

(9) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験 (資料 14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2009年

検体純度： %

供試動物：Fischer系ラット (F344/DuCr1Cr1j)

投与開始時週齢 雌雄ともに5週齢

投与開始時体重 雄；83～98 g、雌；82～92 g

一群雌雄各20匹

投与期間：52週間 (雄：2007年10月18日～2008年10月16日、雌：2007年10月26日～2008年10月26日)

投与方法：検体を0、3、30及び100 ppmの濃度で基礎飼料に混入し、52週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前及び投与期間中は原則として2週間に1回調製した。

用量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；動物の瀕死状態ないし死亡の有無を1日2回、一般状態を1日1回、触診を含む観察を毎週1回実施した。

Fisherの直接確率計算法 (片側検定) を用いて危険率5%及び1%レベルで解析した結果、すべての投与群の雌雄において、対照群と比較して発生頻度が有意に変動した観察項目は認められなかった。また、いずれの用量群にも動物の死亡は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前及び投与期間中毎週1回、全動物を対象として詳細な状態の観察を行った。

Dunnettの多重比較法を危険率5%及び1%レベルで実施した結果、すべての投与群の雄において投与52週時に身づくろい動作の有意な減少が認められたが、これはこの週の対照群において身づくろい動作のスコアが1を示す動物が3匹いたのに対し、投与群では身づくろい動作をする動物が見られなかったこ

とによるものであった。対照群においても投与期間を通じて身づくろい動作を示す動物が存在したのは3週に過ぎず、いずれの週にも1匹のみの発生であった。したがって、52週時の投与群における身づくろい動作のスコアの有意な減少はこの週の対照群に身づくろい動作を示す動物が多かったことによる偶発性の変動と考えられ、検体投与による影響ではないと判断した。その他、30及び3 ppm 群の雌における立ち上がり姿勢のスコアの増加は、用量との関連性が見られなかったことから検体投与とは関連しない見かけ上の変動であると判断した。

機能検査；投与49週時に各群雌雄10匹ずつの動物について機能検査を実施した。検査は以下の項目について行った。

自発運動量、握力（前肢、後肢）、感覚運動反応（位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応、空中立ち直り反射）

Dunnettの多重比較法を危険率5%及び1%レベルで実施した結果、100 ppm群において雌で10から20分の自発運動量の有意な増加が見られたが、これ以外の時間帯及び60分間を通じた総自発運動量は対照群との間に大きな差はなく検体投与による影響ではないと判断した。100 ppm群の雄及びその他の用量群の雌雄では、対照群と比較して有意に変動した検査項目はなかった。

体重変化；全動物について、投与開始時及び投与1週から13週までは毎週1回、また投与16週から投与終了時（52週時）までは4週に1回の頻度で体重を測定した。さらに剖検前に最終体重を測定した。

Dunnettの多重比較法を危険率5%及び1%レベルで実施した結果、100 ppm群の雌の投与7週に体重が対照群と比較し有意に増加した。さらに、3 ppm投与群では、雄の平均体重が投与6から11週及び44週に対照群と比較し有意に増加したが、その増加幅は5%以下とわずかなものであった。これらの体重の変動は、散発的でありまたは用量相関性も無いことから検体投与による影響ではないと判断した。100 ppm群の雄、30 ppm群の雌雄及び3 ppm群の雌では、対照群と比較して有意な体重の変化はなかった。

摂餌量；全ケージについて、投与1週から13週までは毎週1回、投与16週から投与終了時（52週時）までは4週に1回の頻度で、連続4日分のケージ別摂餌量を測定した。

Dunnettの多重比較法を危険率5%及び1%レベルで実施した結果、すべての用量群の雌では、対照群と比較して有意に増加した測定週があった。しかし、試験期間を通じた総平均摂取量に対照群と大きな差はないため検体投与による影響ではないと判断した。すべての用量群の雄では、対照群と比較して投与期間を通じ有意な摂餌量の変化はなかった。

食餌効率；全用量群について、投与開始後の13週間、各1週間の群平均体重増加量を対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

応する群平均摂餌量で除して群平均食餌効率を雌雄別に算出した。さらに、これらの群平均食餌効率を平均し、総平均食餌効率を雌雄別に求めた。

全ての投与群雌雄において、食餌効率には対照群と比較して明らかな差はなく、検体投与の影響はないと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりであった。

用量(ppm)	雄	雌
3	0.126	0.159
30	1.29	1.61
100	4.40	5.49

眼科学的検査；馴化期間中に全動物について、投与52週時に対照群及び高用量群の全動物について、検眼鏡による観察を含む眼科学的検査を以下の部位について実施した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体/硝子体、眼底
Fisherの直接確率計算法（片側検定）を用いて危険率5%及び1%レベルで解析した結果、高用量群の雌雄で、対照群と比較して発生頻度が有意に変動した異常所見は観察されなかった。

尿検査；投与13、25及び52週に、各群雌雄10匹ずつを対象として、新鮮尿または24時間採取した尿を用いて以下の項目を検査した。

尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、蛋白質、ウロビリノーゲン、尿色、尿量、尿沈渣
対照群と比較して統計学的に有意差が認められた尿検査項目を次表に示す。

検査項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		3	30	100	3	30	100
尿量	13	113	106	↑ 122	83	102	153
	25	113	111	▲ 123	124	216	137
	51	107	113	↑ 120	106	128	134
尿比重	51	100	100	↓ 100	101	100	99

Dunnettの多重比較法：↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

表中の数字は対照群を100とした時の相対値

100 ppm群の雄のすべての検査時期で尿量が有意に増加し、51週時には尿比重もわずかながら有意に低下した。この変化は持続性のものであることから検体投与による影響と考えられた。

血液学的検査；投与後 14、26 及び 52 週時に、一晚絶食させた各群雌雄 10 匹ずつの動物から血液を採取し、以下の項目を測定した。また、投与後 52 週時にはプロトロンビン時間 (PT) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の測定も行った。検査動物は原則として各時期の尿検査に用いた動物と同じ個体とし、投与後 14 及び 26 週時の採血は頸静脈より、52 週時の採血は後大静脈より行った。

ヘマトクリット値 (Ht)、血色素量 (Hb)、メトヘモグロビン量 (Hi)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、赤血球分布幅 (RDW)、赤血球血色素濃度分布幅 (HDW)、血小板数 (PLT)、網赤血球数 (Retics)、ハインツ小体、白血球数 (WBC)、白血球のディファレンシャルカウント

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた血液学的検査項目を次表に示す。

検査項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		3	30	100	3	30	100
ヘマトクリット値 (Ht)	14	101	98	↓94	102	98	↓95
	26	102	99	↓95	102	96	↓93
	52	100	↓98	↓97	99	↓97	↓94
血色素量 (Hb)	14	101	97	↓92	101	↓96	↓92
	26	101	98	↓93	101	↓95	↓91
	52	100	↓97	↓94	99	↓96	↓91
メトヘモグロビン量 (Hi)	14	113	↑163	↑200	129	↑186	↑257
	26	127	136	↑200	129	↑171	↑257
	52	88	100	↑200	90	120	↑180
赤血球数 (RBC)	14	101	96	↓89	101	↓95	↓88
	26	101	97	↓91	101	↓95	↓88
	52	100	↓97	↓94	99	↓94	↓89
平均赤血球容積 (MCV)	14	100	↑102	↑105	100	↑104	↑107
	26	101	102	↑104	101	↑102	↑105
	52	100	101	↑103	101	↑103	↑106
平均赤血球血色素量 (MCH)	14	99	101	↑103	100	↑102	↑104
	26	100	101	↑102	101	↑101	↑104
	52	100	99	101	100	↑102	↑103
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	14	99	↓99	↓98	100	↓98	↓97
	26	99	99	99	99	99	↓98
	52	100	↓99	↓97	99	↓99	↓97

Dunnett の多重比較法：↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値

(つづき)

検査項目	投 与 週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		3	30	100	3	30	100
赤血球分布幅 (RDW)	14	100	100	↑102	99	↓97	↑104
	26	99	↓97	↓97	↓98	↓93	99
	52	↑102	↑103	↑102	99	↓96	100
赤血球血色素濃度分布幅 (HDW)	14	100	↓97	↓91	99	↓88	↓93
	26	99	↓93	↓89	98	↓92	↓93
	52	102	99	↓92	97	↓86	↓87
血小板数 (PLT)	14	107	↑109	↑111	101	105	↑111
	26	102	106	↑113	102	↑110	↑116
	52	99	105	↑106	98	↑110	↑117
網赤血球数 (Retics)	14	111	↑124	↑186	116	↑133	↑227
	26	99	110	↑153	97	112	↑200
	52	101	↑117	↑150	98	108	↑175
プロトロンビン時間 (PT)	52	102	↑111	↑111	98	↓96	97
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	52	99	↑105	↑105	↑104	102	↑105
白血球数 (WBC)	14	112	108	113	105	108	↑118
	26	104	107	112	100	112	↑136
	52	103	104	108	95	118	↑140
白血球のディファレンシャルカウント							
リンパ球数 (L)	14	106	107	108	111	114	↑128
	26	107	109	111	103	118	↑141
	52	99	101	109	99	↑122	↑147
好中球数 (N)	14	↑140	109	↑135	80	85	85
骨髓有核細胞数	52	93	104	↑116	105	123	↑141

Dunnett の多重比較法 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値

100 ppm 群の雌雄すべての検査時期に、30 ppm 群の雌雄では 14 週間投与終了後に、雌では加えて 26 週間投与終了後にも有意なメトヘモグロビン量の増加が観察された。さらに 30 ppm 以上の投与群の雌雄ではヘマトクリット値、血色素量ないし赤血球数が減少し、貧血が認められた。ただしこの変化は 30 ppm 群では 100 ppm 群に比較して弱く、特に雄では投与後半のみ有意な変化として観察される傾向にあった。貧血に伴い、これらの群の動物では平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の有意な増加あるいは平均赤血球血色素濃度の有意な減少が観察された。さらに、100 ppm 群の雌雄の 14 週間投与終了後及び雄の 52 週間投与終了後 30 ppm 群の雄の 52 週間投与終了後には赤血球分布幅の増加も認められた。3 ppm 群の雄においても 52 週間投与終了後に赤血球分布幅が有意に増加したが、これらの動物には貧血所見がなかったことから赤血球のサイズの分布幅のみの増加には毒性学的意義はないと判断した。なお、赤血球分布幅及び赤血球血色素濃度分布幅の有意な減少が検体投与群の雌雄で散発したが、これらの項目の減少には毒性学的意義はない。100 ppm 群の雌雄の全検査時期ならびに 30 ppm 群の雄の 14 及び 52 週間投与終了後及び雌の 14 週間投与終了

後にみられた網赤血球数の増加及び100 ppm群の雌雄で52週間投与終了後に見られた骨髓有核細胞数の増加は、検体投与によりもたらされた貧血に対する代償性変化としての造血亢進を示すものと考えられた。また、100 ppm群の雌雄の全検査時期及び30 ppm群の雄の14週間投与終了後及び雌の26及び52週間投与終了後にみられた血小板数の有意な増加も造血亢進に関連する変化であると考えられた。100 ppm群の雌では全検査時期で白血球数が有意に増加し、この増加はリンパ球数の増加によるものであった。リンパ球数の増加は、溶血性貧血とは直接関連しない変化であると考えられるが、投与期間中持続して観察された変化であること及び90日間反復経口投与毒性試験(資料10)でも高用量群で観察されており検体投与の影響であると判断した。30 ppm群の雌でも52週間投与終了後にリンパ球数の有意な増加が認められた。これらの動物では白血球数及び他の検査時期のリンパ球数に有意な増加はなかったものの、その値は投与期間の延長に伴って軽度に増加する傾向がみられたことから100 ppm群と同様検体投与の影響であると判断した。3及び100 ppm群の雄で14週間投与終了後に好中球数が有意に増加したがこれは一時的な変化であり、また、90日間反復経口投与毒性試験(資料10)では観察されなかったことから偶発的なものと判断した。

52週間投与終了後に実施した血液凝固関連項目の検査では、30 ppm以上の投与群の雄でプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間が有意に延長した。活性化部分トロンボプラスチン時間は100 ppm群の雌でも延長した。これらの変化は検体投与によるものであると判断した。その他、30 ppm群の雌におけるプロトロンビン時間の短縮及び3 ppm群の雌における活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められたが、いずれも用量と関連しない偶発性の変化であり、検体投与によるものではないと判断した。

血液生化学的検査；14、26及び52週間投与終了後に、血液学的検査に供した各群雌雄10匹ずつの動物の血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、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)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGTP)、クレアチニン (Creat)、尿素窒素 (BUN)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)、血糖 (Gluc)、総コレステロール (T.Chol)、トリグリセライド (TG)、総ビリルビン (T.Bil)、直接ビリルビン (D.Bil)、間接ビリルビン (I.Bil)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた血液生化学的検査項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

検査項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		3	30	100	3	30	100
アルカリホスファターゼ (ALP)	26	102	97	94	101	88	↓83
	52	101	96	94	93	88	↓79
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)	14	102	99	↓83	110	105	↓93
	26	117	95	76	90	↓69	↓67
	52	112	98	↓84	108	94	↓79
アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)	26	119	103	89	83	↓62	↓59
	52	↑116	104	99	100	92	↓74
γ-グルタミルトランスアミナーゼ (GGTP)	52	100	100	100	100	↓50	↓50
クレアチニン (Creat)	52	94	97	94	100	↓95	↓92
尿素窒素 (BUN)	26	95	↓91	↓84	↑111	99	104
アルブミン (Alb)	26	100	99	100	↑104	102	↑106
	52	100	100	102	103	104	↑108
グロブリン (Glob)	26	100	98	↓93	99	97	95
	52	100	101	↓96	99	97	98
アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)	14	99	99	↑108	99	103	↑107
	26	100	101	↑108	104	105	↑111
	52	99	100	↑107	104	107	↑110
総コレステロール (T. Chol)	14	104	98	↓88	106	96	106
	26	103	94	↓85	105	100	103
	52	104	92	↓89	103	103	102
トリグリセライド (TG)	14	113	85	↓71	94	↓66	↓69
	26	117	87	67	76	89	104
	52	111	↓69	↓68	104	85	113
総ビリルビン (T. Bil)	14	100	80	100	100	120	↑160
	26	100	100	100	100	120	↑160
	52	83 (98)	83 (98)	↑100 (113)	86	100	↑114
直接ビリルビン (D. Bil)	14	0.01 (150)	0.01 (150)	↑0.01 (250)	100	100	100
	26	100	100	100	100	100	200
	52	100 (183)	100 (133)	↑100 (217)	100	100	200
間接ビリルビン (I. Bil)	14	100	100	100	100	125	↑150
	26	100	100	100	100	125	↑150
	52	↓80	100	100	100	120	↑140
カルシウム (Ca)	26	99	98	97	↑104	102	↑104
	52	100	100	100	100	101	↑103
カリウム (K)	26	102	↑109	101	97	99	95

Dunnett の多重比較法 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値、ただし雄の 14 週間投与終了後の直接ビリルビンは対照群の値が 0.00 であったため実測値を記載 (斜体で表示)

()内の数値は小数点下 2 桁で丸める前の平均値から算出した対照群を 100 とした時の相対値

溶血性貧血に関連すると考えられる変化としては、100 ppm 群の雌において

総ビリルビン及び間接ビリルビンの有意な増加が全検査時期を通じて観察された。一方、100 ppm 群の雄では、総ビリルビンが 52 週間投与終了後に、直接ビリルビンが 14 及び 52 週間投与終了後に有意に増加したが、いずれもごくわずかな変化であり、また持続性も明らかではないこと、さらに溶血性貧血の際に増加する間接ビリルビンはいずれの検査時期でも投与群と同程度の値を示していたことから、雄におけるこれらビリルビンの変化には毒性学的意義はないと判断した。

肝臓機能に関連すると考えられる変化としては、100 ppm 群の雄で 26 及び 52 週間投与終了後にグロブリンの減少が、全検査時期でアルブミン/グロブリン比の増加が認められた。この変化は肝臓における蛋白合成になんらかの検体投与の影響があったものと考えられた。同群の雌においてもアルブミン/グロブリン比が全検査時期で増加したが、これらの動物ではグロブリン値には大きな変化がない一方、26 及び 52 週間投与終了後にアルブミンの有意な増加が認められたことから、雄と異なりアルブミンの増加に起因する変化であると考えられた。しかし、極端な脱水や血液濃縮が起きた場合を除き、アルブミンの増加には毒性学的意義はないと考えられている。脂質の変化としては、100 ppm 群の雄の全検査時期に総コレステロールの減少及びトリグリセライドの減少ないし減少傾向が、雌の 14 週間投与終了後にトリグリセライドの減少がみられた。雄におけるこれら脂質の減少には持続性があり、さらに総コレステロールの減少は 90 日間反復経口投与試験（資料 10）でも高用量の雄で観察されている変化であることから検体投与によるものと判断した。一方、雌におけるトリグリセライドの減少は 14 週間投与終了後にのみ観察されたが、以降の検査時期には対照群と同程度ないしそれを上回る値を示していたため、毒性学的に意義のない変化であると判断した。30 ppm 群では、雄の 52 週間投与終了後及び雌の 14 週間投与終了後にトリグリセライドが有意に減少した。雄については、100 ppm 群で明らかかな検体の影響と考えられるトリグリセライドの減少が観察されていることから、30 ppm 群の変化も検体投与に関連するものであると判断した。雌では、有意な減少は投与初期の検査時期一点だけでのみ見られ、その後のトリグリセライドの値には有意な減少がないこと及び 100 ppm 群の雌のトリグリセライドにも明らかかな検体による影響はないと判断されたことから、偶発性の変動であると考えられた。

電解質では、100 ppm 群の雌で 26 及び 52 週間投与終了後にカルシウムの有意な増加が観察された。血中カルシウム濃度の上昇は、上皮小体機能亢進症、骨の急激な破壊、副腎皮質機能不全あるいは甲状腺機能亢進症などの際に観察されるが、検体投与によりこれらの病態がもたらされていることを示唆するような所見はいずれの検査においても認められず、また、これらの病態による変化としては 100 ppm 群の雌における血中カルシウム濃度の上昇の程度は小さいと考えられた。血中のカルシウムは、およそ半分がイオンとして、残りが蛋白、主にアルブミンと結合して存在している。100 ppm 群の雌の 26 及び 52 週間投与終了後のカルシウム濃度は対照群の 104 及び 103% であり、さらに 3 ppm 群の雌の 26 週間投与終了後にも 104%（有意差あり）の値が観察された。これら

の動物のこれらの時期ではいずれも血中のアルブミン値が対照群に比較して有意に高かったことから、キャリア蛋白であるアルブミンの増加に伴って蛋白結合性のカルシウムの量が増加した可能性が考えられた。したがって、100 ppm 群の雌の 52 週間投与終了後に見られた血中カルシウムの有意な増加は、アルブミンの増加に関連する可能性が高いことからその毒性学的意義は不明であった。

100 ppm 群の雄でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及び尿素窒素の、雌でアルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ及びクレアチニンの、30 ppm 群の雄で尿素窒素の、雌でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニンの有意な減少が認められた検査時期があったが、これらの検査項目の減少に毒性学的意義はないと考えられた。また、30 ppm 群の雄におけるカリウムの増加、3 ppm 群の雄におけるアラニンアミノトランスフェラーゼの増加及び間接ビリルビンの減少ならびに雌における尿素窒素、アルブミン及びカルシウムの増加には用量との関連性が見られなかったことから検体投与とは関連しない偶発性の変動であると判断した。

肉眼的病理検査；52週間投与終了後に全動物について、エーテルの深麻酔下で腹大動脈・後大静脈を切断して放血により安楽死させた後に剖検した。

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた剖検所見を次表に示す。

臓器及び所見	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	100	0	3	30	100
脾臓： 暗調化	[N=] [20] 0	[20] [20] 0	[20] [20] 1	[20] [20] ↑ 18	[20] [20] 0	[20] [20] 0	[20] [20] ↑ 6	[20] [20] ↑ 20
肝臓： 肝横隔膜結節	[N=] [20] 0	[20] [20] ↑ 6	[20] [20] 2	[20] [20] ↑ 5	[20] [20] 4	[20] [20] 3	[20] [20] 1	[20] [20] 5
下垂体： 斑/点	[N=] [20] 1	[20] [20] 1	[20] [20] 0	[20] [20] 0	[20] [20] 0	[20] [20] 0	[20] [20] 2	[20] [20] ↑ 5

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

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

100 ppm 群の雌雄及び 30 ppm 群の雌において脾臓の暗調化の発生頻度が有意に増加したが、これは病理組織学的検査でこれらの動物に観察された脾臓のうっ血、褐色色素沈着増加ないし髓外造血亢進を反映する所見と考えられたため、検体投与の影響と判断した。100 ppm 群の雌で下垂体の斑ないし点の発生頻度が増加したが、病理組織学的検査の結果、特定の下垂体病変の発生の増加は認められなかったため、偶発性の変化であると考えられた。100 及び 3 ppm 群の雄で肝臓の肝横隔膜結節の発生頻度が有意に増加したが、この病変は肝臓及び横隔膜の発生時に起こる先天性の自然発生性病変であるため検体投与とは関連しないものであると判断した。

臓器重量；52週間投与終了後に、各群雌雄10匹ずつ（52週間投与後の血液学的検査及び血液生化学的検査に供した動物と同じ）について、以下の臓器重量を測定した。

脳、心臓、肝臓、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮
 対照群と比較して統計学的に有意な重量の変動が認められた臓器を次表に示す。

臓器	性及び用量 (ppm)						
	雄			雌			
	3	30	100	3	30	100	
最終体重	104	103	102	98	98	98	
心臓	相対重量	100	104	100	103	100	↑112
肝臓	絶対重量	106	106	↑113	101	103	↑113
	相対重量	102	103	↑111	104	↑105	↑116
腎臓	絶対重量	104	105	106	103	↑106	↑109
	相対重量	100	100	↑104	↑106	↑110	↑111
脾臓	絶対重量	102	105	↑112	98	104	↑145
	相対重量	100	106	↑112	100	105	↑148

Dunnettの多重比較法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数字は対照群を100とした時の相対値

肝臓及び脾臓の絶対及び相対重量が100 ppm群の雌雄で増加した。これらの臓器には検体投与によると考えられる病理組織学的変化が観察されており、その発生に伴って重量が増加したと考えられた。肝臓の相対重量が30 ppm群の雌で有意に増加したが、絶対重量には有意な増加がなかったこと及び病理組織学的検査ではこれらの動物には検体投与による病変が観察されなかったことから相対重量のみの増加は偶発性のものと判断した。

腎臓重量は、100及び30 ppm群の雌で絶対及び相対重量が、3 ppm群の雌及び100 ppm群の雄では相対重量のみが有意に増加した。100 ppm群の雌雄の腎臓には病理組織学的検査において検体投与の影響と考えられる病変が発生しており、また、雄では尿検査において尿量の増加も観察されたことから、重量の増加も検体投与の影響を示すものと判断した。30 ppm群の雌では、病理組織学的検査と尿検査いずれにも異常は認められなかったものの、絶対及び相対重量がともに有意に増加していることから検体投与の影響と考えた。一方、3 ppm群の雌では、他の検査で異常がなかったことに加え、絶対重量の有意な増加も見られなかったため、相対重量のみの増加に毒性学的意義はないと判断した。

心臓の相対重量が100 ppm群の雌では有意に増加した。貧血が慢性化した際に心臓に負荷がかかり肥大にいたることが報告されているが、これらの動物の心臓の絶対重量には有意な増加はなく、また、ほぼ同程度の貧血項目の低下を示した同群の雄の心臓重量には増加は見られなかった。したが

って、100 ppm 群の雌における心臓の相対重量の増加の毒性学的意義は不明であった。

病理組織学的検査；0 及び 100 ppm 群の全動物から採取した以下に示す臓器・組織及び 3 及び 30ppm の全動物から採取した肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、胸骨骨髓及び大腿骨骨髓について病理組織学的検査を実施した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（片側）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨及び骨髓（胸骨及び片側大腿骨）、膝関節（片側）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巢（両側）、精巢上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（角部及び頸部）、膾、眼球（網及び視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部）、肉眼的異常部位

