/供試動物数	12/12	6/6	6/6	6/6	5/6	4/6

t-検定および Fisher の直接確率計算法 ↓:P<0.05 (申請者註:両法が実施されたと考えられる)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体－生体機能影響 >

5) ウサギ及びラットを用いた体温に対する作用

供試動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、1 群雄 5 匹、体重 3～4 kg 及び Slc:SD 系ラット、1 群雄 6 匹、体重 260～330 g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、ウサギでは 30 及び 60 mg/kg を耳介静脈から静注した。またラットに対しては 1250 及び 2500 mg/kg を腹腔内に投与した。対照群には生理食塩水のみを投与した。

観察方法 : 検体投与後、経時的に直腸内体温をサーミスタ温度計で測定した。

結果 : ウサギ及びラットに対する検体投与による体温への影響は認められなかった。

試験結果を以下の表に示す。

ウサギの直腸内体温(平均±SD)						
投与量 (mg/kg)	投与直後	投与後経過時間				
	0	1	2	3	5	7
0	38.9±0.3	38.9±0.8	39.1±0.2	39.2±0.1	39.1±0.4	39.2±0.2
30	39.2±0.5	39.3±0.4	39.6±0.3	39.5±0.4	39.0±0.4	38.9±0.3
60	38.8±0.4	38.8±0.6	39.3±0.7	39.5±0.5	39.4±0.5	39.3±0.2
ラットの直腸内体温(平均±SD)						
投与量 (mg/kg)	投与直後	投与後経過時間				
	0	1	2	3	5	7
0	37.8±0.3	37.9±0.3	37.1±0.2	38.1±0.3	38.0±0.3	38.0±0.1
1250	38.0±0.4	37.2±0.4	37.0±0.1	38.0±0.3	38.3±0.3	37.8±0.3
2500	38.1±0.5	37.4±0.8	36.9±0.5	38.1±0.5	38.1±0.5	37.9±0.3

t-検定で有意差なし(申請者註:本法が実施されたと考えられる)

6) マウスを用いた自発運動に対する作用

供試動物 : Slc:ddY 系マウス、1 群雄 3 匹、体重約 27～32g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、30、60 及び 120 mg/kg を尾静脈内に投与した。なお、対照群には生理食塩水のみを投与した。

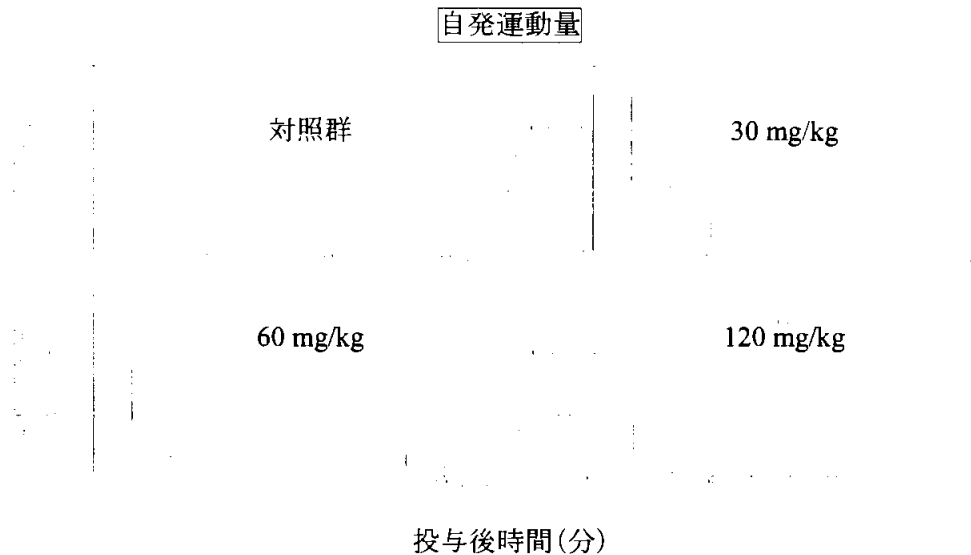
観察方法 : 検体投与後、経時的にマウスの運動量を NATSUMEX で 10 分間毎に 90 分間測定した。

