

3) マウスを用いた混餌投与による発がん性試験

(資料 No.T-16)

試験機関：

報告書作成年：2008 年

[GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：C57BL/10J_{CD-1} マウス、1 群雌雄各 50 匹

投与開始時；約 5-6 週齢

投与開始時体重範囲；雄 18.3～25.0 g、雌 14.5～21.0 g

投与期間：80 週間

投与開始日 2006 年 7 月 31 日～8 月 4 日

投与方法：検体を 0、70、500 および 3500 ppm の濃度で飼料と混和し、80 週間にわたって摂食させた。

用量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日 2 回観察した。さらに、詳細な症状観察を週 1 回行った。

投与終了時の生存率を表 1 に示す。

死亡動物数は少なく、群間での差はなかった。雌雄のいずれの投与群においても生存率に投与の影響は認められなかった。

表 1. 生存率

性	投与量 (ppm)	0	70	500	3500
雄	生存率 (%) ^a	42/50 (84)	45/50 (90)	46/50 (92)	46/50 (92)
	Kaplan-Meier の生存率の推定 ^b	0.84	0.92	0.92	0.92
雌	生存率 (%) ^a	45/50 (90)	43/50 (86)	46/50 (92)	46/50 (92)
	Kaplan-Meier の生存率の推定 ^b	0.90	0.86	0.92	0.92

a : 最終屠殺時 (投与 81-82 週) の生存率

b : 投与 80 週の推定生存率

統計学的有意差 : ↑↓ : p<0.05、↑↑↓↓ : p<0.01 (Kaplan-Meier の生存率について Logrank test)

投与に関連した一般状態の所見を表 2 に示す。

3500 ppm 群の雄で眼分泌物を呈する動物数が増加した。

その他の所見では、投与に関連するものは観察されなかった。

表 2. 一般状態

性別	雄				雌			
	0	70	500	3500	0	70	500	3500
投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
眼分泌物	5	4	6	36↑↑	1	3	4	3

統計学的有意差 : ↑↑ : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

体重変化 ; 投与開始直前、投与 2-15 週に週 1 回、およびその後は 2 週に 1 回の頻度で全動物の体重を測定した。測定は最終定期屠殺の直前にも実施した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた主な検査時期を表 3 に示す。

3500 ppm 群の雄で投与 2 週以後に、同群の雌で投与 4 週以後に低体重が認められ、検体投与の影響と判断された。雄の体重は最大で対照群よりも 23% 低く、雌の体重は最大で 11% 低かった。

500 ppm 群の雌雄でも有意な低体重が認められたが、それは 5% 以下の僅かな変化であり、散発的に生じたものであったことから、投与との関連はないと考えられた。70 ppm 群の雌には軽度ながら有意に高い体重値が認められたが、それらは散発的であったことから、投与との関連はないと考えられた。したがって、500 および 70 ppm 群の雌雄では投与による体重への影響はなかったと考えられた。

表 3. 体重

性別	雄			雌		
	70	500	3500	70	500	3500
投与量 (ppm)						
2 週			98↓↓			
3 週			98↓↓			
4 週			97↓↓	102↑↑		99↓
5 週			97↓↓		98↓	97↓↓
6 週		98↓	96↓↓			98↓↓
7 週			98↓		98↓↓	97↓↓
9 週			96↓↓			98↓↓
11 週			95↓↓			96↓↓
12 週			94↓↓	102↑		97↓↓
21 週			90↓↓			95↓↓
29 週		96↓	86↓↓		96↓↓	93↓↓
31 週		95↓↓	84↓↓	103↑		94↓↓
33 週		95↓↓	84↓↓		96↓	92↓↓
41 週			82↓↓	104↑	96↓	91↓↓
45 週		97↓	82↓↓			92↓↓
47 週		96↓	81↓↓		96↓	91↓↓
51 週		96↓	80↓↓			92↓↓
59 週			80↓↓	104↑	96↓	90↓↓
69 週			78↓↓	105↑		90↓↓
75 週			79↓↓	105↑		90↓↓
81 週			77↓↓			89↓↓

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↑↓↓：p<0.01 (Student の t 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

摂餌量 ; 投与開始から投与 13 週まで毎週、投与 16 週、およびその後は 4 週に 1 回の頻度で全ケージの摂餌量を測定し、各ケージにおける週毎の摂餌量 (g/匹/日) を算出した。各ケージの動物の摂餌量 100 g 当たりの体重増加量として、投与週 1-4、5-8、9-12、1-12 週の食餌効率を算出した。

摂餌量および食餌効率について、対照群と比べ統計学的有意差または傾向の認められた検査時期をそれぞれ表 4 および 5 に示す。

3500 ppm 群の雌雄で摂餌量の有意な変化が散発的に認められたが、試験期間を通じて一貫した変化が認められないことから、それらは偶発所見であると考えられた。

表 4. 摂餌量

性別	雄			雌		
	70	500	3500	70	500	3500
投与量 (ppm)						
1 週			95↓			
2 週						111↑↑
3 週			105↑			117↑↑
4 週			111↑			
5 週			111↑↑			111↑↑
6 週		108↑				
9 週			110↑			
11 週			108↑		110↑	113↑↑
12 週			108↑			
20 週	105↑					
32 週			113↑↑			
40 週			110↑			115↑
44 週		108↑	108↑			
48 週			92↓↓			
52 週			92↓↓			
60 週						113↑
64 週						114↑↑
68 週						111↑↑
76 週						117↑↑

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↑↓↓：p<0.01 (Student の t 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

食餌効率については、3500 ppm 群の雄で投与 1-4、5-8、9-12 週の値、同群雌で投与 1-4 週の値が対照群よりも低く、その結果として全投与期間を通じた計算値 (投与週 1-12 週) も雌雄において低い値となった。500 ppm 群では雌の投与 1-4 週の値に減少が認められ、その結果、全投与期間を通じた計算値も低い値となった。これらの変化は検体投与の影響と判断された。

500 ppm 群の雄および 70 ppm 群の雌雄の食餌効率には投与の影響は認められなかった。

表 5. 食餌効率

性別	雄			雌		
	70	500	3500	70	500	3500
投与量 (ppm)						
1-4 週			84↓		86↓↓	78↓↓
5-8 週			74↓			
9-12 週			75			
1-12 週			79↓↓		91↓	83↓↓

統計学的有意差：↓：p<0.05、↓↓：p<0.01 (Student の t 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は表 6 のとおりであった。

表 6 平均検体摂取量

投与量 (ppm)		70	500	3500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.8	56.2	432.6
	雌	9.9	74.9	553.6

血液学的検査；投与終了後に全生存動物を対象として、心臓から血液を採取し、以下の項目を観察・測定した。

総白血球数、白血球分類（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、その他の細胞）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 7 に示す。

3500 ppm 群の雌でリンパ球数および好酸球数が有意に増加した。しかし、総白血球数に変化が認められなかったことから、これらの僅かな変化は偶発的なものと考えられた。

したがって、雌雄のいずれの投与群にも投与による影響は認められなかったとみなされた。

表 7. 血液学的検査

性別	雄			雌		
	70	500	3500	70	500	3500
投与量 (ppm)						
リンパ球数						124↑
好酸球数						143↑↑

統計学的有意差：↑：p<0.05、↑↑：p<0.01 (Student の t 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

臓器重量；投与終了後に全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、体重比および補正重量を算出した。特定の病理所見を有する動物の臓器重量については評価から除外した。

副腎、精巣上体、肝臓および胆嚢、心臓、脳、卵巣、精巣、脾臓、腎臓、子宮および子宮頸部

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 8 に示す。

3500 および 500 ppm 群の雌雄で肝臓の補正重量の増加が認められた。3500 ppm 群ではその増加率は雄 41%、雌 38%であり、500 ppm 群での増加率 雄 14%、雌 7% よりも顕著であった。

500 ppm 群の雌雄に観察された肝臓の軽度 (<15%) の重量増加は、病理組織学的検査において軽微な肝細胞肥大がみられたことから、いずれも適応反応であり、毒性所見ではないと考えられた。

3500 ppm 群の雌では腎臓の補正重量が減少し、同群雌雄において脾臓の補正重量が減少した。しかし、関連する病理組織学的所見が認められないことから、これらの変化は低体重に起因するものであり、毒性学的意義はないと考えられた。

70 ppm 群では雄の心臓の補正重量に有意な低値が認められたが、この変化に用量依存性はなく、投与による影響ではないと考えられた。

その他にも対照群と比べ統計学的に有意な変化が散見されたが、用量依存性のない変化であることから、投与との直接的関連はないと考えられた。

表 8. 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		70	500	3500	70	500	3500
最終体重		98	97	78	105	98	90
副腎	絶対重量			100 ^{a)}			109 ^{a)}
	体重比			127 [▲]			118 [▲]
	補正重量			109 ^{a)}			109 ^{a)}
心臓	絶対重量	94 [↓]		91 ^{↓↓}			93 ^{↓↓}
	体重比	96 ^{a)}		116 [▲]			102 ^{a)}
	補正重量	95 [↓]		100 ^{a)}			96 ^{a)}
脳	絶対重量			100 ^{a)}			100 ^{a)}
	体重比			127 [▲]			108 [↑]
	補正重量			102 ^{a)}			100 ^{a)}
腎臓	絶対重量			90 ^{↓↓}			89 ^{↓↓}
	体重比			115 [▲]			97 ^{a)}
	補正重量			104 ^{a)}			92 ^{↓↓}
肝臓・ 胆嚢	絶対重量		106 ^{a)}	100 ^{a)}		105 ^{a)}	130 ^{↑↑}
	体重比		110 [↑]	130 [▲]		108 [▲]	144 [▲]
	補正重量		114 ^{↑↑}	141 ^{↑↑}		107 ^{↑↑}	138 ^{↑↑}
脾臓	絶対重量			76 ^{↓↓}			82 [↓]
	体重比			99 ^{a)}			89 [↓]
	補正重量			83 [↓]			81 [↓]
精巣	絶対重量			111 ^{a)}			
	体重比			137 [▲]			
	補正重量			111 ^{a)}			
精巣 上体	絶対重量			100 ^{a)}			
	体重比			128 [▲]			
	補正重量			105 ^{a)}			

統計学的有意差：↓：p<0.05、↑↑↓↓：p<0.01 (Student の t 検定、体重比を除く)

↑↓：p<0.05、▲：p<0.01 (Dunnnett 検定、体重比は申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの

補正重量：最終体重を共変量として調整した平均値

^{a)}：有意差はなかったが、参考のために記載した

肉眼的病理検査；全動物を対象として肉眼的病理検査を行った。

投与に関連した所見を表 9 に示す。

3500 ppm 群の雄の最終屠殺動物で眼分泌物の発生頻度が増加し、検体投与の影響

と判断された。

観察されたその他の肉眼所見に、投与との関連性は認められなかった。

表 9. 肉眼的病理検査

検査 時期	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
途中死 ・切 迫屠殺	所見/検査動物数	8	5	4	4	5	7	4	4
	眼：分泌物	2	0	0	0	0	1	0	0
最終屠 殺	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
	眼：分泌物	0	3	2	26↑↑	1	1	1	1

統計学的有意差：↑↑：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、大動脈、骨（大腿骨、膝関節を含む）、脳（大脳、小脳、脳幹）、盲腸、子宮頸部、結腸、十二指腸、精巣上部、眼、胆嚢、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、喉頭、肝臓、肺、リンパ節（頸部、腸間膜）、乳腺（鼠径部、雌のみ）、坐骨神経、鼻（鼻腔）、食道、卵巣および卵管、膵臓、上皮小体、咽頭、包皮腺、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、皮膚（右側腹）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胸骨および骨髄、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、膣、随意筋、肉眼的異常部位（肉眼病変および腫瘍を含む）

非腫瘍性病変

認められた主要な非腫瘍性病変を表 10（文末に掲載）に示す。

投与に関連した所見は肝臓、胆嚢および鼻腔に認められた。

肝臓では 3500 および 500 ppm 群の雌雄で肝細胞肥大が認められ、その発生頻度には用量依存性が認められ、検体投与の影響と判断された。肝細胞肥大の主たる分布は雄では小葉中間帯、雌では門脈周囲性 (periportal) であった。

対照群を含む全群の雄において小葉中心性肝細胞空胞化が雌よりも高い頻度で認められたが、その程度は 3500 ppm 群で有意に軽かった。自然発生性病変の発生頻度の減少や程度の減弱は体重増加量の減少に関連することが多く、通常、投与による毒性影響とはみなされないことから、小葉中心性肝細胞空胞化も投与には関連しない病変とみなされた。

胆嚢には 3500 ppm 群の雌で上皮内好酸性小体の発生頻度の増加（程度に変化はなし）が認められた。

鼻腔には 3500 ppm 群の雄で鼻涙管炎症／滲出液の発生頻度の増加が認められ、この所見の発生頻度の増加は、一般状態観察および剖検において当該投与群に認められた眼分泌物の発生頻度の増加との関連性が考えられた。3500 ppm 群の雌の鼻腔では上皮内好酸性小体の発生頻度が軽微ながら増加した。

歯の異形成は全群の雌雄（特に雄）で多数例に認められ、3500 ppm 群の雄でその発生頻度が増加したが、明確な用量依存性が認められないことから、投与との関連はないと考えられた。

その他の非腫瘍性病変に関して、投与群における発生頻度や程度が対照群よりも統計学的に有意に低いという例が認められたが、自然発生性病変の発生頻度や程度の減少は体重増加量の減少に伴ってしばしば認められるものであり、それらが投与に関連した毒性変化であるとは考えられなかった。

その他の多くの自然発生性病変について、投与の影響で発生したという証拠は認められなかった。

腫瘍性病変

認められたすべての腫瘍性病変を表 11（文末に掲載）に示す。

いずれの腫瘍性病変に関しても、その発生頻度、形態、発生時期、特徴に対して投与が影響を及ぼしたという証拠は認められなかった。

3500 および 500 ppm 群の雌における全身性腫瘍・悪性リンパ腫の有意な減少が認められたが、投与との関連はないと考えられた。

以上のように、本剤をマウスに対して混餌投与した発がん性試験では、毒性影響として、3500 ppm 群の雄で眼分泌物の発生増加、3500 ppm 群の雌雄で低体重（最高で雄 23%減、雌 11%減）、3500 ppm 群の雌雄および 500 ppm 群の雌で食餌効率の減少が認められた。また、3500 ppm 群の雌雄で肝臓の明瞭（雄 41%、雌 38%）な重量増加および非腫瘍性病変（肝細胞肥大）が認められ、胆嚢および鼻腔にも非腫瘍性病変の発生増加が認められた。500 ppm 群の雌雄に観察された肝臓の軽度（<15%）の重量増加および軽微な肝細胞肥大は、適応性変化であり、毒性所見ではないと考えられた。以上を考慮し、無毒性量は雌雄とも 70 ppm（雄 7.8 mg/kg/日、雌 9.9 mg/kg/日）であると判断された。