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた組織所見及び主な組織所見を次表に示す。

臓器及び所見	性及び用量 (ppm)								
	雄				雌				
	0	3	30	100	0	3	30	100	
骨髄 (胸骨) : [N=]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]
造血亢進	0	0	2	▲ 18	2	3	3	▲ 16	
肉芽腫	0	0	0	0	1	1	0	2	
骨髄 (大腿骨) : [N=]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	
造血亢進	1	4	▲ 11	▲ 18	2	1	7	▲ 17	
肉芽腫	0	0	1	0	1	2	3	5	
脾臓 : [N=]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	
うっ血	7	11	▲ 20	▲ 20	12	16	▲ 20	▲ 20	
褐色色素沈着増加	6	9	▲ 20	▲ 20	13	16	▲ 20	▲ 20	
髄外造血亢進	4	2	↑ 10	▲ 20	8	5	12	▲ 20	
肝臓 : [N=]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	
小葉中心性肝細胞脂肪化	7	12	▲ 16	▲ 20	0	0	0	▲ 17	
肝細胞褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	↑ 6	
クッパー細胞褐色色素沈着	1	0	▲ 9	▲ 20	1	1	1	▲ 16	
小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	▲ 16	
胆管過形成	20	19	17	19	2	1	1	5	
変異肝細胞巢 (好酸性細胞)	3	4	5	▲ 11	0	0	0	1	
変異肝細胞巢 (好塩基細胞)	13	10	7	11	8	10	11	▲ 20	
肝横隔膜結節	0	↑ 6	2	↑ 5	4	3	1	5	

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

(つづき)

臓器及び所見	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	100	0	3	30	100
腎臓： [N=]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]
近位尿細管褐色色素沈着増加	5	4	7	↑ 13	4	1	2	▲ 18
膀胱： [N=]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]
粘膜上皮細胞単細胞壊死/アポトーシス	0	0	0	▲ 11	0	0	0	↑ 5
粘膜上皮過形成	0	0	0	▲ 17	0	0	0	▲ 17
粘膜固有層単核細胞集簇	0	↑ 6	1	0	2	6	2	2
移行上皮乳頭腫	0	0	0	2	0	0	0	0

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

末梢血の赤血球のヘモグロビンが酸化してメトヘモグロビンが生成されたことによる溶血の亢進及び貧血に関連する所見の発生頻度の増加が 100 及び 30 ppm 群の雌雄で見られた。すなわち、メトヘモグロビンを含む異常赤血球の排除亢進を示すと考えられるうっ血が 30 ppm 以上の投与群の雌雄の脾臓に、溶血が進んだことによって生成が亢進したヘモグロビンの代謝物であるヘモジデリンの沈着の増加が脾臓 (30 ppm 以上の投与群雌雄) 及び肝臓のクッパー細胞 (30 ppm 群雄及び 100 ppm 群雌雄) への褐色色素沈着の発生頻度の増加としてとらえられた。溶血性貧血に対する代償性の変化として胸骨 (100 ppm 群雌雄) 及び大腿骨骨髓 (30 ppm 群雄及び 100 ppm 群雌雄) における造血亢進ならびに脾臓の髄外造血亢進 (30 ppm 群雄及び 100 ppm 群雌雄) の発生頻度の増加が認められた。

肝臓への影響は、100 ppm 群の雌雄及び 30 ppm 群の雄における小葉中心性肝細胞脂肪化と 100 ppm 群の雌における小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度の有意な増加として示された。さらに、100 ppm 群の雄では変異肝細胞巣 (好酸性細胞) の、雌では変異肝細胞巣 (好塩基性細胞) 及び肝細胞褐色色素沈着の発生頻度の有意な増加が観察された。特殊染色の結果、肝細胞に沈着した褐色色素はリポフスチンを多く含むことが示された。リポフスチンは細胞内の不飽和脂肪酸の過酸化によりライソゾーム内に形成される色素であり、老化に伴い増加するが、化学物質投与により細胞に酸化ストレスがもたらされた際にも沈着が増加することが報告されている。したがって、リポフスチン沈着の増加は投与により酸化ストレスがもたらされたことを反映している可能性が考えられた。なお、100 及び 3 ppm 群の雄では肝横隔膜結節の発生頻度が有意に増加したが、剖検所見の項で述べたとおり、この病変の発生頻度の増加に毒性学的意義はない。

腎臓では、100 ppm 群の雌雄の近位尿細管に褐色色素の沈着増加が多く認められた。特殊染色の結果この色素はリポフスチンであることが示され、これら

の細胞で脂質の過酸化が起こっていると考えられた。

膀胱に対する影響は、100 ppm 群の雌雄で認められた。雌雄ともに粘膜上皮細胞単細胞壊死ないしアポトーシス及び粘膜上皮過形成の発生頻度が有意に増加した。本変化は検体の作用により膀胱粘膜上皮細胞に何らかの傷害がもたらされ、壊死ないしアポトーシスに陥った後、粘膜上皮の増殖性病変が続発したものと考えられた。雌では粘膜上皮の増殖性病変は過形成の段階でとどまっていたが、雄の2例では腫瘍性病変に発展し、移行上皮乳頭腫が観察された。なお、3 ppm 群の雄において粘膜固有層単核細胞集簇の発生頻度が有意に増加したが、この変化はより高い用量群では観察されなかったことから偶発性のものであると判断した。

検体をラットに対して52週間飼料混入投与したところ、30 ppm以上の投与群において、血中メトヘモグロビン量の増加を伴う溶血性と考えられる貧血（赤血球数、ヘマトクリット値及び血色素量の減少）が認められた。この貧血に関連した影響として30 ppm以上の投与群では平均赤血球血色素濃度の減少、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、網赤血球数及び血小板数の増加、脾臓の暗調化、うっ血、褐色色素沈着増加及び髄外造血亢進、骨髄の造血亢進、肝臓のクッパー細胞褐色色素沈着の発生頻度の増加が認められた。さらに100 ppm群では、白血球数及び骨髄有核細胞数の増加、総ビリルビン及び間接ビリルビンの増加、脾臓重量の増加が認められた。その他、肝臓、腎臓及び膀胱への影響が100または30 ppm投与群で認められた。肝臓への影響としては、30 ppm以上の投与群でトリグリセライドの減少及び小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度の増加が認められ、100 ppm投与群ではアルブミン/グロブリン比の増加、グロブリン及び総コレステロールの減少、肝臓重量の増加、肝臓の変異肝細胞巢（好酸性細胞（雄）あるいは好塩基性細胞（雌））、肝細胞褐色色素沈着及び小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度の増加が認められた。腎臓への影響としては、30 ppm以上の投与群で腎臓の重量増加、100 ppm投与群で腎臓の近位尿管褐色色素沈着増加の発生頻度の増加が認められた。膀胱への影響として、100 ppm投与群で膀胱の粘膜上皮単細胞壊死/アポトーシス及び粘膜上皮過形成の発生頻度の増加が認められた。その他、30 ppm以上の投与群でリンパ球数の増加、血液凝固項目におけるプロトロンビン時間及び活性化トロンボプラスチン時間の延長が認められ、100 ppm投与群では尿量の増加と尿比重の減少が認められた。

したがって、本試験における無毒性量は、雌雄とも3 ppm（雄0.126 mg/kg体重/日、雌0.159 mg/kg体重/日）であった。

イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性試験

(資料 15)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010年

検体純度： %

供試動物：ビーグル犬

投与開始時月齢 雌雄とも6ヵ月齢

投与開始時体重 雄；8.5～10.1 kg、 雌；8.1～9.9 kg

一群雌雄各4頭

投与期間：52週間（雄；2008年7月15日～2009年7月15日、雌；2008年7月23日～2009年7月23日）

投与方法：検体を0、4、30及び100 ppmの濃度で基礎飼料に混入し、1日あたり300g/頭を52週間にわたって毎日摂食させた。検体を混入した飼料は、投与開始前及び投与期間中は4週間に1回調製した。

用量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について投与期間中、瀕死状態や死亡の有無の確認を1日2回、一般状態の観察を1日1回ケージサイドから行った。

Fisher の直接確率計算法（片側検定）を用いて危険率 5%及び 1%レベルで解析した結果、いずれの用量群の雌雄においても、対照群と比較して有意に発生頻度の変動した観察項目はなかった。また、いずれの用量群においても死亡は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前に1回と投与期間中毎週1回、全動物を対象として詳細な状態の観察を行った。

Dunnett の多重比較法を危険率 5%及び 1%レベルで実施した結果、いずれの用量群においても対照群と比較して有意に発生頻度の変動した観察項目はなかった。

体重変化；全動物について、投与開始7日前、投与開始時及び投与1から13週時に毎週1回、16から52週時には4週間隔で給餌前の体重を測定し、さらに剖検前に最終体重を測定した。

Dunnett の多重比較法を危険率 5%及び 1%レベルで実施した結果、すべての

用量群の雌雄で、対照群と比較して有意な体重の変化はなかった。

摂餌量；馴化期間及び投与期間を通じて毎日、各動物の飼料残量を測定して各個体各日の摂餌量を算出した。

Dunnett の多重比較法を危険率 5% 及び 1% レベルで実施した結果、すべての用量群の雌雄で、対照群と比較して投与期間を通じ有意な摂餌量の変化はなかった。

検体摂取量；投与期間中の総平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりであった。

用量 (ppm)	雄	雌
4	0.112	0.0995
30	0.819	0.818
100	2.72	2.55

眼科学的検査；投与開始前及び投与 52 週時に、全動物の以下の部位について検眼鏡による観察を含む眼科学的検査を実施した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体、硝子体、眼底
Fisher の直接確率計算法（片側検定）を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、高用量群の雌雄で、対照群と比較して発生頻度が有意に変動した異常所見は観察されなかった。

尿検査；投与開始前ならびに投与 13、26 及び 52 週に新鮮尿または 24 時間採取した尿を用いて以下の項目を検査した。

尿比重、ウロビリノーゲン、蛋白質、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

Dunnett の多重比較法を危険率 5% 及び 1% レベルで実施した結果、いずれの用量群においても、対照群と比較して有意な変動が認められる検査項目はなかった。

血液学的検査；投与開始前ならびに投与 13、26 及び 52 週時に、全動物の橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値 (Ht)、血色素量 (Hb)、メトヘモグロビン量 (Hi)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、赤血球分布幅 (RDW)、赤血球血色素濃度分布幅 (HDW)、血小板数 (PLT)、網赤血球数 (Retics)、ハインツ小体、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、白血球数 (WBC)、白血球のディファレンシャルカウント

また、52 週間投与終了後の剖検時には胸骨骨髓を採取し骨髓有核細胞数を測定した。

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		4	30	100	4	30	100
平均赤血球容積 (MCV)	13	101	102	107	102	103	↑106
	26	102	102	↑108	102	102	106
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	13	100	100	↓98	101	100	↓98
	26	100	99	↓97	101	100	↓96
	52	100	100	↓97	↑102	100	↓97
血小板数 (PLT)	13	101	↑131	↑169	78	113	↑141
	26	93	↑130	↑163	82	121	↑147
	52	95	116	↑159	89	↑139	↑154
網赤血球数 (Retics)	13	128	144	163	78	142	123
	26	101	115	177	46	96	81
	52	92	104	↑217	81	80	149
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	13	99	96	↓93	98	↓90	↓88
	26	100	96	↓92	99	↓92	↓92
	52	101	97	94	98	93	↓90
好酸球数 (E)	52	113	↑187	158	113	100	97
好塩基球数 (B)	BT	100	140	↑160	67	78	100
	13	125	125	↑175	57	86	100

Dunnett の多重比較法：↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

BT：投与前の検査

100 ppm 群では、平均赤血球血色素濃度の有意な減少及び平均赤血球容積、血小板数及び網赤血球数の有意な増加が雌雄に共通して、またはそのいずれかに認められた。これらの変動は、90 日間反復経口投与毒性試験（資料 11）の 300 ppm 群で認められた明らかな貧血所見は認められず、メトヘモグロビン量及びハイツ小体の増加も伴わない軽度なものであったが、検体投与による溶血性貧血に関連した変化と考えられた。30 ppm 群の雌雄においても、血小板数の有意な増加が認められ、用量との関連性から検体投与による影響と考えられた。

100 ppm 群の雌雄及び 30 ppm 群の雌で認められた活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の有意な短縮は、用量との関連性があり、また 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 11）でも認められた変動であることから、検体投与による影響と考えられた。しかしながら、一般に APTT はその延長によって評価されるため、短縮についての毒性学的意義は不明であった。

その他の有意な変動は、投与前から認められた、あるいは用量との関連性のない変動であり、検体投与による影響ではなかった。

血液生化学的検査；投与開始前ならびに投与 13、26 及び 52 週に、血液学的検査用に採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ (ALP)、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)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGTP)、クレアチニン (Creat)、尿素窒素 (BUN)、総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、グロブリン (Glob)、アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)、血糖 (Gluc)、総コレステロール (T.Chol)、トリグリセライド (TG)、総ビリルビン (T. Bil)、直接ビリルビン (D. Bil)、間接ビリルビン (I. Bil)、コリンエステラーゼ (ChE)、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)

対照群と比較して統計学的に有意な変動あるいは変動傾向が認められた項目を次表に示す。

項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		4	30	100	4	30	100
アルカリホスファターゼ (ALP)	13	165	↑416	▲930	123	351	▲870
	26	241	↑490	▲1516	121	317	▲987
	52	319	557	▲2322	117	438	▲1313
アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)	13	167	113	117	91	91	168
	26	153	122	119	91	85	212
	52	181	135	119	85	85	229
コリンエステラーゼ (ChE)	BT	▲127	▲134	115	91	95	88
	13	128	▲140	↑134	95	102	107
	26	132	↑138	↑141	92	103	112
	52	129	↑139	↑142	98	103	↑132
クレアチニン (Creat)	0	106	108	100	100	↑118	98
	13	110	107	103	103	▲120	100
尿素窒素 (BUN)	13	109	↑122	95	107	117	106
総蛋白 (TP)	13	101	99	96	98	97	↓90
	26	101	98	95	97	98	↓89
アルブミン (Alb)	13	100	95	↓85	104	96	↓85
	26	102	95	↓87	103	98	↓84
	52	96	94	↓84	103	96	↓86

Dunnett の多重比較法：↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

BT：投与前の検査

(つづき)

項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		4	30	100	4	30	100
アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio)	52	89	89	↓72	98	89	84
血糖 (Gluc)	13	↑111	100	102	92	94	98
総コレステロール (T. Chol)	13	112	122	↓60	100	86	68
	26	121	125	↓66	93	100	67
	52	113	121	↓69	146	125	83
トリグリセライド (TG)	13	124	↑200	129	132	116	163
	26	120	153	113	118	124	159
	52	129	↑171	114	121	157	193
直接ビリルビン (D. Bil)	52	0.00	0.00	↑0.02	0.00	0.00	0.01

Dunnett の多重比較法 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

BT : 投与前の検査

直接ビリルビンは対照群値が 0.00 のため、実数とした (斜体で表示)。

100 及び 30 ppm 群の雌雄において、アルカリホスファターゼ (ALP) の有意な増加あるいは増加傾向が投与期間を通じて観察された。4 ppm 群の雄においても ALP の増加傾向は観察された。試験機関における背景値との比較では (次表 : ALP の背景値と当該試験における測定値の比較)、100 ppm 群では雌雄とも背景値より明らかに高い値を示し、30 ppm 群の雌雄でも背景値の範囲を超える動物が多く認められた。これらの変化は後述する肝臓における病理学的変化とも一致すると考えられ、検体投与による影響と考えられた。一方、4 ppm 群の雄における ALP は、26 週時の 1 頭 (動物番号 5、515 U/L) 及び 52 週時の 1 頭 (動物番号 8、634 U/L) が背景値の上限より高い値を示した。このうち 26 週時の 1 頭の ALP については、52 週時の背景値の最大値 (570 U/L) 以下であり、背景値の変動範囲内であると解釈できた。また、同個体には 100 及び 30 ppm 群のような肝臓の病理学的変化は認められないことから、検体投与による肝臓への影響もなかったと推察された。52 週時の 1 頭の ALP の高値については、同個体の ALT (118 U/L) が対照群に比較し (25~36 U/L) 明らかに高く、ALP の上昇は ALT の上昇に伴う変化であることが示唆された。30 (38~49 U/L) 及び 100 ppm (35~41 U/L) 群では ALT の上昇は認められなかったことから、4 ppm 群の 1 頭における 52 週時の ALP 及び ALT

の上昇は、検体投与とは関係のない偶発的変化であると考えられた。なお、同個体の ALP 及び ALT の上昇の原因となるような肝臓の異常（病理組織学的所見を含む）は認められなかった。

〔ALP の背景値と当該試験における測定値の比較（単位：U/L）〕

性	試験群	13 週	26 週	52 週
雄	0 ppm 群	216 ± 53 (143 ~ 269)	153 ± 39 (111 ~ 204)	131 ± 32 (100 ~ 175)
	4 ppm 群	356 ± 68 (256 ~ 410)	368 ± 113 (241 ~ 515) ^b	418 ± 170 (250 ~ 634) ^c
	30 ppm 群	898 ± 553 [↑] (467 ~ 1709)	749 ± 227 [↑] (436 ~ 979)	730 ± 246 (396 ~ 990)
	100 ppm 群	2008 ± 1164 [▲] (672 ~ 3513)	2320 ± 1278 [▲] (835 ~ 3952)	3042 ± 1817 [▲] (1260 ~ 5579)
	背景値 ^a	284 ± 59 (163 ~ 471) [n=64]	202 ± 52 (120 ~ 337) [n=32]	209 ± 86 (99 ~ 570) [n=28]
雌	0 ppm 群	222 ± 92 (135 ~ 351)	187 ± 112 (104 ~ 348)	178 ± 95 (76 ~ 304)
	4 ppm 群	272 ± 37 (217 ~ 297)	226 ± 74 (128 ~ 306)	209 ± 37 (164 ~ 253)
	30 ppm 群	780 ± 373 (348 ~ 1175)	593 ± 253 (296 ~ 861)	780 ± 626 (210 ~ 1601)
	100 ppm 群	1932 ± 1352 [▲] (723 ~ 3871)	1846 ± 451 [▲] (1330 ~ 2430)	2337 ± 904 [▲] (1311 ~ 3496)
	背景値 ^a	235 ± 69 (103 ~ 478) [n=64]	194 ± 86 (104 ~ 493) [n=32]	197 ± 86 (88 ~ 522) [n=28]

平均値 ± 標準偏差（最小値 ~ 最大値） [n = 検査例数]

Dunnett の多重比較法：^{↑↓} P ≤ 0.05、^{▲◆} P ≤ 0.01

a：2003~2008 年に実施した試験

b：動物番号 5 の測定値（515 U/L）を除いた変動幅は 241~376 U/L

c：動物番号 8 の測定値（634 U/L）を除いた変動幅は 250~467 U/L

100 ppm 群の雌ではアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加傾向が投与期間を通じて観察された。これは 4 頭中 2 頭が高い値を示したことによるもので、これら 2 頭の変化は肝臓の病理組織学的所見とも一致しており、検体投与による肝臓への影響を反映していると考えられた。100 ppm 群の雄で直接型（抱合型）ビリルビンが有意に増加し、雌の 1 頭でも増加が観察された。これらは検体投与による胆道系への影響を示唆していると考えられた。100 ppm 群では、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、総コレステロールの有意な変動も観察され、用量との関連性があり、また 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 11）においても同様の変化が観察されていることから、検体投与による肝臓への影響に関連したものと考えられた。100 ppm の雄では投与期間を通じて、雌では 52 週時に、コリンエステラーゼの有意な増加が認められた。同様の変化は 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 11）でも観察されており、検体投与との関連性が示唆されたが、その毒性学的意義は低いと考えられた。

その他の変化は、投与開始前から対照群と比較して有意差がみられたか、投与用量との関連性のない変化であり、検体投与による影響ではないと考えられた。

肉眼的病理検査；52週間投与終了後の全動物について、ペントバルビタールナトリウムの深麻酔下で放血により安楽死させ、剖検を行った。

対照群と比較して発生頻度に統計学的に有意な増加あるいは増加傾向を示した所見を次表に示す。

部位及び病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	4	30	100	0	4	30	100
脾臓: [N=]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]
暗調化	0	0	3	↑4	0	0	0	↑4
腫大	0	0	0	2	0	0	0	1
肝臓: [N=]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]
暗調化	0	0	2	↑4	0	0	1	3
腫大	0	0	0	3	0	0	0	3

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、◆◆ P≤0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

100 ppm 群において肝臓及び脾臓の暗調化及び腫大が観察され、30 ppm 群においても雄で肝臓及び脾臓の暗調化が、雌で肝臓の暗調化が観察された。これらはいずれも検体投与による影響と考えられた。4 ppm 群では検体投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；52週間投与終了後に全動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む、両側）、心臓、肝臓（胆汁を抜いた後の胆のうを共に秤量）、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を次表に示す。

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		4	30	100	4	30	100
脳	相対重量	101	101	95	91	↑122	95
甲状腺	絶対重量	102	107	100	106	122	173
	相対重量	110	110	104	102	137	↑172
肝臓	絶対重量	103	119	↑141	99	118	↑149
	相対重量	112	↑122	↑143	98	↑134	↑150
脾臓	絶対重量	85	98	139	115	94	↑153
	相対重量	88	100	↑142	112	104	↑156
卵巣	絶対重量	/	/	/	103	↑204	83
	相対重量	/	/	/	103	↑234	87
子宮	絶対重量	/	/	/	145	↑337	98
	相対重量	/	/	/	141	↑383	98

Dunnett の多重比較法 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

100 ppm 群において、肝臓及び脾臓の絶対あるいは相対重量の有意な増加が認められ、30 ppm 群においても肝臓の相対重量の増加が認められた。これらはいずれも検体投与による影響と考えられた。100 ppm 群の雌の甲状腺では、相対重量が有意に増加し、絶対重量も増加傾向を示した。これに相当する病理組織学的所見も観察されており、検体投与との関連性が示唆された。30 ppm 群の雌では、脳の相対重量、卵巣及び子宮の絶対及び相対重量が有意に増加したが、投与用量との関連性は無く、検体投与による影響ではないと考えられた。4 ppm 群では検体投与に関連した影響は認められなかった。

病理組織学的検査；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・エオジン染色を施した病理標本を作製し、検鏡した。なお、100 ppm 群の雌雄において脾臓及び肝臓に褐色色素の沈着増加が見られたため、対照群及び 100 ppm 群の雄あるいは雌の数頭についてシュモール反応またはベルリン青染色を実施して褐色色素の同定を行った。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（片側、筋肉に近い部分）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓（中央部及び尾部）、骨及び骨髄（胸骨及び片側大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓（左室壁、右室壁及び弁膜部を含む心室中隔）、大動脈、咽頭、唾液腺（下顎腺及び耳下腺）、食道、

胃（噴門部、胃底部及び幽門部）、肝臓（外側左葉、外側右葉及び肝門部）、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸（パイエル氏板を含む）、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺（主要気管支を含む右葉起始部、左後葉及び右後葉）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、卵巣（両側）、子宮（角部、体部及び頸管部）、膾、眼球（網膜及び視神経を含む、両側）、涙腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺、肉眼的異常部位

対照群と比較して発生頻度に統計学的に有意な増加あるいは増加傾向を示した所見を次表に示す。

部位及び病変	性及び用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	4	30	100	0	4	30	100
脾臓： [N=]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]
うっ血	0	0	1	↑4	0	0	0	↑4
褐色色素沈着増加	0	0	2	2	0	0	2	3
髄外造血亢進	0	0	0	0	0	0	0	2
肝臓： [N=]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]
小葉中心性肝細胞好酸性変化 ^a	0	0	↑4	↑4	0	0	↑4	↑4
肝細胞褐色色素沈着	0	0	↑4	↑4	1	0	4	4
クッパー細胞褐色色素沈着	1	1	3	4	0	0	1	↑4
単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	2
甲状腺： [N=]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]	[4]
濾胞上皮細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	1
リンパ球性甲状腺炎	0	1	0	0	0	0	0	3

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

[N=] 検査動物数，表中の[N=]の行以外の数値は所見発生数

a：細胞質のくもり硝子様変化あるいは硝子体形成からなる。

100 ppm群において、脾臓のうっ血、褐色色素沈着増加及び髄外造血亢進（雌）、肝臓の小葉中心性肝細胞好酸性変化、肝細胞及びクッパー細胞の褐色色素沈着ならびに単核細胞浸潤（雌）が観察された。30 ppm群においても脾臓のうっ血（雄）及び褐色色素沈着増加、肝臓の小葉中心性細胞好酸性変化、肝細胞及びクッパー細胞の褐色色素沈着が観察された。これらの所見の発生頻度には用量との相関性が見られ、一部の所見は90日間反復経口投与毒性試験（資料11）においても観察されており検体投与の影響による溶血性貧血に関連した変化あるいは肝臓への直接的な影響と考えられた。小葉中心性肝細胞好酸性変化はくもり硝子様変化あるいは硝子体形成として観察されたが、いずれも滑面小胞体の増加に相当し薬物代謝酵素誘導に関連した変化と考えられている。

