

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。

(9) 28 日間反復投与遅発性神経毒性

(資料 毒性-16)

12 生産第3986 号「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12 年11 月24 日付け
12 農産第8147 号農林水産省農産園芸局長通知）の運用についての4. 試験成績の除外について
て」(2)⑬の規定に基づき下記の理由により試験を省略した。

- ・ 有効成分がリン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。

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

(10) 反復経口投与毒性及び発がん性

① ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性試験

(資料 毒性-17)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1987年

検体の純度： カスガマイシンー塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物： Wistar系ラット (Jcl: Wistar)

投与開始時週齢；雄4~5週齢、雌5週齢

投与開始時体重；雄104±5 g、雌98±4 g

一群雌雄各70匹

投与後26及び52週時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

投与期間： 24ヵ月（雄1984年5月29日~1986年5月31日、雌1984年6月6日~1986年6月7日）

投与方法： 検体を0、30、300及び3000 ppmの濃度で混入した飼料を24ヵ月間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は毎週1回調製した。なお、飼料調製の際、検体純度（遊離塩基として）による補正を行った。

用量設定根拠；

試験項目及び結果：

死亡率；

投与期間中、動物の瀕死状態ないし死亡の有無を毎日観察した。

試験終了時の死亡数を次表に示す。

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。

項目	性別及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	50	50	50	49 ^{a)}	49 ^{a)}	50	50	50
死亡・切迫殺動物数	9	14	11	6	19	14	12	11

a : 3000 ppm 群雄及び対照群雌において、各 1 例がそれぞれ体重測定あるいは眼窩採血時の事故により死亡したため、検査動物数から除外した。

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、いずれの投与群の雌雄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。30 ppm 群の雌において、投与後 2 週及び 7 週時に死亡動物が認められたが、これらの動物の死因はそれぞれ排尿不全と腎盂腎炎であり、検体投与に関連するものとは考えられなかった。

一般状態；

投与期間中、一般状態を毎日観察した。さらに、少なくとも毎週 1 回、触診を含む詳細な臨床観察を行った。

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	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	70	70	70	69	69	70	70	69
外観 立毛	0	▲7	1	0	5	3	4	2
外観 外陰部の汚れ	5	10	5	4	8	↓2	5	4
眼 混濁	29	28	27	28	5	12	↑14	12
被毛 小結節/腫瘤	20	17	↓2	13	21	29	24	15

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

各投与群の雌雄において、対照群と比較して統計学的に有意に発生頻度が変動した所見が散見されたが、いずれも用量相関性がなく、検体投与に関連するものではなかった。

体重変化；

全動物について投与開始から 13 週時までは毎週 1 回、その後は 4 週に 1 回の頻度で体重を測定した。

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		
	30	300	3000	30	300	3000
0	100	100	100	100	100	100
1	101	101	↓95	101	100	100
2	102	102	↓97	101	100	99
3	101	101	97	101	100	99
4	101	101	98	99	101	98
5	101	102	99	99	100	98
6	102	102	99	99	100	98
7	↑102	102	99	100	100	97
8	102	102	99	100	100	↓97
9	102	102	99	100	100	↓97
10	102	102	99	100	99	↓97
11	102	102	99	99	100	↓96
12	102	102	99	99	100	↓96
13	102	102	99	99	100	↓96
16	102	102	99	100	100	↓97
20	102	101	99	100	100	↓96
24	103	102	99	99	100	↓96
28	103	102	99	99	100	↓96
32	102	101	100	99	100	↓95
36	102	102	100	100	100	↓96
40	102	101	100	99	100	↓95
44	102	101	100	101	100	↓95
48	102	101	100	101	100	↓95
52	102	101	100	101	99	↓95
56	101	101	99	100	100	↓95
60	101	100	99	102	101	94
64	101	100	100	102	102	96
68	102	101	100	101	101	95
72	102	101	100	102	103	96
76	101	100	100	102	104	97
80	102	100	98	101	104	97
84	101	100	98	100	104	96
88	102	100	99	97	104	96
92	102	99	99	96	103	96
96	104	101	100	96	103	97
100	103	100	100	97	103	98
104	103	99	98	98	106	100

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

3000 ppm 群において、対照群と比較して統計学的に有意な平均体重の低値が雄では投与 1 及び 2 週に、雌では投与 8 週から 56 週まで認められた。3000 ppm 群の雌における平均体重の低値は検体投与による影響と考えられた。

300 及び 30 ppm 群の平均体重は、雌雄ともに投与期間を通じて対照群とほぼ同等であった。

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

摂餌量及び食餌効率；

各ケージについて投与開始後 13 週時までは毎週 1 回、その後は 4 週に 1 回の頻度で、連続 3 日分の総摂餌量を測定した。その値をケージ内の動物数及び測定日数で除し、ケージ別の 1 日 1 匹当たりの平均摂餌量を算出した。また、投与開始後 13 週まで、各用量群雌雄の平均体重増加量をそれに対応する平均摂餌量で除し、食餌効率を算出した。平均摂餌量の変化を次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	300	3000	30	300	3000
1	▲105	↑104	↓81	▲106	103	↓78
2	101	103	▲109	102	102	▲109
3	99	99	▲109	↑105	101	▲108
4	102	102	▲109	102	↑106	▲110
5	102	101	105	101	98	99
6	▲105	99	102	102	↓96	98
7	102	98	99	99	96	97
8	101	99	102	101	98	99
9	99	99	99	99	99	96
10	100	99	99	101	99	97
11	102	100	101	98	100	96
12	101	101	101	99	98	100
13	99	99	102	102	98	100
16	102	101	101	99	102	101
20	100	100	98	97	102	100
24	99	102	104	98	99	97
28	103	101	100	102	98	100
32	99	96	99	58	56	57
36	▲107	104	102	↑107	99	101
40	100	99	99	108	100	97
44	101	97	102	100	98	98
48	105	101	102	101	98	99
52	98	96	96	101	98	97
56	99	99	100	102	103	101
60	103	98	102	106	103	102
64	99	97	101	102	98	101
68	105	101	103	103	101	105
72	102	97	96	101	105	98
76	97	97	96	99	102	98
80	104	102	99	99	100	97
84	104	97	99	103	105	102
88	104	99	101	102	103	99
92	101	98	98	96	101	95
96	110	102	104	99	98	99
100	94	97	94	95	91	97
104	109	96	97	97	110	106
総平均値	102	99	100	100	100	99
総摂餌量	102	99	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

Dunnett または Scheffe の多重比較法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、3000 ppm 群では、対照群と比較して摂餌量の統計学的に有意な減少が雌

雄とも投与1週時に、有意な増加が投与2~4週時に認められたが、これは検体の高濃度混入に対する忌避作用により一時的に減少し、その反動からその後逆に増加したためであると考えられた。なお、全試験期間を通しての摂餌量総平均値及び総摂餌量は対照群に比し特に明らかな差は認められなかった。

300及び30ppm群では雌雄とも摂餌量の統計学的に有意な増加あるいは減少が散在性に認められたが、総平均値及び総摂餌量は対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められず、検体投与による影響ではないと考えられた。