結果 : 検体 30 mg/kg 群マウスは対照群マウスに比較して運動量の増加傾向を示した。60 mg/kg 群では変化はみられず、120 mg/kg 群マウスでは運動量の減少傾向を示した。

試験結果を以下の図に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>



7) 慢性電極埋込ウサギの脳波に対する作用

供試動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、1 群雄 3 匹、体重約 3.5 kg

試験方法 : ウサギの脳内に電極を埋込んだ。埋込み位置は運動領、視覚領、海馬、扁桃核とし、脳波の測定は手術後 1 週間以上の回復期間において、無麻酔条件下で行った。検体は少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、50 mg/kg を耳介静脈から静注して、脳波を測定した。

観察方法 : 検体投与前及び投与後 120 分間脳波を測定した。

結果 : 検体 50 mg/kg 静脈内投与によってウサギの自発脳波に対して何ら影響は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-生体機能影響>

2. 血圧、心拍数、呼吸に対する作用

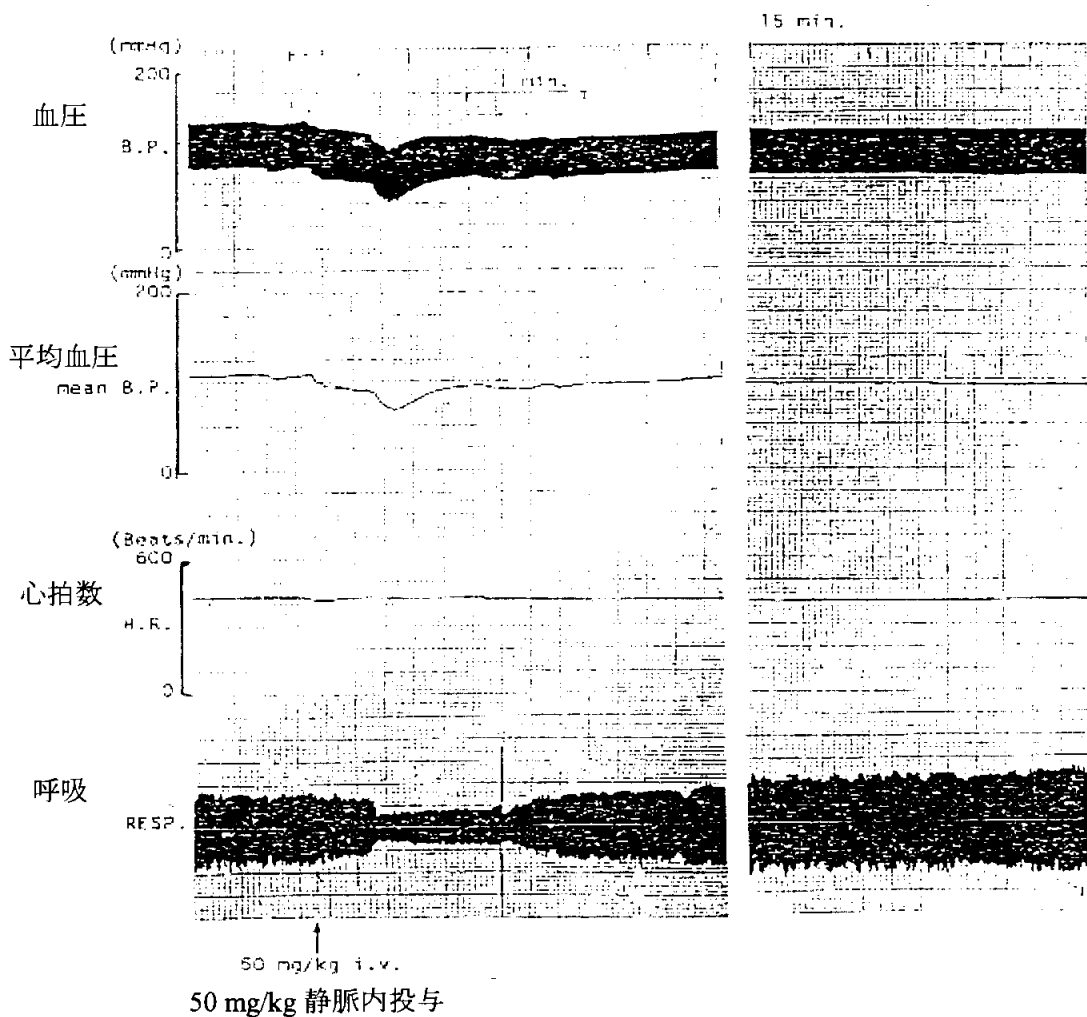
供試動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、1 群雄 7 匹、体重約 4 kg