100 ppm 群の雌の甲状腺では濾胞上皮細胞肥大及びリンパ球性甲状腺炎が観察された。濾胞上皮細胞肥大は4頭中1頭の所見であったが、通常、自然発症病変として観察されない変化であることから、検体投与との関連性が考えられた。検体は肝臓に薬物代謝酵素を誘導している可能性があるため、それに関連した甲状腺ホルモンの代謝亢進に伴う甲状腺機能亢進像の可能性が考えられた。一方、リンパ球性甲状腺炎は同群の雌の4頭中3頭に観察されたが、この病変はイヌでは自然発生的に頻繁に観察されること、90日間反復経口投与毒性試験(資料11)の最高用量の300 ppmでも観察されていないことから、検体投与とは関係のない偶発的所見と考えられた。4 ppm 群では検体投与に関連した所見は認められなかった。

検体をビーグル犬に対して1年間反復経口投与したところ、30 ppm以上の投与群において血液への影響とそれに関連すると思われる脾臓及び肝臓の所見が認められた。また、肝臓への影響が30 ppm以上の投与群で認められ、100 ppm投与群では甲状腺への影響も認められた。血液及びそれに関連する脾臓及び肝臓の所見として、30 ppm以上の投与群では血小板数の増加、脾臓の暗調化、うっ血及び褐色色素沈着増加、肝臓の暗調化及びクッパー細胞褐色色素沈着の発生頻度の増加が認められ、さらに、100 ppm投与群では、平均赤血球色素濃度の減少、平均赤血球容積及び網赤血球数の増加、脾臓重量の増加、脾臓の腫大及び髄外造血亢進の発生頻度の増加が認められた。肝臓への影響としては、30 ppm以上の投与群でアルカリホスファターゼの増加、肝臓重量の増加、肝臓の小葉中心性肝細胞好酸性変化(くもり硝子状あるいは硝子状)及び肝細胞褐色色素沈着の発生頻度の増加が認められ、さらに、100 ppm投与群では、総蛋白、アルブミン及びアルブミン/グロブリン比の減少、総コレステロールの減少、アラニンアミノトランスフェラーゼ及び直接型ビリルビンの増加ないし増加傾向、肝臓の腫大及び単核細胞浸潤の発生頻度の増加が認められた。甲状腺への影響として、100 ppm投与群で甲状腺重量の増加及び甲状腺濾胞上皮細胞肥大の発生頻度の増加が認められた。その他、30 ppm以上の投与群で活性化トロンボプラスチン時間の短縮が認められ、100 ppm投与群ではコリンエステラーゼの増加が認められた。

したがって、当該試験条件における無毒性量は雌雄とも4 ppm(雄0.112 mg/kg体重/日、雌0.0995 mg/kg体重/日)と判断した。

ラットを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 16)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体純度： %

供試動物：Fischer 系ラット (F344/DuCr1Cr1j)

投与開始時週齢 雌雄ともに 5 週齢

投与開始時体重 雄；83~100 g、雌；75~94 g

一群雌雄各 50 匹

投与期間：104 週間（雄 2007 年 10 月 18 日～2009 年 10 月 19 日、雌 2007 年 10 月 26 日～2009 年 10 月 26 日）

投与方法：検体を 0、3、30 及び 200 ppm の濃度で基礎飼料に混入し、104 週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に 1 回、投与期間中は、投与開始からおよそ 1 年間（2008 年 10 月 8 日まで）は 2 週間に 1 回、それ以降は 4 週間に 1 回の頻度で調製した。

用量設定根拠；

試験項目及び結果：

死亡率；動物の瀕死状態ないし死亡の有無を 1 日 2 回観察した。

104 週間の投与終了時の死亡数を次表に示す。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡・切迫殺動物数	15	6	6	8	8	8	4	14

生命表解析を用いて危険率 5%及び 1%レベルで解析した結果、投与期間中、200、30 及び 3 ppm 群の雄では対照群と比較して死亡率が有意に変動した週

がみられたが、いずれも死亡率の減少であった。雌では、いずれの投与群においても対照群と比較して有意な死亡率の変化はなかった。

一般状態；動物の一般状態を1日1回観察した。また、腫瘍の触診に加え、詳細な状態の観察を毎週1回実施した。

対照群と比較して発生頻度に統計学的有意差が認められた臨床症状を次表に示す。

臨床症状	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
外観 削瘦	8	5	3	11	2	7	3	▲12
行動 自発運動の減少	10	4	▼1	6	3	7	2	9
呼吸 呼吸緩徐	8	▼1	▼1	4	3	5	1	8
被毛 脱毛	4	2	6	3	7	3	▲17	10
被毛 汚れ	11	8	7	12	3	9	4	▲11
眼球/眼瞼 混濁	7	4	3	6	6	5	▼0	3
陰のう 腫大	0	1	1	▲7	-	-	-	-

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

表中の数値は所見発生数

200 ppm 群の雌では削瘦及び被毛の汚れの発生頻度が有意に増加した。削瘦を示した動物はほとんどが途中死亡・切迫殺動物であり（12例中10例）、削瘦を示した途中死亡・切迫殺動物のうち7例に膀胱の悪性腫瘍が観察されたことから、これら悪性の膀胱腫瘍が死亡直前の削瘦の発生の理由となった可能性が考えられた。また、被毛の汚れはいずれの用量群の雌においても多くが外陰部に観察され、200 ppm 群ではその発生頻度が有意に増加した。この発生頻度の増加も検体投与による膀胱病変に関連しているものと考えられた。200 ppm 群の雄で陰のうの腫大の発生頻度が対照群に比較して有意に増加した。陰のうの腫大の発生頻度の増加はいずれも、偶発的に発生頻度が増加したと判断された精巢の間細胞腫によるものであり（毒-76 頁参照）、検体投与に関連しない変動と考えられた。その他、自発運動の減少、呼吸緩徐、脱毛及び眼球の混濁の発生頻度の有意な増減が見られたが、いずれも投与用量と関連のない偶発性の変化であった。

体重変化；全生存動物について、投与開始時及び投与1週から13週までは毎週1回、また投与16週から投与終了時（104週時）までは4週に1回の頻度で体重を測定した。さらに全動物について殺処分前あるいは死亡発見時に最終体重を測定した。

投与期間中の測定週ごとの平均体重の推移を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	3	30	200	3	30	200
0	100	100	100	100	100	100
1	100	100	99	99	100	98
2	100	100	99	100	100	99
3	101	101	100	100	101	99
4	100	100	100	99	99	99
5	100	100	101	100	99	99
6	100	100	101	99	99	98
7	100	100	101	99	100	99
8	100	100	101	100	101	100
9	101	100	101	100	100	99
10	101	100	100	99	100	98
11	99	99	99	100	100	99
12	100	99	100	101	100	98
13	100	100	100	101	101	99
16	101	100	100	101	100	↓98
20	100	100	100	100	99	↓96
24	101	100	100	100	99	↓95
28	100	100	100	100	100	↓96
32	100	99	100	100	99	↓95
36	100	100	100	100	99	↓95
40	100	100	100	100	99	↓94
44	100	100	100	100	99	↓94
48	100	100	100	100	99	↓95
52	100	101	101	100	100	↓95
56	100	100	101	100	100	↓95
60	100	100	101	100	99	↓94
64	100	100	100	99	99	↓93
68	99	100	100	100	98	↓93
72	99	100	100	100	98	↓93
76	99	100	100	99	98	↓92
80	100	100	100	99	98	↓94
84	100	101	101	99	97	↓92
88	99	100	100	98	97	↓91
92	99	100	100	98	98	↓91
96	99	99	98	98	98	↓90
100	100	100	99	97	97	↓88
104	100	98	96	98	97	↓89

Dunnnettの多重比較法：↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

表中の数字は対照群を100とした時の相対値

200 ppm 群の雌では、投与 16 週以降投与終了まで平均体重が対照群と比較し

て有意な低値を示した。変化が持続的であること、投与が進むにつれて減少幅が大きくなる傾向があること及びこれらの動物の摂餌量は対照群と同程度であったことから、この体重の低値は検体投与の影響であると考えられた。

摂餌量；全ケージについて、投与1週から13週までは毎週1回、投与16週から投与終了時（104週時）までは4週に1回の頻度で、連続4日分のケージ別摂餌量を測定した。

Dunnettの多重比較法を危険率5%及び1%レベルで実施した結果、200 ppm群では、摂餌量が雄の投与36週で対照群と比較して有意に増加し、雌の投与44週で有意に減少した。しかしながら、試験期間を通じた総平均摂取量は対照群と大きな差がなく、検体投与の影響ではないと判断した。

30及び3 ppm群の雌雄では対照群と比較して摂餌量の有意な変動は認められなかった。

食餌効率；全用量群について、投与開始後の13週間、各1週間の群平均体重増加量を対応する群平均摂餌量で除して群平均食餌効率を雌雄別に算出した。さらに、これら各週の群平均食餌効率を平均し、総平均食餌効率を雌雄別に求めた。

いずれの用量群においても、食餌効率には対照群と比較して明らかな差はなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりであった。

用量(ppm)	雄	雌
3	0.110	0.138
30	1.09	1.40
200	7.44	9.67

血液学的検査；104週間投与終了後の全生存動物について一晩絶食後、エーテル麻醉下で後大静脈より採血し、以下の項目を総合血液学検査装置で測定した。

白血球数及び白血球のディファレンシャルカウント（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球）

また、各採取血液からメイグリュンワルド・ギムザ染色を施した血液塗抹標本を作製した。上記の総合血液学検査装置での検査で大型非染色球が $0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ 以上であった個体については造血器系腫瘍の有無を確認するため、血液塗抹標本を鏡検した。

投与期間中の切迫殺動物については、エーテル麻醉下で尾端切断により血液を得てメイグリュンワルド・ギムザ染色した塗抹標本を作製した。これらの標本をすべて鏡検し、以下の白血球百分率を求めた。

リンパ球、好中球、桿状核好中球、分葉核好中球、単球、好酸球、好塩基球、その他

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた血液学的検査項目を次表に

示す。

検査項目	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	3	30	200	3	30	200
白血球数 (WBC)	58	56	↑70*1	128	117	↑162
白血球のディファレンシャルカウント						
リンパ球数 (L)	104	98	↑122	95	121	↑154
好中球数 (N)	94	95	↑120	101	114	↑192
好酸球 (E)	100	100	80	100	120	↓80

Dunnett の多重比較法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値

*1：対照群において白血病を持つ個体に起因する平均値の見かけ上の低値（下表参照）

偶発性の造血器系腫瘍による異常値を示した動物を除外した後の白血球数の再検定結果を次表に示す。

検査項目	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	3	30	200	3	30	200
白血球数 (WBC)	107	104	↑129	96	105	↑162

Dunnett の多重比較法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値

除外した動物：対照群 雄 1 例（動物番号 20）、3ppm 群 雌 1 例（動物番号 271）、30ppm 群 雌 1 例（動物番号 319）

200 ppm 群の雌雄においてリンパ球数及び好中球数の増加による白血球数の増加が見られた。雄の白血球数の平均値は対照群よりも低かったが平均順位は有意に高かった。これは、対照群の雄の 1 例の白血球数が多かったことが原因であり、偶発性の造血器系腫瘍による白血球数の高値であった。偶発性の造血器腫瘍による白血球数の顕著な高値は雌の 2 例でも観察されており、これら雄 1 例及び雌 2 例を除外して白血球の検定を再度実施した。その再検定の結果、雌雄の白血球数の統計結果に変化はなかったが、雄の各投与群の白血球数の対照群に対する百分率は大きくなり、200ppm 群では対照群の 129%と平均順位の増加と一致した数値となった。リンパ球数の増加はラットの 1 年間反復経口投与毒性試験（資料 14）においても高用量に観察されていることから検体投与の影響と考えた。好中球の増加は、ラットの一般毒性試験では観察されなかったものの、200 ppm 群において明らかであったことから検体投与の影響と考えられた。200 ppm 群の雌で好酸球数の有意な減少がみられたが、これらは絶対数の少ない細胞であるため実測値の差は非常に小さく、生物学的意義は不明であった。

肉眼的病理検査；死亡・切迫殺動物を含めた全動物について剖検を実施した。投与期間中の切迫殺動物及び104週間投与終了後の生存動物（計画殺動物）は、エーテル麻酔下で腹大動脈・後大静脈を切断して放血により安楽死させた後に剖検した。計画殺動物については剖検前に一晚絶食させた。試験途中の死亡動物は、発見後速やかに剖検した。

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた剖検所見を次表に示す。

臓器：病変		性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	3	30	200	0	3	30	200
途中死亡・切迫殺動物									
検査動物数		15	6	6	8	9	8	4	14
全身/外観	削瘦	6	4	0	6	1	↑6	2	↑10
膀胱	腫瘤	0	0	0	↑4	0	0	0	↑7
精巢	軟化	7	1	3	↓0	-	-	-	-
	萎縮	6	4	3	↓0	-	-	-	-
最終計画殺動物									
検査動物数		35	44	44	42	41	42	46	36
脾臓	表面粗造	0	0	0	↑30	0	0	0	↑35
肝臓	点/斑	0	2	4	1	1	↑7	6	1
膀胱	点/斑	0	0	0	↑8	0	0	0	1
	腫瘤	1	1	0	↑27	0	0	1	↑30
下垂体	腫瘤	9	7	↓1	7	14	18	19	14
眼球	白濁	3	4	3	5	4	3	↓0	2
全検査動物									
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
全身/外観	削瘦	8	5	3	11	1	↑7	3	↑12
	外陰部被毛汚れ	5	4	2	9	3	6	3	↑10
脾臓	表面粗造	0	0	0	↑30	0	0	0	↑40
	腫大	6	4	2	↓0	6	6	1	7
肝臓	点/斑	0	2	4	1	2	↑8	6	1
膀胱	点/斑	0	0	0	↑8	0	0	0	1
	壁肥厚	0	0	0	↑5	1	0	0	6
	腫瘤	1	1	0	↑31	0	0	1	↑37
精巢	軟化	20	13	13	↓11	-	-	-	-
	腫瘤	29	37	↑39	35	-	-	-	-
下垂体	腫瘤	11	8	↓3	7	17	20	22	19
眼球	白濁	7	4	3	6	5	5	↓0	3

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数値は所見発生数

200 ppm 群の雄または雌で膀胱の点ないし斑、腫瘤あるいは壁肥厚の発生頻

度の増加が観察され、検体投与による膀胱の粘膜上皮過形成や腫瘍に関わる所見と考えられた。雌では削瘦及び外陰部被毛の汚れの発生頻度が有意に増加し、これらの動物に見られた膀胱の病変との関連性が疑われた。また、200 ppm 群の雌雄では脾臓の表面粗造の発生頻度が有意に増加した。検体投与によるメトヘモグロビン血症に関連した造血器系の変化を反映したものと考えられた。その他、肝臓、下垂体、精巣及び眼球に発生頻度が有意に変動した所見が見られたがいずれも発生頻度の減少かあるいは投与用量と関連のない偶発性の変化であった。

臓器重量；104 週間投与終了後に、生存動物の中から動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 匹ずつについて、以下の臓器重量を測定した。

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

対照群と比較して統計学的に有意差な重量の変動が認められた臓器を次表に示す。

臓器	性及び用量 (ppm)						
	雄			雌			
	3	30	200	3	30	200	
最終体重	100	97	↓94	101	99	91	
肝臓 相対重量	96	98	109	106	107	↑136	
腎臓 相対重量	94	95	↑111	98	102	↑119	
脾臓	絶対重量	74	74	↑102	86	89	↑167
	相対重量	71	74	↑106	84	92	↑184
精巣	絶対重量	108	↑156	↑253	-	-	-
	相対重量	109	↑160	↑277	-	-	-

Dunnett の多重比較法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値

自然発症と考えられる腫瘍性病変による異常値を示した動物を除外した後の脾臓重量（絶対重量）の再検定結果を次表に示す。

臓器	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	3	30	200	3	30	200
脾臓 絶対重量	99	100	↑137	-	-	-

Dunnett の多重比較法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数字は対照群を 100 とした時の相対値

-：除外対象個体なし

200 ppm 群の雌雄で腎臓の相対重量ならびに脾臓の絶対及び相対重量が、雌で肝臓の相対重量が有意に増加した。これらの臓器にはいずれも病理組織学的

検査において検体投与に関連する変化が観察されていることから、それを反映した変化であると考えられた。200 ppm 群及び 30 ppm 群の雄で精巢の絶対及び相対重量が有意に増加したが、偶発的な変化と判断された精巢の間細胞腫の増加を反映したものであり(毒-76 頁参照)、検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

病理組織学的検査；0 及び 200 ppm 群の全動物、3 及び 30 ppm 群の途中死亡・切迫殺動物から採取した以下に示す臓器・組織について病理組織学的検査を実施した。また、3 及び 30 ppm 群の 104 週後の全生存動物の雄から採取した精巢ならびに雌雄から採取した肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、胸骨骨髓及び大腿骨骨髓ならびに肉眼的異常部位について病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経(片側)、下垂体、胸腺、甲状腺(両側)、上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾臓、骨及び骨髓(胸骨及び片側大腿骨)、膝関節(片側)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓(両側)、膀胱、精巢(両側)、精巢上体(両側)、前立腺、精のう(両側)、凝固腺(両側)、卵巣(両側)、子宮(角部及び頸部)、瞳、眼球(網膜及び視神経を含む、両側)、ハーダー腺(両側)、下腿三頭筋(片側)、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

各評価期間において対照群に比較して発生頻度に有意な増減が認められた非腫瘍性病変及び主な病変を表 1 に示す。

200 あるいは 30 ppm 群において、検体投与の影響が脾臓、骨髓、肝臓、腎臓及び膀胱に観察された。検体は末梢赤血球においてヘモグロビンを酸化し、メトヘモグロビン血症を誘発し、溶血性貧血を引き起こすことが一般毒性試験において認められている。200 ppm 群の雌雄において検体によるメトヘモグロビン血症の誘発に関連すると考えられる脾臓のうっ血、脾臓(雄のみ)及び肝臓のクッパー細胞への褐色色素沈着増加、溶血性貧血に対する代償性変化を示す胸骨及び大腿骨骨髓における造血亢進ならびに脾臓における髓外造血亢進の発生頻度が有意に増加した。30 ppm 群においても、脾臓の褐色色素沈着増加が雌雄で、脾臓のうっ血及び髓外造血亢進が雌でそれぞれ発生頻度の有意な増加を示した。これらはいずれもラット 1 年間反復経口投与毒性試験(資料 14)においても検体投与の影響として観察された変化であった。さらに、200 ppm 群の雌雄で脾臓の線維化の、雌で胸骨及び大腿骨骨髓の肉芽腫の発生頻度が増加した。これら所見の発生頻度の増加はいずれもメトヘモグロビンを含む異常赤血球の破壊亢進が継続したことに関連する変化であると考えられた。肝臓では、

前述した病理組織学的変化に加え、200 ppm 群の雌雄で小葉中心性肝細胞脂肪化及び肝細胞褐色色素沈着の、雄で変異肝細胞巣（好酸性細胞）の、雌で胆管過形成の発生頻度が有意に増加した。変異肝細胞巣（好酸性細胞）の発生頻度は30 ppm 群の雄でも有意に増加した。これらの病変のうち、胆管過形成を除く病変はいずれもラットにおける1年間反復経口投与毒性試験（資料14）でも検体の影響として発生頻度の有意な増加が認められた。なお、肝細胞に沈着した褐色色素は特殊染色により主にリポフスチンであることが示された。200 ppm 群の雌で発生頻度が増加した胆管過形成は本系統のラットに多く自然発生する経年性変化であるが、検体投与により発生が増強されたものと考えられた。腎臓では、200 及び30 ppm 群の雌雄で慢性腎症の、200 ppm 群の雌雄で近位尿細管褐色色素沈着増加の発生頻度が増加した。近位尿細管に沈着した褐色色素は特殊染色により主にリポフスチンであることが示された。慢性腎症は本系統のラットでは老齢化するにしたがって頻発する病変であるが、200 及び30 ppm 群の雌雄でその発生頻度が有意に増加したことは検体投与の影響により発生の増強があったと考えられた。膀胱では、検体投与の影響として200 ppm 群の雌雄及び30 ppm 群の雌で粘膜上皮過形成の発生頻度が増加した。

30 ppm 群の雄では肝臓の胆管過形成の、雌では脾臓の褐色色素沈着増加の発生頻度が増加したが、200 ppm 群では、肝臓の胆管過形成は雌のみで、脾臓の褐色色素沈着増加は雄のみで発生頻度の増加が見られていることから、30 ppm 群で200 ppm 群と異なる性におけるこれらの病変の発生頻度の増加には用量との関連性がなく、偶発性の変化であると判断した。その他、心臓の心筋炎、精巣の精細管石灰沈着ないし精細管萎縮、精巣上体の乏精子症の発生頻度に有意な変動がみられたが、いずれも発生頻度の減少であった。

〔腫瘍性病変〕

認められた腫瘍性病変を表2に示す。また、検体投与群で対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた病変を次表に示す。

途中死亡・切迫殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
膀胱： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
移行上皮乳頭腫	0	0	0	▲4	1	0	0	4
移行上皮癌	0	0	0	▲5	1	0	0	▲10
精巣： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	-	-	-	-
間細胞腫	4	4	1	▲7	-	-	-	-

Fisher の直接確率計算法：†‡ P ≤ 0.05、▲◆ P ≤ 0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

最終計画殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
膀胱: [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
移行上皮乳頭腫	1	1	0	▲24	0	0	1	▲12
移行上皮癌	0	0	0	▲21	0	0	1	▲29
精巣: [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	-	-	-	-
間細胞腫	27	35	↑41	37	-	-	-	-

全検査動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
膀胱: [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
移行上皮乳頭腫	1	1	0	▲28	1	0	1	▲16
移行上皮癌	0	0	0	▲26	1	0	1	▲39
精巣: [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	-	-	-	-
間細胞腫	31	39	↑42	▲44	-	-	-	-

Fisher の直接確率計算法: †‡ P ≤ 0.05、▲◆ P ≤ 0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

200 ppm 群の雌雄において、膀胱の移行上皮乳頭腫及び移行上皮癌の発生頻度が有意に増加した。これらの動物の膀胱では粘膜上皮過形成の発生頻度にも有意な増加がみられた。検体のラットにおける 1 年間反復経口投与毒性試験（資料 14）では、高用量群（100 ppm）の雌雄の膀胱で粘膜上皮過形成の発生頻度が増加し粘膜上皮細胞の単細胞壊死ないしアポトーシスも雌雄で発生頻度が増加した。このような移行上皮の腫瘍の発生頻度の増加は、検体の作用により膀胱粘膜上皮細胞に何らかの傷害がもたらされ、壊死ないしアポトーシスに陥った後、粘膜上皮細胞の増殖性病変が持続し腫瘍に進展したものではないかと考えられた。ラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験（資料 10-予備）において保存されていた膀胱を用いて行なった膀胱の細胞増殖活性の検索（資料 26）において、100 ppm 以上の投与群の動物の膀胱で粘膜上皮細胞の単細胞壊死/アポトーシスなどの所見が観察され、粘膜上皮細胞の細胞増殖活性が上昇することが示されたことから裏付けられると考えられた。200 ppm 群の雌雄で膀胱の扁平上皮癌が、200 及び 30 ppm 群の雌で扁平上皮乳頭腫がそれぞれ 1/50 例発生した。これらの腫瘍の自然発生は試験実施機関の背景データ及び米国 National Toxicology Program (NTP) の本系統のラットの発がん性試験のコントロールデータでも認められていない。したがって、1 例ずつの発生ではあるものの、これらの腫瘍の発生は検体投与による膀胱粘膜傷害の延長上にある可能性が考えられた。扁平上皮乳頭腫が観察された 30 ppm 群の雌の 1 例の膀胱には、本腫瘍の他、移行上皮乳頭腫及び移行上皮癌が併発しており、さらに、

重度の粘膜上皮過形成が観察された。膀胱の粘膜上皮過形成は 30 ppm 群の雌では 5 例の発生が見られているが、この個体を除く他の 4 例は軽度の病変であった。30 ppm 群の膀胱における腫瘍性病変がすべてこの 1 個体のみを観察されたこと及びこの動物における粘膜上皮過形成の程度に他の 30 ppm 群の動物と比べ乖離があることは、この動物が検体に対し感受性が高かった可能性が考えられる一方で、当該試験が遺伝的統御のなされた系統のラットを用いて実施したものであることを考慮に入れると、検体に対する感受性にこのような著しい個体差が見られることは考えにくく、おそらくは検体と関連しない何らかの偶発性の病変がこの動物の膀胱に発生して検体による粘膜障害性を助長した結果、膀胱粘膜の増殖性変化が強く発現した可能性が高いのではないかと考察された。