食餌効率は、いずれの投与群の雌雄においても、投与後13週時まで対照群と同等であった。

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
30	1.146	1.371
300	11.31	13.42
3000	115.9	139.8

表中の数値はカスガマイシン遊離塩基としての値。

飲水量；

各ケージについて、投与開始後13週時までには毎週1回、その後は4週に1回の頻度で連続3日分の総飲水量をケージごとに測定した。その値をケージ内動物数と測定日数とで除してケージ別1日1匹当りの平均飲水量を算出した。

投与後13週時までの平均飲水量の推移、投与期間を通じた総平均飲水量及び総飲水量を次表に示す。

投与週	性及び用量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	300	3000	30	300	3000
1	↑106	▲107	▲119	102	105	▲122
2	103	106	▲130	101	105	▲114
3	103	101	▲119	103	102	107
4	102	104	▲117	96	107	103
5	↑107	103	▲112	98	99	98
6	103	97	104	99	100	98
7	97	98	99	98	98	97
8	98	97	99	95	100	97
9	98	100	98	97	102	98
10	98	97	98	96	100	96
11	101	98	102	98	102	94
12	102	104	↑107	94	98	98
13	102	100	103	99	100	101
総平均飲水量	102	100	103	100	101	97
総飲水量	102	100	103	100	101	97

Dunnett または Scheffe 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

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。

検体投与群の雌雄において、投与初期に飲水量の増加あるいは増加傾向が認められ、特に雄では全ての検体投与群で投与後 1 週時に対照群と比較して統計学的に有意であった。この変動は予備試験でも認められたことから、検体投与との関連性が疑われた。しかしながら、その後の飲水量は対照群と差がなくなり、投与期間中の総平均飲水量及び総飲水量は対照群と同等であったこと、またその他の検査において飲水量に関連した所見が認められないことから、明らかな中毒性変化とは考えられなかった。

血液学的検査；

投与後 26、52、78 及び 104 週に、原則として尿検査を実施した各用量群雌雄各 10 匹について眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を測定した。なお、投与期間中の瀕死動物については、可能な限り尾先端部の切断により滴下する血液を用いて血液塗抹標本作製し、対照群と 3000 ppm 群について白血球百分率を算出した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、白血球数、白血球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項目を次表に示す。

検査項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	3000	30	300	3000
ヘマトクリット値	26	102	98	98	↑95	100	↓94
	52	103	101	102	98	99	97
	78	103	101	101	101	101	98
	104	104	104	100	106	101	96
ヘモグロビン量	26	103	99	99	↑96	99	↓94
	52	103	101	103	99	100	97
	78	103	101	101	101	100	99
	104	104	106	102	106	102	97
赤血球数	26	102	99	98	↑95	99	↓95
	52	103	102	102	96	99	96
	78	104	101	101	110	111	109
	104	105	106	102	105	101	98
血小板数	26	98	97	93	93	↑87	96
	52	103	96	101	91	94	97
	78	113	106	105	92	89	92
	104	95	100	95	103	103	98
分葉核好中球	26	138	115	108	↑54	62	↓46
	52	88	84	100	100	90	70
	78	178	122	104	108	92	85
	104	54	48	100	100	100	94

Dunnett または Scheffe 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

3000 ppm 群の雌の投与後 26 週時にヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数及び分葉核好中球数が統計学的に有意に減少したが、その後の投与週ではこのような変動はなく、また雄にはいずれの検査時期にも認められず、さらに予備試験においても同様の変動が認められていないことから、検体投与に関連しない偶発的なものと考えられた。その他 300 ppm 群及び 30 ppm 群の雌の投与後 26 週時に統計学的に有意な変動を示す項目が見られたが、用量相関性のない変動であり、検体投与に関連しない偶発的なものであった。

血液生化学的検査；

投与後 26、52、78 及び 104 週に、血液学的検査に供した各用量群雌雄各 10 匹の動物の血液から得られた血清を用いて、以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、アルカリホスファターゼ、尿素窒素、クレアチニン、血糖、総コレステロール、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、総ビリルビン、カルシウム、リン、ナトリウム、カリウム

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。

検査項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	3000	30	300	3000
アルカリホスファターゼ	26	101	113	↓76	115	105	↓68
	52	100	86	70	95	86	↓60
	78	147	97	↓74	101	99	↓66
	104	118	89	↓65	89	98	↓65
グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)	26	105	95	104	101	87	92
	52	↓69	77	↓72	91	85	60
	78	735	97	92	93	86	98
	104	93	97	96	100	↓62	98
グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)	26	145	85	90	88	88	↓71
	52	95	82	77	86	84	↓46
	78	1333	89	78	84	94	88
	104	92	83	79	59	56	66
総蛋白	26	100	99	↓97	99	102	99
	52	101	99	99	99	100	99
	78	100	100	100	98	96	98
	104	100	101	97	104	102	102
グロブリン	26	100	99	↓96	99	102	96
	52	101	98	98	99	99	98
	78	100	99	99	97	95	95
	104	99	100	93	105	105	104
尿素窒素	26	99	105	99	110	↓109	101
	52	96	94	90	98	92	97
	78	107	98	96	97	98	93
	104	96	91	↓91	93	93	97

Dunnett または Scheffe 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

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。

(つづき)

検査項目	投 与 週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	3000	30	300	3000
クレアチニン	26	103	102	102	97	99	↓91
	52	100	103	100	95	98	92
	78	106	95	97	103	100	97
	104	92	102	↓92	97	103	↓90
総コレステロール	26	103	101	92	103	97	93
	52	104	96	96	99	91	↓83
	78	100	98	98	94	92	↓78
	104	↑123	118	98	111	112	↓83
カリウム	26	↓94	101	98	102	97	103
	52	94	95	92	99	100	98
	78	93	97	93	94	103	94
	104	100	98	94	94	98	97
リン	26	100	102	98	95	93	93
	52	98	98	97	98	100	104
	78	↑110	98	100	100	107	102
	104	102	100	104	98	100	100

Dunnett または Scheffe 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

3000 ppm 群の雌雄において、アルカリホスファターゼの統計学的に有意な減少が認められ、検査時期に一貫して認められることから検体投与の影響と考えられた。しかしながら、この変化は肝臓漏出酵素の増大ではなく減少であり、肝臓に病理組織学的所見がなかったことから毒性学的に重要とは考えられなかった。また、同群の雌では投与後 52、78 及び 104 週に総コレステロールの統計学的に有意な減少が認められ、病理組織学的検査で観察された肺の泡沫細胞集簇の発生頻度の増加との関連性が推察された。さらに同群の雄では投与後 26 週に総蛋白及びグロブリンの減少が認められた。この変化は、病理組織学的に肝臓などに明らかな所見を認めないものの、予備試験の 6000 ppm 以上の投与群にも認められていることから検体投与との何らかの関連性が推察された。その他の検査項目にも、低用量群を含む全ての検体投与群で統計学的に有意な変動が散見されたが、試験期間及び用量に関する一貫性もなく、対応するその他の検査あるいは観察において影響が明確でないことから、検体投与との関連性は明らかではなかった。