試験方法 : ウレタン麻醉下のウサギを用いて、血圧は右総頸動脈から血圧トランスジューサーを介して、心拍数は更に瞬時心拍計を介し、また、呼吸は気管に挿入したサーミスタ呼吸ピックアップを介してオシログラフ上に記録した。

投与方法 : 検体を少量の Tween80 を加えた生理食塩水に懸濁し、25 及び 50 mg/kg を右総頸静脈に挿入したポリエチレンカニューレより注入した。

結果 : 検体 25 mg/kg 静脈内投与で血圧は軽度の低下を示し、呼吸も僅かに浅くなった。50 mg/kg 静脈内投与では血圧が急速に低下し、その後徐々に回復したが、数時間後においても完全な回復はみられなかった。呼吸は投与直後急激に浅くなったが、数分後に回復し投与前に比較して深くなった。心拍数には投与後軽度の減少がみられた。

試験結果を以下の図に示す。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

3. 体性神経系に対する作用

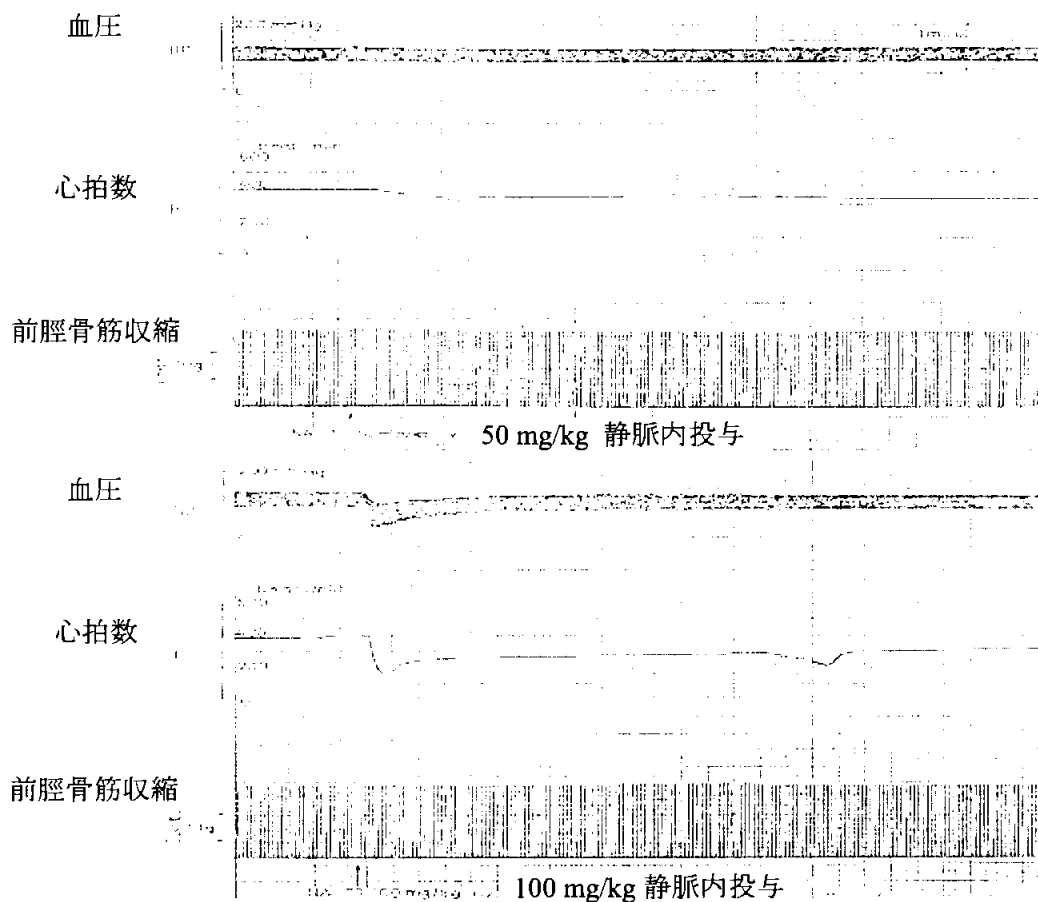
供試動物 : Slc:Wistar 系ラット、雄 13 匹、体重約 350～470 g