200 及び 30 ppm 群の雄において、精巣の間細胞腫の発生頻度が対照群に比較して有意に増加した。この腫瘍は間細胞過形成から進展して発生する腫瘍であり、Fischer 系老齢雄ラットの精巣に好発する。試験実施機関の背景データでは 70~86%、平均 80%の発生がみられている。当該試験での全検査動物における発生率は、0、3、30 及び 200 ppm 群でそれぞれ 62、78、84 及び 88%であり、0 ppm 群の間細胞腫の発生率は背景データと比較して低い一方、30 ppm 群の発生頻度は背景データの範囲内であり、また、200 ppm 群のそれは背景データの最高値をわずかに上回ってはいるものの、差はわずかであった。さらに、NTP の本系統のラットの発がん性試験のコントロールデータを参照すると、その発生頻度の平均値は 88%であり、当該試験の 200 ppm 群の間細胞腫の発生頻度と同じであった。検体のラットにおける 90 日間及び 1 年間反復経口投与毒性試験(資料 10 及び 14) では間細胞腫ないしその前段階と考えられる間細胞過形成の発生頻度の増加は認められず、マウスにおける一般毒性試験(資料 17-予備)でも精巣に検体の影響は観察されなかった。したがって、30 及び 200 ppm 群の雄における精巣の間細胞腫の発生頻度の有意な増加は、対照群における本腫瘍の発生が低かったことによる偶発性の変化であると判断した。

以上のように、検体のラットに対する 104 週間(2 年間)飼料混入投与による発がん性試験において、200 ppm 群の雌雄で膀胱に発がん性が認められ、粘膜上皮の過形成の発生頻度も増加した。200 ppm 群ではその他に骨髄、脾臓、肝臓及び腎臓に検体の影響が観察され、さらに白血球数、リンパ球数及び好中球数の増加もみられた。また、30 ppm 群では、雌雄で脾臓、肝臓ないし腎臓への検体の影響が認められ、雌では膀胱の粘膜上皮過形成の発生頻度が増加した。したがって、無毒性量は雌雄とも 3 ppm(雄 0.110 mg/kg 体重/日、雌 0.138 mg/kg 体重/日)と判断した。

表 1. 非腫瘍性病変

途中死亡・切迫殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
胸骨骨髓： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
造血亢進	7	3	3	2	4	4	1	7
大腿骨骨髓： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
造血亢進	7	3	3	2	4	4	1	7
肉芽腫	0	1	0	0	0	0	0	0
脾臓： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
うっ血	1	0	0	3	0	0	1	3
褐色色素沈着増加	2	2	2	2	3	2	↑4	7
髄外造血亢進	3	1	1	0	3	2	1	7
線維化	1	0	1	0	0	0	0	4
肝臓： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
小葉中心性肝細胞脂肪化	0	0	0	0	2	0	1	5
クッパー細胞褐色色素沈着	0	0	0	1	1	2	1	↑11
胆管過形成	10	5	6	6	0	1	1	↑6
変異肝細胞巢(好塩基性細胞)	3	0	0	0	1	1	0	6
腎臓： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
慢性腎症	3	3	1	2	0	0	0	2
近位尿細管褐色色素沈着増加	0	0	0	2	1	2	1	↑14
膀胱： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	[9]	[8]	[4]	[14]
粘膜上皮単細胞壊死/ アポトーシス	0	0	0	1	0	0	0	0
粘膜上皮過形成	0	1	0	↑8	0	0	0	↑10
精巣： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	-	-	-	-
精細管萎縮	11	4	4	↓0	-	-	-	-
精巣上体： [N=]	[15]	[6]	[6]	[8]	-	-	-	-
乏精子症	11	5	4	↓2	-	-	-	-

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

a：肉眼的異常を示した動物についてのみ組織検査を実施（統計検定は実施せず）

最終計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
胸骨骨髓： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
造血亢進	7	11	17	↑27	12	18	7	↑26
肉芽腫	1	1	0	0	7	6	9	↑15
大腿骨骨髓： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
造血亢進	9	10	20	↑30	12	14	8	↑29
肉芽腫	1	1	1	2	11	5	9	↑20
脾臓： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
うっ血	29	↓13	30	↑41	6	7	↑37	↑34
褐色色素沈着増加	20	26	30	↑38	34	30	42	29
髓外造血亢進	9	13	16	↑30	14	13	↑27	↑30
線維化	0	2	1	↑9	0	0	2	↑27
心臓： [N=]	[35]	[0a]	[1a]	[42]	[41]	[0a]	[0a]	[36]
心筋炎	7	-	0	↓2	10	-	-	9
肝臓： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
小葉中心性肝細胞脂肪化	0	0	0	↑10	0	0	3	↑13
肝細胞褐色色素沈着	0	0	0	↑11	4	0	1	↑22
クッパー細胞褐色色素沈着	1	1	6	↑33	6	5	9	↑27
胆管過形成	33	41	44	42	14	13	11	↑22
変異肝細胞巢(好酸性細胞)	16	21	28	↑34	3	2	1	7
腎臓： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
慢性腎症	28	35	40	↑40	9	14	↑19	↑18
近位尿管褐色色素沈着増加	8	6	10	↑39	11	13	11	↑36
膀胱： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	[41]	[42]	[46]	[36]
粘膜上皮過形成	1	1	0	↑39	0	0	↑5	↑36
甲状腺： [N=]	[35]	[14a]	[10a]	[42]	[41]	[6a]	9a]	[36]
濾胞上皮細胞肥大	0	0	0	1	0	0	0	0
精巣： [N=]	[35]	[44]	[44]	[42]	-	-	-	-
精細管石灰沈着	8	8	↓0	5	-	-	-	-
精細管萎縮	19	26	↓14	16	-	-	-	-

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

a：肉眼的異常を示した動物についてのみ組織検査を実施（統計検定は実施せず）

全検査動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	3	30	200	0	3	30	200
胸骨骨髓： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
造血亢進	14	14	20	↑29	16	22	8	↑33
肉芽腫	1	1	0	0	7	6	9	↑15
大腿骨骨髓： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
造血亢進	16	13	23	↑32	16	18	9	↑36
肉芽腫	1	2	1	2	11	5	9	↑20
脾臓： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
うっ血	30	↓13	30	↑44	6	7	↑38	↑37
褐色色素沈着増加	22	28	↑32	↑40	37	32	↑46	36
髄外造血亢進	12	14	17	↑30	17	15	↑28	↑37
線維化	1	2	2	↑9	0	0	2	↑31
肝臓： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
小葉中心性肝細胞脂肪化	0	0	0	↑10	2	0	4	↑18
肝細胞褐色色素沈着	0	0	0	↑11	4	0	1	↑26
クッパー細胞褐色色素沈着	1	1	6	↑34	7	7	10	↑38
胆管過形成	43	46	↑50	48	14	14	12	↑28
変異肝細胞巢 (好酸性細胞)	16	21	↑28	↑34	3	2	1	7
変異肝細胞巢 (好塩基性細胞)	23	27	↑33	16	21	25	25	29
腎臓： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
慢性腎症	31	38	↑41	↑42	9	14	↑19	↑20
近位尿管褐色色素沈着増加	8	6	10	↑41	12	15	12	↑50
膀胱： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
粘膜上皮単細胞壊死/ アポトーシス	0	0	0	1	0	0	0	0
粘膜上皮過形成	1	2	0	↑47	0	0	↑5	↑46
甲状腺： [N=]	[50]	[20a]	[16a]	[50]	[50]	[14a]	[13a]	[49]
濾胞上皮細胞肥大	0	0	0	1	0	0	0	0
精巣： [N=]	[50]	[50]	[50]	[50]	-	-	-	-
精細管石灰沈着	9	10	↓0	5	-	-	-	-
精細管萎縮	30	30	↓18	↓16	-	-	-	-

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

a：肉眼的異常を示した動物についてのみ組織検査を実施（統計検定は実施せず）

表 2. 腫瘍性病変
途中死亡・切迫殺動物

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	3	30	200	0	3	30	200
途中死亡・切迫殺	全身性腫瘍	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	1
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		単核細胞性白血病(M)	4	3	2	0	3	3	0	0
	皮膚	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		線維腫(B)	3	0	0	0	0	1	0	0
		線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	13
		腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		線維腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	2
	骨	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		悪性脊索腫(M)	1	1	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	鼻腔	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		軟骨腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	肺	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		悪性脊索腫原発不明	0	1	0	0	0	0	0	0
	心臓	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		悪性神経鞘腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	口腔	所見\検査動物数	0#	1	0#	1	2#	0#	0#	0#
		乳頭腫(B)	-	0	-	0	1	-	-	-
	前胃	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	小腸	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
腺癌(M)		1	0	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆◇ P ≤ 0.01

: 統計検定実施せず。

途中死亡・切迫殺動物（つづき）

転帰	臓器	性	雄				雌															
			投与量 (ppm)																			
			0	3	30	200	0	3	30	200												
途中死亡・切迫殺	膵臓	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14												
		島細胞癌(M)	2	0	0	0	0	0	1	0												
	腎臓	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14												
		腺癌(M)	0	0	0	2	0	0	0	0												
	膀胱	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14												
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1												
		移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	▲4	1	0	0	4												
		移行上皮癌(M)	0	0	0	▲5	1	0	0	▲10												
	精巣	所見\検査動物数	15	6	6	8	/															
		間細胞腫(B)	4	4	1	▲7																
	前立腺	所見\検査動物数	15	6	6	8																
		腺腫(B)	0	1	0	0																
	包皮腺	所見\検査動物数	1#	0#	0#	0#																
		癌(M)	1	-	-	-																
	子宮角	所見\検査動物数	/								9	8	4	14								
		扁平上皮癌(M)									0	1	0	0								
		内膜間質ポリープ(B)									0	1	0	2								
	陰核腺	所見\検査動物数									/				0#	0#	0#	1#				
		癌(M)													-	-	-	1				
	下垂体	所見\検査動物数													15	6	6	8	9	8	4	14
		前葉腺腫(B)													2	1	3	1	5	3	3	4
	甲状腺	所見\検査動物数													15	6	6	8	9	8	4	13
		C細胞腺腫(B)													3	2	1	3	2	0	0	2
		C細胞癌(M)													0	1	1	1	0	0	1	2
	副腎	所見\検査動物数													15	6	6	8	9	8	4	14
		褐色細胞腫(B)													1	1	0	0	0	0	0	0
	大脳	所見\検査動物数													15	6	6	8	9	8	4	14
		稀突起膠細胞腫(M)													0	0	0	1	0	0	0	0
悪性細網症(M)		1													0	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : ↑↓ P ≤ 0.05、▲◆ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

途中死亡・切迫殺動物（つづき）

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	3	30	200	0	3	30	200
途中死亡・切迫殺	脊髄	所見\検査動物数	15	6	6	8	9	8	4	14
		悪性細網症(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腔	所見\検査動物数	0#	0#	0#	0#	0#	0#	1#	0#
		横紋筋肉腫(M)	-	-	-	-	-	-	1	-
合計	良性腫瘍数		15	9	5	15	9	6	3	15
	悪性腫瘍数		11	6	4	13	5	5	3	17
	腫瘍総数		26	15	9	28	14	11	6	32
	担良性腫瘍動物数		10	5	4	8	7	5	3	9
	担悪性腫瘍動物数		10	5	3	8	5	5	2	14
	担腫瘍動物数		15	6	6	8	9	8	4	14

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、▲▼ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

最終計画殺動物

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	3	30	200	0	3	30	200
最終計画殺	全身性腫瘍	所見\検査動物数	35	44	44	42	41	42	46	36
		組織球性肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	0	2	0
		単核細胞性白血病(M)	2	0	0	0	1	1	0	0
	皮膚	所見\検査動物数	35	23#	25#	42	41	6#	17#	36
		扁平上皮乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	1	5	3	3	0	0	0	0
		基底細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		毛のう上皮腫(B)	0	0	0	2	0	1	0	0
		線維腫(B)	11	10	10	9	1	0	3	2
		脂肪腫(B)	1	2	3	0	1	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		骨腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		神経鞘腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	35	1#	0#	42	41	11#	14#	36
		腺腫(B)	0	0	-	0	2	0	1	0
		腺癌(M)	0	0	-	0	2	0	1	0
		線維腺腫(B)	0	1	-	4	10	9	12	10
	脾臓	所見\検査動物数	35	44	44	42	41	42	46	36
		線維肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	骨	所見\検査動物数	35	0#	0#	42	41	3#	2#	36
		骨腫(B)	0	-	-	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	35	2#	5#	42	41	0#	0#	36
		腺腫(B)	0	1	1	0	0	-	-	0
		腺癌(M)	0	0	2	0	0	-	-	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆◇ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

最終計画殺動物（つづき）

転帰	臓器	性		雄				雌						
		投与量 (ppm)		0	3	30	200	0	3	30	200			
最終 計画 殺	心臓	所見\検査動物数		35	0 #	1 #	42	41	0#	0#	36			
		悪性神経鞘腫(M)		1	-	0	1	0	-	-	0			
	小腸	所見\検査動物数		35	0 #	0 #	42	41	0#	0#	36			
		平滑筋肉腫(M)		1	-	-	0	0	-	-	0			
	肝臓	所見\検査動物数		35	44	44	42	41	42	46	36			
		肝細胞腺腫(B)		1	0	1	2	1	0	0	0			
	膵臓	所見\検査動物数		35	0	0	42	41	0#	0#	36			
		島細胞腺腫(B)		3	-	-	3	0	-	-	0			
		島細胞癌(M)		0	-	-	2	0	-	-	0			
		腺房細胞腺腫(B)		0	-	-	1	0	-	-	0			
	腎臓	所見\検査動物数		35	44	44	42	41	42	46	36			
		腺癌(M)		0	0	0	1	0	0	0	0			
		骨腫(B)		0	0	1	0	0	0	0	0			
	膀胱	所見\検査動物数		35	44	44	42	41	42	46	36			
		扁平上皮乳頭腫(B)		0	0	0	0	0	0	1	1			
		扁平上皮癌(M)		0	0	0	1	0	0	0	0			
		移行上皮乳頭腫(B)		1	1	0	▲24	0	0	1	▲12			
		移行上皮癌(M)		0	0	0	▲21	0	0	1	▲29			
	精巣	所見\検査動物数		35	44	44	42	/						
		間細胞腫(B)		27	35	▲41	37							
	前立腺	所見\検査動物数		35	1#	0#	42							
		腺腫(B)		1	0	-	1							
	包皮腺	所見\検査動物数		2#	5#	2#	2#							
		腺腫(B)		0	1	0	0							
癌(M)		1	2	1	0									
卵巣	所見\検査動物数						41					3#	2#	36
	悪性顆粒膜細胞腫(M)						0					1	0	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ▲ P ≤ 0.05、▲ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

最終計画殺動物（つづき）

転帰	臓器	性				雄				雌					
		投与量 (ppm)				0	3	30	200	0	3	30	200		
最終 計画 殺	子宮角	所見\検査動物数				/	41	14#	5#	36	0	0	0	1	
		腺癌(M)					0	0	0	0	0	0	0	1	
		平滑筋腫(B)					0	1	0	0	0	1	0	0	0
		内膜間質ポリープ(B)					9	6	5	5	9	6	5	5	5
	子宮頸	所見\検査動物数					41	0#	0#	36	41	0#	0#	36	
		内膜間質ポリープ(B)					2	-	-	0	2	-	-	0	
	膣	所見\検査動物数					41	0#	0#	36	41	0#	0#	36	
		乳頭腫(B)					0	-	-	2	0	-	-	2	
	陰核腺	所見\検査動物数					0#	3#	2#	1#	0#	3#	2#	1#	
		腺腫(B)					-	0	0	1	-	0	0	1	
		癌(M)					-	3	2	0	-	3	2	0	
	下垂体	所見\検査動物数					35	16#	7#	42	41	31#	34#	36	
		前葉腺腫(B)					6	9	1	9	10	16	15	11	
	甲状腺	所見\検査動物数					35	14#	10#	42	41	6#	9#	36	
		C細胞腺腫(B)					7	7	2	7	5	3	5	4	
		C細胞癌(M)					5	6	5	9	3	2	3	2	
		濾胞細胞腺腫(B)					0	0	0	0	0	0	0	1	
		濾胞細胞癌(M)					0	0	1	1	0	0	1	0	
	副腎	所見\検査動物数					35	2#	3#	42	41	1#	0#	36	
		皮質腺癌(M)					0	0	0	0	0	1	-	0	
		褐色細胞腫(B)					0	1	1	4	2	0	-	0	
		悪性褐色細胞腫(M)					0	1	1	4	0	0	-	1	
		複合褐色細胞腫(B)					0	0	1	0	0	0	-	0	
	大脳	所見\検査動物数					35	0#	1#	42	41	0#	0#	36	
稀突起膠細胞腫(M)				0	-	1	0	0	-	-	0				
胸腔	所見\検査動物数				0#	1#	0#	0#	0#	0#	0#	0#			
	悪性中皮腫(M)				-	1	-	-	-	-	-	-			

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆‡ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

最終計画殺動物（つづき）

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	3	30	200	0	3	30	200
最終計画殺	腹腔	所見\検査動物数	0#	1#	3#	1#	0#	0#	0#	1#
		線維腫(B)	-	0	0	1	-	-	-	0
		脂肪肉腫(M)	-	0	0	0	-	-	-	1
		悪性中皮腫(M)	-	1	2	0	-	-	-	0
合計		良性腫瘍数	59	74	65	109	43	36	42	49
		悪性腫瘍数	11	11	15	42	6	10	11	35
		腫瘍総数	70	85	80	151	49	46	53	84
		担良性腫瘍動物数	34	43	43	41	27	27	26	31
		担悪性腫瘍動物数	11	10	13	31	6	10	9	31
		担腫瘍動物数	35	43	44	41	28	32	27	36

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、▲▼ P ≤ 0.011

: 統計検定は実施せず。

全検査動物

転帰	臓器	性				雄				雌				
		投与量 (ppm)				0	3	30	200	0	3	30	200	
全検査動物	全身性腫瘍	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
		組織球性肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		単核細胞性白血病(M)	6	3	2	0	4	4	0	0	4	4	0	0
	皮膚	所見\検査動物数	50	29#	31#	50	50	14#	21#	50	50	14#	21#	50
		扁平上皮乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫(B)	1	5	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		基底細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
		毛のう上皮腫(B)	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0
		線維腫(B)	14	10	10	9	1	1	1	3	1	1	3	2
		線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪腫(B)	2	2	3	0	1	0	0	0	1	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
		骨腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		神経鞘腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
	乳腺	所見\検査動物数	49	7#	6#	50	50	19#	18#	49	50	19#	18#	49
		腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	1	0	2	0	1	0
		腺癌(M)	0	0	0	0	3	0	1	0	3	0	1	0
		線維腺腫(B)	0	1	0	4	10	10	12	12	10	10	12	12
	脾臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		線維肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	骨	所見\検査動物数	50	6#	6#	50	50	11#	6#	50	50	11#	6#	50
		悪性脊索腫(M)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		骨腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆‡ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

全検査動物（つづき）

転帰	臓器	性				雄				雌			
		投与量 (ppm)				0	3	30	200	0	3	30	200
全検査動物	鼻腔	所見\検査動物数	50	6#	6#	50	50	8#	4#	50			
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0			
		軟骨腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1			
	肺	所見\検査動物数	50	8#	11#	50	50	8#	4#	50			
		腺腫(B)	0	1	1	0	0	0	0	0			
		腺癌(M)	0	0	2	0	0	0	0	0			
		悪性脊索腫原発不明	0	1	0	0	0	0	0	0			
	心臓	所見\検査動物数	50	6#	7#	50	50	8#	4#	50			
		悪性神経鞘腫(M)	2	0	0	1	0	0	0	0			
	口腔 ^{a)}	所見\検査動物数	0#	1#	0#	1#	2#	0#	0#	0#			
		乳頭腫(B)	-	0	-	0	1	-	-	-			
	前胃	所見\検査動物数	50	6#	6#	50	50	8	4	50			
		乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0			
	小腸	所見\検査動物数	50	6#	6#	50	50	8	4	50			
		腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0			
		平滑筋肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0			
	肝臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50			
		肝細胞腺腫(B)	1	0	1	2	1	0	0	0			
	膵臓	所見\検査動物数	50	6#	6#	50	50	8#	4#	50			
		島細胞腺腫(B)	3	0	0	3	0	0	0	0			
		島細胞癌(M)	2	0	0	2	0	0	1	0			
		腺房細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0			
	腎臓	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50			
		腺癌(M)	0	0	0	3	0	0	0	0			
		骨腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0			
	膀胱	所見\検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50			
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	1			
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	1			
移行上皮乳頭腫(B)		1	1	0	▲28	1	0	1	▲16				
移行上皮癌(M)		0	0	0	▲26	1	0	1	▲39				

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、▲▼ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

a : 剖検時に認められた観察対象以外の異常部位について病理組織学的検査を実施した。

全検査動物 (つづき)

転帰	臓器	性		雄				雌																																			
		投与量 (ppm)		0	3	30	200	0	3	30	200																																
全検査動物	精巣	所見\検査動物数		50	50	50	50	/																																			
		間細胞腫 (B)		31	39	↑42	↑44																																				
	前立腺	所見\検査動物数		50	7#	6#	50																																				
		腺腫 (B)		1	1	0	1																																				
	包皮腺 ^{a)}	所見\検査動物数		3#	5#	2#	2#																																				
		腺腫 (B)		0	1	0	0																																				
		癌 (M)		2	2	1	0																																				
	卵巢	所見\検査動物数		/								50	11#	6#	50																												
		悪性顆粒膜細胞腫 (M)										0	1	0	0																												
	子宮角	所見\検査動物数										/				50	22#	9#	50																								
		扁平上皮癌 (M)														0	1	0	0																								
		腺癌 (M)														0	0	0	1																								
		平滑筋腫 (B)														0	1	0	0																								
		内膜間質ポリープ (B)														9	7	5	7																								
		所見\検査動物数														/				50	8#	4#	50																				
	子宮頸	内膜間質ポリープ (B)																		2	0	0	0																				
		所見\検査動物数																		/				50	8#	4#	50																
	膣	乳頭腫 (B)																						0	0	0	2																
		所見\検査動物数																						/				0#	3#	2#	2#												
	陰核腺 ^{a)}	腺腫 (B)																										-	0	0	1												
		癌 (M)																										-	3	2	1												
		所見\検査動物数																										/				50	39#	38#	50								
	下垂体	前葉腺腫 (B)																														8	10	4	10	15	19	18	15				
		所見\検査動物数																														/				50	20#	16#	50				
	甲状腺	C細胞腺腫 (B)																																		10	9	3	10	7	3	5	6
		C細胞癌 (M)																																		5	7	6	10	3	2	4	4
		濾胞細胞腺腫 (B)																																		0	0	0	0	0	0	0	1
		濾胞細胞癌 (M)																																		0	0	1	1	0	0	1	0
所見\検査動物数		/						50	14#	13#	49																																

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

a : 剖検時に認められた観察対象以外の異常部位について病理組織学的検査を実施した。

全検査動物 (つづき)

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	3	30	200	0	3	30	200
全検査動物	副腎	所見\検査動物数	50	8#	9#	50	50	9#	4#	50
		皮質腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		褐色細胞腫(B)	1	2	1	4	2	0	0	0
		悪性褐色細胞腫(M)	0	1	1	4	0	0	0	1
		複合褐色細胞腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	大脳	所見\検査動物数	50	6#	7#	50	50	8#	4#	50
		稀突起膠細胞腫(M)	0	0	1	1	0	0	0	0
		悪性細網症(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脊髄	所見\検査動物数	50	6#	6#	50	50	8#	4#	50
		悪性細網症(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腔 ^{a)}	所見\検査動物数	0#	1#	0#	0#	0#	0#	1#	0#
		悪性中皮腫(M)	-	1	-	-	-	-	0	-
		横紋筋肉腫(M)	-	0	-	-	-	-	1	-
	腹腔 ^{a)}	所見\検査動物数	1#	1#	3#	1#	0#	1#	0#	1#
		線維腫(B)	0	0	0	1	-	0	-	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	-	0	-	1
		悪性中皮腫(M)	0	1	2	0	-	0	-	0
	合計	良性腫瘍数	74	83	70	124	52	42	45	64
		悪性腫瘍数	22	17	19	55	11	15	14	52
腫瘍総数		96	100	89	179	63	57	59	116	
担良性腫瘍動物数		44	48	47	49	34	32	29	40	
担悪性腫瘍動物数		21	15	16	39	11	15	11	45	
担腫瘍動物数		50	49	50	49	37	40	31	50	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆‡ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

a : 剖検時に認められた観察対象以外の異常部位について病理組織学的検査を実施した。

マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 17)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体純度： %

供試動物：ICR 系マウス [Crlj:CD1(ICR)]