尿検査；

投与後 26、52、78 及び 104 週に、各用量群の雌雄各 10 匹を対象として、新鮮尿あるいは 24 時間採取した尿を用いて以下の項目を検査した。

比重、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、尿量、尿色、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。

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。

(尿量及び尿比重)

検査項目	投与週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	3000	30	300	3000
尿量	104	95	↑81	100	↑163	115	106
尿比重	26	101	100	99	101	100	↑101
	104	101	↑101	101	99	↑98	99

Mann-Whitney の U 検定 : ↑↓ 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

(蛋白質、潜血、ウロビリノーゲン、尿沈渣(白血球))

検査項目			性及び用量 (ppm)								
			雄				雌				
			0	30	300	3000	0	30	300	3000	
検査動物数			10	10	10	10	10	10	10	10	10
蛋白質	(104 週)	+					1				
		++	1		1		1	2	2		
		+++	9	6	4	5	9	5	7	9	
		++++		4*	5	5*		2	1	1	
潜血	(26 週)	-	5	8	8	10*	9	10	9	10	
		±	3	1			1		1		
		+		1							
		+++	2		2						
ウロビリノーゲン	(78 週)	0.1 ^{a)}	5				3	4	1	3	
		1 ^{a)}	5	7	10*	10*	7	6	9	7	
		2 ^{a)}		3**							
	(104 週)	0.1 ^{a)}	7	5	2	3	5	6	7	5	
		1 ^{a)}	3	5	6	7	4	4	3	5	
		2 ^{a)}			2*		1				
尿沈渣(白血球)	(78 週)	-	4	6	10*	8	8	8	2	9	
		+	3	3		1	2	1	6	1	
		++	2	1		1		1	1		
		+++	1							1*	

a : ウロビリノーゲン単位 ; Ehrlich unit/100mL
 - ; 陰性、± ; 極軽度、+ ; 軽度、++ ; 中等度、+++ ; 強度、++++ ; 極強度
 Mann-Whitney の U 検定 : * P<0.05、** P<0.01
 表中数字の数字は所見発生数

Mann-Whitney の U 検定を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、全ての検体投与群の雄において、投与後 78 週にウロビリノーゲンの統計学的に有意な増加が認められたが、用量に相関した変化ではなく、また投与期間にも関連性がないことから検体投与に関連しない偶発的な変化と考えられた。また、3000 ppm 群では尿蛋白及び尿比重の統計学的に有意な増加が認められたが、いずれも投与期間との相関性がないことから検体投与との関連性はないと判断した。
 その他、300 及び 30 ppm 群で統計学的に有意な変動を示す項目が散見されたが、いずれも投与用量及び投与期間との相関性がなく、検体投与との関連性はなかった。

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

眼科学的検査；

投与開始前に群分け前の全動物について、投与開始後 104 週時に対照群及び 3000 ppm 群の雌雄の全生存動物について検眼鏡による眼検査を行った。

Fisher の直接確率計算法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した結果、対照群と比較して発生頻度が統計学的に有意に増加する所見はなく、検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量；

投与後 26、52 週の計画殺動物の各群雌雄各 10 匹と最終投与終了後、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した各群雌雄各 10 匹について、次の臓器の重量を測定し、さらに相対重量（体重比）を算出した。胸腺については加齢に伴って生理的萎縮が顕著となるため、投与後 26 週の計画殺動物のみ秤量した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、盲腸、唾液腺

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		投与週	性及び用量 (ppm)					
			雄			雌		
			30	300	3000	30	300	3000
下垂体	絶対重量	26	113	109	106	103	103	97
		52	92	101	102	91	98	85
		104	67	76	66	176	81	88
	相対重量	26	↑110	107	107	104	105	100
		52	92	100	104	91	98	93
		104	68	82	76	211	79	105
甲状腺	絶対重量	26	110	106	101	↓85	↓86	↓81
		52	100	95	96	94	96	86
		104	102	94	93	110	133	255
	相対重量	26	107	104	100	↓84	↓87	↓84
		52	100	96	98	93	97	91
		104	102	96	102	116	127	313
心臓	絶対重量	26	100	103	103	94	101	99
		52	100	99	105	98	100	94
		104	95	97	93	104	110	104
	相対重量	26	97	103	103	↓94	103	103
		52	96	96	104	97	100	100
		104	97	100	103	110	103	120
唾液腺	絶対重量	26	104	102	96	106	104	102
		52	99	97	98	102	101	94
		104	↑117	109	103	107	114	105
	相対重量	26	106	100	100	106	106	106
		52	94	94	94	100	100	100
		104	123	115	115	115	108	↑123

Dunnett または Scheffe 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

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。

(つづき)

臓器		投 与 週	性及び用量 (ppm)					
			雄			雌		
			30	300	3000	30	300	3000
肝臓	絶対重量	26	106	101	95	102	102	95
		52	98	101	93	93	94	↓82
		104	104	102	88	101	105	84
	相対重量	26	104	100	96	102	102	98
		52	97	101	93	93	95	↓88
		104	104	105	94	109	100	97
腎臓	絶対重量	26	104	104	64	102	108	103
		52	100	99	100	100	109	101
		104	105	107	107	108	113	108
	相対重量	26	102	102	103	102	↑108	105
		52	100	100	102	100	109	108
		104	105	110	↑117	115	108	↑124
脾臓	絶対重量	26	98	101	100	99	102	101
		52	108	106	105	93	91	87
		104	95	91	↓80	102	110	100
	相対重量	26	94	100	100	100	100	105
		52	113	107	107	90	90	90
		104	90	90	85	111	106	122
副腎	絶対重量	26	108	111	101	94	102	92
		52	107	99	103	103	106	105
		104	79	108	83	402	99	88
	相対重量	26	109	109	100	96	104	96
		52	111	100	111	100	105	110
		104	↓77	108	92	462	95	100
卵巣	絶対重量	26	—	—	—	90	95	↓80
		52	—	—	—	97	95	93
		104	—	—	—	104	112	104
	相対重量	26	—	—	—	89	95	↓81
		52	—	—	—	96	96	96
		104	—	—	—	112	106	118
盲腸	絶対重量	26	111	102	↑130	102	112	↑128
		52	105	106	↑127	99	99	117
		104	109	101	102	111	110	↑135
	相対重量	26	109	101	↑131	101	113	↑132
		52	104	105	↑127	99	100	↑125
		104	107	103	109	120	103	↑156

Dunnett または Scheffe 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

3000 ppm 群の雌雄のほぼ全検査時期で盲腸重量の統計学的に有意な増加が認められ、検体の大量投与による腸内細菌叢の変化によるものと考えられた。3000 ppm