試験方法 : ウレタン麻酔下で、腹位に固定して坐骨神経及び前脛骨筋を露出させ、坐骨神経に電気刺激を与えて前脛骨筋の収縮を FD-ピックアップを介してポリグラフで測定記録した。

投与方法 : 検体を少量の Tween80 を加えた生理食塩水に懸濁し、50 及び 100 mg/kg を左総頸静脈に挿入したポリエチレンカニューレより注入した。

観察方法 : 前脛骨筋の収縮を測定記録し、同時に頸動脈で血压及び心拍数を測定した。

結果 : 検体 50 及び 100 mg/kg 静脈内投与によって前脛骨筋の収縮に何ら影響を及ぼさなかった。試験結果を以下の図に示す。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

4. 平滑筋に対する作用

1) モルモット摘出回腸標本に対する作用

供試動物 : ハートレー系モルモット、雄3匹、体重200～300g

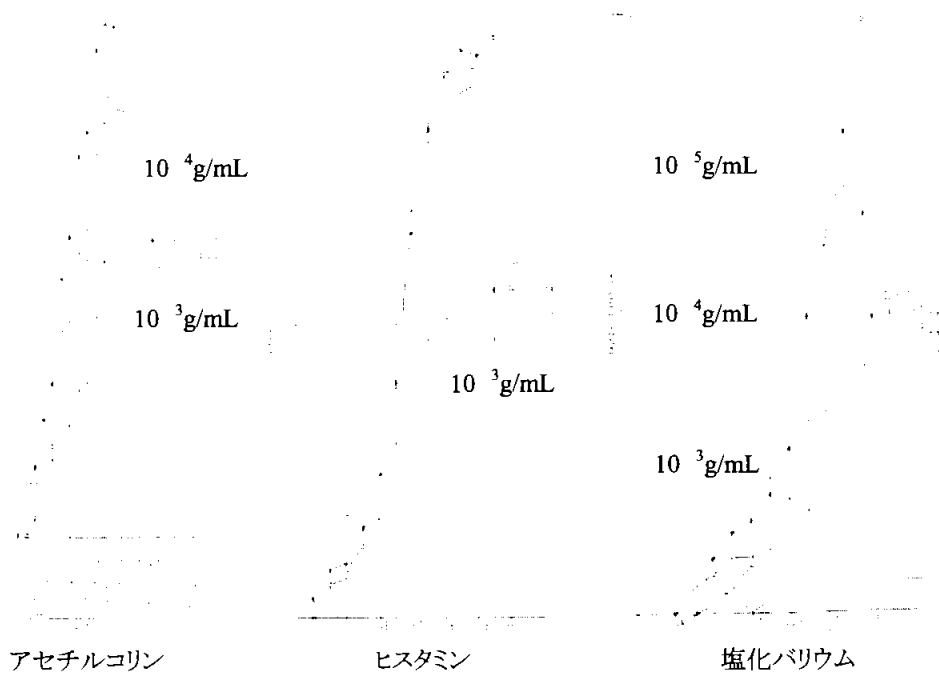
試験方法 : 頸部切断により放血死させ、開腹して回腸を摘出し、マグヌス装置の通気したタイロード液中に懸垂して腸管の収縮をFD-ピックアップを介してポリグラフで測定、記録した。