投与開始時週齢 雌雄ともに 5 週齢

投与開始時体重 雄；29.8～35.8 g、雌；23.7～29.6 g

一群雌雄各 52 匹

投与期間：78 週間（雄 2008 年 5 月 12 日～2009 年 11 月 10 日、雌 2008 年 5 月 20 日～2009 年 11 月 19 日）

投与方法：検体を 0、2、20 及び 100 ppm の濃度で基礎飼料に混入し、78 週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前及び投与期間中は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；

試験項目及び結果：

死亡率；動物の瀕死状態ないし死亡の有無を1日2回観察した。

78週間の投与終了時の死亡数を次表に示す。

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
死亡・切迫殺動物数	20	17	21	19	23	14	12	17

生命表解析を用いて危険率5%及び1%レベルで解析した結果、投与期間中、20及び2 ppm群の雌では死亡率が対照群と比較して有意に減少する週がみられたが、100 ppm群の死亡率には明らかな影響はなく、偶発的な変化と考えられた。雄では、いずれの投与群においても対照群と比較して有意な死亡率の変化はなかった。

一般状態；動物の一般状態を1日1回観察した。また、腫瘍の触診に加え、詳細な状態の観察を毎週1回実施した。

対照群と比較して発生頻度に統計学的有意差が認められた臨床症状を次表に示す。

症状	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
呼吸 緩徐	11	9	12	11	18	↓9	↓9	12
皮膚 腫脹	6	4	2	2	5	2	1	↓0
	腫瘍	3	4	4	6	2	↑10	↑8
被毛 触毛脱毛	8	5	3	3	31	24	↓16	↓11
	脱毛	30	↓19	22	31	34	29	34
眼球/眼瞼 退色	0	1	↑6	1	4	3	5	3

表中の数値は症状の発生数

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、◆↓ P≤0.01

雌のすべての検体投与群の皮膚の腫瘍の発生頻度が対照群と比較して有意に増加し、これらの腫瘍の一部は病理組織学的に悪性リンパ種、乳腺腺癌などに相当したが、腫瘍性病変の発生頻度には投与に関連した増加は認められなかった。したがって、皮膚の腫瘍の増加は特定の腫瘍の増加を示唆するものではなく、投与との関連性はなかった。

その他の臨床所見の有意な変動は用量との関連性のない変化であるか、発生頻度の減少であり、毒性学的意義はないと判断した。

体重変化；全動物について、投与開始時及び投与1週から13週までは毎週1回、また投与16週から投与終了時（76週時）までは4週に1回の頻度で体重を測定した。さらに剖検前にも最終体重を測定した。

対照群と比較して統計学的に有意な変動のあった投与週を次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	2	20	100	2	20	100
5	101	101	101	98	↓96	100
40	↑106	↑105	102	97	97	96
44	↑107	105	101	100	98	98
48	▲108	↑107	101	99	98	97
52	↑106	106	101	99	97	98

表中の数値は対照群を100とした時の相対値
Dunnettの多重比較法：↑↓ P≤0.05、▲◆ P≤0.01

20及び2ppm群の雌雄において投与期間中に体重の有意な変動が散見されたが、いずれも用量との関連性は認められず、検体投与による影響ではないと判断した。

摂餌量；全ケージについて、投与1週から13週までは毎週1回、投与16週から76週時までは4週に1回の頻度で、連続3日分のケージ別摂餌量を測定した。

対照群と比較して有意な差が認められた投与週を次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	2	20	100	2	20	100
2	102	106	102	100	102	▲109
5	102	104	104	102	102	▲111

表中の数値は対照群を100とした時の相対値
Dunnettの多重比較法：↑↓ P≤0.05、▲◆ P≤0.01

100ppm群の雌の摂餌量が投与期間中に有意に増加したが、一過性の変動であり、検体投与との関連性はないと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量(mg/kg/日)は以下のとおりであった。

用量(ppm)	雄	雌
2	0.220	0.207
20	2.25	2.08
100	11.6	10.7

食餌効率；全用量群について、投与開始後の13週間、各1週間の群平均体重増加量を対応する群平均摂餌量で除して群平均食餌効率を雌雄別に算出した。さらに、これら各週の群平均食餌効率を平均し、総平均食餌効率を雌雄別に求めた。

全ての投与群雌雄において、食餌効率には対照群と比較して明らかな差は認められなかった。

血液学的検査；78週間投与終了後の全生存動物についてエーテル麻酔下で後大静脈より採血し、以下の項目を総合血液学検査装置で測定した。

白血球数及び白血球のディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

また、各採取血液からメイグリュンワルド・ギムザ染色を施した血液塗抹標本を作製した。

投与期間中の切迫殺動物については、エーテル麻酔下で尾端切断により血液を得てメイグリュンワルド・ギムザ染色した塗抹標本を作製して鏡検し、以下の白血球百分率を求めた。

リンパ球、好中球、桿状核好中球、分葉核好中球、単球、好酸球、好塩基球、その他

Dunnettの多重比較法を危険率5%及び1%レベルで実施した結果、いずれの投与群の雌雄にも対照群と比較して有意差が認められた項目はなかった。

肉眼的病理検査；死亡・切迫殺動物を含めた全動物について剖検を実施した。投与期間中の切迫殺動物及び78週間投与終了後の生存動物(計画殺動物)は、エーテル麻酔下で腹大動脈・後大静脈を切断して放血により安楽死させた後に剖検した。試験途中の死亡動物は、発見後速やかに剖検した。

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた剖検所見を次表に示す。

途中死亡・切迫殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
検査動物数	20	17	21	19	23	14	12	17
皮膚 脱毛	11	4	↓5	8	12	3	9	5
腫瘍	1	2	2	4	0	↑4	2	1
陰茎 突出	4	1	↓0	3	—	—	—	—

最終計画殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
検査動物数	32	35	31	33	29	38	40	35
全身/外観 触毛脱毛	1	0	1	1	11	17	10	↓5
皮膚 脱毛	8	6	11	13	13	23	21	↓7
脾臓 暗調化	0	0	3	↑27	0	0	2	↑32
精巣 点/斑	0	↑5	2	2	—	—	—	—

全検査動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
全身/外観： 触毛脱毛	1	1	2	1	21	20	13	↓8
皮膚： 脱毛	19	↓10	16	21	25	26	30	↓12
腫瘍	2	2	2	4	0	↑7	↑6	3
脾臓： 暗調化	0	0	3	↑28	0	0	2	↑32
リンパ節： 腫大	4	2	1	5	11	6	↓4	9
精巣： 点/斑	0	↑7	3	2	—	—	—	—

表中の数値は所見の発生数

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

100 ppm 群で雌雄の脾臓の暗調化の発生頻度が、対照群と比較して有意に増加した。マウスの 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 17-予備）やラットの一般毒性試験で見られた溶血性貧血に関連した影響と考えられた。

その他の所見についてはいずれも用量相関性が無いか、あるいは対照群よりも発生頻度が減少していることから、毒性学的意義は無いと考えられた。

臓器重量； 78 週間投与終了後に、生存動物の中から動物番号の若い順に選んだ各群雌雄 10 匹ずつについて、以下の臓器重量を測定した。

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

対照群と比較して統計学的に有意な重量の変動が認められた臓器を次表に示す。

臓器	性及び用量 (ppm)						
	雄			雌			
	2	20	100	2	20	100	
最終体重	99	91	92	99	99	109	
心臓 相対重量	104	↑114	110	100	105	103	
腎臓	絶対重量	102	↑116	125	102	100	111
	相対重量	103	▲126	↑135	105	105	103
脾臓	絶対重量	152	↑155	↑168	78	42	58
	相対重量	159	↑173	↑186	77	44	55

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

Dunnett の多重比較法：↑↓ P≤0.05、▲◆ P≤0.01

100 ppm 群では雄の脾臓について絶対及び相対重量が有意に増加した。これに対応する病理組織学的変化が認められており、検体投与の影響と考えられた。20 ppm 群においても雄で脾臓の絶対及び相対重量の有意な増加がみられたが、対応する組織所見が明確でないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。

100 ppm 群の雄で腎臓の相対重量が、20 ppm 群の雄で腎臓の絶対及び相対重量が有意に増加した。100 ppm 群では 1 例の腎臓に自然発症性病変とみられる腺腫が発生しておりそれにより 100 ppm 群の群平均値が増加したものと考えられた。腎臓には投与に関連した病理組織学的影響は認められておらず、統計結果には用量との相関性も無いことから、これらの用量でみられた腎臓重量の増加と検体投与との関連性は乏しいと考えられた。20 ppm 群の雄で見られた心臓重量の増加は用量との相関性はなく、検体投与による影響ではないと判断した。

病理組織学的検査； 0 ppm と 100 ppm 群の全動物、及び 2 ppm と 20 ppm 群の死亡・切迫殺動物から採取した、以下に示す臓器・組織について病理組織学的検査を実施した。また、2 ppm 及び 20 ppm 群の 78 週後の全生存動物から採取した、骨

髓（胸骨及び大腿骨）、脾臓、肝臓、膀胱及び肉眼的異常部位について病理組織学的検査を実施した。

脳（大脳、小脳、橋及び延髄）、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、坐骨神経（片側）、下垂体、胸腺、甲状腺（両側）、上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓、骨及び骨髓（胸骨及び片側大腿骨）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び舌下腺）、食道、胃（前胃及び腺胃）、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺（気管支を含む）、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精のう（両側）、凝固腺（両側）、卵巣（両側）、子宮（角部及び頸部）、膾、眼球（網膜及び視神経を含む、両側）、ハーダー腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、膝関節（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部の相当部）、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

対照群と比較して、発生頻度に統計学的に有意差が認められた非腫瘍性病変を表1に示す。

100 ppm 群において、検体投与の影響が脾臓、骨髓、肝臓及び膀胱に観察された。マウスにおける90日間試験（資料17-予備）で観察された溶血性貧血に関連した所見として雌雄で脾臓のうっ血、褐色色素沈着増加及び髓外造血亢進の発生頻度の増加が認められ、これらの変化に関連して、雄では骨髓の造血亢進、肝臓のクッパー細胞褐色色素沈着が観察された。ベルリン青染色及びシュモール反応の結果、脾臓及び肝臓の褐色色素はヘモジデリン及びリポフスチンと考えられた。類似の変化はマウスにおける90日間試験及びラットにおける一般毒性試験においても観察されており、いずれも検体投与による溶血性貧血の影響と考えられた。骨髓では組織球系細胞集簇の発生頻度が雌雄で増加したが、慢性的な溶血性変化や造血反応に関連した二次的影響と推察された。100 ppm 群の雌雄の膀胱において粘膜上皮細胞質空胞化、粘膜上皮単細胞壊死/アポトーシス及び粘膜上皮過形成の発生頻度が増加した。これらの変化は用量との関連性から検体投与の影響と考えられた。粘膜上皮細胞質空胞化及び粘膜上皮単細胞壊死/アポトーシスは粘膜に対する一次的な障害作用を示唆し、それらに対して粘膜上皮過形成が続発したと考えられた。なお、ラット発がん性試験で見られたような膀胱における腫瘍性病変の増加は認められなかった。

100 ppm 群の上記以外で、また20及び2 ppmにおいて発生頻度の変動が認められた所見はいずれも、用量との関連性がないか、発生頻度の減少であり毒性学的意義はないと考えられた。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。また、検体投与群で対照群と比較して統計学的有意差が認められた病変（悪性リンパ腫）及び増加傾向のみられた病変（肝細胞癌）を次表に示す。なお、肝臓については肝細胞腺腫の発生頻度及び肝細胞腺腫と肝細胞癌を合わせた発生頻度も示した。

死亡・切迫殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
全身性腫瘍： [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
悪性リンパ腫	4	1	1	2	10	↓1	2	9
肝臓： [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
肝細胞腺腫	6	9	5	7	0	1	0	0
肝細胞癌	2	2	2	2	0	0	0	1
肝細胞腺腫/癌	7	10	7	8	0	1	0	1

最終計画殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
肝臓： [N=]	[32]	[35]	[31]	[33]	[29]	[38]	[40]	[35]
肝細胞腺腫	10	11	9	12	0	0	0	1
肝細胞癌	1	1	0	5	1	0	0	0
肝細胞腺腫/癌	11	11	9	14	1	0	0	1

全検査動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
肝臓： [N=]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]
肝細胞腺腫	16	20	14	19	0	1	0	1
肝細胞癌	3	3	2	7	1	0	0	1
肝細胞腺腫/癌	18	21	16	22	1	1	0	2

表中の数値は所見の発生数

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、▲◆ P≤0.01

肝細胞腺腫/癌：両方の腫瘍を持つ動物は1例として集計。

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

100 ppm 群の雄において肝細胞癌の発生頻度が対照群に比較して増加傾向を示した（対照群 52 匹中 3 匹に対し 52 匹中 7 匹に観察された）。この発生頻度は試験実施機関における背景値よりわずかに高く（51～56 匹中 0～5 匹）、検体投与によりその発生頻度が軽度増加した可能性が示唆された。マウスの肝臓に対する影響として、溶血性貧血に関連したクッパー細胞褐色色素沈着が認められているが、肝臓（肝細胞）に対する直接的な影響を示唆するような病理組織学的変化は観察されなかった。マウスでは背景的な肝細胞腫瘍（肝細胞腺腫を含む）の発生が高いため、検体投与の影響によりその発生頻度が軽度に助長された可能性が示唆された。しかし、上述のようにマウスの投与群における肝臓（肝細胞）に対する一次的な毒性影響が明らかでないこと、雄の変異肝細胞巣や肝細胞腺腫の発生頻度に明らかな増加がないこと、雌の肝細胞癌の増加もみられないことから、肝臓に対する発がん性は明瞭なものではないと推察された。その他、雌雄とも腫瘍発生の早期化、稀な腫瘍の増加、その他、発がん性を示唆する所見はなかった。

2 ppm 群の雌の死亡・切迫殺動物にみられた悪性リンパ腫は発生頻度の減少であり、毒性学的意義はなかった。

以上のように、検体のマウスに対する 78 週間飼料混入投与による発がん性試験において、100 ppm 群の雌雄とも脾臓、骨髄、肝臓及び膀胱に検体投与の影響が観察された。また、雄でのみ、肝細胞癌の発生頻度に増加傾向が認められた。したがって無毒性量は雌雄とも 20 ppm（雄 2.25 mg/kg 体重/日、雌 2.08 mg/kg 体重/日）と判断した。

表 1. 非腫瘍性病変
途中死亡・切迫殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
骨髓 (胸骨): [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
造血亢進	8	3	8	8	2	3	4	3
組織球系細胞集簇	2	0	4	4	2	3	2	5
骨髓 (大腿骨): [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
造血亢進	8	5	10	9	3	3	4	3
組織球系細胞集簇	2	0	4	5	3	4	1	1
脾臓: [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
うっ血	1	0	3	1	0	0	0	0
褐色色素沈着増加	2	0	0	▲11	5	4	4	3
髓外造血亢進	14	↓6	9	12	3	▲9	4	5
膝関節: [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
骨関節症	12	11	12	14	5	↑9	2	6
肝臓: [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
小葉中心性肝細胞脂肪化	1	↑6	0	1	0	0	0	1
クッパー細胞褐色色素沈着	3	0	3	▲12	1	0	1	0
変異肝細胞巢 (好酸性細胞)	1	0	1	0	0	0	0	0
変異肝細胞巢 (好塩基性細胞)	2	2	0	1	0	0	0	1
腎臓: [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
近位尿細管褐色色素沈着増加	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱: [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	[23]	[14]	[12]	[17]
粘膜上皮細胞質空胞化	1	2	1	↑6	1	0	2	2
粘膜上皮単細胞壊死/ アポトーシス	0	0	1	▲6	0	0	1	2
粘膜上皮過形成	4	1	4	4	0	0	0	1
精囊: [N=]	[20]	[17]	[21]	[19]	—	—	—	—
炎症	5	↓0	1	3	—	—	—	—
卵巣: [N=]	—	—	—	—	[23]	[14]	[12]	[17]
のう胞	—	—	—	—	11	3	↑10	7

表中の数値は所見の発生数

Fisher の直接確率計算法: ↑↓ P≤0.05、▲◆ P≤0.01

a: 計画殺動物で肉眼的異常を示した動物及び全ての死亡・切迫殺動物について組織検査を実施 (統計検定は実施せず)

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

最終計画殺動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
骨髓 (胸骨): [N=]	[32]	[35]	[31]	[33]	[29]	[38]	[40]	[35]
造血亢進	2	3	3	↑10	4	5	3	4
組織球系細胞集簇	5	6	7	▲25	15	12	↓11	23
骨髓 (大腿骨): [N=]	[32]	[35]	[31]	[33]	[29]	[38]	[40]	[35]
造血亢進	3	3	4	↑10	4	6	5	4
組織球系細胞集簇	4	3	6	▲22	14	↓8	↓9	19
脾臓: [N=]	[32]	[35]	[31]	[33]	[29]	[38]	[40]	[35]
うっ血	1	2	2	↑8	0	2	2	↑7
褐色色素沈着増加	4	5	5	▲25	6	3	9	▲28
髓外造血亢進	6	9	8	▲19	10	9	14	▲26
肝臓: [N=]	[32]	[35]	[31]	[33]	[29]	[38]	[40]	[35]
小葉中心性肝細胞脂肪化	7	9	4	5	1	0	1	1
クッパー細胞褐色色素沈着	7	9	6	▲26	9	11	9	18
小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	1	0	0
変異肝細胞巣 (好酸性細胞)	3	0	0	4	0	0	0	1
変異肝細胞巣 (好塩基性細胞)	4	4	4	4	0	1	0	1
腎臓: [N=]	[32]	[10 ^a]	[12 ^a]	[33]	[29]	[6 ^a]	[3 ^a]	[35]
近位尿細管褐色色素沈着増加	1	0	1	0	0	0	0	1
膀胱: [N=]	[32]	[35]	[31]	[33]	[29]	[38]	[40]	[35]
粘膜下水腫	0	0	0	1	4	↓0	↓0	↓0
粘膜上皮細胞質空胞化	2	2	1	▲11	1	2	3	▲22
粘膜上皮単細胞壊死/ アポトーシス	1	0	1	▲9	0	0	0	▲20
粘膜上皮過形成	1	0	2	▲14	1	0	0	▲10

表中の数値は所見の発生数

Fisher の直接確率計算法: ↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

a: 計画殺動物で肉眼的異常を示した動物及び全ての死亡・切迫殺動物について組織検査を実施 (統計検定は実施せず)

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

全検査動物

臓器・病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	2	20	100	0	2	20	100
皮膚 (腰背部): [N=]	[52]	[19 ^a]	[24 ^a]	[52]	[52]	[18 ^a]	[19 ^a]	[52]
皮下水腫	1	0	1	0	5	0	2	↓0
骨髓 (胸骨): [N=]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]
造血亢進	10	6	11	18	6	8	7	7
組織球系細胞集簇	7	6	11	↑29	17	15	13	↑28
骨髓 (大腿骨): [N=]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]
造血亢進	11	8	14	19	7	9	9	7
組織球系細胞集簇	6	3	10	↑27	17	12	10	20
脾臓: [N=]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]
うっ血	2	2	5	↑9	0	2	2	↑7
褐色色素沈着増加	6	5	5	↑36	11	7	13	↑31
髄外造血亢進	20	15	17	↑31	13	18	18	↑31
肝臓: [N=]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]
小葉中心性肝細胞脂肪化	8	15	4	6	1	0	1	2
クッパー細胞褐色色素沈着	10	9	9	↑38	10	11	10	18
小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	1	0	0
変異肝細胞巢 (好酸性細胞)	4	0	1	4	0	0	0	1
変異肝細胞巢 (好塩基性細胞)	6	6	4	5	0	1	0	2
腎臓: [N=]	[52]	[27 ^a]	[33 ^a]	[52]	[52]	[20 ^a]	[15 ^a]	[52]
近位尿細管褐色色素沈着増加	1	0	2	0	2	0	0	2
膀胱: [N=]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]	[52]
粘膜下水腫	0	0	0	1	6	↓0	↓0	1
粘膜上皮細胞質空胞化	3	4	2	↑17	2	2	5	↑24
粘膜上皮単細胞壊死/ アポトーシス	1	0	2	↑15	0	0	1	↑22
粘膜上皮過形成	5	1	6	↑18	1	0	0	↑11

表中の数値は所見の発生数

Fisher の直接確率計算法: ↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

a: 計画殺動物で肉眼的異常を示した動物及び全ての死亡・切迫殺動物について組織検査を実施 (統計検定は実施せず)

[N=] 検査動物数、表中の [N=] の行以外の数値は所見発生数

表 2. 腫瘍性病変

途中死亡・切迫殺動物

転帰	臓器	性		雄				雌			
		投与量 (ppm)		0	2	20	100	0	2	20	100
途中死亡・切迫殺	全身性腫瘍	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		悪性リンパ腫(M)		4	1	1	2	10	↓1	2	9
		骨髄性白血病(M)		0	1	0	0	0	0	1	0
	皮膚	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		扁平上皮癌(M)		0	0	0	0	0	1	0	0
		横紋筋肉腫(M)		0	0	1	0	0	1	0	0
		悪性神経鞘腫(M)		0	0	0	1	0	1	0	0
	乳腺	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		腺癌(M)		0	0	0	0	0	0	1	1
	骨髄	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		血管肉腫(M)		1	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		血管腫(B)		0	1	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)		1	0	0	0	1	1	0	1
	リンパ節	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		血管腫(B)		0	0	1	0	0	0	0	0
	筋肉	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		血管肉腫(M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		腺腫(B)		1	1	1	2	2	2	1	0
		腺癌(M)		3	1	3	0	2	1	2	2
	肝臓	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		肝細胞腫(B)		6	9	5	7	0	1	0	0
		肝細胞癌(M)		2	2	2	2	0	0	0	1
		血管腫(B)		0	0	1	2	0	0	0	0
		血管肉腫(M)		2	1	1	1	1	2	2	1
	膀胱	所見\検査動物数		20	17	21	19	23	14	12	17
		粘膜下間葉腫(B)		1	0	0	0	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆‡ P ≤ 0.01

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

途中死亡・切迫殺動物（つづき）

転帰	臓器	性	雄				雌							
		投与量 (ppm)	0	2	20	100	0	2	20	100				
途中死亡・切迫殺	卵巢	所見\検査動物数	/				23	14	12	17				
		黄体腫(B)					1	0	0	0				
	子宮角	所見\検査動物数					23	14	12	17				
		内膜間質ポリープ(B)					0	0	0	1				
		血管肉腫(M)					0	1	0	0				
	子宮頸部	所見\検査動物数					23	14	12	17				
		悪性神経鞘腫(M)					1	0	0	0				
	甲状腺	所見\検査動物数					20	17	21	19	23	14	12	17
		ろ胞細胞腺腫(B)					0	0	1	0	0	0	0	0
	ハダゲ腺	所見\検査動物数					20	17	21	19	23	14	12	17
		腺腫(B)					0	0	0	1	1	0	1	0
	頭蓋腔	所見\検査動物数					0#	0#	0#	0#	0#	0#	1#	0#
		悪性髄膜腫(M)					-	-	-	-	-	-	1	-
	腹腔	所見\検査動物数					1#	0#	1#	0#	3#	0#	0#	1#
		横紋筋肉腫(M)					0	-	0	-	1	-	-	0
		悪性中皮腫(M)					1	-	0	-	0	-	-	0
		血管肉腫(M)					0	-	0	-	1	-	-	0
		悪性血管周皮腫(M)					0	-	0	-	0	-	-	1
合計	良性腫瘍数	8	11	9	12	4	3	2	1					
	悪性腫瘍数	15	6	9	6	17	9	9	16					
	腫瘍総数	23	17	18	18	21	12	11	17					
	担良性腫瘍動物数	7	10	7	11	4	3	2	1					
	担悪性腫瘍動物数	10	5	7	5	15	9	8	15					
	担腫瘍動物数	14	12	11	14	15	11	8	15					