群の雌雄で投与 104 週時に腎臓相対重量の統計学的に有意な増加が認められ、病理組織学的検査で観察された近位尿細管上皮褐色色素沈着増加に関連づけられる変化であると考えられた。3000 ppm 群の雌で投与後 52 週時の肝臓重量が統計学的に有意に減少し、また病理組織学的検査においても肝細胞萎縮が観察されているが、体重増加抑制に関連するものであり、検体投与に関連した悪影響とは考えられなかった。3000 ppm の雌で投与後 104 週時に唾液腺相対重量が統計学的に有意に増加した。病理組織学的検査では唾液腺に明らかな変化は認められなかったものの、予備試験において唾液腺の重量増加に加えて病理組織学的に腺細胞の肥大が観察されていることから何らかの検体投与による影響が考えられた。全ての検体投与群の雌の投与後 26 週時に甲状腺重量の統計学的に有意な減少が認められた。次表において、本試験の甲状腺重量と背景データとの比較を行った。

投与群 (ppm)	絶対重量 (mg) 平均±標準偏差	相対重量 平均±標準偏差
背景データ (28 例)	15.3±2.7	0.0057±0.0011
本試験 0	18.9±2.6	0.0075±0.0012
30	16.1±2.8	0.0063±0.0009
300	16.2±1.9	0.0065±0.007
3000	15.4±1.4	0.0063±0.0005

甲状腺重量について背景データと比較した結果、検体投与群の雌で認められた甲状腺重量の増加は、本試験の対照群における甲状腺重量が高い値を示したことに起因しているものと考えられた。また病理組織学的検査において甲状腺に特に異常がなかったことから、この甲状腺重量の変動は検体投与とは関連性のない偶発的なものと判断した。

3000 ppm 群の雌の投与後 26 週時に統計学的に有意な卵巣重量の減少が認められたが、病理組織学的には特に異常がないことから、体重増加抑制に伴う二次的な臓器重量の減少と考えられた。

その他にも 3000 ppm 群では統計学的に有意な変動がみられたが、毒性学的に意義のない変化と判断した。また、300 ppm 以下の投与群にも統計学的に有意な変動が散見されたが、検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；

投与後 26、52 週の計画殺動物の各群雌雄各 10 匹と最終投与終了後の全生存動物及び途中死亡（切迫殺含む）動物、即ち全動物について剖検した。計画殺動物及び最終投与終了後の全生存動物についてはエーテル麻酔下で放血により安楽死させた後に、試験途中の瀕死動物は予後不良と判断した後直ちに、また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。

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。

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
途中死亡・切迫殺動物								
検査動物数	9	14	10 ^{a)}	6 ^{b)}	19 ^{a)}	14	12	11
胃 ガスの膨満	4	1	↓0	1	1	0	0	0
投与後 26 週 計画殺動物								
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
発生頻度が統計学的に有意に変動した所見は認められない								
投与後 52 週 計画殺動物								
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
発生頻度が統計学的に有意に変動した所見は認められない								
投与後 104 週 計画殺動物								
検査動物数	41	36	39	43	30	36	38	39
精巣 萎縮	5	↓0	6	8	-	-	-	-
卵巣 のう内水腫	-	-	-	-	4	↓0	↓0	↓0
眼 混濁	23	19	20	23	2	↑11	6	7
眼瞼 閉鎖	1	0	0	1	4	2	1	↓0
皮膚 痂皮	5	↓0	1	2	0	0	0	0
皮膚 結節/腫瘤	18	13	↓3	11	13	17	15	12
全検査動物								
検査動物数	70	70	69 ^{a)}	69 ^{b)}	69 ^{a)}	70	70	70
外観 眼脂	7	6	8	↓1	3	1	3	0
肺 結節/腫瘤	2	1	2	2	0	2	↑5	2
精巣 萎縮	8	↓2	8	14	-	-	-	-
眼瞼 閉鎖	1	0	0	2	5	3	1	↓0
皮膚 結節/腫瘤	22	15	↓3	↓11	3	2	0	0

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

a：死後の自己融解が進行した 1 例を除外

b：事故により死亡した 1 例を除外

いずれの投与群においても、検体投与に関連して発生頻度が変動した所見は認められなかった。3000 ppm 群において観察された統計学的に有意な変動はいずれも発生頻度の減少であり毒性学的な意義は認められなかった。300 ppm 及び 30 ppm 群においても統計学的に有意な変動が散見されたが、いずれも投与用量あるいは投与期間に関連づけられるものではなかった。

病理組織学的検査；

投与期間中の切迫殺動物、投与後 26、52 週及び 104 週の計画殺動物の全例について、次に示す臓器・組織の病理組織学的検査を行った。顕微鏡観察はヘマトキシリン・エオジン染色標本で行った。なお、腎臓の褐色色素についてはシュモール反応、ベルリン青反応を行った。

脳（3カ所）、脊髄（頸部・胸部、腰部）、末梢神経（坐骨神経）、脳下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体（両側）、副腎（両側）、脾臓（2カ所）、骨・骨髄（胸骨、大腿骨）、リンパ節（頸部・腸間膜）、心臓（2カ所）、大動脈（胸部）、唾液腺、食道、胃（前胃・腺胃）、肝臓（2カ所）、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部（鼻腔、及び副鼻腔を含む）、気管、肺、腎臓（両側）、膀胱、精巣（両側）、精巣上体（両側）、前立腺、精嚢及び凝固腺、卵巣（両側）、子宮（角部・体部・頸管部）、眼球及び付属腺（両側）、骨格筋（下腿三頭筋、片側）、皮膚（腰背部）、乳腺（腹部；雌のみ）肉眼的異常部位（正常組織との境界部も含め、また腫瘍の場合には近傍リンパ節を含む）

〔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を表1に示す。

3000 ppm 群の雌雄の腎臓において近位尿細管上皮褐色色素沈着増加が認められた。検体の標的臓器は腎臓であり、特に近位尿細管に対して作用があるとされている^a。またこの褐色色素は特殊染色を行った結果（シュモール反応及びベルリン青染色）、大部分がリポフスチンであり、一部がヘモジデリンであった。ヘモジデリン沈着の機序は不明であるが、リポフスチンは長期の消耗性疾患及び加齢によって沈着が増加するとされており、この近位尿細管上皮における褐色色素の沈着は検体の腎臓に対する影響と考えられた。さらに、3000 ppm 群の雌雄では肺に泡沫細胞集簇が認められた。肺の泡沫細胞集簇は種々の薬剤の投与によってラットやイヌにみられるという報告がなされている^{b,c}。その発生機序としては脂質代謝異常との関連性が指摘されており、一部の薬剤では低コレステロール血症の場合に本病変が観察されている。本試験において3000 ppm 群の雌では投与後52、78及び104週の計画殺動物に血中コレステロールの減少が認められていることから、検体投与によるコレステロールの変化と泡沫細胞集簇との関連性が示唆された。さらに、3000 ppm 群の雄で鼻腔の鼻炎が投与後104週の計画殺動物及び総発生頻度において統計学的に有意に増加した。この変化は何らかの検体投与との関連性が疑われるものの対照群の動物にも比較的多く観察されており、対照群の発生頻度との差はわずかであった。その他、3000 ppm 群の雌の投与後52週の計画殺動物でのみ（その結果として総頻度も）、肝細胞萎縮の発生頻度が統計学的に有意に増加したが、投与後104週の計画殺動物には認められないことから検体投与との関連性は明らかではなかった。その他にも3000 ppm 群では発生頻度が統計学的に有意に変動する所見が認められたが、いずれも発生頻度の減少であり、毒性学的に意義のないものであった。