検体が腫瘍の発生に影響を及ぼしたという証拠は認められず、当該試験の条件下において検体に催腫瘍性はないものと判断された。

表 10. 非腫瘍性病変

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
途中 死亡 ・ 切迫 屠殺	卵巢	所見/検査動物数	—	—	—	—	5	7	3	3
		黄体消失 中等度	—	—	—	—	0	1	0	1
		顕著	—	—	—	—	0	0	1	0
		重度	—	—	—	—	5	4	0	2
		合計	—	—	—	—	5	5	1	3
									*	
		濾胞消失 中等度	—	—	—	—	0	1	0	0
		顕著	—	—	—	—	0	1	1	0
	重度	—	—	—	—	5	1	0	1	
	合計	—	—	—	—	5	3	1	1	
							*	*		
	耳下 腺	所見/検査動物数	7	5	3	4	5	7	4	4
		両側性萎縮 中等度	1	0	0	0	1	0	0	0
		顕著	1	0	0	1	1	0	0	1
		重度	0	0	0	0	1	0	0	0
	合計	2	0	0	1	3	0↓	0	1	
						*				
精巢	所見/検査動物数	8	5	4	4	—	—	—	—	
	びまん性間細胞過形成 軽微	2	2	1	3	—	—	—	—	
	軽度	0	0	2	1	—	—	—	—	
	合計	2	2	3	4	—	—	—	—	
				*						
子宮	所見/検査動物数	—	—	—	—	5	7	4	3	
	筋層萎縮 中等度	—	—	—	—	1	0	1	0	
	顕著	—	—	—	—	0	4	0	0	
	重度	—	—	—	—	4	0	0	1	
合計	—	—	—	—	5	4	1↓	1		
						*	*			

統計学的有意差：↓：p<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

*：p<0.05、**：p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
途中 死亡 ・ 切迫 屠殺	子宮	所見/検査動物数	—	—	—	—	5	7	4	3
		嚢胞状内膜過形成 軽微	—	—	—	—	0	1	2	0
		軽度	—	—	—	—	0	1	0	1
		中等度	—	—	—	—	0	1	0	0
		顕著	—	—	—	—	0	0	1	0
		合計	—	—	—	—	0	3	3↑ *	1
最終 屠殺	副腎 皮質	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		被膜下細胞過形成 軽微	27	33	31	27	26	39	35	38
		軽度	0	0	3	0	18	3	11	7
		中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
		合計	27	33	34	27	45	42 **	46	45 **
	両側性萎縮 軽微	5	2	2	1	0	0	0	0	
	軽度	4	3	0	0	0	0	0	0	
	中等度	0	2	0	0	0	0	0	0	
	合計	9	7	2↓ *	1↓↓ **	0	0	0	0	
	片側性萎縮 軽微	3	4	1	0	1	0	1	0	
	軽度	3	4	1	0	0	0	0	0	
	合計	6	8	2	0↓↓ **	1	0	1	0	
	脳	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		限局性鉍質沈着 軽微	20	28	22	12↓	14	15	9	1↓↓
	精巣 上体	所見/検査動物数	42	45	46	46	—	—	—	—
アミロイド沈着 軽微		27	38	40	45	—	—	—	—	
軽度		10	7	6	0	—	—	—	—	
合計		37	45↑	46↑	45	—	—	—	—	

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↓↓：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

*：p<0.05、**：p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
最終 屠殺	眼	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		片側性限局性角膜鉍質沈着								
		軽微	1	4	3	5	9	10	5	3
		軽度	0	0	1	0	1	1	1	0
	合計	1	4	4	5	10	11	6	3↓ *	
	腎臓	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		アミロイド沈着								
		軽微	37	40	41	29	13	6	1	6
		軽度	0	0	0	0	1	0	0	0
	合計	37	40	41	29↓↓	14	6	1↓↓ **	6↓ *	
	涙腺	所見/検査動物数	41	43	45	46	43	43	44	45
		ハーダー腺型								
		軽微	14	15	26	18	18	20	21	21
		軽度	0	0	0	0	0	0	1	0
		合計	14	15	26↑	18	18	20	22	21
		耳下腺型								
		軽微	13	24	12	6	29	36	31	34
		軽度	18	17	26	31	6	5	9	9
		中等度	8	0	7	9	0	0	1	0
		顕著	2	0	0	0	0	0	0	0
		合計	41	41 **	45	46	35	41	41	43↑
マクロファージ褐色色素沈着										
軽微		37	42	44	45	32	37	41	39	
軽度	0	0	0	0	4	6	3	6		
顕著	0	0	0	0	1	0	0	0		
合計	37	42	44	45	37	43↑	44↑	45↑		

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↓↓↓：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

*：p<0.05、**：p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
最終 屠殺	肝臓	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		小葉中間帯肝細胞肥大								
		軽微	0	0	5	27	0	0	0	0
		軽度	0	0	0	12	0	0	0	0
		合計	0	0	5	39↑↑ **	0	0	0	0
		小葉中心性肝細胞空胞化								
		軽微	4	15	9	18	0	0	0	0
		軽度	7	8	18	10	0	0	0	0
		中等度	7	11	8	0	0	0	0	0
		顕著	11	3	2	0	0	0	0	0
		合計	29	37	37	28 **	0	0	0	0
		門脈周囲性 (periportal) 肝細胞肥大								
		軽微	0	0	0	2	0	0	13	7
		軽度	0	0	0	0	0	0	0	35
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	4
	合計	0	0	0	2	0	0	13↑↑ **	46↑↑ **	
	門脈周囲性 (periportal) 肝細胞空胞化									
	軽微	0	0	0	0	0	0	6↑	0	
	限局性壊死 軽微	0	0	0	0	5	2	1	0↓	
	鼻腔 ・ 咽頭	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
上皮内好酸性小体 軽微		33	27	21	27	16	24	22	30	
軽度		2	5	4	1	1	1	0	4	
合計	35	32	25↓↓ *	28↓ *	17	25	22	34↑↑ **		

統計学的有意差: ↑↓: p<0.05、↑↑↓↓: p<0.01 (Fisherの直接確率計算法)

*: p<0.05、**: p<0.01 (Mann-WhitneyのU検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5として検定)

表 10. 非腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
最終 屠殺	鼻腔 ・ 咽頭	所見／検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		鼻涙管炎症／滲出液								
		軽微	2	8	11	21	4	1	3	5
		軽度	0	0	0	13	0	0	0	0
		中等度	1	0	1	2	0	0	0	0
		合計	3	8	12↑	36↑↑	4	1	3	5
					*	**				
		移行／扁平上皮過形成								
	軽微	8	5	5	13	6	1	0	10	
	軽度	2	6	2	4	0	0	0	0	
	合計	10	11	7	17	6	1	0↓	10	
	卵巣	所見／検査動物数	—	—	—	—	45	43	46	46
		マクロファージ褐色色素 沈着								
		軽微	—	—	—	—	26	16	25	19
軽度		—	—	—	—	14	25	17	26	
顕著		—	—	—	—	0	0	1	0	
重度		—	—	—	—	0	0	1	0	
合計	—	—	—	—	40	41	44	45		
						*		**		
包皮 腺	所見／検査動物数	42	45	44	46	—	—	—	—	
	嚢胞状／萎縮性拡張									
	軽微	7	8	8	14	—	—	—	—	
	軽度	13	13	12	16	—	—	—	—	
	中等度	16	13	16	10	—	—	—	—	
	顕著	3	1	1	0	—	—	—	—	
	重度	0	0	1	0	—	—	—	—	
合計	39	35	38	40	—	—	—	—		
				*						

統計学的有意差：↑：p<0.05、↑↑：p<0.01（Fisher の直接確率計算法）

*：p<0.05、**：p<0.01（Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定）

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
最終 屠殺	脾臓	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		マクロファージ褐色色素 沈着	0	0	0	0	7	3	2	0↓↓
		軽微								
		髓外造血 軽微	0	2	1	0	7	1	6	0
		軽度	1	0	0	0	1	2	0	1
		中等度	0	1	1	0	0	0	1	0
		重度	1	0	0	0	0	0	0	0
	合計	2	3	2	0	8	3	7	1↓ *	
	前胃	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		限局性過角化症 軽微	4	0	0	0	5	1	1	2
		軽度	0	0	0	0	0	0	1	0
		中等度	0	0	0	0	0	0	1	0
		合計	4	0	0↓	0↓	5	1	3	2
		限局性過形成 軽微	4	0	0	0	4	3	3	0
		軽度	0	2	0	0	0	1	2	1
	合計	4	2	0↓ *	0↓ *	4	4	5	1	
	精巣	所見/検査動物数	42	45	46	46	—	—	—	—
		びまん性間細胞過形成								
軽微		14	6	5	12	—	—	—	—	
軽度		27	39	40	32	—	—	—	—	
合計	41	45 *	45 *	44	—	—	—	—		
全 動物	副腎 皮質	所見/検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	49
		被膜下細胞過形成 軽微	28	34	34	30	27	44	38	41
		軽度	0	0	3	0	21	4	12	7
		中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
		合計	28	34	37 *	30	49	48 **	50	48 **

統計学的有意差: ↓: p<0.05、↓↓: p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

*: p<0.05、**: p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
全 動 物	副腎	所見/検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	49
		両側性萎縮 軽微	5	2	2	1	0	0	0	0
		軽度	4	3	0	0	0	0	0	0
		中等度	0	2	0	0	0	0	0	0
		合計	9	7	2↓ *	1↓↓ **	0	0	0	0
		片側性萎縮 軽微	3	4	1	0	1	0	1	0
		軽度	3	5	2	0	0	0	0	0
		合計	6	9	3	0↓ *	1	0	1	0
		脳	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50
	限局性鉍質沈着 軽微		21	30	22	12	14	15	9	1↓↓
	精巣 上体	所見/検査動物数	50	50	50	50	—	—	—	—
		アミロイド沈着 軽微	30	41	44	47	—	—	—	—
		軽度	12	7	6	1	—	—	—	—
		合計	42	48	50↑↑	48	—	—	—	—
	胆嚢	所見/検査動物数	48	44	48	49	48	49	50	50
		上皮内好酸性小体 軽微	10	3	11	11	9	10	8	18
		軽度	3	3	0	2	1	0	5	3
		中等度	1	1	0	1	4	0	1	4
		顕著	0	0	0	0	0	1	1	0
		重度	0	0	1	1	0	0	0	0
合計	14	7	12	15	14	11	15	25↑		
腎臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	アミロイド沈着 軽微	40	41	42	30	13	6	1	6	
	軽度	0	0	0	0	1	0	0	0	
	中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	
	合計	40	41	42	30↓	14	6	2↓↓ **	6	

統計学的有意差: ↓: p<0.05、↑↑↓: p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

*: p<0.05、**: p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 10. 非腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
			0	70	500	3500	0	70	500	3500
全 動 物	涙腺	所見/検査動物数	48	48	48	50	46	50	48	48
		ハーダー腺型								
		軽微	16	16	27	18	18	21	21	21
		軽度	0	0	0	0	0	0	1	0
		合計	16	16	27↑	18	18	21	22	21
		耳下腺型								
		軽微	19	27	14	7	30	37	31	34
		軽度	18	17	26	33	6	5	9	9
		中等度	8	0	7	9	0	0	1	0
		顕著	2	0	0	0	0	0	0	0
	重度	0	0	0	0	0	1	0	0	
	合計	47	44	47	49	36	43	41	43	
	マクロファージ褐色色素 沈着	軽微	41	44	46	47	32	38	41	40
		軽度	1	0	0	0	5	6	3	6
		中等度	0	0	0	1	0	0	0	0
		顕著	0	0	0	0	1	0	0	0
		合計	42	44	46	48	38	44	44	46↑
		合計								
	肝臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		小葉中間帯肝細胞肥大								
軽微		0	0	5	28	0	0	0	0	
軽度		0	0	0	12	0	0	0	0	
合計		0	0	5	40↑↑	0	0	0	0	
合計										
小葉中心性肝細胞空胞化										
軽微		4	16	10	18	0	0	0	0	
軽度		7	8	18	10	0	0	0	0	
中等度		7	11	8	0	0	0	0	0	
顕著	11	3	2	0	0	0	0	0		
合計	29	38	38	28	0	0	0	0		

統計学的有意差：↑：p<0.05、↑↑：p<0.01（Fisherの直接確率計算法）

*：p<0.05、**：p<0.01（Mann-WhitneyのU検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5として検定）

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
全 動 物	肝臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		門脈周囲性 (periportal) 肝細胞肥大								
		軽微	0	0	0	2	0	0	13	8
		軽度	0	0	0	0	0	0	0	35
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	4
		合計	0	0	0	2	0	0	13↑↑ **	47↑↑ **
	頸部 リン パ節	門脈周囲性 (periportal) 肝細胞空胞化								
		軽微	0	0	0	0	0	0	6↑	0
		所見/検査動物数	49	50	50	50	49	50	50	49
		隣接組織リンパ球系細胞 集簇								
		軽微	3	9	7	5	7	6	6	9
	軽度	6	1	0	2	2	8	9	2	
	中等度	2	0	0	0	1	1	3	1	
	合計	11	10	7	7	10	15	18 *	12	
鼻腔 ・ 咽頭	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	歯異形成									
	軽微	21	30	26	37	10	7	7	7	
	軽度	3	4	2	2	0	0	0	0	
	中等度	2	2	0	0	0	0	0	0	
	顕著	2	2	0	0	0	0	0	0	
	合計	28	38	28	39↑	10	7	7	7	
	上皮内好酸性小体									
軽微	35	28	21	29	19	28	23	32		
軽度	3	6	4	1	2	2	2	4		
合計	38	34	25↓ *	30	21	30	25	36↑↑ **		

統計学的有意差: ↓: p<0.05、↑: p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

*: p<0.05、**: p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 10. 非腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
全 動 物	鼻腔 ・ 咽頭	所見／検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		鼻涙管炎症／滲出液								
		軽微	3	9	11	21	5	2	4	6
		軽度	2	0	1	13	0	1	0	0
		中等度	1	0	1	4	0	1	0	0
		合計	6	9	13	38↑↑ **	5	4	4	6
		移行／扁平上皮過形成								
	軽微	9	5	5	13	6	1	0	10	
	軽度	2	6	2	4	0	0	0	0	
	合計	11	11	7	17	6	1	0↓	10	
	卵巣	所見／検査動物数	—	—	—	—	50	50	49	49
		マクロファージ褐色色素 沈着								
		軽微	—	—	—	—	29	16	26	20
		軽度	—	—	—	—	15	26	17	26
中等度		—	—	—	—	0	1	0	0	
顕著		—	—	—	—	0	0	1	0	
重度		—	—	—	—	0	0	1	0	
合計	—	—	—	—	44	43	45	46 *		
包皮 腺	所見／検査動物数	47	49	48	48	—	—	—	—	
	嚢胞状／萎縮性拡張									
	軽微	8	8	10	14	—	—	—	—	
	軽度	15	14	13	17	—	—	—	—	
	中等度	17	15	16	11	—	—	—	—	
	顕著	3	1	2	0	—	—	—	—	
	重度	0	0	1	0	—	—	—	—	
合計	43	38	42	42 *	—	—	—	—		

統計学的有意差：↓：p<0.05、↑↑：p<0.01（Fisherの直接確率計算法）

*：p<0.05、**：p<0.01（Mann-WhitneyのU検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5として検定）

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500	
全 動 物	脾臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49	
		マクロファージ褐色色素 沈着	0	0	0	0	8	5	2	0↓↓	
		軽微									
		髓外造血	軽微	1	2	1	1	7	3	7	0
		軽度	1	1	0	0	2	3	0	1	
		中等度	0	1	1	0	0	0	2	0	
		顕著	0	0	0	1	1	0	0	0	
		重度	1	0	0	0	0	0	0	0	
	合計	3	4	2	2	10	6	9	1↓↓ **		
	精巣	所見/検査動物数	50	50	50	50	—	—	—	—	
		びまん性間細胞過形成									
		軽微	16	8	6	15	—	—	—	—	
		軽度	27	39	42	33	—	—	—	—	
	合計	43	47	48	48	—	—	—	—		
			*	**							

統計学的有意差：↓↓：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

*：p<0.05、**：p<0.01 (Mann-Whitney の U 検定、なし=0、軽微=1、軽度=2、中等度=3、顕著=4、重度=5 として検定)