収縮薬としてアセチルコリン、ヒスタミン、塩化バリウムを用い、これらによって発現する回腸の収縮に対する検体の影響を観察した。

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、その 10^{-5} 、 10^{-4} 及び 10^{-3} g/mL を各収縮液添加2分前にマグヌス管中タイロード液に加えた。

観察方法 : 検体を注入した後、収縮液の添加は累積投与方法により適用し、回腸の収縮を観察、記録した。

結果 : 検体の 10^{-4} 及び 10^{-3} g/mL でアセチルコリンによる回腸の収縮を抑制する傾向を示した。ヒスタミンによる収縮は検体 10^{-3} g/mL で抑制され、塩化バリウムによる収縮は検体 10^{-5} 、 10^{-4} 及び 10^{-3} g/mL で用量依存的に抑制された。



2) モルモット摘出輸精管標本に対する作用

供試動物 : ハートレー系モルモット、雄 5 匹、体重 220~390 g

試験方法 : 頸部切断により放血死させ、開腹して輸精管を摘出し、マグヌス装置の通気したタイロッド液中に懸垂して輸精管の収縮を FD-ピックアップを介してポリグラフで測定、記録した。

収縮薬としてエピネフリン、アセチルコリンを用い、これらによって発現する輸精管の収縮に対する検体の影響を観察した。

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、その 10^{-5} 、 10^{-4} 及び 10^{-3} g/mL を各収縮液添加 2 分前にマグヌス管中タイロッド液に加えた。

観察方法 : 検体を注入した後、収縮液の添加による輸精管の収縮を観察、記録した。

結果 : 検体は 10^{-3} g/mL でアセチルコリンによる収縮を抑制する傾向にあった。エピネフリン添加による輸精管の収縮は抑制しなかった。

3) モルモット摘出気管に対する作用

供試動物 : ハートレー系モルモット、雄 13 匹、体重 250~370 g

試験方法 : 頸部切断により放血死させ、気管を摘出し、螺旋状に切ってマグヌス装置の通気したタイロッド液中に懸垂して気管の収縮を FD-ピックアップを介してポリグラフで測定記録した。

収縮薬としてアセチルコリン、ヒスタミンを用い、また、気管平滑筋の弛緩薬としてノルエピネフリンを用い、これらによって発現する気管の収縮あるいは弛緩に対する検体の影響を観察した。

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、その 10^{-5} 、 10^{-4} 及び 10^{-3} g/mL をアセチルコリン、ヒスタミンあるいはノルエピネフリン添加の 30 分前にマグヌス管中タイロッド液に加えた。

観察方法 : 検体を注入した後、アセチルコリン、ヒスタミンあるいはノルエピネフリン添加による気管の収縮あるいは弛緩を観察、記録した。

結果 : 検体はアセチルコリンによる気管の収縮に対し作用せず、ヒスタミンによる収縮を抑制する傾向がみられた。しかし、ノルエピネフリン添加による気管の弛緩には影響を与えなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

< 原体 - 生体機能影響 >

4) マウスを用いる小腸輸送に対する作用

供試動物 : Slc:ddY 系マウス、1 群雄 10 匹、体重 20~30 g

試験方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、その 50、100 及び 150 mg/kg を 18 時間絶食させたマウスの尾静脈から静注し、10 分後に 5%活性炭懸濁液を経口投与、その 30 分後にマウスを屠殺して腸管を摘出した。なお、対照群には生理食塩水のみを投与した。