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆‡ P ≤ 0.01

: 統計検定実施せず。

最終計画殺動物

転帰	臓器	性		雄				雌			
		投与量 (ppm)		0	2	20	100	0	2	20	100
最終計画殺	全身性腫瘍	所見\検査動物数		32	35	31	33	29	38	40	35
		悪性リンパ腫(M)		1	0	0	1	4	7	6	1
	皮膚	所見\検査動物数		32	7#	13#	33	29	24#	23#	35
		扁平上皮癌(M)		0	0	0	0	0	1	0	0
		悪性神経鞘腫(M)		0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性線維性組織球腫(M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数		32	0#	0#	33	29	1#	4#	35
		腺癌(M)		0	-	-	0	0	1	4	2
	脾臓	所見\検査動物数		32	35	31	33	29	38	40	35
		血管肉腫(M)		0	0	0	0	1	1	0	0
	リンパ節	所見\検査動物数		32	1#	0#	33	29	4#	1#	35
		血管腫(B)		0	0	-	0	0	0	0	1
	骨	所見\検査動物数		32	0#	0#	33	29	0#	1#	35
		骨肉腫(M)		1	-	-	0	0	-	1	0
	肺	所見\検査動物数		32	12#	5#	33	29	10#	6#	35
		腺腫(B)		5	3	2	2	5	2	3	3
		腺癌(M)		2	5	1	3	0	3	1	1
		骨肉腫(M)		0	0	0	1	0	0	0	0
	口腔	所見\検査動物数		0#	0#	0#	0#	1#	0#	0#	0#
		扁平上皮癌(M)		-	-	-	-	1	-	-	-
	前胃	所見\検査動物数		32	0#	0#	33	29	1#	0#	35
		乳頭腫(B)		0	-	-	0	1	0	-	0
	腺胃	所見\検査動物数		32	7#	6#	33	29	1#	0#	35
		腺癌(M)		1	0	0	0	0	-	0	0
	大腸	所見\検査動物数		32	1#	0#	33	29	0#	0#	35
		腺癌(M)		0	1	-	0	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †† P ≤ 0.05、‡‡ P ≤ 0.01

: 統計検定実施せず。

最終計画殺動物 (つづき)

転帰	臓器	性	雄				雌							
		投与量 (ppm)	0	2	20	100	0	2	20	100				
最終 計画 殺	肝臓	所見\検査動物数	32	35	31	33	29	38	40	35				
		肝細胞腫(B)	10	11	9	12	0	0	0	1				
		肝細胞癌(M)	1	1	0	5	1	0	0	0				
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0				
		血管肉腫(M)	0	1	3	1	1	0	1	0				
	腎臓	所見\検査動物数	32	10#	12#	33	29	6#	3#	35				
		腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0				
		血管肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0				
	膀胱	所見\検査動物数	32	35	31	33	29	38	40	35				
		粘膜下間葉腫(B)	0	1	1	0	3	0	1	0				
	卵巣	所見\検査動物数	/				29	18#	19#	35				
		嚢胞状腺腫(B)					0	1	0	0				
		黄体腫(B)					1	1	0	1				
	子宮角	所見\検査動物数					29	15#	13#	35				
		平滑筋腫(B)					0	1	1	0				
		内膜間質ポリープ(B)					0	2	2	1				
		内膜間質肉腫(M)					0	0	1	0				
	子宮頸部	所見\検査動物数					29	1#	1#	35				
		内膜間質ポリープ(B)					0	1	1	0				
	下垂体	所見\検査動物数					32	0#	1#	33	29	4#	2#	35
		前葉腺腫(B)					0	-	0	0	0	3	2	3
		前葉腺癌(M)					0	-	0	1	0	0	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数					32	0#	0#	33	29	0#	0#	35
		ろ胞細胞腺腫(B)					0	-	-	1	0	-	-	0
	副腎	所見\検査動物数					32	0#	1#	33	29	0#	0#	35
		皮質腺腫(B)					1	-	0	0	0	-	-	0
		褐色細胞腫(B)					0	-	0	2	0	-	-	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆ P ≤ 0.01

: 統計検定実施せず。

最終計画殺動物（つづき）

転 帰	臓 器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	2	20	100	0	2	20	100
最 終 計 画 殺	ハーダー腺	所見\検査動物数	32	0#	0#	33	29	1#	0#	35
		腺腫(B)	1	-	-	5	1	0	-	1
		腺癌(M)	0	-	-	0	0	1	-	0
合 計	良性腫瘍数		17	15	12	24	11	11	10	11
	悪性腫瘍数		7	8	4	13	8	14	14	5
	腫瘍総数		24	23	16	37	19	25	24	16
	担良性腫瘍動物数		15	12	11	17	9	9	7	10
	担悪性腫瘍動物数		6	8	4	10	6	11	11	4
	担腫瘍動物数		19	16	14	19	14	19	16	12

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

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

: 統計検定実施せず。

全検査動物

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	2	20	100	0	2	20	100
全動物	全身性腫瘍	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		悪性リンパ腫(M)	5	1	1	3	14	8	8	10
		骨髄性白血病(M)	0	1	0	0	0	0	1	0
	皮膚	所見\検査動物数	52	24#	34#	52	52	38#	35#	52
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	2	0	0
		横紋筋肉腫(M)	0	0	1	0	0	1	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	1	0	1	0	1
		悪性線維性組織球腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査動物数	52	17#	21#	52	52	15#	16#	52
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	5	3
	骨髄	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		血管肉腫(M)	1	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		血管腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	2	2	0	1
	リンパ節	所見\検査動物数	52	18#	21#	52	52	18#	13#	52
		血管腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	1
	骨	所見\検査動物数	52	17#	21#	52	52	14#	13#	52
		骨肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	1	0
	筋肉	所見\検査動物数	52	17#	21#	52	52	14#	12#	52
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	52	29#	26#	52	52	24#	18#	52
		腺腫(B)	6	4	3	4	7	4	4	3
		腺癌(M)	5	6	4	3	2	4	3	3
		骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	口腔 ^{a)}	所見\検査動物数	0#	0#	0#	0#	1#	0#	0#	0#
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	1	-	-	-

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆ P ≤ 0.01

: 統計検定実施せず。

a : 剖検時に認められた観察対象以外の以上部位について病理組織学的検査を実施した。

全検査動物 (つづき)

転帰	臓器	性		雄				雌			
		投与量 (ppm)		0	2	20	100	0	2	20	100
全動物	前胃	所見\検査動物数		52	17#	21#	52	52	15#	12#	52
		乳頭腫(B)		0	0	0	0	1	0	0	0
	腺胃	所見\検査動物数		52	24#	27#	52	52	15#	12#	52
		腺癌(M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	大腸	所見\検査動物数		52	18#	21#	52	52	14#	12#	52
		腺癌(M)		0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		肝細胞腫(B)		16	20	14	19	0	1	0	1
		肝細胞癌(M)		3	3	2	7	1	0	0	1
		血管腫(B)		0	0	1	3	0	0	0	0
		血管肉腫(M)		2	2	4	2	2	2	3	1
	腎臓	所見\検査動物数		52	27#	33#	52	52	20#	15#	52
		腺腫(B)		0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫(M)		0	0	0	1	0	0	0	0
	膀胱	所見\検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
		粘膜下間葉腫(B)		1	1	1	0	3	0	1	0
	卵巢	所見\検査動物数		/				52	32#	31#	52
		嚢胞状腺腫(B)						0	1	0	0
		黄体腫(B)						2	1	0	1
	子宮角	所見\検査動物数						52	29#	25#	52
		平滑筋腫(B)						0	1	1	0
		内膜間質ポリープ(B)						0	2	2	2
		内膜間質肉腫(M)						0	0	1	0
		血管肉腫(M)						0	1	0	0
子宮頸部	所見\検査動物数		52					15#	13#	52	
	内膜間質ポリープ(B)		0					1	1	0	
	悪性神経鞘腫(M)		1					0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍
 Fisher の直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆◇ P ≤ 0.01
 # : 統計検定実施せず。

全検査動物（つづき）

転帰	臓器	性	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	2	20	100	0	2	20	100
全動物	下垂体	所見\検査動物数	52	17#	22#	51	52	18#	14#	52
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0	0	3	2	3
		前葉腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	甲状腺	所見\検査動物数	52	17#	21#	52	52	14#	12#	52
		ろ胞細胞腺腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	0
	副腎	所見\検査動物数	52	17#	22#	52	52	14#	12#	52
		皮質腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		褐色細胞腫(B)	0	0	0	2	0	0	0	0
	ハーダー腺	所見\検査動物数	52	17#	21#	52	52	15#	12#	52
		腺腫(B)	1	0	0	6	2	0	1	1
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	頭蓋腔 ^{a)}	所見\検査動物数	0#	0#	0#	0#	0#	0#	1#	0#
		悪性髄膜腫(M)	-	-	-	-	-	-	1	-
	腹腔 ^{a)}	所見\検査動物数	1#	0#	1#	0#	3#	1#	0#	1#
		横紋筋肉腫(M)	0	-	0	-	1	0	-	0
		悪性中皮腫(M)	1	-	0	-	0	0	-	0
		血管肉腫(M)	0	-	0	-	1	0	-	0
		悪性血管周皮腫(M)	0	-	0	-	0	0	-	1
	合計	良性腫瘍数	25	26	21	36	15	14	12	12
		悪性腫瘍数	22	14	13	19	25	23	23	21
腫瘍総数		47	40	34	55	40	37	35	33	
担良性腫瘍動物数		22	22	18	28	13	12	9	11	
担悪性腫瘍動物数		16	13	11	15	21	20	19	19	
担腫瘍動物数		33	28	25	33	29	30	24	27	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : †‡ P ≤ 0.05、◆♣ P ≤ 0.01

: 統計検定は実施せず。

a : 剖検時に認められた観察対象以外の以上部位について病理組織学的検査を実施した。

(10) 繁殖毒性及び発生毒性

ラットにおける繁殖毒性試験

(資料 18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2010 年

検体純度： %

供試動物：Wistar Hannover 系ラット (Br1Han:WIST@Jcl [GALAS])

一群当り雌雄各 24 匹

投与開始時週齢 4 週齢 (P 世代)、22~25 日齢 (F1 世代)

投与開始時体重 P 世代 雄：115~128 g、雌：97~108 g

F1 世代 雄：51~82 g、雌：51~75 g

投与期間：P 世代；投与開始から F1 児離乳時までの 18 週間から 19 週間

F1 世代；離乳時から F2 児離乳時までの 18 週間から 19 週間

投与方法：検体を 0、3、30 及び 300 ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。な

お、対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

用量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

一般状態及び死亡率；親動物の一般状態及び死亡の有無を1日2回（休日は1回）、児動物は毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は雌の発情周期を膣垢像で少なくとも3週間調べ、投与第10週終了翌日より雄と1対1で同居させ、翌日より膣栓及び精子により交尾を確認した。交尾を確認した日を妊娠0日とした。妊娠の確認は分娩の有無及び子宮内の着床痕の存在によって確認した。

繁殖性に関する指標；育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時の観察に基づき、次の指標を算出した。

性成熟 = 雄の包皮分離と雌の膣開口の完了日齢（F1親動物について）

発情周期 = 交配前の3週間以上発情周期を観察し、発情周期長の平均日数を算出

雄の交尾率（%） = $(\text{交尾を認めた雄数} / \text{交配に用いた雄数}) \times 100$

雌の交尾率（%） = $(\text{交尾を認めた雌数} / \text{交配に用いた雌数}) \times 100$

交尾成立までの日数 = 雌雄同居後、交尾が確認されるまでの日数

受胎率（%） = $(\text{妊娠雌数} / \text{交尾を認めた雌数}) \times 100$

出産率（%） = $(\text{正常出産雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$

妊娠期間 = 交尾確認日（妊娠0日）から分娩完了日（哺育0日）までの日数

着床数 = 剖検時に肉眼的に数えた着床痕数

産児数 = 哺育0日における生存児と死亡児の合計

性比 = 総雄産児数 / 総産児数

哺育0日の生存率（%） = $(\text{哺育0日の生存児数} / \text{産児数}) \times 100$

哺育4日の生存率（%） = $(\text{哺育4日の生存児数} / \text{哺育0日の生存児数}) \times 100$

哺育7日の生存率（%） = $(\text{哺育7日の生存児数} / \text{哺育4日に選抜した児数}) \times 100$

哺育14日の生存率（%） = $(\text{哺育14日の生存児数} / \text{哺育4日に選抜した児数}) \times 100$

哺育21日の生存率（離乳率、%）

= $(\text{哺育21日の生存児数} / \text{哺育4日に選抜した児数}) \times 100$

精子検査 = 精巢上体尾部精子の運動性、数及び形態と精巢精子頭部数

表 1. 試験の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目	
P	育成(10週)	雌雄 1 対 1 で交配。交尾成立は膣栓又は膣垢中の精子の存在により確認(妊娠 0 日)。	毎日一般状態及び死亡の有無を確認。 体重、摂餌量を週 1 回測定。 交配の少なくとも 3 週間前から性周期を観察。 交配状況の観察。	
	交配(2週)		妊娠 0、7、14、20 日に体重及び摂餌量を測定。 毎日妊娠状態及び分娩の有無を確認。	
	妊娠(3週)		出産状況の観察(分娩完了日を哺育 0 日)。 新生児の生死、性別、外表異常、体重測定(哺育 0、4、7、14、21 日)、哺育 4 日に選抜から外れた児の剖検。 母動物の体重及び摂餌量を哺育 0、4 (摂餌量を除く)、7、14、21 日及び剖検日に測定。	
	出産----- 哺育(3週)		継代用の各群雌雄 24 匹ずつを無作為に選抜(原則各腹から雌雄各 1 匹)。	継代用以外の児動物を屠殺し、臓器重量測定を含む剖検を実施。P 世代親動物を剖検し臓器重量測定、雄親動物の精子検査。 生殖器官、下垂体、副腎、肝臓、腎臓、脾臓、骨髄、甲状腺、脳について全動物或いは一部の動物について、病理組織学的検査。F1 親動物について膣開口及び包皮分離を観察。 その他(P 世代に準ずる)
	離乳----- 育成(10週)		(P 世代に準ずる) 兄妹交配を避けた。	(P 世代に準ずる)
F1	交配(2週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)	
	妊娠(3週) 出産----- 哺育(3週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる) その他(P 世代に準ずる)	
	離乳-----		離乳児を屠殺し、臓器重量測定を含む剖検を実施。F1 親動物は P 世代と同様の検査。病理組織学的検査は P 世代に準ずる。	
F2				

体重及び摂餌量；雄については週1回及び剖検日に、雌については交配前に週1回、繁殖期間中は妊娠0、7、14、20日と哺育0、4（摂餌量は除く）、7、14、21日及び剖検日に測定した。児動物の体重は哺育0、4、7、14及び21日に測定した。

体重増加量；雄は各測定体重と検体投与開始日体重の差として増加量を求めた。雌は、育成期間、妊娠期間及び哺育期間の各測定体重とそれぞれの期間開始日体重（投与開始日、妊娠0日及び哺育0日の体重）の差として増加量を求めた。また、剖検日の体重増加量は検体投与開始日体重を基準とした。

病理学的検査；

剖検所見；親動物は児動物の離乳後に剖検して所見を記録した。雌動物の場合は膣垢を調べて発情後期または発情間期の膣垢像を示した日に剖検した。雌親動物全例の着床数を数えた。哺育4日に選抜されなかったF1及びF2哺育児、F1親動物に選抜されなかったF1離乳児及びすべてのF2離乳児について剖検を実施した。また、哺育期間中または離乳後に死亡した児動物についても発見後速やかに剖検した。

臓器重量；親動物の脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子宮（頸部と卵管含む）、精巣、精巣上部、精嚢（凝固腺を含む）及び前立腺（腹側葉）の重量を測定した。各群のF1及びF2離乳児については、各群各腹の雌雄1匹ずつの脳、脾臓、胸腺及び子宮の重量を測定した。

病理組織学的検査；繁殖成績正常の対照群と高用量群の10組の雌雄親動物及び交尾または妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組について、卵巣、卵管、子宮（角部及び頸部）、膣、精巣、精巣上部、精嚢、凝固腺、前立腺、下垂体及び副腎を病理組織学的に検査した。対照群と高用量群のF1雌の卵巣については、原始卵胞数も計測した。検体の標的器官であると考えられた肝臓（雌雄）、腎臓（雌）、脾臓（雌雄）、骨髄（雌雄）について、該当する性の全てのP及びF1親動物について病理組織学的検査を実施した。またP及びF1世代の剖検時に肉眼的病変が高頻度に認められたかまたは重量変化の認められた臓器は、対照群及び高用量群全ての親動物について病理組織学的検査を実施した。すなわち腎臓はP及びF1雄、副腎はP及びF1雌、甲状腺はP世代雌、脳はF1雌について、病理組織学的検査を実施した。さらに雄の腎臓については、高用量群で所見が高頻度に認められたため、中間用量群及び低用量群の全てのP及びF1世代の動物について病理組織学的検査を実施した。その他、剖検で肉眼的に異常が認められた臓器または組織について病理組織学的検査を実施した。

F1及びF2離乳児のうち、臓器重量測定を行った動物について次の臓器の病理組織学的検査を行った。すなわち、脳について対照群と高用量群のF1及びF2の雌雄。脾臓について、すべての試験群のF1及びF2の雌雄。胸腺について、対照群及び高用量群のF1の雌。

結果：概要を表 2 に示す。

親動物

臨床症状及び死亡率；皮膚の創傷、痂皮、脱毛、眼脂、尾の屈曲、眼球の腫大といった所見が散見されたが、いずれも検体投与に関連する変化は見られなかった。試験期間中に動物の死亡はみられなかった。

体重；300 ppm 投与群で、雄では F1 世代の投与開始から投与第 9 週まで、対照群より有意に低かった。雌では P 世代の投与第 2 週から 10 週まで、妊娠期間中、哺育 0 日から 14 日までの期間、また F1 世代では試験期間を通して、それぞれ対照群より有意に低かった。

体重増加量；300 ppm 投与群の F1 世代の雄では投与 0-1 週から 0-7 週までの体重増加量が対照群より有意に低かった。雌では P 世代で育成期間中の全ての値と、哺育 0-14 日の値が対照群より有意に低く、F1 世代では育成期間中の全ての値、哺育 0-4 日、哺育 0-14 日、投与開始から剖検日までを通した値が、対照群より有意に低かった。なお 30 ppm 投与群では F1 世代の雌の哺育 0-21 日の値が対照群より有意に高かったが、同投与群の P 世代及び 300 ppm 投与群で同様の変化が認められず、偶発的変化と考えられた。

摂餌量；300 ppm 投与群の P 世代の雌では、投与第 2 週から 6 週までの値と哺育 7-14 日の値が、また F1 世代の哺育 7-14 日目の値が対照群より有意に低かった。雄では、P 世代の投与第 11 週を除く 10 週から 17 週までの値及び F1 世代の投与第 16 週の値が、それぞれ対照群より有意に高かったが、変化は P 世代より F1 世代で軽度であり、特に F1 世代は一過性の変化であったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。また 3 ppm 投与群の P 世代の雌雄で、対照群と比較して統計学的に有意な差が散見されたが、F1 世代では再現されないこと、30 ppm 投与群に同様な変化がみられないことから偶発的変化と考えられた。

検体摂取量；試験期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) は、以下のとおりであった。

投与量 (ppm)	雄						雌					
	P 世代			F1 世代			P 世代			F1 世代		
	3	30	300	3	30	300	3	30	300	3	30	300
育成期間 (投与 10 週)	0.211	2.12	21.7	0.233	2.33	24.6	0.257	2.58	26.0	0.269	2.73	27.7
繁殖期間 ^{a)}	0.144	1.41	14.9	0.137	1.38	14.8	0.366	3.57	35.5	0.334	3.38	34.8
妊娠期間 ^{b)} (20 日間)	/	/	/	/	/	/	0.210	2.02	20.7	0.185	1.89	20.2
哺育期間 ^{b)} (21 日間)	/	/	/	/	/	/	0.522	5.12	50.4	0.484	4.86	49.4
平均検体摂取量	0.186	1.86	19.1	0.197	1.98	21.0	0.298	2.95	29.6	0.294	2.98	30.4

a: 雄；投与 11-17 週間の平均検体摂取量、雌；妊娠期間～哺育期間の平均検体摂取量

b: 申請者にて平均検体摂取量を算出

性成熟；雄の包皮分離完了日齢と雌の膈開口完了日齢を指標として調べたところ、いずれの投与量群にも完了日齢と完了日体重について、対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。

繁殖能力；発情周期長、正常発情周期を示す雌の出現頻度、交尾率、交尾成立までの日数、受胎率、出産率、妊娠期間及び着床数に、検体投与に関連する変化は何も認められなかった。

P及びF1世代の雄について実施した精子検査でも、精巣の精子頭部数と精巣上体の精子数と運動性及び形態について、各投与群と対照群の間で統計学的有意差はみられなかった。

剖検；300 ppm 投与群で、雄ではP世代で脾臓の腫大と暗調化の頻度が、F1世代で脾臓の腫大と暗調化及び肝臓と腎臓の暗調化の頻度がいずれも対照群より有意に高かった。雌では、P及びF1世代で、脾臓の腫大と暗調化、肝臓の腫大と暗調化及び腎臓の暗調化のそれぞれの頻度がいずれも対照群より有意に高かった。これらの変化は、検体投与による影響と考えられた。

臓器重量；300 ppm 投与群で、雄ではP及びF1世代において脾臓重量の絶対値、肝臓、腎臓、脾臓重量の体重比が、雌ではP及びF1世代において肝臓と脾臓の絶対値と体重比、腎臓重量の体重比が対照群より有意に高く、副腎重量の絶対値が対照群より有意に低かった。また、P世代の雌では副腎重量の体重比が有意に低く、腎臓重量の絶対値が有意に高かった。これらの変化は、検体投与による影響と考えられた。雌の副腎重量の低値は、体重比に関してF1世代で差が無く、病理組織学的検査で異常が認められないことから検体投与との関連は明らかでなかった。30 ppm 投与群では、F1世代の雌の脾臓重量の絶対値と体重比がいずれも対照群より有意に高く、検体投与による影響と考えられた。その他、300 ppm 投与群においてP世代の雌の甲状腺重量の体重比、F1世代の雌の子宮重量の絶対値及び脳重量の体重比に対照群との間に有意な差が見られたが、P世代とF1世代で変化が一貫しておらず、病理組織学的に有意な変化が見られないことから、偶発的もしくは剖検時の体重の有意な低値を反映したものと考えられた。また、30 ppm 投与群のF1世代の雄では肝臓重量の体重比が有意に低かったが、300 ppm 群ではむしろ対照群よりも高いことから偶発的変化と考えられた。

病理組織学的所見；300 ppm 投与群では、P及びF1世代の雌雄に胸骨及び大腿骨髄の造血亢進、脾臓のうっ血、褐色色素沈着と髄外造血亢進、肝臓のクッパー細胞褐色色素沈着、小葉中心性肝細胞肥大と髄外造血亢進、腎臓の近位尿細管褐色色素沈着が、対照群より高い頻度で認められた。この他、肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪化、腎臓の尿細管好塩基性変化がP及びF1世代の雄で対照群よりも有意に増加し、P及びF1世代の雌に肝臓の胆管過形成が有意に増加した。以上の有意差が認められた組織所見は、検体投与による影響と考えられた。P世代の雌では腎臓の尿円柱が有意に増加したが、F1世代に同所見の頻度の増加は認められないことから偶発的なものと考えられた。重量に変化の認められたP及びF1世代の雌の副腎、P世代の雌の甲状腺、F1世代の雌の脳について、対照群と300 ppm 投与群について検査したが、検体投与に起因したと考えられる所見は認められなかった。30 ppm 投与群では、胸骨と大腿骨髄の造血亢進がF1世代

の雌に、脾臓のうっ血と褐色色素沈着がP世代の雌とF1世代の雌雄に、脾臓の髓外造血亢進がP及びF1世代の雄で有意に増加した。これらの変化は、検体投与による影響と考えられた。3 ppm 投与群ではP及びF1世代の雌雄いずれにも対照群と比較して有意な増加を示す所見は認められなかった。上述の臓器に加え、対照群と300 ppm 群の選抜個体を対象として雌雄の動物の生殖器官、下垂体及び副腎（雄のみ）について病理組織学的検査を実施したが、いずれの世代においても検体投与との関連性が疑われる所見は認められなかった。

卵胞数；F1世代雌親動物の原始卵胞数は対照群と300 ppm 投与群に統計学的有意差は認められなかった。

児動物

臨床症状及び死亡；検体投与に起因したと考えられる臨床症状及び死亡は認められなかった。

産児数、性比、生存率；いずれの世代においても各投与群のP及びF1雌親動物数の平均産児数と、F1及びF2児動物の性比及び生存率には、対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。

体重；300 ppm 投与群のF1児では雄は哺育7日から21日、雌は哺育0日、7日、14日及び21日の値が、F2児では雌雄とも哺育4日から21日までの値が、いずれも対照群より有意に低かった。

剖検；300 ppm 投与群の哺育5日-21日に死亡した児動物及び26日齢で安楽死させた離乳時において、F1及びF2の両児動物に脾臓の暗調化と腫大が認められ、これらの所見の腹ごとの平均出現率はいずれも対照群より有意に高く、検体投与の影響と考えられた。またF1児動物では腎盂拡張の出現率が対照群と比較して統計学的に有意に低く、F2でも有意ではないものの同じ傾向を示したが、特定所見の出現率が対照群より低下することの毒性学的意義は明らかではなく、有害な変化とは考えられなかった。また哺育0-4日に死亡した児動物と選抜から外れたため哺育4日に安楽死させた児動物を剖検したところ、検体投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