表 11. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
			投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
			0	70	500	3500	0	70	500	3500
途中死亡 切迫屠殺	ハーダー腺	所見/検査動物数	8	5	4	4	5	7	4	3
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	1	2	0
	肝臓	所見/検査動物数	8	5	4	4	5	7	4	4
		血管肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	全身性腫瘍	所見/検査動物数	8	5	4	4	5	7	4	4
		悪性リンパ腫 (M)	4	1	1	2	4	3	0↓	2
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	下垂体	所見/検査動物数	8	5	4	4	5	7	4	3
		前葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	最終屠殺	副腎皮質	所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46
腺腫 (B)			1	0	0	0	0	0	0	0
副腎髄質		所見/検査動物数	42	45	46	46	44	43	45	46
		良性褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
脳		所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
大腿骨・膝関節		所見/検査動物数	42	44	46	46	45	43	46	46
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
ハーダー腺		所見/検査動物数	41	45	46	46	45	43	46	46
		腺腫 (B)	1	0	1	1	0	0	2	1
心臓		所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓		所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		肝細胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
肺		血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		所見/検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		気管支肺胞腺腫 (B)	2	4	6	1	1	0	0	0
	気管支肺胞癌 (M)	0	1	0	1	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的有意差 : ↓ : p<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

表 11. 腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
最終 屠殺	全身 性腫 瘍	所見／検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		悪性リンパ腫 (M)	4	8	7	8	10	10	4	6
		組織球性肉腫 (M)	2	5	3	2	3	3	5	1
	下垂 体	所見／検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		前葉腺腫 (B)	0	0	0	1	2	2	3	4
		中葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	耳下 腺	所見／検査動物数	41	44	46	46	45	42	46	45
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚 ・ 皮下 計画 外	所見／検査動物数	—	—	1	1	3	2	3	2
		角化棘細胞腫 (B)	—	—	1	0	0	0	0	0
	脾臓	所見／検査動物数	42	45	46	46	45	43	46	46
		血管腫 (B)	0	2	0	0	0	1	0	0
	皮下 組織	所見／検査動物数	1	—	—	—	—	—	—	—
		血管腫 (B)	1	—	—	—	—	—	—	—
	膀胱	所見／検査動物数	40	45	46	46	45	43	45	45
		血管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮	所見／検査動物数	—	—	—	—	45	43	46	46
		内膜間質ポリープ (B)	—	—	—	—	1	2	0	0
全 動 物	副腎 皮質	所見／検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	49
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎 髄質	所見／検査動物数	50	50	50	50	49	50	49	49
		良性褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	脳	所見／検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	大腿 骨・ 膝関 節	所見／検査動物数	50	49	50	50	50	50	50	50
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	ハー ダー 腺	所見／検査動物数	49	50	50	50	50	50	50	49
		腺腫 (B)	1	1	1	1	0	1	4	1

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的有意差 : Fisher の正確確率検定 (有意差なし)

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
			0	70	500	3500	0	70	500	3500
全 動 物	心臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管腫 (B)	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
		肝細胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	1	1	0	0	0	0	0
	肺	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		気管支肺胞腺腫 (B)	2	4	6	1	1	0	0	0
		気管支肺胞癌 (M)	0	1	0	1	0	0	0	0
	全身 性腫 瘍	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		悪性リンパ腫 (M)	8	9	8	10	14	13	4↓	8
		組織球性肉腫 (M)	2	5	3	2	4	3	5	1
	下垂 体	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
		前葉腺腫 (B)	0	0	0	1	2	3	3	4
		中葉腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	耳下 腺	所見/検査動物数	48	49	49	50	50	49	50	49
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚 ・ 皮下 計画 外	所見/検査動物数	—	—	1	1	4	2	3	2
		角化棘細胞腫 (B)	—	—	1	0	0	0	0	0
	脾臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
		血管腫 (B)	0	2	0	0	0	1	0	0
	皮下 組織	所見/検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱	所見/検査動物数	48	50	50	50	50	50	49	48	
	血管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的有意差 : ↓ : p<0.05 (Fisher の正確確率検定)

表 11. 腫瘍性病変（続き）

検査 時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	70	500	3500	0	70	500	3500
全 動 物	子宮	所見/検査動物数	—	—	—	—	50	50	50	49
		内膜間質ポリープ (B)	—	—	—	—	1	2	0	0
合 計 ¹⁾	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	腫瘍数	良性	6	7	9	3	5	9	9	6
		悪性	10	17	12	13	18	16	9	9
	腫瘍総数		16	24	21	16	23	25	14	15
	担腫瘍動物数	良性	5	7	9	3	5	8	9	6
		悪性	10	16	12	13	18	14	9	9
担腫瘍動物数		13	22	17	14	19	20	17	15	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

統計学的有意差 : Fisher の正確確率検定 (有意差なし)

1) : 申請者が算出

(8) 繁殖毒性及び催奇形性

1) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 No.T-17)

試験機関：

報告書作成年：2008 年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Wistar Hannover ラット (HsdRCCHan:WIST)、1 群当たり雌雄各 26 匹

投与開始時；F₀ 世代 5 週齢、F₁ 世代 4 週齢

投与開始時体重範囲；F₀ 世代 雄 84.8～158 g、雌 77.2～122 g

F₁ 世代 雄 53.7～100 g、雌 50.3～92.8 g

投与期間： 2006 年 8 月 14 日～2007 年 5 月 2 日

F₀ 世代 雄；投与開始から交配期間終了までの 12 週間

雌；投与開始から F₁ 児離乳時までの 19 週間

F₁ 世代 雄；離乳時から交配期間終了までの 12 週間

雌；離乳時から F₂ 児離乳時までの 19 週間

投与方法： 検体を 0、100、500、3000 ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、飼料に添加する際、検体の適量を基礎飼料と混合してプレミックスを調製した。検体を混入した飼料は最長 6 週間室温保存した。対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

[投与量設定根拠]

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

表 1. 試験の概要

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
F ₀	生育 (10 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。交尾は膣垢中の精子で確認 (妊娠 1 日)	体重、摂餌量を週 1 回測定 8 週時から発情周期を検査
	交配 (最長で 2 週間)		交配状況の観察 交配終了時、雄の臓器重量測定、精子検査、肉眼的病理検査、病理組織学的検査
	妊娠 (3 週間)		妊娠 1、8、15、22 日に体重、摂餌量を週 1 回測定
	出産	同腹児数を調整しない	出産状況の観察 (分娩日を哺育 1 日) 全同腹児死亡数、生存出産児数、同腹児数、性別、児動物体重、同腹総体重を測定
	哺育 (4 週間)		母動物の体重を哺育 1、5、8、15、22、29 日に、摂餌量を週 1 回測定 生後 5、8、15、22、29 日に生存児数、同腹児数、性別、児動物体重、同腹総体重測定 なお、途中死亡の児動物について肉眼的病理検査
	離乳		F ₁ 親動物用の各群雌雄各 26 匹をできるだけ多くの腹から無作為に選抜
F ₁	生育 (10 週間)		F ₀ 世代に準ずるが、その他に発育指標として、膣開口および包皮分離を観察
	交配 (最長で 2 週間)	(F ₀ 世代に準ずるが 兄妹交配を避けた)	(F ₀ 世代に準ずる)
	妊娠 (3 週間)		(F ₀ 世代に準ずる)
	出産		F ₀ 世代に準ずるが、その他に生後 1 日に児動物の肛門生殖突起間距離を測定
	哺育 (4 週間)	(F ₀ 世代に準ずる)	(F ₀ 世代に準ずる)
	離乳		F ₁ 親動物および F ₂ 離乳児の観察・検査を F ₀ 世代に準じて実施。対照群と最高用量群の F ₁ 雌親動物について、卵巣における原始卵胞数を測定。

親動物：

一般状態および死亡率；投与期間中、一般状態および死亡の有無を毎日観察した。さらに体重測定日には詳細な検査を行った。

体重変化；交配前期間中は、全親動物の体重を週1回測定し、F₀親動物の初期体重は最初の試験飼料の給餌直前、F₁親動物の初期体重は選抜時（哺育29日）に記録した。さらに、選抜F₁動物については包皮分離又は膣開口が最初にみられた時点で測定した。交配前期間終了後は、雌の体重を妊娠1、8、15および22日（膣垢中に精子が検出された日を妊娠1日とした）ならびに、哺育1、5、8、15、22および29日（分娩日を哺育1日とした）に測定した。投与終了時に全親動物の体重を測定した。

摂餌量および食餌効率；交配前期間は、摂餌量を各ケージの平均値（g 飼料/ラット/日）として1週間間隔で算出した。食餌効率を摂食飼料100g当たりのケージ内ラットによる体重増加量として算出した。妊娠および哺育期間中は、雌の摂餌量を週1回算出した。

検体摂取量；平均体重と平均摂餌量に基づき、1日当たりの平均検体摂取量を算出した。

交尾および妊娠の確認；交配は雌の発情を膣垢で確かめ、兄妹交配を避けて、同群の雄と1対1で最長14日間同居させ、膣垢中精子の存在により交尾を確認した。膣垢中に精子が検出された日を妊娠1日とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および分娩の観察に基づき、次の指標を調べた。

性成熟；F₁親動物として選抜された全動物を対象に、性成熟の指標として雄の包皮分離および雌の膣開口について、生後29日から毎日確認し、指標が最初に認められた日齢および体重を記録した。

発情周期長；交配前の3週間発情周期を観察し、平均日数を算出した。

交尾所要日数；同居日から交尾確認日（妊娠1日）までの日数とした。

妊娠期間；交尾確認日（妊娠1日）から分娩日（哺育1日）までの日数とした。

交尾成立率；交尾成立の基準は、生存同腹児の出産、すなわち、分娩日に少なくとも1匹の生存児が確認された児動物の出産とした。

他に、全同腹児死亡率を算出した。

精子検査；

精子運動性および数；F₀およびF₁雄の対照群および全投与群を対象として、右側精巣上体尾部の遠位端を切断し、培地に入れて37℃で2分間インキュベートした試料中の精子の運動性、速度および数を調べた。

精子形態；F₀およびF₁雄の対照群および3000 ppm 投与群を対象として、右側精巣上体尾部の精子染色標本（トリパンブルー・ナフトールイエロー・エオジンY染色）を

作製し、精子を正常又は異常に分類した。異常精子は頭部（分離、双頭、異常形態、大きさ又は先体の異常）、尾部（2本、渦巻き/折れ曲がり又は大きさの異常）又は複合（頭部および尾部の異常）に従って分類した。

均質化抵抗性精子細胞；F₀およびF₁雄の対照群および3000 ppm投与群を対象として、精巣を約2分間ホモジネート後に蛍光染色し、精巣の均質化抵抗性精子細胞数を調べた。

病理学的検査；

肉眼的病理検査；途中死亡、切迫屠殺、投与終了時の全生存親動物について剖検を行った。雌親動物全例の子宮について着床痕数を記録した。なお、雄親動物は交配期間終了後に、雌親動物は哺育29日に屠殺した。

臓器重量；投与終了時の全生存親動物を対象として以下の臓器重量を測定した。対体重比および投与終了時最終体重を共変量として調整した群平均補正重量も算出した。副腎、脳、右側精巣上部尾部、左右精巣上部（尾部を含む）、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、精嚢（前立腺および凝固腺を含む）、脾臓、左右精巣、子宮（卵管および頸部を含む）、甲状腺（固定後に測定）

病理組織学的検査；対照群および3000 ppm投与群の全親動物および不妊が疑われた動物を対象として、以下の組織について病理組織標本を作製し、検鏡した。100および500 ppm投与群のすべての雌雄の肝臓も検鏡した。対照群および3000 ppm投与群のF₁雌については原始卵胞の定量評価を行った。

異常組織、副腎、子宮頸部、凝固腺、左側精巣上部および尾部、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、精嚢、左側精巣、卵管を含む子宮、膈

児動物；

一般状態および死亡；全児動物の一般状態および生死を少なくとも1日1回観察した。生後24時間以内（生後1日）および生後5、8、15、22ならびに29日に、すべての生存および死亡児動物を計数した。その時点で児動物の性別も記録した。

体重変化；全児動物の体重を生後24時間以内（生後1日）および生後5、8、15、22ならびに29日に測定した。

肛門生殖突起間距離；F₂生存児動物の肛門生殖突起間距離を生後1日に測定した。

病理学的検査；

肉眼的病理検査；可能な限り、腹当たり雌雄各3匹の児動物について剖検を行った。屠殺又は死亡を発見した児動物も剖検した。F₁親動物として選抜されなかった全児動物

は生後 29 日に屠殺した。

臓器重量；投与終了時の全生存児のうち、腹当たり雌雄各 1 匹を対象として以下の臓器重量を測定した。対体重比および投与終了時最終体重を共変量として調整した群平均補正重量も算出した。

脳、脾臓、胸腺、肝臓

病理組織学的検査；児動物から採取した組織については検鏡しなかった。

結果：概要を表 2-1～2-3（親動物）および表 3-1～3-2（児動物）に示す。

親動物に対する影響

一般状態および死亡；両世代のいずれの投与群においても検体投与に関連した臨床所見および死亡は認められなかった。

F₀ 世代では対照群の雌 1 例が一般状態の悪化（死産）のため屠殺した。100 ppm 投与群の雌 5 例および 500 ppm 投与群の雌 2 例で分娩が認められない、または全同腹児死亡がみられたため、これらの動物は計画殺前に屠殺した。

F₁ 世代では 100 ppm 投与群で雌 2 例が死亡し、雄 1 例が一般状態の悪化のため屠殺した。対照群の雌 2 例および 500 ppm 投与群の雌 1 例で分娩が認められない、または全同腹児死亡がみられたため、これらの動物は計画殺前に屠殺した。また、対照群の雌 1 例が、誤って雄のケージに収容されたため交配前に屠殺した。

体重；交配前期間では、F₀ 世代の 3000 ppm 投与群の雌雄において、投与 2～11 週の補正体重（群平均初期体重を共変量として調整した群平均体重）に対照群と比較して有意な低値がみられた。500 ppm 投与群の雌においても、交配前期間後期（投与 9 および 10 週）の補正体重に有意な低値がみられた。

F₁ 世代では、3000 ppm 投与群の雌雄の世代開始時における体重（1 週時体重）は有意に低く、雄では投与 4～8、10 および 11 週、雌では投与 7 週以降の補正体重に有意な低値がみられた。500 ppm 投与群の雌では、1 週時体重は対照群の値と同様であったが、投与 2 週以降の補正体重に対照群と比較して有意な低値がみられた。

F₀ および F₁ 世代の 500 ppm 投与群の雄および 100 ppm 投与群の雌雄の体重には検体投与の影響は認められなかった。

妊娠中の雌では、F₀ および F₁ 世代のいずれにおいても 3000 ppm 投与群の妊娠 1 日の体重は対照群と比較して有意に低く、その後の体重増加も抑制され、妊娠 8、15 および 22 日の補正体重に有意差がみられた。500 ppm 投与群では妊娠 1 日の体重は両世代で有意に低かったが、その後の体重増加には影響は認められなかった。

F₀ および F₁ 世代の 100 ppm 投与群には検体投与の影響は認められなかった。

F₀ 世代の 100 ppm 投与群で妊娠 22 日の補正体重が対照群と比較して有意に高かったが、高用量群において検体投与による影響として体重増加抑制がみられたことから、これは投与に関連したものではないと考えられた。