活性炭の幽門部からの移動距離を測定し、腸管の全長に対する移動距離の割合を計算した。

結果 : 検体の小腸輸送に対する影響は認められなかった。結果を以下の表に示す。

投与量(mg/kg)	0	50	100	150
輸送距離(%)	52.8±6.6	51.6±5.0	52.3±6.4	47.9±5.7

t-検定で有意差なし(申請者註:本法が実施されたと考えられる)

5) ラットを用いた胃液分泌に対する作用

供試動物 : Slc:Wistar 系ラット、1 群雄 5~6 匹、体重約 200 g

試験方法 : エーテルで麻酔したラットを開腹し、幽門部の幽門括約筋の下 0.5 cm で結札して腹部を閉じ、腹腔内に温めた生理食塩水 4 ml を注入した。エーテルの麻酔から覚醒後、検体を経口投与(1 mL/100 g 体重)して、その 6 時間後に再度開腹して胃の噴門部を結札、胃を摘出した。

摘出胃内の胃液を採取して胃液量及び pH を測定した。

検体は少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、300、1000 及び 3000 mg/kg として投与した。なお、対照群には生理食塩水のみを投与した。

結果 : 検体は胃液の分泌量及び pH に対し何ら影響を及ぼさなかった。

投与量(mg/kg)	0	300	1000	3000
動物数	6	5	6	6
胃液量	4.9±1.6	5.1±1.6	6.1±1.6	5.5±1.3
pH	3.1±1.2	3.8±2.0	3.8±1.9	4.4±2.4

t-検定で有意差なし(申請者註:本法が実施されたと考えられる)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

5. 血液に対する作用

1) 血液凝固に対する作用

供試動物 : Slc:Wistar 系ラット、1 群雄 7 匹、体重 220～270 g

投与方法 : 検体を少量の Tween 80 を加えた生理食塩水に懸濁し、300、1000 及び 3000 mg/kg を腹腔内に投与、3 時間後に、無麻酔下で頸静脈から採血して、血液凝固時間を測定した。対照群には生理食塩水を投与した。

結果 : 検体 3000 mg/kg 投与により血液凝固時間の短縮傾向がみられた。

試験結果を以下の図に示す。

投与量(mg/kg)	0	300	1000	3000
凝固時間(分)	1.82±0.49	1.80±0.27	1.66±0.28	↓1.24±0.20*

t-検定↓:P<0.05、↓:P<0.01(申請者註:本法が実施されたと考えられる)

* 報告書では有意差がP<0.01と記載されていたが、申請者が計算したところP<0.05であった

2) 溶血作用

供試動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ 1 匹、体重約 3 kg

試験方法 : ウサギから採取した血液をヘパリン処理し、遠心沈殿により血球を分離し、生理食塩水を加えて 10%赤血球浮遊液を調製した。

検体を少量の Tween 20 を加えた生理食塩水に懸濁して 10%(w/v)、1%(w/v)及び 0.1%(w/v)懸濁液を調製した。なお、Tween 20 の最終濃度は 0.4%w/v とした。各濃度の検体懸濁液 5 mL を注入した小試験管に 10%赤血球浮遊液 0.25 mL を加えて、室温でローラーにより攪拌した。