300及び30 ppm 群においても発生頻度が統計学的に有意に変動した所見がみられたが、

^a Kobayashi Chizuko: Experimental studies on nephrotoxicity of antibiotics. Tokyo Jikeikai Med. J. 89, 46-61 (1974)

^b Gray J.E., Weaver R.N., Stern K.F., and Philips W.A.: Foam cell response in the lung and lymphatic tissues during long-term high-level treatment with Erythromycin. Toxicol. Appl. Pharmacol. 45, 701-711 (1978)

^c Reasor M.J.: Drug-induced lipidosis and the alveolar macrophage. Toxicology 20, 1-33 (1981)

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。

用量相関性がないかあるいは発生頻度の減少であり、検体投与に関連した影響は認められなかった。

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を表2に示す。

いずれの投与群においても、発生頻度が対照群と比較して増加した所見はなく、検体投与による催腫瘍性はないものと判断された。

以上のように、検体のラットに対する24ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性・発がん性試験において、3000 ppm 群の雌雄において盲腸及び腎臓重量の増加、腎臓の近位尿細管上皮褐色色素沈着増加及び肺の泡沫細胞集簇が認められ、さらに、3000 ppm 群の雄では総蛋白及びグロブリンの減少が、3000 ppm 群の雌では体重増加抑制、血中コレステロールの減少及び唾液腺重量の増加が認められた。

したがって、無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 300 ppm (カスガマイシン (遊離塩基) として、雄 11.31 mg/kg 体重/日、雌 13.42 mg/kg 体重/日) であると判断した。

また、催腫瘍性は認められなかった。

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	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	9	14	10 ^{a)}	6 ^{b)}	19 ^{a)}	14	12	11
肺： 泡沫細胞集簇	0	0	1	1	1	1	1	↑4
胃： 過角化症	0	1	0	0	5	↓0	0	0
腎臓： 近位尿細管褐色色素沈着増加	0	0	1	2	2	1	2	↑8
乳腺： 腺房増殖	0	0	0	0	7	2	↓0	1

投与後 26 週 計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
腎臓： 近位尿細管褐色色素沈着増加	0	0	0	↑10	0	0	0	0

投与後 52 週 計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓： 肝細胞萎縮	0	0	0	0	0	0	0	↑6
腎臓： 近位尿細管褐色色素沈着増加	0	0	0	↑10	0	0	0	↑5

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

a：死後の自己融解が進行した1例を除外 b：事故により死亡した1例を除外

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。

投与後 104 週 計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	41	36	39	43	30	36	38	39
心臓：心筋 萎縮/線維化	6	▲15	8	13	1	1	2	2
脾臓：褐色色素沈着増加	2	1	3	1	5	5	4	↓0
鼻腔：鼻炎	9	11	15	↑19	6	12	12	10
肺：泡沫細胞集簇	3	1	7	▲22	3	4	8	▲18
出血	12	5	↓4	↓4	6	5	5	4
唇：毛包炎	10	14	15	12	13	↓7	20	15
肝臓：限局性肝細胞脂肪化	0	2	↓6	2	2	1	2	4
変異細胞巣 (好塩基性細胞巣)	2	7	2	5	9	9	5	↓3
変異細胞巣 (好酸性細胞巣)	27	20	↓13	↓11	10	17	21	20
変異細胞巣 (明細胞巣)	25	25	↓15	23	3	3	2	5
腎臓：慢性腎症 (早期)	8	↓1	5	8	8	9	13	15
近位尿管褐色色素沈着増加	4	3	5	▲22	5	4	4	▲19
精巣：精細管萎縮	8	↓1	4	11	-	-	-	-
副腎：副腎皮質過形成	10	3	14	10	20	↓14	↓9	↓15
うっ血	0	0	0	0	10	↓3	↓5	↓2
大脳：脳室拡張	2	0	2	0	0	↑5	2	2
皮膚：足底の肉芽腫	8	6	5	↓2	0	0	0	0
眼：白内障	16	18	18	21	2	↑9	5	6
網膜 萎縮/変性	11	4	11	10	10	13	↓5	7

全検査動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	70	70	69 ^{a)}	69 ^{b)}	69 ^{a)}	70	70	70
心臓：心筋 萎縮/線維化	10	▲23	12	13	2	3	3	2
脾臓：褐色色素沈着増加	4	6	7	1	13	6	9	↓3
鼻腔：鼻炎	10	12	18	↑19	9	↑18	17	15
肺：泡沫細胞集簇	3	1	8	▲26	4	5	10	▲22
出血	12	6	↓4	↓4	6	5	5	4
唇：毛包炎	16	20	25	17	25	↓13	26	23
胃：過角化症	0	2	0	2	6	↓0	1	↓0
肝臓：肝細胞萎縮	1	1	0	0	0	0	0	↑6
変異細胞巣 (好酸性細胞巣)	29	21	↓14	↓12	15	19	↑26	23
変異細胞巣 (明細胞巣)	27	27	↓16	23	4	3	2	5
総胆管結石	15	13	12	11	5	↓0	3	↓0
腎臓：近位尿管褐色色素沈着増加	4	3	6	▲44	7	5	6	▲32
近位尿管硝子滴変性	6	6	↓0	3	2	2	2	3
副腎：副腎皮質過形成	12	6	17	10	27	20	↓13	↓17
うっ血	0	0	0	0	11	5	6	↓3
皮膚：足底の肉芽腫	10	8	8	↓2	0	0	0	0

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

a：死後の自己融解が進行した 1 例を除外

b：事故により死亡した 1 例を除外

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。

表 2. 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	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	9	14	10 ^{a)}	6 ^{b)}	19 ^{a)}	14	12	11
心臓： シュワン細胞腫 (B)	2	0	0	1	0	0	0	0
全身： 悪性リンパ腫 (M) 単核細胞白血病 (M)	1 0	0 1	0 1	0 0	0 0	1 0	0 0	0 1
鼻腔： 乳頭腫 (B) 扁平上皮癌 (M)	0 3	0 2	0 1	1 2	0 2	0 1	0 0	0 0
肺： 扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
胃 (腺胃以外)： 乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓： 腫瘍性結節 (B) 肝細胞癌 (M) 線維性組織球腫 (M)	0 0 1	0 0 0	0 0 0	0 1 0	1 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
脾臓： 腺房細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
腎臓： 血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱： 乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
前立腺： 平滑筋肉腫 (M)	0	1	0	0	-	-	-	-
子宮角： 子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	1	1	0	1
陰： 平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
下垂体： 前葉腺腫 (B)	3	5	2	0	10	8	6	5
甲状腺： 濾胞性腺腫 (B) C細胞腺腫 (B)	0 1	0 3	0 0	0 0	1 2	1 1	0 0	0 0
副腎： 副腎皮質腺腫 (B) 褐色細胞腫 (B)	0 1	0 0	0 1	0 1	0 1	0 0	1 0	0 0
大脳： 神経膠細胞腫 (B) 顆粒細胞腫 (B)	0 0	1 0	0 1	0 0	0 0	0 1	0 0	0 0