哺育中の雌では、F₀およびF₁世代のいずれにおいても3000 ppm投与群で体重増加抑制が認められ、F₀世代では哺育1日の初期体重ならびに哺育8、15、22および29日の補正体重に、F₁世代では哺育1日の体重ならびに哺育5、8、15、22および29日の補正体重に有意な低値がみられた。F₁世代の500 ppm投与群で哺育1日の体重に有意な低値がみられたが、以降の体重値は対照群と同様であった。

F₀世代の100および500 ppm投与群ならびにF₁世代の100 ppm投与群の体重には検体投与の影響は認められなかった。

F₀世代の100 ppm投与群で哺育5日の補正体重が対照群と比較して有意に高かったが、高用量群において検体投与による影響として体重増加抑制がみられたことから、これは投与に関連したものではないと考えられた。

摂餌量；交配前期間中、F₀世代では、3000 ppm投与群の雌雄において摂餌量に対照群と比較して有意な低値がみられた。500 ppm投与群の雌雄の摂餌量も対照群の値よりやや低値であった。F₁世代では、3000 ppm投与群の雌雄および500 ppm投与群の雌で有意な低値がみられた。

妊娠中の雌では、F₀およびF₁世代の3000 ppm投与群、ならびにF₁世代の500 ppm投与群の摂餌量に対照群と比較して有意な低値がみられた。

哺育中の雌では、F₀およびF₁世代とも3000 ppm投与群で摂餌量が対照群と比較して有意な低値であった。

食餌効率；F₀世代では、3000 ppm投与群の雄（投与1~4週）および雌（投与1~4および5~8週）、F₁世代では3000 ppm投与群の雌（投与5~8週）および500 ppm投与群の雌（投与5~8週）の食餌効率に対照群と比較して有意な低下が認められた。

検体摂取量；体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から、1日当たりの平均検体摂取量は下表のとおりであった。

表. 平均検体摂取量 (mg/kg/日)

投与量 (ppm)	F ₀ 世代				F ₁ 世代			
	雄	雌			雄	雌		
	交配前期	交配前期	妊娠期	哺育期	交配前期	交配前期	妊娠期	哺育期
100	8.3	9.3	7.4	25.2	9.5	10.2	8.1	24.4
500	41.2	46.6	37.2	118.9	47.8	50.1	40.6	129.1
3000	250.1	276.6	217.4	699.6	288.5	301.3	239.1	774.0

繁殖性に関する指標；発情周期長、交尾所要日数、交尾成立率、妊娠日数および同腹児死亡率に検体投与による影響は認められなかった。

性成熟については、F₁ 親動物として選抜された動物において、3000 ppm 投与群の雄では包皮分離開始が対照群と比較して 2.3 日遅延し、同群の雌では膣開口開始が 2 日遅延した。これは 3000 ppm 投与群の雌雄の体重低値が反映されたものと考えられた。

着床所見；着床後胚死亡率には検体投与の影響はみられなかった。

F₀ および F₁ 世代の 3000 ppm 投与群において、着床数および生存児と死亡児の合計に対照群と比較して有意な低値がみられた。しかし、両パラメーターの平均値（着床数：3000 ppm 投与群の F₀ 世代 10.7±1.8、F₁ 世代 11.4±1.3、生存児と死亡児の合計；3000 ppm 投与群の F₀ 世代 10.0±1.7、F₁ 世代 11.0±1.4）は、いずれも背景対照データの範囲内（着床数：F₀ 世代で 10.3±3.3～12.3±2.4、F₁ 世代で 11.3±2.2～12.8±3.3、生存児と死亡児の合計：F₀ 世代で 9.6±3.0～11.5±2.8、F₁ 世代で 10.0±2.1～12.5±3.1、2005～2006 年に開始した 3 試験）にあったことから、検体投与に関連したものではないと考えられた。

精子検査；結果を下表に示した。

精巣上体精子数、精子運動性および精子形態に検体投与の影響は認められなかった。3000 ppm 投与群の F₀ および F₁ 世代では、右側精巣の均質化抵抗性精子細胞数が対照群より減少したが、3000 ppm 投与群の F₀ 世代の値は F₁ 世代対照群の値と近似していたこと、および投与群の値は背景対照データの範囲 [F₀ 世代：58±16～69±12、F₁：36±14～63±17 (×10⁶/g)、2005～2006 年に開始した 3 試験] 内にあったことから、検体投与に関連したものではないと考えられた。

表. 精子検査結果

世代		親動物：F ₀				親動物：F ₁			
投与量 (ppm)		0	100	500	3000	0	100	500	3000
検査動物数		26	26	26	26	26	23	26	26
s 数的 観 察 項 目	直線速度 (um/s)	58.6	58.0	57.7	58.2	58.6	59.0	59.0	59.2
	曲線速度 (um/s)	251.7	248.1	250.2	253.8	252.7	250.2	253.6	251.5
	平均経路速度 (um/s)	103.0	100.9	102.2	103.2	100.6	101.2	101.8	101.2
	直線性 (%)	56.9	57.5	56.5	56.6	58.3	58.3	58.2	58.4
	運動精子率 (%)	80.2	80.7	80.5	80.7	79.1	79.0	79.5	79.4
	右側精巣上体尾部精子数 (×10 ⁶ /g)	607	602	624	630	687	703	681	618
	右側精巣均質化抵抗性精子細胞数 (×10 ⁶ /g)	69	—	—	60↓↓	61	—	—	55↓↓
f 精子 形 態 (%)	正常精子	95.8	—	—	96.0	96.2	—	—	96.1
	異常精子	4.2	—	—	4.0	3.8	—	—	3.9
	頭部異常	1.6	—	—	1.8	2.2	—	—	2.0
	尾部異常	2.5	—	—	2.2	1.5	—	—	1.9
	複合異常	0.11	—	—	0.02	0.07	—	—	0.08
	頭部分離	1.07	—	—	1.12	1.76	—	—	1.32
	頭部形態異常	0.54	—	—	0.64	0.41	—	—	0.68
	尾部渦巻き/折れ曲がり	2.14	—	—	1.83	1.35	—	—	1.61
	尾部大きさの異常	0.32	—	—	0.42	0.19	—	—	0.26

—：該当せず

統計学的有意差：↓↓：p<0.01 (s；Student の t 検定、f；Fisher の直接確率計算法)

臓器重量；肝臓重量は、500 ppm 投与群 (F₁ 世代の雄、F₀ および F₁ 世代の雌) および 3000 ppm 投与群 (F₀ および F₁ 世代の雌雄) で有意に増加し、検体投与の影響と考えられた。100 ppm 投与群の F₁ 世代の雌で肝臓補正重量に有意な高値がみられたが、検体投与に関連した病理組織学的変化が認められなかったことから、100 ppm 投与群における肝臓重量の変化には毒性学的意義がないと考えられた。

その他に、検体投与に関連したと考えられる臓器重量の変化は認められなかった。卵巣および子宮重量は、3000 ppm 投与群の F₀ および F₁ 世代の雌で絶対重量および補正重量に有意な低値がみられた。しかし、卵巣および子宮に検体投与に関連した病理組織学的変化が認められなかったことから、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

腎臓重量は、雄では 3000 ppm 投与群の F₀ および F₁ 世代で絶対重量が低値であり、同群の F₁ 世代で補正重量が高値であった。雌では、F₁ 世代の投与群で腎臓補正重量に高値がみられた。

副腎重量は、F₁ 世代雌の 500 および 3000 ppm 投与群で補正重量が増加したが、絶対重量に差はみられなかった。

F₀ 世代の雄では、3000 ppm 投与群で精囊の絶対重量および補正重量の低値、500 および 3000 ppm 投与群で甲状腺の絶対重量および補正重量の高値がみられたが、F₁ 世代では同様の変化は認められず、投与との関連はないものと考えられた。
また、3000 ppm 投与群では両世代において雄の脳、精巣上体および脾臓、ならびに雌の下垂体および脾臓の絶対重量が低値を示したが、補正重量に差は認められなかった。

肉眼的病理所見；いずれの世代の動物においても、検体投与に関連した病理所見は認められなかった。

病理組織学的所見；F₀ および F₁ 世代の動物の生殖器官には、検体投与に関連した変化は認められなかった。3000 ppm 投与群の F₁ 世代雌の膺において、泌乳期発情休止期像を示す所見の増加がみられたが、その頻度は対照群の F₀ 世代雌と同程度であったことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

500 および 3000 ppm 投与群の F₀ および F₁ 世代雌雄の肝臓において、軽微または軽度の肝細胞肥大（小葉中心性/びまん性）が観察され、その発生頻度および重篤度には用量相関性が認められた。100 ppm 投与群では肝臓に変化はみられなかった。その他の組織には、検体投与によると考えられる変化は観察されなかった。

児動物に対する影響

一般状態；検体投与に関連した臨床所見および死亡は認められなかった。

生存産児率および生存率；全同腹児死亡の腹を含めて算出した生存産児率は、両世代のすべての群で 94% 以上であり、検体投与の影響は認められなかった。また、生存率にも検体投与の影響は認められなかった。

同腹児数；全同腹児死亡の腹を除いて算出した同腹児数について統計学的解析を行った場合、3000 ppm 投与群の F₁ 世代で有意な低値がみられたが、全同腹児死亡の腹を含めて算出した場合には群間で差はみられなかった。また、3000 ppm 投与群では両世代とも全同腹児死亡は認められなかった。さらに F₂ 世代では同様の影響は認められなかったことから、F₁ 世代 3000 ppm 投与群の同腹児数の低値は、検体投与との関連性はないものと考えられた。

性 比；各投与群における性比に影響は認められなかった。

肛門生殖突起間距離；F₂ 世代児動物の肛門生殖突起間距離に検体投与の影響は認められなかった。

体 重；3000 ppm 投与群では F₁ 世代児動物の雌雄で生後 15 日以降、および F₂ 世代児動物では雄で生後 15 日以降、雌で生後 8 日以降の補正体重に低値がみられた。同腹児総体重も 3000 ppm 投与群の F₁ 世代児動物で生後 1 日から、F₂ 世代児動物では生後 8 日以降に有意な低値がみられた。100 および 500 ppm 投与群では児動物の体重および同腹児総体重に影響は認められなかった。

臓器重量；肝臓重量（絶対重量および/あるいは補正重量）が 500 および 3000 ppm 投与群の F₁ および F₂ 世代児動物の雌雄で有意に増加した。

F₁ 世代児動物の雌において、胸腺の補正重量が全投与群で有意な高値を示したが、これらの投与群の絶対重量の値 (3000 ppm : 0.284 ± 0.053 g、500 ppm : 0.317 ± 0.07 g、100 ppm : 0.313 ± 0.072 g) は背景対照データの範囲 (雌 : 0.289 ± 0.064 ~ 0.335 ± 0.05 g) にあったことから、胸腺重量の変化は検体投与に関連したものではないと考えられた。

その他に、3000 ppm 投与群では脳 (F₂ 世代児動物雌雄)、脾臓 (F₁ 世代児動物雄および F₂ 世代児動物雌雄) および胸腺 (F₁ 世代児動物雄および F₂ 世代児動物雌雄) の絶対重量が低値を示したが、いずれも補正重量に差はみられず、低体重に関連する変化であると考えられた。

肉眼的病理所見 ; 検体投与に関連した病理所見は認められなかった。

以上の結果より、2 世代にわたって検体を飼料中に混入して投与した場合、繁殖能力への影響はなく、生殖器系に検体投与に関連のある病理学的変化も認められなかった。

検体投与の影響として、500 および 3000 ppm 投与群の親動物で体重低値、摂餌量低下、肝臓重量増加および肝細胞肥大、児動物で低体重および肝臓重量増加が認められた。100 ppm 投与群では親動物および児動物に検体投与に関連のある影響は認められなかった。

したがって、一般毒性に対する無毒性量は、親動物および児動物とも 100 ppm (F₀ 世代の雄 : 8.3 mg/kg 体重/日、雌 : 9.3 mg/kg 体重/日、F₁ 世代の雄 : 9.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 10.2 mg/kg 体重/日)、繁殖能に対する無毒性量は、本試験の最高用量 3000 ppm (F₀ 世代の雄 : 250.1 mg/kg 体重/日、雌 : 276.6 mg/kg 体重/日、F₁ 世代の雄 : 288.5 mg/kg 体重/日、雌 : 301.3 mg/kg 体重/日) であると判断される。

表 2-1. 結果の概要－親動物

世 代		親動物：F ₀ 、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂						
投与量 (ppm)		0	100	500	3000	0	100	500	3000			
動物数	雄	26	26	26	26	26	26	26	26			
	雌	26	26	26	26	26	26	26	26			
一般状態		検体投与に関連した所見は認められなかった。										
死亡数/ 切迫殺数	雄	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/1	0/0	0/0			
	雌	0/1	0/5	0/2	0/0	0/3	0/0	0/1	0/0			
親動物 (g)	体 重	交 配	雄	1 週 ^a	121.5	118.3	118.6	117.6	78.1	75.5	74.9	66.8↓↓
				2 週 ^b	158.7	159.2	159.5	153.5↓↓	113.4	113.6	113.8	110.8
				4 週 ^b	240.4	237.8	236.6	224.6↓↓	196.3	198.9	195.3	188.1↓
			6 週 ^b	294.4	288.7	287.3	271.4↓↓	263.1	267.7	262.4	251.0↓	
			8 週 ^b	329.0	325.4	322.2	303.6↓↓	307.1	313.4	304.0	293.3↓	
			11 週 ^b	362.8	357.5	352.4	331.7↓↓	351.3	359.8	346.4	334.4↓	
		前 期	雌	1 週 ^a	97.6	97.7	96.9	97.8	72.1	69.6	70.2	64.5↓↓
				2 週 ^b	121.4	121.0	121.0	119.4↓	101.5	100.9	99.5↓	100.1
				4 週 ^b	156.7	157.1	153.7	150.0↓↓	144.0	143.1	136.9↓↓	141.5
				6 週 ^b	181.4	181.8	178.6	170.1↓↓	173.5	171.3	162.9↓↓	167.8
				7 週 ^b	189.6	191.2	187.4	178.0↓↓	187.2	184.5	173.4↓↓	178.7↓
	妊 娠 期	雄	1 日 ^a	219.2	218.7	211.6↓↓	200.4↓↓	228.3	219.6	210.5↓↓	206.2↓↓	
			8 日 ^b	232.5	231.6	232.1	228.5↓↓	235.0	235.3	234.3	230.5↓↓	
			15 日 ^b	257.0	256.9	255.2	250.0↓↓	254.9	257.3	255.2	250.4↓	
		雌	22 日 ^b	301.0	307.0↑	301.4	293.0↓	305.2	308.8	303.6	291.6↓↓	
			1 日 ^a	228.0	227.2	219.1	207.4↓↓	230.8	230.0	210.8↓↓	202.3↓↓	
			5 日 ^b	238.1	244.3↑	240.1	235.1	239.2	239.4	234.7	231.1↓	
	哺 育 期	雌	8 日 ^b	254.9	259.6	255.8	243.2↓↓	257.7	253.7	251.5	241.8↓↓	
			15 日 ^b	277.0	279.6	271.9	250.2↓↓	281.2	279.3	273.5	253.4↓↓	
			22 日 ^b	273.9	276.7	273.2	255.8↓↓	280.6	280.5	275.9	257.8↓↓	
			29 日 ^b	261.4	262.3	259.7	250.0↓↓	264.3	262.1	259.3	251.0↓	
			交 配	雄	1 週	100	98	99	92↓↓	100	96	95
摂 餌 量	前 期	雄	4 週	100	96	94↓	91↓↓	100	100	97	87↓↓	
			8 週	100	97	95↓	91↓↓	100	99	97	88↓↓	
			10 週	100	98	95↓	94↓↓	100	100	98	89↓↓	
			1 週	100	100	99	99	100	95	92↓↓	91↓↓	
	妊 娠 期	雌	3 週	100	100	95↓	93↓↓	100	101	95	93↓↓	
			4 週	100	101	97	97	100	96	90↓	88↓↓	
			6 週	100	101	99	92↓	100	96	89↓	87↓	
			8 週	100	99	96	90↓	100	94	88↓	85↓	
	哺 育 期	雌	10 週	100	99	97	89↓	100	99	93↓	87↓↓	
			1 週	100	98	95	85↓	100	94	87↓	82↓	
			2 週	100	100	97	85↓	100	93	95	86↓	
3 週			100	101	99	97	100	99	90	92		
食 餌 効 率 ^{c,d}	前 期	雄	1 週	100	110	100	95	100	101	99	103	
			2 週	100	104	93	82↓	100	95	96	88↓	
			3 週	100	100	95	84↓	100	98	95	85↓	
			4 週	100	101	92	82↓	100	92	94	87	
	妊 娠 期	雌	1-4 週	100	99	99	94↓	100	102	101	100	
			5-8 週	100	101	99	93	100	102	99	100	
			9-10 週	100	102	101	99	100	108	94	99	
哺 育 期	雌	1-10 週	100	100	99	94↓	100	103↑	99	100		
		1-4 週	100	102	99	91↓	100	100	97	102		
		5-8 週	100	96	94	84↓	100	94	90↓	91↓		
9-10 週	100	100	108	112	100	114	108	115				
1-10 週	100	100	98	92↓	100	101	97	102				