臓器重量；300 ppm 投与群のF1及びF2離乳児の雌雄において、脾臓重量の絶対値及び体重比がいずれも対照群より有意に高く、検体投与による影響と考えられた。同群では脳及び胸腺重量に対照群と比較して統計学的に有意な差がみられているが、病理組織学的検査で異常が見られなかったことから、偶発的もしくは剖検時の体重の有意な低下を反映したものと考えられた。30 ppm 投与群ではF2の雌で胸腺重量の絶対値が対照群より有意に高かったが、体重比及び病理組織学的検査で変化が認められないことから、偶発的変化と考えられた。3 ppm 投与群ではF2児動物の雄の脳と、雌雄の胸腺重量の絶対値がそれぞれ対照群より有意に高かったが、F1児動物にはこれらの変化はなく、体重比に関してはいずれの臓器にも対照群との間に有意差は認められず、また病理組織学的検査にも変化が認められないことから偶発的変動と考えられた。

病理組織学的所見；300 ppm 投与群のF1及びF2の雌雄の脾臓にうっ血と髓外造血が対照群と比較して有意に高い頻度で観察され、検体投与による影響と考えられ

た。30 ppm 投与群では、F1 の雄における髄外造血の頻度が対照群より有意に高く、F2 の雄にも同じ傾向が見られることから、軽度ではあるが検体投与の影響と考えられた。対照群と 300 ppm 投与群の雌雄の F1 及び F2 離乳児のうち臓器重量を測定した全動物の脳及び対照群と 300 ppm 投与群の F1 離乳児の雌の胸腺について行った病理組織検査において異常は認められなかった。

以上の結果から、親動物の体重の低値ないし体重増加抑制、摂餌量減少、剖検所見、臓器重量増加及び病理組織学的変化ならびに児動物の体重の低値、臓器重量増加、剖検所見及び病理組織学的変化から、無毒性量は、3 ppm (P 世代：雄 0.186 mg/kg 体重/日、雌 0.298 mg/kg 体重/日、F1 世代：雄 0.197 mg/kg 体重/日、雌 0.294 mg/kg 体重/日) であると判断した。

また、親動物の繁殖能力に関しては、300 ppm (P 世代：雄 19.1 mg/kg 体重/日、雌 29.6 mg/kg 体重/日、F1 世代：雄 21.0 mg/kg 体重/日、雌 30.4 mg/kg 体重/日) においても毒性影響は認められなかった。

表 2. 結果の概要

表 2-1. 親動物の臨床症状

性	世代	期間	症状	投与量 (ppm)			
				0	3	30	300
雄	親 : P	育成	創傷	0/24	0/24	0/24	1/24
			痂皮	0/24	0/24	1/24	1/24
			脱毛	0/24	2/24	0/24	1/24
		繁殖	創傷	0/24	0/24	0/24	0/24
			痂皮	0/24	0/24	0/24	0/24
			脱毛	2/24	2/24	0/24	2/24
	親 : F1	育成	創傷	1/24	0/24	0/24	1/24
			痂皮	1/24	0/24	0/24	1/24
			脱毛	0/24	0/24	0/24	2/24
			尾の屈曲	1/24	0/24	0/24	0/24
		繁殖	創傷	0/24	0/24	0/24	0/24
			痂皮	0/24	0/24	0/24	0/24
			脱毛	0/24	1/24	0/24	2/24
			尾の屈曲	1/24	0/24	0/24	0/24
雌	親 : P	育成	脱毛	0/24	0/24	0/24	0/24
		繁殖 (交配・妊娠)	脱毛	1/24	1/24	0/24	0/24
			繁殖 (哺育・離乳後)	脱毛	1/24	1/24	0/24
	親 : F1	育成	脱毛	0/24	2/24	0/24	0/24
			痂皮	0/24	0/24	0/24	0/24
			眼脂	0/24	0/24	1/24	0/24
			眼球の腫大	0/24	0/24	0/24	0/24
			尾の屈曲	1/24	0/24	0/24	0/24
		繁殖 (交配・妊娠)	脱毛	0/24	2/24	0/24	0/24
			痂皮	0/24	0/24	0/24	0/24
			眼脂	0/24	0/24	0/24	0/24
			眼球の腫大	0/24	0/24	0/24	0/24
			尾の屈曲	1/24	0/24	0/24	0/24
		繁殖 (哺育・離乳後)	脱毛	0/24	0/24	0/24	0/24
			痂皮	0/24	0/24	0/24	1/24
			眼脂	0/24	0/24	1/24	0/24
			眼球の腫大	0/24	0/24	1/24	0/24
			尾の屈曲	1/24	0/24	0/24	0/24

表中の数字は、臨床症状を示した動物数/検査動物数を表す。

Fisher の直接確率計算法 : 臨床症状 †‡ P ≤ 0.05、◆‡ P ≤ 0.01

表 2. 結果の概要 (つづき)

表 2-2. 親動物の死亡、体重、体重増加量、摂餌量、検体摂取量

世代		親 : P				親 : F1					
投与量 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	
		雌	0	0	0	0	0	0	0	0	
	体重	雄	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	↓第0-7週 ↓第8-9週	
		雌	—	有意差なし	有意差なし	↓第2-10週 ↓妊娠0-20日 ↓哺育0日 ↓哺育4-14日	—	有意差なし	有意差なし	↓第0-10週 ↓妊娠0-14日 ↓妊娠20日 ↓哺育0-14日 ↓哺育21日 ↓最終	
	体重増加量	雄	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	—	有意差なし	有意差なし	↓第1-2週 ↓第3-4週 ↓第5-7週	
		雌	—	有意差なし	有意差なし	↓第1-10週 ↓哺育14日	—	有意差なし	哺育21日↑	↓第1-2週 ↓第3週 ↓第4-10週 ↓哺育4日 ↓哺育14日 ↓最終日	
	摂餌量	雄	—	↑第12-14週 ↑第16-17週	有意差なし	↑第10週 ↑第12-14週 ↑第15週 ↑第16週 ↑第17週	—	有意差なし	有意差なし	↑第16週	
		雌	—	↓第5週	有意差なし	↓第2-6週 ↓哺育7-14日	—	有意差なし	↑第9週	↓哺育7-14日	
	検体摂取量 ^a	雄	育成期間	—	0.211	2.12	21.7	—	0.233	2.33	24.6
			繁殖期間	—	0.144	1.41	14.9	—	0.137	1.38	14.8
			平均	—	0.186	1.86	19.1	—	0.197	1.98	21.0
		雌	育成期間	—	0.257	2.58	26.0	—	0.269	2.73	27.7
			繁殖期間 ^b	—	0.366	3.57	35.5	—	0.334	3.38	34.8
			妊娠期間	—	0.210	2.02	20.7	—	0.185	1.89	20.2
			哺育期間	—	0.522	5.12	50.4	—	0.484	4.86	49.4
			平均	—	0.298	2.95	29.6	—	0.294	2.98	30.4

a : mg/kg/日

一元配置分散分析後の Dunnett 多重比較検定または Kruskal-Wallis 検定後の Dunnett 型多重比較検定 :
 体重、体重増加量、摂餌量 ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

b: 妊娠期間～哺育期間の平均検体摂取量 妊娠期間及び哺育期間における平均検体摂取量は申請者で算出した。

表 2. 結果の概要 (つづき)

表 2-3. 親動物の性成熟、交配結果、精子検査

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300	
親動物	雄	包皮分離日齢(日) ^a	—	—	—	—	41.9	42.3	41.4	43.4
		包皮分離時体重(g) ^a	—	—	—	—	183	183	183	179
		交尾率 <%>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	23/24 <95.8>	24/24 <100.0>	23/24 <95.8>	22/23 <95.7>
		精巢中の精子頭部数 (x10 ⁶) ^{a,b}	201	193	193	196	212	202	219	217
			123	121	121	122	124	122	124	131
		精巢上体尾部中の 精子数 (x10 ⁶) ^{a,c}	140	144	146	139	134	122	147	143
			615	634	625	613	599	567	632	630
	運動性精子率(%)	92.4	91.9	91.6	91.9	96.2	95.5	94.1	94.5	
	正常形態精子率 (%)	97.6	98.2	97.4	96.9	98.4	97.3	97.5	97.6	
	雌	膣開口日齢(日) ^a	—	—	—	—	31.3	31.2	30.5	31.7
		膣開口時体重(g) ^a	—	—	—	—	102	100	98	96
		発情周期長(日) ^a	4.0	4.0	4.0	4.0	4.1	4.0	4.1	4.0
		正常発情周期雌率 <%>	24/24 <100.0>	23/24 <95.8>	23/24 <95.8>	23/24 <95.8>	23/24 <95.8>	23/24 <95.8>	22/24 <91.7>	23/24 <95.8>
		交尾成立までの 日数 ^a	2.4	2.7	3.0	2.5	3.0	2.3	3.2	2.9
交尾率 <%>		24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	23/23 <100.0>	
受胎率 <%>		24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	22/24 <91.7>	23/24 <95.8>	21/24 <87.5>	24/24 <100.0>	22/24 <91.7>	23/23 <100.0>	
出産率 <%>	24/24 <100.0>	24/24 <100.0>	22/22 <100.0>	23/23 <100.0>	21/21 <100.0>	24/24 <100.0>	22/22 <100.0>	23/23 <100.0>		
妊娠期間(日) ^a	22.0	22.0	22.1	22.0	22.0	22.0	22.1	22.1		
着床数 ^a	13.4	13.2	13.4	13.2	12.8	12.0	12.7	12.3		

a: 平均値

b: 上段は全精子頭部数、下段は精巢 1 g 当りの精子頭部数

c: 上段は全精子数、下段は精巢上体尾部 1 g 当りの精子数

Bartlett 検定後の一元配置分散分析及び Dunnett 多重比較検定または Kruskal-Wallis 検定及び Dunnett 型多重比較検定: 性成熟(包皮分離及び膣開口)、体重、精子(頭部)数、発情周期長、交尾成立までの日数、妊娠期間、着床数 †† P≤0.05、‡ P≤0.01

Kruskal-Wallis 検定及び Dunnett 型多重比較検定: 運動性精子率、正常形態精子率 †† P≤0.05、‡ P≤0.01

Fisher の直接確率計算法: 交尾率、正常性周期雌率、受胎率、出産率 †† P≤0.05、‡ P≤0.01

表 2. 結果の概要 (つづき)

表 2-4. 親動物の臓器重量 (雄)

世代		親 : P				親 : F1			
投与量 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300
雄	雄体重 (g)	432	434	429	425	454	458	458	434
	肝臓 : R (%)	3.27	3.23	3.21	↑ 3.49	3.24	3.15	↓ 3.07	↑ 3.40
	腎臓 : R (%)	0.294	0.299	0.286	↑ 0.316	0.282	0.280	0.272	↑ 0.298
	脾臓 : A (mg)	701	671	737	↑ 1238	732	715	754	↑ 1312
	R (%)	0.162	0.155	0.172	↑ 0.291	0.161	0.157	0.165	↑ 0.302
雌	雌体重 (g)	265	263	263	257	274	271	277	↓ 255
	脳 : R (%)	0.714	0.728	0.723	0.733	0.692	0.710	0.696	↑ 0.740
	肝臓 : A (mg)	11490	11449	11608	↑ 14687	11973	11314	12573	↑ 14487
	R (%)	4.33	4.35	4.42	↑ 5.70	4.35	4.19	4.54	↑ 5.68
	副腎 : A (mg)	43.6	43.7	42.7	↓ 37.7	44.4	44.2	46.4	↓ 38.4
	R (%)	0.01645	0.01664	0.01626	↓ 0.01469	0.01623	0.01632	0.01684	0.01508
	腎臓 : A (mg)	1004	994	1002	↑ 1092	1054	1007	1083	1077
	R (%)	0.379	0.379	0.381	↑ 0.424	0.385	0.373	0.392	↑ 0.423
	子宮 : A (mg)	535	535	509	502	548	532	544	↓ 479
	脾臓 : A (mg)	615	613	673	↑ 1600	614	589	↑ 720	↑ 1530
	R (%)	0.232	0.234	0.256	↑ 0.623	0.225	0.218	↑ 0.261	↑ 0.599
	甲状腺 : R (%)	0.00810	0.00783	0.00772	↑ 0.00874	0.00806	0.00787	0.00841	0.00908

表中の値は平均値

A : 絶対重量 R : 相対重量 (体重比)

Bartlett 検定後の一元配置分散分析及び Dunnett 多重比較検定または Kruskal-Wallis 検定及び Dunnett 型多重比較検定 : 臓器重量 ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

表 2. 結果の概要 (つづき)

表2-5. 親動物の剖検所見

検査	性	世代	親 : P				親 : F1			
		投与量 (ppm)	0	3	30	300	0	3	30	300
剖検	雄	検査動物数	24 (-)	24 (-)	22 (2)	23 (1)	20 (4)	24 (-)	21 (3)	22 (2 ^a)
		肝臓 : 暗調化	0 (-)	0 (-)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (-)	0 (0)	▲7 (1)
		腎臓 : 暗調化	0 (-)	0 (-)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (-)	0 (0)	▲6 (0)
		脾臓 : 腫大	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲19 (1)	0 (0)	0 (-)	0 (0)	▲21 (1)
		暗調化	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲23 (1)	0 (0)	0 (-)	0 (0)	▲22 (2)
	雌	検査動物数	24 (-)	24 (-)	22 (2)	23 (1)	21 (3)	24 (-)	22 (2)	23 (1 ^a)
		肝臓 : 腫大	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲13 (0)	0 (0)	0 (-)	0 (0)	▲15 (0)
		暗調化	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲23 (1)	0 (0)	0 (-)	1 (0)	▲23 (1)
		腎臓 : 暗調化	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲23 (1)	0 (0)	0 (-)	1 (0)	▲23 (1)
		脾臓 : 腫大	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲23 (1)	0 (0)	0 (-)	1 (0)	▲23 (1)
		暗調化	0 (-)	0 (-)	0 (0)	▲23 (1)	0 (0)	0 (-)	4 (0)	▲23 (1)

() : 雌乳児のいなかった動物。統計検定は実施せず。

a: 交尾が認められないまま分娩した雌雄の1組を含む

Fisherの直接確率計算法 : 剖検所見 ↑↓ P ≤ 0.05、▲◆ P ≤ 0.01

表 2. 結果の概要 (つづき)

表2-6. 親動物の病理組織所見及び原始卵胞数

検査	性	世代	親 : P				親 : F1			
		投与量 (ppm)	0	3	30	300	0	3	30	300
病理組織検査	雄	検査動物数	24(-)	24(-)	22(2)	23(1)	20(4)	24(-)	21(3)	22(2 ^a)
		胸骨骨髄 : 造血亢進	2(-)	4(-)	5(0)	▲21(1)	0(1)	1(-)	2(1)	▲21(1)
		大腿骨骨髄 : 造血亢進	3(-)	3(-)	2(0)	▲16(0)	0(1)	2(-)	4(1)	▲21(1)
		脾臓 : うっ血	1(-)	1(-)	2(0)	▲23(1)	1(1)	2(-)	↑7(1)	▲22(2)
		褐色色素沈着	0(-)	0(-)	0(0)	▲23(1)	3(2)	7(-)	▲20(3)	▲22(2)
		髄外造血亢進	3(-)	5(-)	↑10(2)	▲23(1)	3(1)	7(-)	▲13(1)	▲22(2)
		肝臓 : 小葉中心性脂肪化	0(-)	0(-)	0(0)	↑5(0)	0(0)	0(-)	1(0)	▲18(2)
		クッパー細胞褐色色素沈着	0(-)	0(-)	0(0)	▲14(1)	0(0)	0(-)	0(0)	▲8(2)
		小葉中心性肝細胞肥大	0(-)	0(-)	0(0)	▲7(0)	0(0)	0(-)	0(0)	↑6(1)
		髄外造血亢進	0(-)	0(-)	3(0)	▲11(0)	0(0)	0(-)	1(0)	▲8(1)
	腎臓 : 尿管好塩基性変化	0(-)	1(-)	0(0)	▲6(0)	0(0)	1(-)	2(1)	▲7(1)	
	近位尿管褐色色素沈着	6(-)	4(-)	7(1)	▲19(1)	3(1)	1(-)	4(1)	▲16(2)	
	雌	検査動物数	24(-)	24(-)	22(2)	23(1)	21(3)	24(-)	22(2)	23(1 ^a)
		胸骨骨髄 : 造血亢進	2(-)	3(-)	4(2)	▲23(1)	3(2)	5(-)	↑10(1)	▲23(1)
		大腿骨骨髄 : 造血亢進	3(-)	4(-)	5(1)	▲23(1)	2(2)	6(-)	▲13(1)	▲23(1)
		脾臓 : うっ血	10(-)	10(-)	▲21(0)	▲23(1)	11(0)	9(-)	▲21(1)	▲23(1)
		褐色色素沈着	5(-)	8(-)	▲22(2)	▲23(1)	7(3)	10(-)	▲22(2)	▲23(1)
		髄外造血亢進	0(-)	0(-)	1(1)	▲23(1)	0(0)	1(-)	2(2)	▲23(1)
		肝臓 :								
		クッパー細胞褐色色素沈着	0(-)	0(-)	2(2)	▲22(1)	0(0)	0(-)	0(0)	▲19(1)
小葉中心性肝細胞肥大		0(-)	0(-)	0(0)	▲15(0)	0(0)	0(-)	0(0)	▲14(1)	
胆管過形成		0(-)	0(-)	0(0)	▲23(1)	0(0)	0(-)	0(0)	▲23(1)	
髄外造血亢進	0(-)	0(-)	0(0)	▲10(1)	0(0)	0(-)	0(0)	▲14(1)		
腎臓 : 尿円柱	0(-)	1(-)	1(0)	↑4(0)	2(0)	1(-)	1(0)	3(0)		
近位尿管褐色色素沈着	0(-)	0(-)	0(0)	▲23(1)	0(0)	0(-)	0(0)	▲22(1)		
卵胞	雌	原始卵胞数 (平均値)	-	-	-	-	293	-	-	259

() : 離乳児のいなかった動物。統計検定は実施せず。

a: 交尾が認められないまま分娩した雌雄の1組を含む

Fisher の直接確率計算法 : 病理組織所見 ↑↓ P ≤ 0.05、▲▼ P ≤ 0.01

Student の t 検定 : 原始卵胞数 ↑↓ P ≤ 0.05、▲▼ P ≤ 0.01

表 2. 結果の概要 (つづき)

表 2-7. 児動物の産児数、性比、臨床症状、生存率、体重

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300	
児動物	産児数 ^a	12.8	12.3	12.7	12.8	11.8	11.4	11.8	11.5	
	性比(雄数/産児数)	0.523	0.474	0.475	0.473	0.526	0.465	0.498	0.520	
	臨床症状	—				検体投与に起因する異常なし				
	生存率 (%) ^a	哺育 0 日	99.7	99.7	98.5	99.7	99.2	100.0	100.0	100.0
		哺育 4 日	100.0	97.6	99.7	98.6	100.0	100.0	100.0	98.8
		哺育 7 日	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
		哺育 14 日	99.5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
		哺育 21 日	99.5	100.0	100.0	99.5	100.0	100.0	100.0	100.0
	体重 (g) ^a									
	雄	生後 0 日	5.8	5.8	5.9	5.6	6.0	6.1	6.1	6.0
生後 4 日		10.0	10.1	10.1	9.5	10.8	10.9	10.7	↓10.0	
生後 7 日		16.7	16.6	16.6	↓15.8	17.6	17.8	17.4	↓15.6	
生後 14 日		35.8	35.6	34.8	↓31.8	35.8	36.1	36.0	↓30.7	
生後 21 日		55.7	56.1	55.1	↓50.8	55.2	56.3	56.7	↓50.0	
雌	生後 0 日	5.5	5.5	5.6	↓5.3	5.6	5.8	5.7	5.5	
	生後 4 日	9.7	9.8	9.9	9.1	10.3	10.3	10.3	↓9.6	
	生後 7 日	16.3	16.3	16.2	↓15.1	16.9	17.0	16.8	↓15.2	
	生後 14 日	34.9	34.8	34.1	↓30.8	34.7	34.7	34.9	↓30.0	
	生後 21 日	54.0	54.0	53.2	↓48.7	52.7	53.6	54.2	↓48.2	

a: 平均値

Bartlett 検定後の一元配置分散分析及び Dunnett 多重比較検定または Kruskal-Wallis 検定及び Dunnett 型多重比較検定: 産児数、体重 ↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

Kruskal-Wallis 検定及び Dunnett 型多重比較検定: 生存率 ↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

Fisher の直接確率計算法: 性比 ↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

Mann-Whitney U 検定: 臨床症状 ↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

表 2. 結果の概要 (つづき)

表 2-8. 児動物の臓器重量、剖検所見、病理組織所見

世代		児 : F1				児 : F2				
投与量 (ppm)		0	3	30	300	0	3	30	300	
臓器重量	雄	雄体重 (g)	79	81	79	↓73	79	82	82	↓73
		脳 : A (mg)	1540	1561	1528	1526	1537	↑1578	1559	1519
		R (%)	1.95	1.94	1.94	↑2.10	1.95	1.94	1.90	↑2.09
		脾臓 : A (mg)	315	299	321	↑476	307	320	318	↑467
		R (%)	0.399	0.370	0.407	↑0.653	0.388	0.391	0.388	↑0.640
		胸腺 : A (mg)	289	294	279	↓248	271	↑298	290	↓235
	R (%)	0.364	0.363	0.354	0.339	0.342	0.365	0.354	0.322	
	雌	雌体重 (g)	76	75	74	↓68	72	76	75	↓67
		脳 : A (mg)	1493	1514	1493	↓1450	1471	1498	1498	1480
		R (%)	1.99	2.01	2.02	↑2.13	2.05	1.99	1.99	↑2.21
		脾臓 : A (mg)	276	273	279	↑435	258	274	275	↑419
		R (%)	0.366	0.361	0.376	↑0.639	0.355	0.362	0.364	↑0.625
胸腺 : A (mg)		285	285	286	↓226	251	↑279	↑278	230	
R (%)	0.378	0.377	0.385	↓0.331	0.349	0.369	0.369	0.344		
子宮 : A (mg)	72.8	65.4	67.4	66.2	63.5	61.3	66.4	57.8		
R (%)	0.0962	0.0869	0.0912	0.0967	0.0881	0.0812	0.0879	0.0861		
剖検所見 :										
①0-4 日齢児の剖検 ; 有意差のある所見なし										
②26 日齢での剖検所見頻度 (%) (哺育 5 日以降に死亡した児を含む)										
腎臓 : 腎盂拡張	6.9	4.9	2.7	↓0	2.4	2.6	3.4	0		
脾臓 : 暗調化	0	0	0	↑97.8	0	0	0	↑99.0		
脾臓 : 腫大	0	0	0	↑55.9	0	0	0	↑17.7		
病理組織所見 : 臓器重量測定児について実施										
脾臓 : うっ血	雄	1/24	1/24	1/24	↑22/22	0/21	0/24	0/22	↑24/24	
	雌	1/24	0/23	0/22	↑23/23	0/21	0/24	0/22	↑24/24	
脾臓 :	雄	5/24	4/24	↑12/22	↑22/22	3/21	5/24	8/22	↑24/24	
	雌	5/24	4/23	5/22	↑23/23	1/21	4/24	5/22	↑24/24	

a : 平均値

A : 絶対重量 R : 相対重量 (体重比)

Bartlett 検定後の一元配置分散分析及び Dunnett 多重比較検定または Kruskal-Wallis 検定及び Dunnett

型多重比較検定 : 体重、臓器重量 ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

Mann-Whitney U 検定 : 剖検所見 ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

Fisher の直接確率計算法 : 病理組織所見 ↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

ラットにおける催奇形性試験

(資料 19)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体純度: %

供試動物: Wistar Hannover 系妊娠ラット (BrlHan:WIST@Jcl GALAS)、
13 週齢 (交配開始時)、一群あたり交尾成立雌 24 匹

投与期間: 妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間

(2008 年 9 月 15 日～2008 年 10 月 1 日、交配 4 日間)

投与方法: 検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、3、30 及び 300 mg/kg/
日の投与量で妊娠後 6 日から 19 日までの 14 日間、毎日 1 回ほぼ同時刻に、10
mL/kg 体重の容量で胃ゾンデを用いて強制経口投与した (腔栓または腔垢中精
子確認日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群に 1%カルボキシメチルセルロース
水溶液を同様に投与した。

用量設定根拠;

観察・検査項目:

親動物; 試験期間 (妊娠 0 日～20 日) 中、一般状態及び生死を毎日少なくとも 1 回 (投
与期間中は 2 回) 観察して所見を記録した。各動物の体重を妊娠 0 日、6 日、9
日、12 日、15 日、18 日及び 20 日に測定して記録した。妊娠 20 日の体重から
妊娠子宮重量を減じた重量を補正体重とした。妊娠 9 日、12 日、15 日、18 日

及び 20 日の体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて、体重増加量を求めた。体重測定時に飼料の給与量または残量を測定し、飼料消費量を給与日数で除して 1 日当りの平均摂餌量 (g/rat/日) を算出した。妊娠 20 日目に安楽死させて剖検し所見を記録した。また、剖検時に卵巣と子宮の状態を検査した。受胎産物が肉眼的に認められる雌は、妊娠子宮の重量を測定し、黄体数及び着床数を記録した。着床前胚死亡率を次の式から求めた。

$$\text{着床前胚死亡率 (\%)} = (\text{黄体数} - \text{着床数}) \div \text{黄体数} \times 100$$

妊娠子宮重量の測定は、妊娠 20 日まで生存した動物について実施した。肉眼的に受胎物が認められなかった子宮を 10% 硫化アンモニウム水溶液に浸漬して染色し、着床の有無を検査した。

胎児；生存胎児と死亡胚・胎児の数を記録した。生存胎児の体重及び胎盤重量を測定し、性の判定と外表及び体孔を検査した。各腹約半数の胎児についてまず、Stuckhardt と Poppe の未固定内臓検査法に従って各胎児の胸部と腹部の軟組織を検査した。検査後、これらの胎児と胎盤をブアン液で固定し、胎児の頭部から Wilson 法に準じて粗大切片を作製し、眼球、脳及び舌を検査した。各腹の残りの約半数の胎児は、70% エタノールで固定した後、アリザリン・レッド S とアルシアン・ブルーで染色し、70% グリセリン水溶液に浸漬して透明骨格標本作製し、骨格検査を行った。

結 果：概要を次頁以降の表に示す。

母動物；

投与量 (mg/kg/日)		対照 (0)	3	30	300
1 群当り交尾確認雌数		24	24	24	24
妊娠雌数		23	24	24	24
不妊雌数		1	0	0	0
死亡雌数		0	0	0	0
一般状態		-	影響なし	影響なし	影響なし
体重		-	有意差なし	有意差なし	有意差なし
体重増加量		-	有意差なし	↓妊娠 6-12 日 ↓妊娠 6-9 日 ↓妊娠 6-15 日	↓妊娠 6-9 日 ↓妊娠 6-12 日 ↓妊娠 6-15 日 ↓妊娠 6-18 日 ↓妊娠 6-20 日
摂餌量		-	有意差なし	↓妊娠 6-9 日 ↓妊娠 9-12 日	↓妊娠 6-9 日 ↓妊娠 9-12 日 ↓妊娠 12-15 日
剖検 所見	検査雌数	24 ^b	24	24	24
	脾臓：腫大 発現数	0	0	▲24	▲24
	脾臓：暗調化 発現数	0	0	▲24	▲24
妊娠子宮重量 (g) ^a		65	67	67	64
補正体重 (g) ^a		261	258	254	↓250
着床 所見	検査母動物数	23	24	24	24
	全胚吸収の腹数	0	0	0	0
	生存胎児のある腹数	23	24	24	24
	黄体数 ^a	13.8	14.0	13.9	13.8
	着床数 ^a	12.9	12.7	13.0	12.5
	着床前胚死亡率 (%) ^a	6.8	9.0	6.1	8.9
	胚・胎児死亡率 ^a	5.3	1.9	5.6	3.9
	生存胎児数 ^a	12.2	12.5	12.3	12.0
	胎児性比 ^a	0.411	↑0.512	▲0.522	0.476
	胎児体重 (mg) ^a				
雄	3524	3552	3551	3450	
雌	3373	3376	3413	3243	
胎盤重量 (mg) ^a		430	438	435	427

a：平均

b：不妊動物 1 匹を含む

着床前胚死亡率 (%) = (黄体数 - 着床数) / 黄体数 × 100

胚・胎児死亡率 (%) = (死亡胚・胎児数 / 着床数) × 100

胎児性比 = 総雄生存胎児数 / 総生存胎児数

Bartlett 検定後の一元配置分散分析法と Dunnett の多重比較検定法、もしくは Kruskal-Wallis の検定法と Dunnett 型ノンパラメトリック多重比較検定法：母動物の体重、補正体重、体重増加量、摂餌量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児体重及び胎盤重量

Kruskal-Wallis 検定と Dunnett 型ノンパラメトリック多重比較検定法：着床前胚死亡率及び胚・胎児死亡率

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法：母動物の臨床所見と剖検所見の出現頻度及び生存胎児の性比

↑↓ P ≤ 0.05、▲▼ P ≤ 0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり

胎児動物；

胎児奇形のまとめ表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	3	30	300
生存胎児を持つ雌数	23	24	24	24
奇形胎児を持つ雌数(%)	3(13.0)	5(20.8)	4(16.7)	5(20.8)
外表検査：				
検査胎児数	280	299	295	288
奇形のある胎児数(%)	1(0.4)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
内臓検査：				
検査胎児数	134	143	141	138
奇形のある胎児数(%)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.7)
骨格検査：				
検査胎児数	146	156	154	150
奇形のある胎児数(%)	2(1.4)	5(3.2)	4(2.6)	5(3.3)

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↕ $P \leq 0.01$

胎児変異のまとめ表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	3	30	300
生存胎児を持つ雌数	23	24	24	24
変異胎児を持つ雌数(%)	23(100.0)	24(100.0)	23(95.8)	24(100.0)
外表検査：				
検査胎児数	280	299	295	288
変異のある胎児数(%)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
内臓検査：				
検査胎児数	134	143	141	138
変異のある胎児数(%)	21(15.7)	27(18.9)	28(19.9)	13(9.4)
骨格検査：				
検査胎児数	146	156	154	150
変異のある胎児数(%)	96(65.8)	116(74.4)	103(66.9)	114(76.0)

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↕ $P \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

胎児奇形の群腹頻度表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	3	30	300
外表検査:				
検査腹(胎児)数	23(280)	24(299)	24(295)	24(288)
外表奇形のある腹(胎児)数	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
鎖肛	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
内臓検査:				
検査腹(胎児)数	23(134)	24(143)	24(141)	24(138)
内臓奇形のある腹(胎児)数	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
内臓逆位症(腹部)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
左肺の分葉異常(過剰分葉)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
骨格検査:				
検査腹(胎児)数	23(146)	24(156)	24(154)	24(150)
骨格奇形のある腹(胎児)数	2(2)	5(5)	4(4)	4(5)
肋軟骨の分岐	2(2)	5(5)	2(2)	4(5)
胸椎弓の癒合	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
胸椎体半椎体	0(0)	0(0)	2(2)	0(0)

(): 胎児数

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法: $\uparrow\downarrow$ $P \leq 0.05$ 、 $\blacktriangle\blacktriangledown$ $P \leq 0.01$

胎児変異の群腹頻度表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	3	30	300
外表検査:				
検査腹(胎児)数	23(280)	24(299)	24(295)	24(288)
外表変異のある腹(胎児)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
内臓検査:				
検査腹(胎児)数	23(134)	24(143)	24(141)	24(138)
内臓変異のある腹(胎児)数	16(21)	16(27)	16(28)	8(13)
胸腺頸部残留	1(1)	2(2)	0(0)	0(0)
左側臍動脈	16(20)	16(27)	16(28)	\downarrow 8(13)
骨格検査:				
検査腹(胎児)数	23(146)	24(156)	24(154)	24(150)
骨格変異のある腹(胎児)数	23(96)	24(116)	23(103)	24(114)
胸骨分節配列異常	1(1)	1(1)	5(6)	3(3)
頸肋	3(3)	5(7)	3(3)	5(6)
肋軟骨不連続	19(44)	20(\uparrow 69)	22(62)	23(\blacktriangle 72)
過剰肋骨	23(89)	21(81)	\downarrow 19(\downarrow 70)	23(89)
波状肋骨	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
胸椎体ダンベル状骨化	1(1)	1(1)	2(2)	0(0)
腰椎体二分骨化	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
腰仙移行椎	6(7)	5(6)	6(8)	5(8)
仙椎前椎骨数 27	5(9)	5(5)	4(5)	3(3)

(): 胎児数

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法: $\uparrow\downarrow$ $P \leq 0.05$ 、 $\blacktriangle\blacktriangledown$ $P \leq 0.01$

母動物に対する検体の影響は、30 及び 300 mg/kg/日投与群に認められた。300 mg/kg/日投与群では、妊娠 20 日の補正体重、試験期間中のすべての体重増加量、ならびに妊娠 6-9 日、9-12 日及び 12-15 日の摂餌量がいずれも対照群より有意に低く、妊娠 20 日剖検ではすべての母動物に脾臓の腫大と暗調化が観察された。30 mg/kg/日投与群では、妊娠 6-9 日、6-12 日及び 6-15 日の体重増加量ならびに妊娠 6-9 日及び 9-12 日の摂餌量が対照群より有意に低く、剖検時にすべての母動物に脾臓の腫大と暗調化が認められた。3 mg/kg/日投与群では、検体投与に関連する変化は何も認められなかった。

卵巣及び子宮の観察では、いずれの投与群の妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率にも、検体投与の影響は認められなかった。

胎児に対しては生存胎児数、胚・胎児死亡率、胎児体重、胎盤重量及び性比といった指標に、検体投与の影響は認められなかった。3 及び 30 mg/kg/日投与群の性比は対照群より有意に高かったが、より高い用量の 300 mg/kg/日投与群に有意な差が認められないことから、検体投与に関連しない偶発的な変化であると考えられた。

胎児の奇形学的検査では、いずれの投与群にも検体投与に関連すると考えられるような奇形の増加は認められなかった。変異に関しては、左側臍動脈の腹頻度、肋軟骨不連続の胎児頻度、過剰肋骨の腹及び胎児頻度に対照群と比較して統計学的に有意な差が認められる投与群がいくつかみられたが、何らかの内臓変異及び骨格変異がみられた胎児の頻度には、対照群と各投与群の間で統計学的に有意な差は認められなかった。

内臓変異では 300 mg/kg/日投与群における左側臍動脈の腹頻度が対照群より有意に低かったが、胎児頻度には有意な差が認められず、偶発的な変化と考えられた。骨格変異に関しては、統計学的に有意な変化のみられた所見のうち、過剰肋骨については胎児と腹の頻度に有意な変化が認められた群が 30 mg/kg 投与群のみであり、より高い用量の 300 mg/kg/日投与群には同様な変化がみられないこと、ならびに 30 mg/kg/日投与群における頻度が対照群よりもむしろ低いものであることから、検体投与とは全く関連のない偶発的な変化であると考えられた。肋軟骨不連続に関しては、3 及び 300 mg/kg/日投与群における胎児の頻度が対照群よりも有意に高かった。しかしながら、3 mg/kg 投与群にみられた変化に関しては、当該所見の各試験群における出現頻度が対照群ならびに 3、30 及び 300 mg/kg/日投与群でそれぞれ 44/146(30.1%)、69/156(44.2%)、62/154(40.3%)、72/150(48.0%)であり、これらを当該試験施設において同系統のラットを用いて実施された過去 2 試験の対照群における出現頻度の範囲(29.7-44.8%)と比較すると、3 mg/kg/日投与群の値は背景対照値の範囲内であること、さらに、より高い用量の 30 mg/kg/日投与群の頻度には対照群との間で統計学的に有意な差がみられないことから、偶発的な変化であると考えられた。一方、300 mg/kg/日投与群にみられた当該所見の有意な増加に関しては、その頻度がわずかではあるが背景対照値の範囲を超えるものであることから、検体投与との関連を否定することはできなかった。しかしながら、観察された

肋軟骨不連続は、対照群を含むいずれの試験群においても、第9肋骨の肋軟骨遠位端にごく小さい軟骨が点状に存在するという非常に軽微な変化であった。第9肋軟骨は、より上位の肋軟骨のように胸骨体に関節するものではなく、その遠位端付近にみられるわずかな不連続は、肋軟骨遊離端における軟骨形成のわずかな変化を反映したものに過ぎず、胎児の出生後に有害な影響を及ぼすような所見ではないと考えられた。したがって、300 mg/kg/日投与群の胎児における肋軟骨不連続の有意な増加は検体投与の影響であったとしても、発生毒性学上有害と判断されるような変化ではないと考えられた。

以上の結果より、30 mg/kg 体重/日以上投与群において母動物に体重増加抑制、摂餌量の低下、脾臓の腫大及び暗調化が認められたため母動物の無毒性量は3 mg/kg 体重/日であり、胎児に対しては最高用量の300 mg/kg 体重/日でも毒性影響は認められなかったため無毒性量は300 mg/kg 体重/日であると結論された。また、最高投与量の300 mg/kg 体重/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料 20)

試験機関：

[GLP 非対応]

報告書作成年：2009 年

検体純度： %

供試動物：日本白色種妊娠ウサギ（18 または 19 週齢）、一群 25 匹（但し、3 mg/kg/日投与群では、投与操作中の落下事故で死亡した 1 匹の全てのデータを試験成績の評価より除外したため 24 匹となった）

投与期間：妊娠 6 日から 27 日までの 22 日間

（2008 年 11 月 23 日～2008 年 12 月 18 日、交配 5 日間）

投与方法：検体を 1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、0.5、3 及び 15 mg/kg/日の投与レベルで妊娠後 6 日目から 27 日目までの 22 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群に 1%カルボキシメチルセルロース水溶液を同様に投与した。人工授精を行った日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物；試験期間中（妊娠 0～28 日）一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日目（剖検日）に体重を測定した。さらに妊娠 28 日の体重から妊娠子宮重量を減じた補正体重を算出した。体重増加量は妊娠 9、12、15、18、21、27 及び 28 日の体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて求めた。飼料の給与量または残量を妊娠 0、3、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28 日に測定し、飼料消費量を給与日数で除して 1 日当りの平均摂取量（g/rabbit/日）を算出した。妊娠 28 日目に安楽死させて剖検し、所見を記録した。剖検時に卵巣と子宮の状態を検査した。子宮内に受胎産物が認められる雌は、妊娠子宮の重量を測定し、黄体数及び着床数を記録した。着床前胚

死亡率 (%) は (黄体数 - 着床数) ÷ 黄体数 × 100 として求めた。肉眼的に受胎産物が認められない雌は、子宮を 10% 硫化アンモニア水溶液に浸漬して着床部位が染色されるか否かを観察し、妊娠早期における胚死亡の有無を確認した。また受胎産物が肉眼的に観察されない雌については、黄体数、着床数ならびに着床前胚死亡率の群平均値の計算から除外した。

胎児；生存胎児と死亡胚・胎児の数並びに子宮内の位置を記録した。生存胎児の体重と胎盤重量を記録した後、生殖腺を観察して性を調べた。群ごとに性比 (性比 = 総雄胎児数 / 総生存胎児数) を求めた。胎児は個体識別後、安楽死させた後、外表及び体孔を検査した。次に、Stuchardt と Poppe の未固定内臓検査法に従って各胎児の胸部と腹部の軟組織を検査した。約半数の胎児は、眼球検査の後カミソリで頭部冠状縫合に沿って割を入れて脳を観察した。残り約半数の胎児は頭部を口裂に沿って切断してブアン液で 4 週間以上固定後、Wilson 法に準じて眼球、脳、鼻腔及び舌を観察した。胎児の骨格部分は、70% イソプロピルアルコールで固定した後アリザリン・レッド S で染色し、70% グリセリン水溶液に浸漬して透明骨格標本を作製し、骨格検査を行った。

結 果：概要を次頁以降の表に示した。

母動物に対する検体投与の影響は、0.5 及び 3 mg/kg/日投与群では何もみられなかった。15 mg/kg/日投与群では、検体投与による影響として、妊娠 12 日から 21 日にかけて摂餌量に有意な低下がみられ、この変化に対応して妊娠 6-21 日の体重増加量にも有意な低下が観察された。また、投与の継続にしたがって、一部の母動物に著しい体重の減少や摂餌の停止が観察された。帝王切開時の剖検では、脾臓暗調化が 23 例中 21 例の雌で認められ、そのうちの 1 例には脾臓腫大も観察された。卵巣及び子宮の観察では、いずれの投与群においても、妊娠子宮重量、黄体数、着床数及び着床前胚死亡率といった指標に、検体投与による影響は認められなかった。

胎児に対する検体投与の影響は、0.5 及び 3 mg/kg/日投与群では何もみられなかった。15 mg/kg/日投与群では、生存胎児の体重が雌雄ともに対照群の値と比較して有意に低かった。生存胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比及び胎盤重量といった指標に、検体投与による影響は何も認められなかった。

生存胎児の奇形学的検査において、外表、内臓及び骨格検査を通じ、検体投与に起因するような奇形または変異の増加は認められなかった。

以上の結果より、15 mg/kg/日投与群では、母動物に対しては摂餌量の低下とそれに伴う体重増加抑制及び脾臓暗調化が認められ、胎児に対しては体重の低値が認められたため、母動物及び胎児動物に対する無毒性量は、いずれも 3 mg/kg 体重/日であると結論された。また、最高投与量の 15 mg/kg 体重/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

母動物；

投与群(mg/kg/日)		対照(0)	0.5	3	15	
1群当り動物数		25	25	24	25	
妊娠雌数		25	25	24	24	
不妊娠雌数		0	0	0	1	
途中死亡・切迫 殺雌数	妊娠	0	0	0	0	
	不妊	0	0	0	0	
流産・早産雌数		1	1	0	2	
生存雌数	妊娠	24	24	24	22	
	不妊	0	0	0	1	
全胚吸収雌数	染色で	1	0	2	0	
	肉眼で	0	0	0	0	
生存胎児を持つ雌数		23	24	22	22	
一般状態			影響なし	影響なし	影響なし	
体重			有意差なし	有意差なし	有意差なし	
妊娠子宮重量(g) ^a		415	402	430	416	
補正体重(g) ^a		3375	3425	3335	3266	
体重増加量	妊娠 6-9 日		↓	↓	有意差なし	
	妊娠 6-21 日		有意差なし	有意差なし	↓	
摂餌量	妊娠 12-15 日		有意差なし	有意差なし	↓	
	妊娠 15-18 日		有意差なし	有意差なし	↓	
	妊娠 18-21 日		有意差なし	有意差なし	↓	
			有意差なし	有意差なし	↓	
剖検所見			有意差なし	有意差なし	▲脾臓暗調化	
着床 所見	検査母動物数	23	24	22	22	
	黄体数 ^a	9.9	11.0	10.8	11.3	
	着床数 ^a	8.4	8.4	9.3	9.3	
	着床前胚死亡率(%) ^a	15.2	23.0	14.4	19.0	
	胚・胎児死亡率(%) ^a	6.3	11.7	12.1	9.1	
	生存胎児数 ^a	7.9	7.4	8.0	8.6	
	胎児性比(%) ^a	0.481	0.522	0.497	0.460	
	胎児体重(g) ^a	雄	36.7	37.2	36.7	↓31.6
		雌	35.8	35.6	35.5	↓31.5
胎盤重量(mg) ^a		5088	5151	5237	5216	

a：平均値、補正体重＝妊娠 28 日の体重－妊娠子宮重量、胎児性比＝総雄胎児数/総生存胎児数

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法：臨床症状、剖検所見、胎児性比

↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

Bartlett 検定後の一元配置分散分析法と Dunnett の多重比較検定法もしくは Kruskal-Wallis の検定法と Dunnett 型の多重比較検定法：体重、補正体重、体重増加量、摂餌量、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、着床前胚死亡率、生存胎児数、胚・胎児死亡率、胎児体重、胎盤重量 ↑↓ P≤0.05、▲▼ P≤0.01

胎児；

胎児奇形のとまとめ表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	0.5	3	15
生存胎児を持つ雌数	23	24	22	22
奇形胎児を持つ雌数(%)	8(34.8)	3(12.5)	4(18.2)	↓2(9.1)
外表検査：				
検査胎児数	181	178	177	189
奇形のある胎児数(%)	2(1.1)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
内臓検査：				
検査胎児数	181	178	177	189
奇形のある胎児数(%)	3(1.7)	1(0.6)	3(1.7)	3(1.6)
骨格検査：				
検査胎児数	181	178	177	189
奇形のある胎児数(%)	8(4.4)	3(1.7)	↓1(0.6)	↓0(0.0)

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↕ $P \leq 0.01$

胎児変異のとまとめ表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	0.5	3	15
生存胎児を持つ雌数	23	24	22	22
変異胎児を持つ雌数(%)	19(82.6)	22(91.7)	17(77.3)	18(81.8)
外表検査：				
検査胎児数	181	178	177	189
変異のある胎児数(%)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
内臓検査：				
検査胎児数	181	178	177	189
変異のある胎児数(%)	10(5.5)	8(4.5)	4(2.3)	10(5.3)
骨格検査：				
検査胎児数	181	178	177	189
変異のある胎児数(%)	47(26.0)	43(24.2)	45(25.4)	38(20.1)

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↕ $P \leq 0.01$

胎児奇形の群腹頻度表

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	0.5	3	15
外表検査：				
検査腹 (胎児) 数	23 (181)	24 (178)	22 (177)	22 (189)
外表奇形のある腹 (胎児) 数	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
のう疱 (頸背部皮膚)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
欠指症及び短尾	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓検査：				
頭部 (ブアン液固定)；				
検査腹 (胎児) 数	23 (96)	24 (95)	22 (95)	22 (102)
内臓奇形のある腹 (胎児) 数	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
小脳形態異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
頭部 (未固定)；				
検査腹 (胎児) 数	23 (85)	24 (83)	22 (82)	21 (87)
奇形のある腹 (胎児) 数	2 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
脳室拡張	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
小眼球症	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
体部：				
検査腹 (胎児) 数	23 (181)	24 (178)	22 (177)	22 (189)
内臓奇形のある腹 (胎児) 数	1 (1)	0 (0)	2 (2)	2 (3)
肺欠損	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
肺小型	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
脾臓小型	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
左総頸動脈狭窄	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)
右鎖骨下動脈狭窄	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)

()：胎児数

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↑↓ $P \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は北興化学工業株式会社にある。

胎児奇形の群腹頻度表 (つづき)

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	0.5	3	15
骨格検査:				
頭部:				
検査腹(胎児)数	23(85)	24(83)	22(82)	21(87)
骨格奇形のある腹(胎児)数	2(2)	1(1)	0(0)	0(0)
前頭骨癒合	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
頭頂間骨形態異常	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
上後頭骨形態異常	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
上後頭骨小型	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
体部:				
検査腹(胎児)数	23(181)	24(178)	22(177)	22(189)
骨格奇形のある腹(胎児)数	5(6)	2(2)	1(1)	↓0(↓0)
胸骨分節癒合	4(5)	2(2)	1(1)	0(↓0)
胸椎体半椎体	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肋骨癒合	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
指(趾)節骨欠損	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
中手骨欠損	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
尾椎体癒合	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)

(): 胎児数

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法: ↑↓ $P \leq 0.05$ 、↑↓ $P \leq 0.01$

胎児変異の群腹頻度表

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	0.5	3	15
外表検査：				
検査腹(胎児)数	23(181)	24(178)	22(177)	22(189)
外表変異のある腹(胎児)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
内臓検査：				
頭部(ブアン液固定)；				
検査腹(胎児)数	23(96)	24(95)	22(95)	22(102)
内臓変異のある腹(胎児)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
頭部(未固定)；				
検査腹(胎児)数	23(85)	24(83)	22(82)	21(87)
内臓変異のある腹(胎児)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
体部；				
検査腹(胎児)数	23(181)	24(178)	22(177)	22(189)
内臓変異のある腹(胎児)数	9(10)	6(8)	3(4)	5(10)
胸腺頸部残留	9(10)	6(8)	3(4)	5(10)
骨格検査：				
頭部；				
検査腹(胎児)数	23(85)	24(83)	22(82)	21(87)
骨格変異のある腹(胎児)数	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
体部；				
検査腹(胎児)数	23(181)	24(178)	22(177)	22(189)
骨格変異のある腹(胎児)数	17(47)	21(43)	17(45)	17(38)
頸肋	0(0)	1(1)	0(0)	2(2)
胸骨分節配列異常	3(3)	2(2)	1(1)	0(0)
胸椎体二分骨化	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
過剰肋骨	15(45)	17(36)	16(42)	13(↓30)
仙椎前椎骨 27	6(9)	8(11)	8(12)	7(7)
腰椎移行椎	3(3)	5(5)	3(3)	3(4)

()：胎児数

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↑↓ $P \leq 0.01$