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍 Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、◆◆ P≤0.01 表中の
表中の数値は所見発生数 a：死後の自己融解が進行した1例を除外 b：事故により死亡した1例を除外

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。

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	9	14	10 ^{a)}	6 ^{b)}	19 ^{a)}	14	12	11
骨 (その他)：								
骨腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
眼：								
シュワン細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
皮膚：								
乳頭腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
線維腫 (B)	1	0	0	0	0	1	0	0
血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	1
シュワン細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
線維肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
悪性線維性組織球腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	1
乳腺：								
腺腫 (B)	0	0	0	0	2	4	2	1
線維腺腫 (B)	0	0	0	0	7	5	3	1
腺癌 (M)	0	0	0	0	1	1	1	0
良性腫瘍数	10	10	4	4	27	23	13	9
悪性腫瘍数	6	7	3	3	5	3	4	3
腫瘍総数	16	17	7	7	32	26	17	12
担良性腫瘍動物数	6	9	4	3	17	11	9	8
担悪性腫瘍動物数	5	6	3	3	4	3	3	2
担腫瘍動物数	8	12	7	5	18	12	11	9

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

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

表中の数値は所見発生数

a：死後の自己融解が進行した1例を除外

b：事故により死亡した1例を除外

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。

投与後 26 週 計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
皮膚： 線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
良性腫瘍数	1	0	0	0	0	0	0	0
悪性腫瘍数	0	0	0	0	0	0	0	0
腫瘍総数	1	0	0	0	0	0	0	0
担良性腫瘍動物数	1	0	0	0	0	0	0	0
担悪性腫瘍動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
担腫瘍動物数	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：↑↓ $P \leq 0.05$ 、↕ $P \leq 0.01$

表中の数値は所見発生数

投与後 52 週 計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
心臓： シュワン細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
下垂体： 前葉腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0
皮膚： 基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
乳腺： 線維腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
良性腫瘍数	0	0	1	1	1	0	1	0
悪性腫瘍数	0	0	0	0	1	0	0	0
腫瘍総数	0	0	1	1	2	0	1	0
担良性腫瘍動物数	0	0	1	1	1	0	1	0
担悪性腫瘍動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
担腫瘍動物数	0	0	1	1	2	0	1	0

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

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

表中の数値は所見発生数

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

投与後 104 週 計画殺動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	41	36	39	43	30	36	38	39
心臓： シュワン細胞腫 (B)	0	1	0	1	1	0	0	0
全身： 悪性リンパ腫 (M)	0	0	2	0	1	0	0	0
リンパ節 (腸間膜)： 血管腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
脾臓： 血管腫 (B) 組織球腫 (B) 血管肉腫 (M)	1 0 0	0 1 0	0 0 2	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
鼻腔： 乳頭腫 (B) 扁平上皮癌 (M)	0 1	0 1	1 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
肺： 腺腫 (B)	1	2	3	3	0	1	0	1
口腔： 無分芽細胞性歯牙腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
胃： 平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
肛門： 扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓： 腫瘍性結節 (B) 肝細胞癌 (M)	2 1	4 0	3 3	3 2	1 0	3 0	2 0	0 0
膵臓： 膵島細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	1	1	0
腎臓： 血管腫 (B) 脂肪肉腫 (M)	0 0	1 1	0 1	1 0	0 0	0 0	0 0	0 0
精巣： 間質細胞腫 (B) 中皮腫 (B)	4 1	1 0	2 0	3 0	- -	- -	- -	- -
精巣上体： 中皮腫 (B)	1	0	0	0	-	-	-	-
卵巣： 莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
子宮角： 子宮内膜間質ポリープ (B) 腺癌 (M) 平滑筋肉腫 (M)	- - -	- - -	- - -	- - -	2 0 1	1 0 1	0 1 1	0 0 0
子宮体部： 子宮内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

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

表中の数値は所見発生数

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

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	41	36	39	43	30	36	38	39
下垂体： 前葉腺腫 (B)	12	10	13	8	16	26	23	17
甲状腺： 濾胞性腺腫 (B) C細胞腺腫 (B)	2 3	2 3	1 2	2 4	0 5	0 7	4 2	1 8
上皮小体： 腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	2	0
副腎： 副腎皮質腺腫 (B) 褐色細胞腫 (B) 悪性褐色細胞腫 (M)	0 5 0	1 3 1	1 4 0	0 0 0	2 0 0	6 1 1	3 0 0	3 2 0
大脳： 神経膠細胞腫 (B) 髄膜腫 (B)	0 0	0 0	0 0	1 0	0 0	0 0	0 0	0 1
骨 (大腿骨)： 骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
耳： ジンバル腺 扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
皮膚： 乳頭腫 (B) 皮脂腺腫 (B) 線維腫 (B) 脂肪腫 (B) 血管腫 (B) 扁平上皮癌 (M) 基底細胞癌 (M) 線維肉腫 (M) 横紋筋肉腫 (M) 悪性線維性組織球腫 (M)	1 1 9 2 1 3 0 0 0 0	1 0 6 2 0 0 0 1 0 0	1 0 ↓1 0 0 0 1 0 0 0	1 0 ↓2 1 0 2 1 0 1 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	0 0 1 0 0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0 0 0 0 1	0 0 1 0 0 0 0 0 0 0
乳腺： 腺腫 (B) 線維腺腫 (B) 腺癌 (M)	0 1 0	2 0 0	0 0 0	0 0 0	9 5 1	9 6 1	9 6 3	9 7 0
胸腔： シュワン細胞腫 (B) 悪性中皮腫 (M)	0 0	1 0	0 0	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0
良性腫瘍数	48	42	33	30	41	63	52	50
悪性腫瘍数	5	4	10	7	4	4	8	1
腫瘍総数	53	46	43	37	45	67	60	51
担良性腫瘍動物数	33	26	23	22	23	33	30	29
担悪性腫瘍動物数	5	4	9	5	4	4	7	1
担腫瘍動物数	34	27	26	26	24	33	31	29