^a: 群平均初期体重
^b: 群平均初期体重を共変量として調整した群平均補正体重
^c: 摂餌量および食餌効率の数値は変動の目安として対照群を 100 とした値で示した
^d: 摂食飼料 100 g 当たりのケージ内ラットによる体重増加量として算出
 統計学的有意差: ↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01 (Student の t 検定、体重、摂餌量、食餌効率)

表 2-2. 結果の概要－親動物（続き）

世代		親動物：F ₀				親動物：F ₁					
投与量 (ppm)		0	100	500	3000	0	100	500	3000		
親動物 雄	最終体重 ^s	100	98	96	91	100	99	97	87		
	脳	絶対重量 ^s	100			98↓	100			97↓	
		対体重比 ^d	100			108▲	100			110▲	
		補正重量 ^s	100			100	100			100	
	右側精巣 上体（尾 部）	絶対重量 ^s	100			98	100			102	
		対体重比 ^d	100			107	100			119▲	
		補正重量 ^s	100			100	100			105	
	両側 精巣上体	絶対重量 ^s	100			94↓↓	100			94↓	
		対体重比 ^d	100			103	100			108▲	
		補正重量 ^s	100			98	100			100	
	左側 精巣上体	絶対重量 ^s	100			94↓	100			93↓	
		対体重比 ^d	100			103	100			108	
		補正重量 ^s	100			98	100			100	
	右側 精巣上体	絶対重量 ^s	100			94↓↓	100			95↓	
		対体重比 ^d	100			103	100			109▲	
		補正重量 ^s	100			97	100			101	
	臓器 重量 ／ 雄	腎臓	絶対重量 ^s	100			95↓	100			93↓
			対体重比 ^d	100			105	100			107▲
			補正重量 ^s	100			102	100			107↑↑
	肝臓	絶対重量 ^s	100			109↑↑	100		105	111↑↑	
		対体重比 ^d	100			118▲	100		110▲	130▲	
		補正重量 ^s	100			118↑↑	100		110↑↑	127↑↑	
	前立腺	絶対重量 ^s	100		86↓↓		100				
		対体重比 ^d	100		90		100				
		補正重量 ^s	100		89↓		100				
	脾臓	絶対重量 ^s	100			93↓	100			90↓↓	
		対体重比 ^d	100			102	100			103	
		補正重量 ^s	100			100	100			102	
	精囊	絶対重量 ^s	100			84↓↓	100				
		対体重比 ^d	100			93	100				
補正重量 ^s		100			90↓↓	100					
精巣	絶対重量 ^s	100			99	100			96		
	対体重比 ^d	100			108↑	100			110▲		
	補正重量 ^s	100			101	100			102		
左側精巣	絶対重量 ^s	100				100			96		
	対体重比 ^d	100				100			110▲		
	補正重量 ^s	100				100			102		
右側精巣	絶対重量 ^s	100			100	100			95		
	対体重比 ^d	100			110▲	100			110↑		
	補正重量 ^s	100			102	100			102		
甲状腺	絶対重量 ^s	100		114↑	143↑↑	100			106		
	対体重比 ^d	100		133↑	167▲	100			125▲		
	補正重量 ^s	100		114↑↑	143↑↑	100			111		

最終体重、臓器重量の 数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した

補正重量：最終体重値を共変量として調整した平均値

統計学的有意差：↓↓：p<0.05、↑↑↑：p<0.01 (s；Student の t 検定)

↑：p<0.05、▲：p<0.01 (d；Dunnett 検定、申請者が実施した)

表 2-3. 結果の概要－親動物（続き）

世 代		親動物：F ₀				親動物：F ₁							
投与量（ppm）		0	100	500	3000	0	100	500	3000				
親動物	臓器重量	最終体重 ^s	100	100	98	91	100	99	94	90			
		脳	絶対重量 ^s	100			98	100			97		
			対体重比 ^d	100			109▲	100			109↑		
			補正重量 ^s	100			101	100			100		
		副腎	絶対重量 ^s	100				100		104	96		
			対体重比 ^d	100				100		109	106		
			補正重量 ^s	100				100		114↑↑	112↑		
		腎臓	絶対重量 ^s	100			98	100	105	99	101		
			対体重比 ^d	100			107↑	100	105	105	111▲		
			補正重量 ^s	100			106	100	106↑	105↑	110↑↑		
		肝臓	絶対重量 ^s	100		104	115↑↑	100	107	104	114↑↑		
			対体重比 ^d	100		108	128▲	100	107	111	126▲		
			補正重量 ^s	100		108↑	129↑↑	100	110↑	115↑↑	131↑↑		
		卵巣	絶対重量 ^s	100		111	81↓↓	100			69↓↓		
			対体重比 ^d	100		114↑	89	100			75▼		
			補正重量 ^s	100		113↑	87↓	100			73↓↓		
		下垂体	絶対重量 ^s	100			81↓↓	100			84↓↓		
			対体重比 ^d	100			88	100			92		
			補正重量 ^s	100			87	100			89		
		脾臓	絶対重量 ^s	100			81↓↓	100			81↓↓		
			対体重比 ^d	100			89▼	100			90▼		
			補正重量 ^s	100			91	100			90		
		甲状腺	絶対重量 ^s	100				100			100		
			対体重比 ^d	100				100			114↑		
			補正重量 ^s	100				100			100		
		子宮	絶対重量 ^s	100			78↓↓	100			65↓↓		
			対体重比 ^d	100			85	100			72▼		
			補正重量 ^s	100			73↓↓	100			61↓↓		
		肉眼的病理検査		検体投与に関連した所見は認められなかった。									
		病理組織学的検査											
		物	雄	検査動物数		26	26	26	26	26	23	26	26
				肝臓	肝細胞肥大	0	0	26▲	26▲	0	0	23▲	26▲
					(小葉中心性/ びまん性)			26	21			22	7
					軽微 軽度			0	5			1	19
				検査動物数		25	21	24	26	23	26	25	26
			雌	肝細胞肥大	0	0	17▲	26▲	0	0	15▲	26▲	
(小葉中心性/ びまん性)					17	21			15	20			
軽微 軽度					0	5			0	6			
陰	検査動物数		23	—	—	24	22	1	1	23			
	泌乳期発情休止期像		12	—	—	15	6	0	0	16▲			
発情周期長（日） ^s		4.56	4.21	4.06	4.07	4.10	3.96	3.99	4.07				
交尾に要した日数（日） ^s		3.23	2.50	2.69	3.15	2.42	2.56	3.80↑	2.92				
妊娠期間（日） ^s		22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.2	22.1				
交尾成立率(%) ^f		96.2	92.3	96.2	100	92.0	100	92.3	100				
全同腹児死亡腹数 ^s		1/26	3/24	1/25	0/26	3/24	1/26	0/24	0/26				
全同腹児死亡率(%) ^f		3.8	12.5	4.0	0	12.5	3.8	0	0				
全例生存出産腹数 ^s		22/26	20/24	23/25	24/26	20/24	21/26	19/24	26/26↑				
着床数 ^s		12.3	12.7	11.7	10.7↓	12.8	11.9	12.3	11.4↓				
生存児と死亡児の合計 ^s		11.5	12.3	11.2	10.0↓	12.5	11.2	11.6	11.0↓				
着床後胚死亡率(%) ^f		5.1	3.2	4.1	6.7	3.2	5.1	6.6	4.1				
原始卵胞数		—	—	—	—	54.2	—	—	58.9				

最終体重、臓器重量の 数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した

補正重量：最終体重値を共変量として調整した平均値

統計学的有意差：↓↓：p<0.05、↓↓↓：p<0.01（s；Student の t 検定、f；Fisher の直接確率計算法）

↑：p<0.05、▲▼：p<0.01（d；Dunnett 検定、申請者が実施した）

表 3-1. 結果の概要－児動物

世代		親動物：F ₀ 、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂				
投与量 (ppm)		0	100	500	3000	0	100	500	3000	
一般状態		検体投与に関連のある所見は認められなかった。								
生存産児数/総産児数		284/298	290/295	276/279	256/259	283/301	283/291	271/278	286/286	
生存産児率 (%) ^f		94.4	98.5	99.1	98.4	94.0	97.2	97.9	100↑	
児動物	c,f 同腹児数	生後 1 日	10.9	12.1	11.0	9.8	11.8	10.9	11.3	11.0
			11.4	12.0	11.0	9.8↓	11.9	10.8	11.3	11.0
		生後 5 日	10.8	10.3	10.2	9.5	10.0	10.1	10.6	10.2
			11.2	11.8	10.6	9.5↓	11.4	10.5	10.6	10.2
		生後 8 日	10.8	10.3	10.2	9.5	10.0	10.1	10.6	10.2
			11.2	11.8	10.6	9.5↓	11.4	10.5	10.6	10.2
	生後 22 日	10.8	10.3	10.2	9.5	10.0	10.1	10.6	10.2	
		11.2	11.8	10.6	9.5↓	11.4	10.5	10.6	10.2	
	生後 29 日	10.8	10.3	10.2	9.5	10.0	10.1	10.6	10.2	
		11.2	11.8	10.6	9.5↓	11.4	10.5	10.6	10.2	
	d,f 生存率 (%)	生後 5 日	99.0	86.0↓	92.7	96.7	87.3	93.8	94.8	93.2
		生後 8 日	99.0	86.0↓	92.7	96.7	87.3	93.8	94.8	93.2
生後 15 日		99.0	85.7↓	92.7	96.7	87.3	93.8	94.8	93.2	
生後 22 日		99.0	85.7↓	92.7	96.7	87.3	93.8	94.8	93.2	
生後 29 日		99.0	85.7↓	92.7	96.7	87.3	93.8	94.8	93.2	
性比 (雄%)		49.8	54.3	47.6	50.6	54.2	49.0	51.5	53.5	
s 体重 (g)	生後 1 日 ^a	雄	5.8	5.4↓	5.7	5.5	5.5	5.8↑	5.5	5.4
		雌	5.5	5.1↓	5.5	5.3	5.2	5.4↑	5.2	5.1
	生後 5 日 ^b	雄	8.9	9.2	8.9	8.7	8.7	8.9	9.0	8.4
		雌	8.7	9.0	8.6	8.5	8.5	8.6	8.6	8.2
	生後 8 日 ^b	雄	13.0	13.8↑	13.2	12.6	12.9	13.2	13.4	12.1
		雌	12.7	13.3	12.9	12.1	12.9	12.9	12.8	11.7↓↓
	生後 15 日 ^b	雄	25.5	26.9	26.3	23.6↓↓	26.1	26.6	26.8	22.4↓↓
		雌	25.2	26.4	25.5	22.9↓↓	26.2	26.0	25.7	22.0↓↓
	生後 22 日 ^b	雄	41.7	42.8	41.5	36.6↓↓	42.5	42.7	42.9	35.1↓↓
		雌	40.8	41.8	40.3	35.8↓↓	42.3	41.5	40.9	34.3↓↓
	生後 29 日 ^b	雄	75.8	77.3	74.7	66.9↓↓	76.3	76.1	76.0	64.5↓↓
		雌	71.3	72.2	69.7	64.1↓↓	73.2	71.2	70.2	61.3↓↓
s 同腹児総体重 (g)	生後 1 日	62.1	62.6	59.6	52.9↓↓	64.2	60.0	59.5	57.4	
	生後 5 日	98.1	101.9	91.5	79.3↓↓	95.7	95.0	89.8	80.8	
	生後 8 日	144.2	150.4	135.2	112.8↓↓	143.9	140.1	133.6	115.9↓↓	
	生後 15 日	284.2	296.1	265.2	212.4↓↓	288.2	278.9	266.7	215.7↓↓	
	生後 22 日	461.9	471.1	424.6	332.5↓↓	468.1	445.8	427.0	336.3↓↓	
	生後 29 日	822.3	843.9	757.1	606.7↓↓	833.5	782.3	757.8	620.1↓↓	
肛門生殖突起間距離 (mm) s	雄	—	—	—	—	3.71	3.71	3.75	3.54	
	雌	—	—	—	—	1.99	1.94	1.93	1.89	
性成熟	包皮分離	日齢 ^s	45.0	45.1	45.8	47.3↑↑	—	—	—	—
		体重(g) ^{s,c}	171.9	170.4	171.0	159.2↓↓	—	—	—	—
	膈開口	日齢 ^s	36.2	36.9	36.6	38.2↑↑	—	—	—	—
		体重(g) ^{s,c}	105.3	104.5	102.4	103.7	—	—	—	—

a: 群平均初期体重

b: 生後 1 日の体重を共変量として調整した群平均補正体重

c: 上段は同腹児死亡を含め、下段は同腹児死亡を除いて算出

d: 全同腹児死亡を含む

e: 包皮分離又は膈開口が最初にみられた時点の体重

統計学的有意差: ↓↓: p<0.05, ↑↑↑: p<0.01 (s; Student の t 検定、f; Fisher の直接確率計算法)

—: 該当せず

表 3-2. 結果の概要－児動物（続き）

世代		親動物：F ₀ 、児動物：F ₁				親動物：F ₁ 、児動物：F ₂					
投与量 (ppm)		0	100	500	3000	0	100	500	3000		
児動物	臓器重量／雄	最終体重 ^s	100	97	97	85	100	103	97	83	
		脳	絶対重量 ^s	100			97	100			97↓↓
			対体重比 ^d	100			115▲	100			117▲
			補正重量 ^s	100			103	100			99
		肝臓	絶対重量 ^s	100		105	109↑	100		106	104
			対体重比 ^d	100		109▲	128▲	100		108	124▲
			補正重量 ^s	100		109↑↑	126↑↑	100		109↑	123↑↑
		脾臓	絶対重量 ^s	100			85↓↓	100			82↓↓
			対体重比 ^d	100			100	100			99
			補正重量 ^s	100			95	100			96
		胸腺	絶対重量 ^s	100			87↓↓	100			83↓↓
			対体重比 ^d	100			101	100			99
	補正重量 ^s		100			102	100			98	
	臓器重量／雌	最終体重 ^s	100	98	98	88	100	102	96	82	
		脳	絶対重量 ^s	100			94	100			94↓↓
			対体重比 ^d	100			108▲	100			116▲
			補正重量 ^s	100			98	100			98
		肝臓	絶対重量 ^s	100		103	114↑↑	100		107	107
			対体重比 ^d	100		106	129▲	100		112▲	130▲
			補正重量 ^s	100		106↑↑	126↑↑	100		114↑↑	132↑↑
		脾臓	絶対重量 ^s	100				100			76↓↓
			対体重比 ^d	100				100			94
			補正重量 ^s	100				100			91
		胸腺	絶対重量 ^s	100	108	110	98	100			83↓↓
対体重比 ^d			100	111	111	111	100			100	
補正重量 ^s	100		112↑	113↑	115↑	100			98		
肉眼的病理検査		検体投与に関連した所見は認められなかった。									