攪拌 1 及び 2 時間後に遠心分離して溶血の有無を観察した。

無処理対照として生理食塩水及び Tween 20 の 0.4%w/v を含む生理食塩水を用いた。

結果 : 攪拌 2 時間後において各検体濃度液及び Tween 20 の 0.4%w/v を含む生理食塩水で溶血が観察され、検体の影響はみられなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 1群当たり	死亡 動物数	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系							
一般状態 (マウス)	腹腔内 (Tween 80/ 生食)	200 1000 5000	雄 3	なし	200	< 200	反応性低下、苦悶反応、 自発運動低下、立毛、 痛覚鈍化
ペントバルビタール 睡眠延長作用 (マウス)	腹腔内 (Tween 80/ 生食)	0 200 1000 5000	雄 6~7	なし	1000	200	睡眠延長作用あり
ペンテトゾール 抗痙攣作用 (マウス)	腹腔内 (Tween 80/ 生食)	0 30 45 60 120	雄 6 (対照雄 12)	11/12 4/6 1/6 0/6 0/6	45	< 30	痙攣発現遅延傾向
ストリキニーネ 抗痙攣作用 (マウス)	腹腔内 (Tween 80/ 生食)	0 29 42 57 144 228	雄 6 (対照雄 12)	12/12 6/6 6/6 6/6 5/6 4/6	42	29	痙攣発現短縮傾向
体温に対する影響 (直腸温度) (ウサギ)	静脈内 (Tween 80/ 生食)	0 30 60	雄 5	なし	>60	60	影響なし
体温に対する影響 (直腸温度) (ラット)	腹腔内 (Tween 80/ 生食)	0 1250 2500	雄 6	なし	>2500	2500	影響なし
自発運動 (マウス)	静脈内 (Tween 80/ 生食)	0 30 60 120	雄 3	なし	30	< 30	30 mg/kg: 運動量増加傾向 120 mg/kg: 運動量減少傾向
脳波に対する影響 (ウサギ)	静脈内 麻酔下 (Tween 80/ 生食)	50	雄 3	なし	>50	50	脳波に影響なし
呼吸・循環器系							
血圧 (ウサギ)	静脈内 麻酔下 (Tween 80/ 生食)	25 50	雄 7	なし	25	< 25	血圧低下
心拍数 (ウサギ)							軽度の減少
呼吸 (ウサギ)							浅い呼吸、 後に深い呼吸

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－生体機能影響>

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 つづき

試験項目	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 1 群当たり	死亡 動物数	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
体性神経							
血圧 (ラット)	静脈内 麻醉下 (Tween 80/ 生食)	50 100	雄 13	なし	100	50	血圧低下傾向
心拍数 (ラット)				なし	100	50	心拍数減少傾向
前脛骨筋収縮 (ラット)				なし	>100	100	影響なし
自律神経系							
摘出回腸 (モルモット)	<i>in vitro</i> タイロート液 (Tween 80)	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁴ 10 ⁻³ g/mL	雄 3	Ach: 10 ⁻⁴	Ach: 10 ⁻⁵	Ach 収縮阻害	
摘出輸精管 (モルモット)				His: 10 ⁻³	His: 10 ⁻⁴	His 収縮阻害	
				BaCl ₂ : 10 ⁻⁵	BaCl ₂ : <10 ⁻⁵	BaCl ₂ 、収縮阻害	
摘出気管 (モルモット)			雄 13	Ach: 10 ⁻³	Ach: 10 ⁻⁴	Ach 収縮阻害傾向	
				Epi: >10 ⁻³	Epi: 10 ⁻³	影響なし	
				Ach: >10 ⁻³	Ach: 10 ⁻³	影響なし	
		His: 10 ⁻⁴	His: 10 ⁻⁵	His 収縮阻害傾向			
		NorE: >10 ⁻³	NorE: 10 ⁻³	影響なし			
小腸輸送 (マウス)	静脈内 (Tween 80/ 生食)	0 50 100 150	雄 10	なし	>150	150	影響なし
胃液分泌 (ラット)	経口 (Tween 80/ 生食)	0 300 1000 3000	雄 5~6	なし	>3000	3000	影響なし
血液							
血液凝固 (ラット)	腹腔内 (Tween 80/ 生食)	0 300 1000 3000	雄 7	なし	3000	1000	血液凝固 時間短縮
溶血 (ウサギ)	<i>in vitro</i> (Tween 20/ 生食)	0% 0.1% 1% 10%	1	なし	>10%	10%	Tween 20 を含む 生理食塩水で溶血

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

＜原体－メカニズム＞

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体-メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<原体－メカニズム>