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、◆↓ P≤0.01

表中の数値は所見発生数

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

全検査動物

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	70	70	69 ^{a)}	69 ^{b)}	69 ^{a)}	70	70	70
心臓：								
シュワン細胞腫 (B)	2	1	1	2	1	0	0	0
全身：								
悪性リンパ腫 (M)	1	0	2	0	1	1	0	0
単核細胞白血病 (M)	0	1	1	0	0	0	0	1
リンパ節 (腸間膜)：								
血管腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
脾臓：								
血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
組織球腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
血管肉腫 (M)	0	0	2	0	0	0	0	0
鼻腔：								
乳頭腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0
扁平上皮癌 (M)	4	3	2	2	2	1	0	0
肺：								
腺腫 (B)	1	2	3	3	0	1	0	1
扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
口腔：								
無分節芽細胞性歯牙腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
胃：								
乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
大腸：								
平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
肛門：								
扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓：								
腫瘍性結節 (B)	2	4	3	3	2	3	2	0
肝細胞癌 (M)	1	0	3	3	0	0	0	0
線維性組織球腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
膵臓：								
膵島細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	1	1	0
腺房細胞腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
腎臓：								
血管腫 (B)	0	1	0	1	0	0	0	0
脂肪肉腫 (M)	0	1	1	0	0	0	0	0
血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱：								
乳頭腫 (B)	0	0	0	0	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

表中の数値は所見発生数

a：死後の自己融解が進行した1例を除外

b：事故により死亡した1例を除外

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。

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	70	70	69 ^{a)}	69 ^{b)}	69 ^{a)}	70	70	70
精巣：								
間質細胞腫 (B)	4	1	2	3	-	-	-	-
中皮腫 (B)	1	0	0	0	-	-	-	-
精巣上部：								
中皮腫 (B)	1	0	0	0	-	-	-	-
前立腺：								
平滑筋肉腫 (M)	0	1	0	0	-	-	-	-
卵巣：								
莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
子宮角：								
子宮内膜間質ポリープ (B)	-	-	-	-	3	2	0	1
腺癌 (M)	-	-	-	-	0	0	1	0
平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	1	1	0
子宮体部：								
子宮内膜間質肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
膣：								
平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
下垂体：								
前葉腺腫 (B)	15	15	15	9	27	34	29	22
甲状腺：								
濾胞性腺腫 (B)	2	2	1	2	1	1	4	1
C細胞腺腫 (B)	4	6	2	4	7	8	2	8
上皮小体：								
腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	2	0
副腎：								
副腎皮質腺腫 (B)	0	1	1	0	2	6	4	3
褐色細胞腫 (B)	6	3	5	1	1	1	0	2
悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	1	0	0
大脳：								
神経膠細胞腫 (B)	0	1	0	1	0	0	0	0
髄膜腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
顆粒細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	1	0	0
骨 (大腿骨)：								
骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
骨 (その他)：								
骨腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
眼：								
シュワン細胞腫 (B)	0	0	0	0	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

表中の数値は所見発生数

a：死後の自己融解が進行した1例を除外

b：事故により死亡した1例を除外

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。

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	3000	0	30	300	3000
検査動物数	70	70	69 ^{a)}	69 ^{b)}	69 ^{a)}	70	70	70
耳：								
ジンバル腺 扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
皮膚：								
乳頭腫 (B)	3	1	1	1	0	0	0	0
皮脂腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
線維腫 (B)	11	6	↓1	↓2	0	2	0	1
脂肪腫 (B)	2	2	0	1	0	0	0	0
血管腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	1
シュワン細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌 (M)	3	1	0	2	0	0	0	0
基底細胞癌 (M)	0	0	1	1	1	0	0	0
脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
線維肉腫 (M)	0	2	0	0	0	0	0	0
横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0
悪性線維性組織球腫 (M)	1	0	0	0	0	0	2	1
乳腺：								
腺腫 (B)	0	2	0	0	11	13	11	10
線維腺腫 (B)	1	0	0	0	12	11	10	8
腺癌 (M)	0	0	0	0	2	2	4	0
胸腔：								
シュワン細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
悪性中皮腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
良性腫瘍数	59	52	38	35	69	86	66	59
悪性腫瘍数	11	11	13	10	10	7	12	4
腫瘍総数	70	63	51	45	79	93	78	63
担良性腫瘍動物数	40	35	28	26	41	44	40	37
担悪性腫瘍動物数	10	10	12	8	9	7	10	3
担腫瘍動物数	43	39	34	32	44	45	43	38

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法：↑↓ P≤0.05、↑↓ P≤0.01

表中の数値は所見発生数

a：死後の自己融解が進行した1例を除外

b：事故により死亡した1例を除外

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。

② マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 毒性-18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度：カスガマイシンー塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：CD-1 系マウス

投与開始時週齢；雌雄ともに 4～5 週齢

投与開始時体重；雄 23～31 g、雌 18～25 g

一群雌雄各 72 匹

投与後 52 週時に各群雌雄各 20 匹を中間屠殺した。

試験期間：78 週間（1989 年 10 月 10 日 ～ 1991 年 4 月 19 日）

投与方法：検体を 0、50、300 及び 1500 ppm の濃度で飼料に混入し、78 週間にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は、試験期間中毎週 1 回調製した。なお、飼料調製の際、検体純度による補正は行わなかった。

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試験期間中毎日、1 日 2 回観察した。

試験終了時の死亡数は下表のとおりであった。

< 中間計画殺動物 投与後 52 週 >

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
死亡・切迫殺動物数	1	4	0	9	0	2	2	1

<最終計画殺動物 投与後 78 週>

項目	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
死亡・切迫殺動物数	22	20	20	21	8	10	4	9

COX のモデル (Proportional hazard model) 及び Taron の χ^2 検定を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、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認められなかった。中間計画殺動物のうち、1500 ppm 群の雄の多数が闘争に関連した病徴の結果、投与期間中に死亡あるいは切迫殺したが、最終計画殺動物には投与に関連した死亡率の増加は認められないことから、偶発性の死亡と判断した。

一般状態；

動物の一般状態を試験期間中毎日、1 日 2 回観察し、腫瘍などの触診を含む詳細な臨床観察を週 1 回行った。また、ケージの観察を毎日行い出血や軟便などの状況を調べた。

観察された動物の外観及び挙動は本系統マウスに通常認められる症状であり、検体投与による影響は認められなかった。また、腫瘍などの触診においても検体投与に関連した影響は認められなかった。

体重変化；

全動物について、投与開始時及び投与開始後 14 週時までは毎週 1 回、その後は 2 週間に 1 回の頻度で体重を測定した。また、剖検前にも体重を測定した。

Student の t 検定を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、いずれの投与群においても対照群と比較して有意な体重増加量の変化は認められなかった。

検体投与群の総体重増加量は、対照群と比較して雄ではわずかに高く、雌ではわずかに低かったが用量相関性もなく偶発的な変動と考えられた。

摂餌量及び食餌効率；

各ケージについて毎週 1 回、摂餌量を測定し、ケージ毎に個体あたりの週別群平均摂餌量を算出した。また、投与開始後 14 週まで、週別群平均食餌効率を摂餌量単位あたりの体重増加量を計算して求めた。

1500 ppm 群の雄の摂餌量が投与期間中、対照群と比較してわずかに増加し、投与後 14 週までの摂食餌効率が対照群と比較してわずかに減少した。いずれも検体投与との関連性があると考えられた。なお、摂餌量及び食餌効率については統計学的検定は行われていない。