最終体重、臓器重量の 数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した

補正重量：最終体重値を共変量として調整した平均値

統計学的有意差：↑：p<0.05、↑↑↓：p<0.01 (s；Student の t 検定)

▲：p<0.01 (d；Dunnnett 検定、申請者が実施した)

2) ラットを用いた催奇形性試験 ①

(資料 No.T-18)

試験機関：

報告書作成年：2007 年

[GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Wistar Hannover ラット (HsdRccHan:WIST)、1 群雌 24 匹
交配時；10～12 週齢、交配時体重範囲；187～242 g

投与期間： 妊娠 5 日から 21 日までの 17 日間
臍垢中に精子を認めた日を妊娠 1 日とした。

投与方法： 検体を 0.5%w/v カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁させ、0、20、75 および 250 mg/kg 体重/日の投与量で、妊娠 5 日から 21 日までの 17 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は、毎日の個体別体重に基づいて 10 mL/kg 体重とした。対照群の動物には 0.5%w/v CMC 水溶液を同様に投与した。

[用量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物； 詳細な臨床観察を少なくとも 1 日 1 回、投与期間中は投与後 1 時間以内にケージサイドの観察も行い、体重を妊娠 1 日から 22 日まで毎日測定した。摂餌量は、妊娠 1-3、3-5、5-8、8-11、11-14、14-17、17-20、20-22 日に測定した。妊娠 22 日に母動物を帝王切開して黄体数、妊娠子宮重量、着床数、着床位置、生存胎児および子宮内死亡数を検査し、外表、内臓および子宮内容物の検査を含む肉眼的病理検査を行

った。

生存胎児； 生存胎児全例を対象として、胎児体重測定、性別の判定、外表、内臓および骨格検査を行った。

結果： 概要を表 1（母動物の所見）および表 2（胎児の所見）に示す。

母動物に対する影響

死亡および一般状態； 妊娠 16 日に対照群の母動物が 1 例死亡した。剖検では腎臓の腫大が認められ、これは偶発的なものと考えられた。

250 mg/kg 体重/日投与群では 2 例が切迫屠殺された。このうち 1 例では、体重減少、摂餌量減少、立毛および抑うつ症状がみられたが、剖検所見は認められなかった。この動物にみられた体重減少および一般状態の変化は検体投与に関連したものと考えられた。他の 1 例では、体重減少、立毛、横腹の陥凹、呼吸数増加、低体温および蒼白が認められた。剖検では胸腔に灰色物質が認められ、食道および肺に穿孔はみられなかったが、胸腔への投与の可能性が考えられた。この動物の死亡と投与との関連性は明らかではなかった。

体重； 250 mg/kg 体重/日投与群において、投与期間中（妊娠 6-21 日）および妊娠 22 日の補正体重（妊娠 5 日の体重を共変量として調整した平均値）に、対照群と比較して有意な低値がみられた。また、妊娠 22 日の正味の補正体重（妊娠 22 日の妊娠子宮重量を差し引いた体重値）も有意に低下した。

75 および 20 mg/kg 体重/日投与群では、体重に検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量； 250 mg/kg 体重/日投与群において、投与期間中（妊娠 5-20 日）の摂餌量に対照群と比較して有意な低値がみられた。投与開始時の妊娠 5-8 日における摂餌量が最低値を示した。

75 および 20 mg/kg 体重/日投与群では、投与開始時の摂餌量に影響はみられなかったが、妊娠 20-22 日の値が対照群に比して有意に高かった。これは対照群の値が著しく低かったためであり、検体投与の影響ではないと考えられた。

着床所見； 75 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で妊娠 22 日に分娩がみられたため、着床所見データから除外した。

250 mg/kg 体重/日投与群では、着床後胚死亡率に有意な高値がみられた。これは同群における早期子宮内死亡率の有意な高値によるもので、その結果、生存胎児数が有意に減少した。また、生存胎児数の減少による妊娠子宮重量の有意な低値がみられた。これらの変化は検体投与に関連した影響であると考えられた。

75 mg/kg 体重/日投与群では、生存胎児数が有意な低値を示したが、着床数が少なく、着床後胚死亡率の増加はみられなかったことから、偶発的なものと考えられた。また、生存胎児数の減少による妊娠子宮重量の有意な低値がみられた。いずれの投与群においても、着床前胚死亡率が対照群に比して有意な高値を示したが、着床前胚死亡は検体投与開始前のことであるため、検体投与に関連したのではなく、対照群の値が著しく低かったことによるものと考えられた。

肉眼的病理所見；いずれの投与群においても、検体投与に関連した所見は認められなかった。

胎児に対する影響

体 重； 250 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の胎児体重に有意な低値が認められた。

75 および 20 mg/kg 体重/日投与群では、雌雄の胎児体重に検体投与による影響は認められなかった。

性 比； 250 および 20 mg/kg 体重/日投与群において性比に有意差がみられたが、いずれの群の値も背景対照データ（雄%：47.1±15.2～50.8±14.3%、5 試験、2006 年）の範囲内にあり、予備試験 においても同様の影響はみられなかった（0、200 および 350 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 48.5、58.0 および 47.8%）ことから、偶発的なものと考えられた。

外表・内臓異常および骨格異常；

0、20、75 および 250 mg/kg 体重/日投与群における異常胎児数（異常胎児を有する腹数）はそれぞれ 1（1）、4（3）、0（0）および 3（3）であった。観察された異常の型は多様であり、その発現頻度は用量との関連はみられず、偶発的なものと考えられた。

内臓変異； 内臓変異の発現頻度に検体投与による影響は認められなかった。

骨格変異； 250 mg/kg 体重/日投与群で、第 2-6 頸椎体、頸椎歯突起、第 2 尾椎弓、手骨格（手根骨・中手骨・指骨）および足骨格（足根骨・中足骨・趾骨）における未骨化、第 4 頸椎弓および第 2 尾椎弓の不完全骨化、ならびに不完全な剣状突起軟骨を有する胎児数に有意な増加がみられた。これらの骨化遅延は検体投与に関連したものであると考えられた。

75 mg/kg 体重/日投与群では、第3、5 頸椎体および頸椎歯突起の未骨化、ならびに不完全な剣状突起軟骨を有する胎児数に有意な増加がみられたが、軽微な変化であることから、毒性学的意義は小さいと考えられた。

また、20 mg/kg 体重/日投与群で手骨格（手根骨・中手骨・指骨）の未骨化を有する胎児数に有意な増加がみられたが、75 mg/kg 体重/日投与群で同様の変化がみられていないことから偶発的変化と判断した。

以上の結果より、本検体をラットの妊娠5～21日に投与した場合、250 mg/kg 体重/日投与群の母動物で体重および摂餌量の有意な低値、立毛および抑うつ症状、早期子宮内死亡率の増加、ならびに生存胎児数の減少が認められた。胎児では、250 mg/kg 体重/日投与群で胎児体重の低下および骨化遅延（第2-6 頸椎体、頸椎歯突起、第2 尾椎弓、手骨格（手根骨・中手骨・指骨）および足骨格（足根骨・中足骨・趾骨）における未骨化、第4 頸椎弓および第2 尾椎弓の不完全骨化、ならびに不完全な剣状突起軟骨を有する胎児数に有意な増加）が認められた。

75 mg/kg 体重/日投与群では、同腹児体重の低下がみられた。また、第3、5 頸椎体および頸椎歯突起の未骨化、ならびに不完全な剣状突起軟骨を有する胎児数に有意な増加が認められた。

したがって、本試験における無毒性量は、母動物では75 mg/kg 体重/日であり、胎児では20 mg/kg 体重/日と考えられる。また、最高用量である250 mg/kg 体重/日においても検体投与に関連する奇形の発現は認められなかった。

表 1. 結果の概要－母動物

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	250		
一群当たりの交配雌数		24	24	24	24		
妊娠雌数		24	24	24	24		
死亡数/切迫殺数		1/0	0/0	0/0	0/2		
一般状態							
立毛		0	0	0	2		
抑うつ状態		0	0	0	1		
母動物	体重 (g)	投与前 ¹⁾	妊娠 1 日	218.4	215.9	218.3	216.6
		妊娠 2 日	228.6	223.7	226.1	226.7	
		妊娠 3 日	232.1	227.9	227.8	229.9	
		妊娠 4 日	235.6	230.3	232.1	232.5	
		妊娠 5 日	239.2	234.2	235.7	236.1	
	投与期間中 ²⁾	妊娠 6 日	239.8	239.5	239.0	230.8↓	
		妊娠 7 日	243.0	241.8	241.8	229.3↓	
		妊娠 8 日	245.7	245.2	245.1	231.0↓	
		妊娠 9 日	249.9	248.7	249.5	233.3↓	
		妊娠 10 日	253.1	253.3	254.3	236.7↓	
		妊娠 11 日	259.4	259.4	260.3	242.8↓	
		妊娠 12 日	265.0	263.4	264.7	247.8↓	
		妊娠 13 日	268.3	268.9	269.6	251.6↓	
		妊娠 14 日	273.5	273.7	274.3	255.1↓	
		妊娠 15 日	278.6	279.9	279.7	260.0↓	
		妊娠 16 日	286.2	286.6	287.3	265.2↓	
		妊娠 17 日	297.1	295.8	297.4	273.1↓	
		妊娠 18 日	307.5	307.6	309.4	282.2↓	
		妊娠 19 日	320.5	318.8	319.6	291.5↓	
		妊娠 20 日	331.5	331.7	331.7	299.9↓	
		妊娠 21 日	337.7	338.6	336.8	306.7↓	
	投与後 ²⁾	妊娠 22 日	333.5	341.0	337.6	308.8↓	
妊娠 22 日妊娠子宮重量差/引き体重 ²⁾		250.3	261.3↑	263.8↑	240.1↓		
摂餌量 ³⁾	投与前	妊娠 1-3 日	17.8	16.9	16.5	17.9	
		妊娠 3-5 日	20.4	20.0	20.6	20.7	
	投与期間中	妊娠 5-8 日	22.2	21.7	20.9	12.7↓	
		妊娠 8-11 日	22.4	21.4	22.1	16.4↓	
		妊娠 11-14 日	25.5	24.9	24.0	20.2↓	
		妊娠 14-17 日	26.4	25.0	25.7	21.1↓	
		妊娠 17-20 日	27.5	26.3	26.7	21.3↓	
妊娠 20-22 日	12.3	16.5↑	16.9↑	14.0			
肉眼的病理所見		-	検体投与に関連した所見なし				
妊娠子宮重量 ⁵⁾ (g)		84.3	78.8	76.7↓	68.5↓		
着床所見	検査腹数	23	24	23 ⁴⁾	22		
	黄体数 ⁵⁾	13.6	13.7	13.0	13.6		
	着床数 ⁵⁾	13.3	12.5	12.0↓	12.4		
	生存胎児数 ⁵⁾	13.1	12.0	11.6↓	11.3↓		
	着床前胚死亡率 ^{5), 6)} (%)	1.9	8.6↑	7.7↑	8.1↑		
	着床後胚死亡率 ⁵⁾ (%)	1.6	4.2	3.8	8.4↑		
	早期子宮内死亡率 ⁵⁾ (%)	1.0	4.2	3.8	7.5↑		
後期子宮内死亡率 ⁵⁾ (%)	0.6	0.0	0.0	0.9			

1) 群平均体重

2) 群平均初期体重の群間差を調整して算出した群平均体重

3) 摂餌量は g/ラット/日として示す。

4) 母動物 1 例で妊娠 22 日に分娩がみられたため、着床所見データから除外した。

5) 群平均値

6) 着床前胚死亡率の背景対照データ：2.7±4.1~13.0±16.6 (平均値の最小~最大、5 試験、2006 年)

統計学的有意差：↓：p<0.05、↑↑↓：p<0.01。[ANCOVA/Student's t-test (母動物体重)、ANOVA/Student's t-test (摂餌量、妊娠子宮重量、着床数、生存胎児数)、Freeman and Tukey + ANOVA (着床前胚死亡率、着床後胚死亡率、早期子宮内死亡率、後期子宮内死亡率)]

表 2. 結果の概要－胎児

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	250	
胎児	体重 (g)	雄	4.86	5.04	4.94	4.59 ↓
		雌	4.64	4.74	4.75	4.30 ↓↓
		雌雄	4.76	4.86	4.84	4.42 ↓↓
同腹児体重 (g)		62.0	57.8	55.6 ↓	50.0 ↓↓	
性比 (雄%) ¹⁾		54.9	43.8 ↓	44.8	44.5 ↓	
検査胎児数 (腹数)		301 (23)	288 (24)	266 (23)	249 (22)	
総異常児数 (総異常胎児所有腹数)		1 (1)	4 (3)	0 (0)	3 (3)	
外表・内臓異常	異常胎児数 (異常胎児所有腹数)		1 (1)	3 (3)	0 (0)	2 (2)
	脱肛		1 (1)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
	全身浮腫		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	小眼球		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	内水頭症		0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
	大動脈拡張		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	肺動脈狭窄		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	左側腎欠損		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	左側尿管欠損		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓変異	変異胎児数 (変異胎児所有腹数)		58 (19)	41 (17)	53 (20)	40 (18)
	左側臍動脈		19 (12)	16 (10)	17 (8)	12 (9)
	肝分葉異常		0 (0)	3 (1)	1 (1)	0 (0)
	腎盂拡張		2 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	尿管拡張		20 (8)	3 ↓↓ (3)	8 (6)	10 (4)
	尿管屈曲		36 (14)	18 ↓ (8)	34 (15)	25 (13)
	副腎退色		1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
脾臓赤色		0 (0)	3 (1)	0 (0)	2 (1)	
骨格異常	異常胎児数 (異常胎児所有腹数)		0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (2)
	眼窩減形成		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	右側第 12 胸椎弓欠損		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	右側第 12 胸椎半椎体		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	右側第 12 肋骨欠損		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	右側第 3、4 肋骨癒合		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	両側大腿骨未骨化		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	両側腓骨未骨化		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	両側脛骨未骨化		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	剣状突起軟骨裂		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 2、3 腰椎体癒合		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
第 6 胸骨分節裂		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	

¹⁾ 性比 (雄%) の背景対照データ : 47.1 ± 15.2 ~ 50.8 ± 14.3 (平均値の最小~最大、5 試験、2006 年)

統計学的有意差 : ↓ : p<0.05、↓↓ : p<0.01. [ANOVA/Student's t-test (胎児体重)、Fisher の直接確率計算法 (異常または変異胎児数、異常胎児または変異胎児所有腹数)]

表 2. 結果の概要—胎児（続き）

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	250	
胎児	骨格変異	検査胎児数 (腹数)	301 (23)	288 (24)	266 (23)	249 (22)
		変異胎児数 (変異胎児所有腹数)	286 (23)	273 (24)	247 (23)	232 (22)
		大泉門開大	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		前頭骨不完全骨化	2 (2)	1 (1)	3 (2)	0 (0)
		舌骨体二分骨化	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		舌骨体不完全骨化	4 (2)	1 (1)	0 (0)	3 (2)
		頭頂間骨不完全骨化	53 (16)	45 (15)	41 (14)	25↓ (10)
		頭頂骨に隣接する孤立性骨化部	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		頬骨不完全骨化	16 (5)	8 (6)	9 (7)	5↓ (4)
		下顎骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		上顎突起不完全骨化	10 (3)	2↓ (1)	4 (2)	2 (1)
		鼻骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		上後頭骨不完全骨化	5 (3)	11 (6)	3 (3)	3 (2)
		頭頂骨不完全骨化	18 (8)	22 (7)	15 (10)	7 (3)
		頭頂骨の小孔	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		前蝶形骨未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		側頭骨不完全骨化	1 (1)	0 (0)	3 (1)	0 (0)
		頭頂骨と頭頂間骨間の縫合骨	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		側頭骨頬骨突起不完全骨化	13 (4)	4↓ (2)	9 (7)	0↓↓ (0)
		鼓室輪不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		頬骨弓癒合	7 (4)	14 (9)	13 (7)	5 (5)
		第2頸椎体二分骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		第2頸椎体未骨化	53 (15)	50 (17)	60 (14)	89↑↑ (19)
		第3頸椎体軟骨裂	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第3頸椎体未骨化	8 (4)	9 (7)	22↑↑ (8)	33↑↑ (11↑)
		第4頸椎体二分骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第4頸椎体未骨化	4 (2)	6 (5)	10 (5)	23↑↑ (10↑↑)
		第5頸椎体未骨化	1 (1)	2 (2)	9↑↑ (4)	18↑↑ (7↑)
		第6頸椎体未骨化	2 (1)	2 (2)	5 (3)	14↑↑ (6↑)
		第7頸椎体未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
頸椎歯突起二分骨化	13 (7)	12 (9)	4 (4)	1↓↓ (1↓)		
頸椎歯突起不完全骨化	17 (8)	9 (6)	20 (11)	12 (11)		
頸椎歯突起未骨化	28 (13)	39 (12)	43↑ (10)	62↑↑ (14)		

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↑↓↓：p<0.01 [Fisherの直接確率計算法 (変異胎児数、変異胎児所有腹数)]

表 2. 結果の概要—胎児 (続き)

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	250	
胎 児	骨 格 変 異	検査胎児数 (腹数)	301 (23)	288 (24)	266 (23)	249 (22)
		頸椎腹弓二分骨化	85 (21)	64 (19)	62 (21)	38↓ (16)
		頸椎腹弓不完全骨化	33 (17)	22 (10↓)	19 (10)	14↓ (8↓)
		頸椎腹弓未骨化	20 (11)	18 (5)	29 (11)	20 (10)
		頸椎腹弓断片的骨化	2 (2)	4 (4)	7 (5)	1 (1)
		第 2 頸椎弓不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 3 頸椎弓不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		第 3 頸椎弓小型化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 4 頸椎弓不完全骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	4↑ (2)
		第 5 頸椎弓不完全骨化	0 (0)	2 (2)	0 (0)	3 (2)
		第 6 頸椎弓不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
		第 7 頸椎弓不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 12 胸椎体二分骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第 12 胸椎体片側未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 14 胸椎体未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 1 胸椎体軟骨裂	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 1 胸椎体片側未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 1 胸椎体未骨化	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 2 胸椎体片側未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 3 胸椎体裂	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3 胸椎体片側転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3 胸椎体非対称、亜鈴型骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 2、3 胸椎体軟骨癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3、4 胸椎体軟骨癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 11 胸椎弓転位-前方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 13 胸椎弓転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 5 胸椎弓不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3 腰椎体二分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 1 腰椎弓不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 6 腰椎弓不完全骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		第 1 仙椎弓不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 2 仙椎弓不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3 仙椎弓不完全骨化	0 (0)	3 (2)	0 (0)	0 (0)
		第 4 仙椎弓不完全骨化	0 (0)	3 (2)	1 (1)	1 (1)
		第 1 尾椎弓不完全骨化	0 (0)	3 (2)	1 (1)	3 (2)
		第 2 尾椎弓不完全骨化	1 (1)	3 (2)	4 (3)	20↑ (6↑)
		第 2 尾椎弓未骨化	1 (1)	2 (2)	2 (2)	10↑ (5)
		第 5 胸骨分節二分骨化	7 (5)	3 (3)	6 (4)	7 (7)
		第 5 胸骨分節不完全骨化	5 (3)	1 (1)	5 (3)	3 (2)
		第 1 胸骨分節二分骨化	0 (0)	2 (2)	0 (0)	1 (1)
第 1 胸骨分節不完全骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)		
第 2 胸骨分節二分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
第 2 胸骨分節未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
第 3 胸骨分節二分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
第 3 胸骨分節片側不整	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)		
第 4 胸骨分節二分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)		
第 4 胸骨分節片側不整	3 (3)	1 (1)	2 (2)	3 (3)		
第 5 胸骨分節未骨化	3 (2)	1 (1)	6 (3)	5 (5)		

統計学的有意差：↓：p<0.05、↑↑↓：p<0.01 [Fisherの直接確率計算法 (変異胎児数、変異胎児所有腹数)]

表 2. 結果の概要—胎児 (続き)

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	250	
胎児	骨格変異	検査胎児数 (腹数)	301 (23)	288 (24)	266 (23)	249 (22)
		第 5 胸骨分節片側不整	8 (6)	2 (2)	7 (5)	6 (5)
		第 6 胸骨分節-前方過剰骨化中心	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 6 胸骨分節不完全骨化	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (1)
		第 6 胸骨分節不整骨化	2 (2)	3 (2)	1 (1)	3 (3)
		第 6 胸骨分節未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		剣状突起軟骨不完全	15 (11)	23 (16)	25↑ (14)	31↑ (11)
		第 6 胸骨分節分岐	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 2 胸骨分節癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 10 肋軟骨断裂	6 (3)	6 (4)	4 (1)	1 (1)
		第 11 肋軟骨断裂	99 (22)	69↓ (19)	56↓↓ (19)	57↓ (14)↓
		第 11 肋骨屈曲	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 11 肋軟骨延長	24 (10)	23 (9)	7↓↓ (5)	14 (7)
		第 12 肋骨屈曲	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
		第 13 肋骨短小	0 (0)	0 (0)	2 (1)	0 (0)
		第 1 肋骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 1、2 肋軟骨癒合	2 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 2 肋軟骨転位-前方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
		第 2 肋軟骨転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3 肋軟骨転位-前方	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
		第 3 肋軟骨転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 3、4 肋軟骨癒合	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 4 肋軟骨転位-前方	1 (1)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
		第 4 肋軟骨転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 5 肋軟骨転位-前方	2 (2)	0 (0)	2 (2)	1 (1)
		第 5 肋軟骨転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 6 肋軟骨転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 7 肋軟骨転位-後方	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 7 肋軟骨短小	0 (0)	0 (0)	3 (2)	0 (0)
		第 8 肋骨屈曲	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		第 8 肋軟骨不整	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 8 肋軟骨延長	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		第 14 肋骨-長いもの	5 (3)	4 (3)	1 (1)	9 (5)
		第 14 肋骨-短小	142 (21)	116 (21)	115 (22)	102 (21)
		第 15 肋骨-短小	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		第 7 頸肋-短小	3 (3)	7 (4)	2 (2)	0 (0)
		上腕骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		橈骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		尺骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		手骨格 (手根指・中手指・指骨) 骨化減少	4 (2)	19↑ (6)	10 (4)	20↑ (8)↑
		坐骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		27 仙椎前椎骨-両側	1 (1)	6 (4)	3 (2)	5 (4)
27 仙椎前椎骨-左側 (右側 26)	3 (3)	5 (3)	2 (2)	4 (3)		
27 仙椎前椎骨-右側 (左側 26)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	2 (2)		
恥骨未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
踵骨骨化	123 (19)	111 (19)	101 (22)	44↓↓ (10)↓		
足骨格 (足根指・中足骨・趾骨) 骨化増加	7 (3)	1 (1)	1 (1)	0↓ (0)		
足骨格 (足根指・中足骨・趾骨) 骨化減少	27 (11)	29 (10)	26 (11)	43↑ (14)		

統計学的有意差: ↓: p<0.05, ↓↓↓: p<0.01 [Fisher の直接確率計算法 (変異胎児数、変異胎児所有腹数)]

3) ラットを用いた催奇形性試験 ②

(資料 No.T-19)

試験機関：

報告書作成年：2008 年

[GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Wistar Hannover ラット (HanRcc:WIST)、1 群雌 24 匹
交配時；11 週齢、交配時体重範囲；192～231 g

投与期間： 妊娠 4 日から 20 日までの 17 日間
臍栓または臍垢中に精子を認めた日を妊娠 0 日とした。

投与方法： 検体を 0.5%w/v カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁させ、0、20、75 および 200 mg/kg 体重/日の投与量で、妊娠 4 日から 20 日までの 17 日間、毎日 1 回強制経口投与した。投与液量は、毎日の個体別体重に基づいて 10 mL/kg 体重とした。対照群の動物には 0.5%w/v CMC 水溶液を同様に投与した。

[用量設定根拠]

観察・検査項目：

母動物； 動物の生死について 1 日 2 回、ケージサイドの臨床観察を 1 日 1 回行った。体重を妊娠 0 日から 21 日まで毎日測定した。摂餌量は、妊娠 0-4、4-6、6-9、9-12、12-15、15-18、18-21 日に測定した。妊娠 21 日に母動物を帝王切開して、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、着床位置、生存胎児および子宮内死亡数を検査し、外表、内臓および子宮内容物の検査を含む肉眼的病理検査を行った。なお、子宮内死亡について

は、胚吸収、胎児吸収および胎児死亡（外観は生存胎児と同様であるが呼吸のみられないもの）に分類した。

生存胎児； 生存胎児全例を対象として、胎児重量測定、性別の判定および外表検査を行った。各腹の半数の胎児について内臓検査を、残りの半数について骨格検査を行った。

結果； 概要を表1（母動物の所見）および表2（胎児の所見）に示す。

母動物に対する影響

死亡および一般状態； 対照群を含めいずれの投与群でも死亡例は認められなかった。

一般状態については、200 mg/kg 体重/日投与群では、妊娠4-9日まで、全母動物に腹臥位および鎮静が観察され、少数の母動物で妊娠13-18日まで腹臥位が、21日まで鎮静および立毛が認められた。

75および20 mg/kg 体重/日投与群の母動物には検体投与の影響は認められなかった。

体重； 200 mg/kg 体重/日投与群では、妊娠5-21日の体重および体重増加量に、75 mg/kg 体重/日投与群では、妊娠7-21日（妊娠9および17日を除く）の体重および妊娠6-21日の体重増加量に有意な低値がみられた。正味の体重増加量〔（妊娠21日の体重）－（妊娠4日の体重）－（子宮重量）〕についても、200および75 mg/kg 体重/日投与群で有意な低値が認められた。

20 mg/kg 体重/日投与群では、体重、体重増加量および正味の体重増加量のいずれにおいても検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量； 200および75 mg/kg 体重/日投与群において、投与期間中の摂餌量に有意な低値がみられた。20 mg/kg 体重/日投与群では検体投与の影響は認められなかった。

着床所見； 黄体数、着床数および着床前胚死亡率に群間で差はみられなかった。いずれの投与群においても、着床後胚死亡率および生存胎児数に検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理所見； いずれの投与群においても、検体投与に関連した所見は認められなかった。

胎児に対する影響

体重； 200および75 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の胎児体重に有意な低値が認められた。20 mg/kg 体重/日投与群では検体投与による影響は認められなかった。

性比； いずれの投与群においても、検体投与による影響は認められなかった。

外表検査； いずれの群においても外表異常は認められなかった。

内臓検査；内臓奇形として、200 mg/kg 体重/日投与群で横隔膜ヘルニアが1例、75 mg/kg 体重/日投与群で胸腔および腹腔の内臓逆位が2例（2腹）、ならびに心室中隔欠損が1例、20 mg/kg 体重/日投与群で胸腔および腹腔の内臓逆位が1例に観察されたが、その発現頻度に用量相関性はみられず、偶発的なものと考えられた。

内臓変異は全群で観察され、これらの変異は、本試験に供した系統のラットにおいて通常みられるものであり、その発現頻度に用量に依存した変化が認められなかったことから、検体投与とは関連のないものと考えられた。

骨格検査；骨格奇形として、対照群で胸・腰椎不整/減形成（胸・腰椎側湾）が1例、75 mg/kg 体重/日投与群で頸椎欠損が1例および頸椎弓短小が1例に観察されたが、その発現頻度に用量に依存した変化はみられず、偶発的なものと考えられた。

骨格変異のうち、胸骨付着部における肋軟骨非対称配列の投与群における発現頻度が対照群よりやや高かった（胎児発現率：対照群1%、投与群2～5%、腹発現率：対照群4%、投与群13～21%）が、背景データ（胎児発現率：0～5%、腹発現率：0～23%、6試験、2006～2007年）の範囲内であったことから、偶発的なものと考えられた。硬骨および軟骨の骨格変異の発現頻度には、用量に依存した変化は認められず、いずれの投与群においても対照群と比較して有意差はみられなかった。

骨化進行度の検査では、200 mg/kg 体重/日投与群で椎体、第5胸骨分節、基節骨、距骨および中足骨の未骨化、第6胸骨分節不完全骨化の発現頻度が有意に増加し、75 mg/kg 体重/日投与群では、距骨未骨化の発現頻度、第3頸椎体未骨化の胎児を有する腹の頻度が有意に増加した。200および75 mg/kg 体重/日投与群では、胎児体重に有意な低値がみられたことから、これらの骨化遅延は発育遅延によるものであると考えられた。

以上の結果より、本検体をラットの妊娠4～20日に投与した場合、75 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物で体重、体重増加量、正味の体重増加量および摂餌量に有意な低値がみられ、200 mg/kg 体重/日投与群の母動物で腹臥位、鎮静および立毛が認められた。胎児では、75 mg/kg 体重/日以上投与群で低体重および骨化遅延が認められた。

したがって、本試験における無毒性量は、母動物および胎児とも20 mg/kg 体重/日と考えられる。また、最高用量である200 mg/kg 体重/日においても検体投与に関連する奇形の発現は認められなかった。

表 1. 結果の概要－母動物

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	200		
一群当たりの交配雌数		24	24	24	24		
母動物	妊娠雌数	23	23	24	24		
	死亡数	0	0	0	0		
	生存胎児の得られた雌数		23	23	24	24	
	一般状態	腹臥位	0	0	0	24	
		沈静	0	0	0	24	
		立毛	0	0	0	6	
	体重 (g)	投与前 ¹⁾	妊娠 0 日	212	211	211	208
			妊娠 1 日	216	214	215	212
			妊娠 2 日	221	219	219	216
			妊娠 3 日	224	221	222	220
		投与期間中 ¹⁾	妊娠 4 日	226	224	225	223
			妊娠 5 日	229	226	227	218 ↓
			妊娠 6 日	232	228	225	213 ↓
			妊娠 7 日	236	231	226 ↓	212 ↓
			妊娠 8 日	240	234	230 ↓	213 ↓
			妊娠 9 日	241	239	234	217 ↓
			妊娠 10 日	249	243	239 ↓	221 ↓
			妊娠 11 日	253	247	244 ↓	225 ↓
			妊娠 12 日	257	252	247 ↓	228 ↓
			妊娠 13 日	261	256	251 ↓	231 ↓
			妊娠 14 日	267	261	255 ↓	236 ↓
			妊娠 15 日	272	267	261 ↓	240 ↓
			妊娠 16 日	282	275	270 ↓	245 ↓
			妊娠 17 日	292	286	282	251 ↓
			妊娠 18 日	305	299	294 ↓	260 ↓
			妊娠 19 日	318	310	304 ↓	268 ↓
			妊娠 20 日	330	323	315 ↓	275 ↓
投与後 ¹⁾	妊娠 21 日	341	333	325 ↓	282 ↓		
体重増加量 ¹⁾ (g)	妊娠 4-5 日	3.1	2.0	1.2	-5.0 ↓		
	妊娠 4-6 日	5.3	3.5	-0.7 ↓	-10.3 ↓		
	妊娠 4-7 日	9.3	6.8	0.7 ↓	-11.0 ↓		
	妊娠 4-8 日	13.7	10.0	4.8 ↓	-10.1 ↓		
	妊娠 4-9 日	15.0	15.1	8.5 ↓	-6.3 ↓		
	妊娠 4-10 日	22.6	18.6	13.5 ↓	-2.0 ↓		
	妊娠 4-11 日	27.1	22.6 ↓	18.3 ↓	2.1 ↓		
	妊娠 4-12 日	31.0	27.7	22.1 ↓	5.1 ↓		
	妊娠 4-13 日	34.2	31.6	25.5 ↓	7.8 ↓		
	妊娠 4-14 日	40.8	36.7	30.2 ↓	13.2 ↓		
	妊娠 4-15 日	46.1	42.4	35.7 ↓	17.4 ↓		
	妊娠 4-16 日	55.3	50.4	44.4 ↓	21.9 ↓		
	妊娠 4-17 日	65.5	61.7	56.5 ↓	28.1 ↓		
	妊娠 4-18 日	78.8	74.5	68.1 ↓	37.3 ↓		
	妊娠 4-19 日	91.8	86.1	79.0 ↓	45.1 ↓		
妊娠 4-20 日	103.9	98.6	89.8 ↓	52.0 ↓			
妊娠 4-21 日	114.6	108.6	99.8 ↓	59.5 ↓			
正味の体重増加量 ²⁾		34.2	26.0	20.2 ↓	-5.7 ↓		

¹⁾: 群平均値

²⁾: [(妊娠 21 日の体重) - (妊娠 4 日の体重) - (子宮重量)]

統計学的有意差: ↓: p<0.05、↓↓: p<0.01. [Dunnett 検定 (体重、体重増加量、正味の体重増加量)]

表 1. 結果の概要－母動物（続き）

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	200	
母動物	摂餌量 ¹⁾ (g/ラット/日)	妊娠 0-4 日	21.9	21.7	21.9	22.1
		妊娠 4-6 日	22.9	23.4	19.4 ↓	13.7 ↓
		妊娠 6-9 日	22.9	21.5	19.4 ↓	13.5 ↓
		妊娠 9-12 日	24.7	23.8	22.2 ↓	17.1 ↓
		妊娠 12-15 日	24.6	23.5	22.3 ↓	17.7 ↓
		妊娠 15-18 日	26.3	25.3	24.0 ↓	17.6 ↓
		妊娠 18-21 日	25.2	24.6	22.3 ↓	16.7 ↓
	肉眼的病理所見	検体投与に関連した所見なし				
	妊娠子宮重量 ¹⁾ (g)	80.4	82.6	79.6	65.2	
	着床所見	検査腹数	23	23	24	24
		黄体数 ¹⁾	14.4	14.8	14.4	14.2
		着床数 ¹⁾	13.7	13.9	13.9	13.2
		生存胎児数 ¹⁾	12.4	13.1	13.1	12.2
		着床前胚死亡率 ¹⁾ (%)	4.8	6.2	3.5	7.0
着床後胚死亡率 ¹⁾ (%)		9.2	5.9	5.4	7.9	
胚吸収率 ¹⁾ (%)		8.3	5.0	4.8	7.9	
胎児吸収率 ¹⁾ (%)	1.0	0.6	0.6	0		
胎児死亡率 ¹⁾ (%)	0	0	0	0		

¹⁾: 群平均値

統計学的有意差: ↓: p<0.01. [Dunnett 検定 (摂餌量、妊娠子宮重量、着床所見)]

表 2. 結果の概要－胎児

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	200	
胎児	体重 (g) ¹⁾	雄	5.0	4.8	4.7 ↓	4.1 ↓↓
		雌	4.7	4.6	4.4 ↓	3.9 ↓↓
		雌雄	4.8	4.7	4.5 ↓	4.0 ↓↓
性比 (雄%)		47.9	51.8	46.3	47.9	
外表奇形	検査胎児数 (腹数)	286 (23)	301 (23)	315 (24)	292 (24)	
	奇形胎児数 (奇形胎児所有腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
内臓奇形	検査胎児数 (腹数)	150 (23)	156 (23)	163 (24)	151 (24)	
	奇形胎児数 (奇形胎児所有腹数)	0 (0)	1 (1)	3 (3)	1 (1)	
	内臓逆位 (胸腔および腹腔)	0 (0)	1 (1)	2 (2)	0 (0)	
	心室中隔欠損	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	横隔膜ヘルニア	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
内臓変異	検査胎児数 (腹数)	150 (23)	156 (23)	163 (24)	151 (24)	
	変異胎児数 (腹数)	52 (21)	55 (22)	63 (23)	76 ↑ (23)	
	脳髄膜周囲出血	3 (3)	2 (2)	7 (6)	2 (2)	
	眼内出血	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
	食道位置異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	胸腺頸部残留	10 (8)	24 ↑ (11)	26 ↑ (14)	18 (11)	
	総頸動脈または鎖骨下動脈 起始部位位置異常	2 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	大動脈弓軽度拡張	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	心臓位置異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	右側または両側奇静脈	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	
	肺分葉異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (2)	
	横隔膜局所菲薄化	3 (3)	2 (2)	5 (4)	7 (6)	
	肝臓分葉異常	7 (7)	8 (5)	8 (7)	13 (11)	
	尿管/腎盂拡張	0 (0)	0 (0)	1 (1)	5 (4)	
	精巣位置異常	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	左側臍動脈	29 (18)	13 ↓ (13)	20 (13)	25 (17)	
	皮下出血	12 (9)	13 (9)	8 (7)	22 (16)	
	骨格奇形	検査胎児数 (腹数)	136 (23)	145 (23)	152 (24)	141 (24)
奇形胎児数 (奇形胎児所有腹数)		1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	
頸椎欠損		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
頸椎弓短小		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
胸・腰椎不整/減形成 (胸・腰椎側弯)		1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

¹⁾: 群平均値

統計学的有意差: ↑↓: p<0.05、↑↑↓: p<0.01. [Dunnnett 検定 (胎児体重)、Fisher の直接確率計算法 (奇形または変異胎児数、奇形胎児または変異胎児所有腹数)]

表 2. 結果の概要－胎児（続き）

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	200
骨格変異・硬骨	検査胎児数 (腹数)	136 (23)	145 (23)	152 (24)	141 (24)
	変異胎児数 (変異胎児所有腹数)	23 (12)	31 (18)	38 (17)	34 (18)
	全身不完全骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	上後頭骨二分骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	頬骨弓癒合	5 (3)	13 (9)	9 (7)	7 (5)
	頸肋	1 (1)	3 (2)	9 ↑ (5)	4 (3)
	胸椎体二分骨化	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
	完全過剰肋骨を伴う胸椎	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	波状肋骨	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	痕跡状肋骨	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	肋骨不完全骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸骨分節不整	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
	胸骨分節癒合	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	胸骨分節幅広	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	胸骨分節骨化亢進/過剰胸骨	0 (0)	2 (1)	1 (1)	1 (1)
	胸骨分節二分骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	腰帯位置異常	10 (5)	3 ↓ (3)	6 (4)	12 (7)
	過剰肋骨、左側	1 (1)	1 (1)	0 (0)	4 (4)
	痕跡状過剰肋骨、左側	32 (16)	38 (20)	29 (14)	34 (18)
過剰肋骨、右側	2 (2)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
痕跡状過剰肋骨、右側	28 (14)	26 (14)	24 (12)	37 (16)	
骨格変異・軟骨	検査胎児数 (腹数)	136 (23)	144 (23)	151 (24)	141 (24)
	上後頭軟骨の小孔	4 (4)	9 (7)	5 (4)	5 (4)
	腹板付加	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	頸椎体垂鈴型	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	頸椎弓不整	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸椎体垂鈴型	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸骨付着部における肋軟骨非対称配列	1 (1)	3 (3)	6 (5)	7 (5)
	肋軟骨末端分岐	3 (3)	1 (1)	3 (3)	1 (1)
	肋軟骨離断	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	肋軟骨癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	肋軟骨結節	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	軟骨性頸椎腹板延長、左側	0 (0)	2 (2)	0 (0)	1 (1)
	軟骨性頸椎腹板延長、右側	1 (1)	2 (2)	0 (0)	1 (1)
	軟骨性頸椎の第 5 頸椎腹板への頭方偏位、左側	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	軟骨性頸椎の第 7 頸椎腹板への尾方偏位、左側	2 (2)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	剣状突起軟骨分岐	40 (18)	54 (21)	51 (21)	60 ↑ (21)
	剣状突起軟骨の小孔	30 (18)	30 (16)	29 (18)	34 (18)
	第 10 肋軟骨延長、左側	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	第 11 肋軟骨延長、左側	5 (4)	2 (2)	0 ↓ (0 ↓)	3 (3)
第 10 肋軟骨延長、右側	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
第 11 肋軟骨延長、右側	5 (4)	0 ↓ (0)	2 (1)	4 (4)	

統計学的有意差：↑↓：p<0.05. [Fisher の直接確率計算法 (変異胎児数、変異胎児所有腹数)]

表 2. 結果の概要—胎児 (続き)

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	200
骨格変異・軟骨	検査胎児数 (腹数)	136 (23)	144 (23)	151 (24)	141 (24)
	第 9 肋軟骨離断、左側	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	第 10 肋軟骨離断、左側	4 (3)	3 (3)	6 (5)	6 (5)
	第 11 肋軟骨離断、左側	17 (11)	23 (14)	13 (8)	28 (16)
	第 10 肋軟骨離断、右側	2 (2)	4 (2)	10 † (5)	1 (1)
	第 11 肋軟骨離断、右側	20 (13)	23 (13)	23 (15)	33 (14)
	第 2 肋軟骨、胸骨に未到達、左側	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	第 7 肋軟骨、胸骨に未到達、左側	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	第 7 肋軟骨、胸骨に未到達、右側	2 (2)	0 (0)	2 (2)	3 (2)
	過剰肋軟骨、左側	1 (1)	1 (1)	1 (1)	4 (4)
	過剰肋軟骨、右側	2 (2)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
	痕跡状過剰肋軟骨、右側	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	胎児	検査胎児数 (腹数)	136 (23)	145 (23)	152 (24)
後頭骨不完全骨化		1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (2)
頭頂骨不完全骨化、両側		1 (1)	2 (2)	4 (4)	2 (1)
頭頂間骨不完全骨化		14 (9)	10 (5)	14 (7)	6 (5)
頭頂骨不完全骨化、右側		2 (2)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
舌骨不完全骨化		0 (0)	3 (3)	1 (1)	0 (0)
前頭骨不完全骨化、左側		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
前頭骨不完全骨化、右側		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
鼻骨不完全骨化、左側		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
鼻骨不完全骨化、右側		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
上顎骨頬骨突起不完全骨化、左側		1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
上顎骨頬骨突起不完全骨化、右側		1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
頬骨、左側		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
頬骨、右側		0 (0)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
第 1 頸椎体未骨化		9 (7)	19 (13)	15 (12)	43 †† (17 ††)
第 2 頸椎体未骨化		4 (3)	13 † (7)	12 (9)	40 †† (19 ††)
第 3 頸椎体未骨化		4 (3)	10 (6)	12 (10 †)	20 †† (13 ††)
第 4 頸椎体未骨化		4 (3)	6 (4)	5 (5)	15 † (9)
第 5 頸椎体未骨化		2 (1)	4 (4)	2 (2)	7 (5)
第 6 頸椎体未骨化		1 (1)	2 (2)	1 (1)	6 (4)
第 7 頸椎体未骨化		1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
第 1 胸骨分節不完全骨化		0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
第 2 胸骨分節不完全骨化		0 (0)	2 (1)	2 (2)	5 (4)
第 5 胸骨分節不完全骨化		6 (5)	10 (8)	17 † (9)	13 (10)
第 6 胸骨分節不完全骨化	1 (1)	1 (1)	2 (2)	17 †† (5)	
第 2 胸骨分節未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
第 5 胸骨分節未骨化	1 (1)	3 (3)	6 (6)	9 † (5)	
第 6 胸骨分節未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	

統計学的有意差: †: p<0.05, ††: p<0.01. [Fisher の直接確率計算法 (変異胎児数、変異胎児所有腹数)]

表 2. 結果の概要－胎児（続き）

投与群 (mg/kg 体重/日)		0	20	75	200
胎 児 骨 化 進 行 度	検査胎児数 (腹数)	136 (23)	145 (23)	152 (24)	141 (24)
	左前肢第 1 末節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	4 (1)
	左前肢第 2 基節骨未骨化	14 (8)	18 (11)	12 (9)	52 †† (15)
	左前肢第 3 基節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	5 (2)
	左前肢第 4 基節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	8 † (3)
	左前肢第 5 中手骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	左前肢第 5 基節骨未骨化	40 (16)	39 (15)	42 (20)	77 †† (21)
	左前肢第 5 末節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	右前肢第 1 末節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	4 (1)
	右前肢第 2 基節骨未骨化	13 (8)	17 (11)	12 (9)	51 †† (15)
	右前肢第 3 基節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	4 (1)
	右前肢第 4 基節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	7 † (3)
	右前肢第 5 中手骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
	右前肢第 5 基節骨未骨化	40 (16)	38 (15)	42 (20)	76 †† (21)
	右前肢第 5 末節骨未骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	左後肢距骨未骨化	95 (21)	106 (23)	128 †† (24)	137 †† (24)
	左後肢第 1 中足骨未骨化	2 (2)	2 (2)	3 (3)	10 † (5)
	左後肢第 2 基節骨未骨化	4 (3)	6 (5)	6 (5)	31 †† (10)†
	左後肢第 3 基節骨未骨化	4 (3)	5 (5)	3 (3)	28 †† (10)†
	左後肢第 4 基節骨未骨化	4 (3)	5 (5)	3 (3)	27 †† (10)†
	左後肢第 5 中足骨未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	左後肢第 5 基節骨未骨化	17 (10)	16 (12)	20 (14)	59 †† (21)††
	右後肢距骨未骨化	91 (21)	103 (23)	129 †† (24)	137 †† (24)
	右後肢第 1 中足骨未骨化	2 (2)	3 (3)	3 (3)	7 (4)
	右後肢第 2 基節骨未骨化	5 (4)	7 (6)	7 (6)	27 †† (9)
	右後肢第 3 基節骨未骨化	3 (3)	7 (6)	4 (4)	24 †† (9)
右後肢第 4 基節骨未骨化	3 (3)	7 (6)	4 (4)	26 †† (9)	
右後肢第 5 中足骨未骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
右後肢第 5 基節骨未骨化	17 (10)	16 (10)	16 (11)	57 †† (18)†	

統計学的有意差：†：p<0.05、††：p<0.01. [Fisher の直接確率計算法 (変異胎児数、変異胎児所有腹数)]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

4)

(資料 No.T-20)

- ()

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

5)

(資料 No.T-21)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

6)

(資料 No.T-22)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。