検体摂取量；

試験期間中の平均検体摂取量 (mg/kg/日) は次表のとおりであった。

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

用量 (ppm)	雄	雌
50	(3.85)	(4.71)
300	(22.68)	(27.58)
1500	(120.91)	(139.66)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

血液学的検査；

投与後 50 週に中間屠殺各群の最大雌雄各 10 匹の生存動物、加えて投与後 50 週及び 77 週に最終屠殺の対照群と 1500 ppm 群の生存動物について、尾静脈から血液試料を採取し塗抹標本を作製して、以下の項目について鏡検により白血球百分率を測定した。

好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、血液塗抹標本中の正赤芽球、その他の異常

対照群と比較して統計学的に有意な変動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		
		50	300	1500	50	300	1500
好中球比率	50 ^{a)}	88	80	↓73	105	92	82
	50	-	-	98	-	-	107
	77	-	-	91	-	-	95
リンパ球比率	50 ^{a)}	124	141	↑147	98	103	114
	50	-	-	100	-	-	97
	77	-	-	114	-	-	107

Student の t 検定：↑↓ $P \leq 0.05$

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

a.: 中間計画殺動物

投与後 50 週の中間計画殺動物の 1500 ppm 群の雄で好中球比率が統計学的に有意に減少し、リンパ球比率が有意に増加した。しかしながら、最終計画殺動物では投与後 50 週及び 77 週のいずれにおいても 1500 ppm 群でこれらの項目に明らかな変動は認められなかったことから、中間計画殺の 1500 ppm 群の雄で見られた好中球の減少及びリンパ球の増加はいずれも偶発的なものと考えられた。なお、雌の白血球百分率及び雌雄の形態学的所見検査では投与に関連した影響は認められなかった。また、投与期間中の切迫殺動物においても投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量；

中間屠殺 (52 週計画殺) 及び最終屠殺 (78 週計画殺) の計画投与期間までの各生存動物について、以下の臓器重量を測定した。また、相対重量 (体重比) を算出した。

脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、精巣、卵巣

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。

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。

[投与後 52 週 計画殺動物]

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		50	300	1500	50	300	1500
脳	絶対重量	97	↓95	↓96	99	101	100
	相対重量	95	91	94	105	108	100
肝臓	絶対重量	88	93	95	101	96	97
	相対重量	86	↓89	92	107	102	96
肺	絶対重量	91	99	107	99	111	101
	相対重量	88	94	105	106	↑118	102

Behrens-Fisher 法あるいは 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

[投与後 78 週 計画殺動物]

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		50	300	1500	50	300	1500
肝臓	絶対重量	100	110	101	93	97	↓88
	相対重量	99	106	97	98	98	95
脾臓	絶対重量	83	99	↓73	77	79	73
	相対重量	83	97	◆69	82	81	79

Behrens-Fisher 法あるいは 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

投与後 52 週計画殺動物において統計学的に有意な臓器重量の変動が散見されたが、用量相関性もないことからいずれも検体投与との関連性はなかった。

投与後 78 週計画殺動物の 1500 ppm 群の雄では、脾臓の絶対重量及び相対重量のいずれも対照群と比較して統計学的に有意な減少が認められ、検体投与に関連した影響と考えられた。その他に 1500 ppm 群の雌の肝臓の絶対重量が統計学的に有意に減少したが、相対重量では対照群と同等であり、検体投与との関連性はないと考えられた。

肉眼的病理検査；

投与期間中の死亡及び切迫動物、投与 52 週時の中間計画屠殺動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

対照群と比較して発生頻度に統計学的に有意な変動が認められた所見を次表に示す。

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。

[途中死亡・切迫殺：中間計画殺動物]

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	50	300	1500	0	50	300	1500
病変	検査動物数 (匹)	1	4	0	9	0	2	2	1
皮膚	：会陰着色	0	0	0	1	0	0	0	0
脾臓	：大型化	1	0	0	7	0	2	0	0
尾	：外傷	0	0	0	1	0	0	0	0

表中の数値は所見発生数

[52週計画屠殺：中間計画殺動物]

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	50	300	1500	0	50	300	1500
病変	検査動物数 (匹)	19	16	20	11	20	18	18	19
皮膚	：会陰着色	4	3	1	2	5	2	↑0	↑0
肝臓	：腫瘍	3	1	0	1	0	0	0	0
脾臓	：大型化	0	0	0	0	0	1	1	0
尾	：外傷	0	0	1	0	0	↑4	0	0
	：異常形状	4	2	2	2	1	1	1	1

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05

表中の数値は所見発生数

[途中死亡・切迫殺：最終計画殺動物]

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	50	300	1500	0	50	300	1500
病変	検査動物数 (匹)	22	20	20	21	8	10	4	9
皮膚	：会陰着色	9	10	8	5	3	4	0	0
肝臓	：腫瘍	5	6	6	5	3	1	1	0
脾臓	：大型化	6	4	8	7	2	4	1	2
尾	：外傷	0	0	0	2	1	0	0	0
	：異常形状	0	2	2	0	1	0	0	0

表中の数値は所見発生数

[78週計画屠殺：最終計画殺動物]

臓器	性別	雄				雌			
	投与群 (ppm)	0	50	300	1500	0	50	300	1500
病変	検査動物数 (匹)	30	32	32	31	44	42	48	43
皮膚	：会陰着色	6	9	9	11	0	3	0	4
肝臓	：腫瘍	4	9	↑14	5	0	1	1	1
脾臓	：大型化	7	3	8	↓1	5	6	5	3
尾	：外傷	2	2	2	0	2	1	3	0
	：異常形状	3	3	3	4	3	1	4	↑10

Fisherの直接確率計算法：↑↓ P≤0.05

表中の数値は所見発生数

投与後78週の計画屠殺動物のうち1500 ppm群の雄で、脾臓の大型化の発生頻度の統計学的に有意な減少が認められた。1500 ppm群の雄では脾臓重量の減少も認めら

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。

れていることから、検体投与と関連性した所見と考えられた。

その他にも、検体投与群で発生頻度が統計学的に有意に変動する所見が散見されたが、用量相関性がない、あるいは発生頻度の減少であり、いずれも検体投与との関連性はないと考えられた。

申請者注：

最終計画殺の 1500 ppm 群の雌でのみ認められた尾の異常形状については、検体投与との関連性は明らかでなかった。

病理組織学的検査；

投与期間中の死亡及び切迫動物、投与後 52 週の間計画屠殺動物の対照群及び 1500 ppm 群、試験終了時の全投与群の生存動物について、以下の臓器・組織について病理組織学的検査を実施した。

副腎、大動脈（胸部）、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、左眼球と視神経、大腿骨と後膝関節、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺（主気管支幹を含む）、リンパ節（下顎、腸間膜）、乳腺（尾側）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（左下顎下）、左坐骨神経、精嚢、骨格筋（大腿）、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨及び骨髄、胃（前胃、腺胃）、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、膀胱、子宮（頸部を含む）、膈、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。

検体投与に関連した影響は認められなかった。検体投与群において対照群と比較して統計学的に有意な変動を示す所見が認められたが、いずれの所見も用量相関性がないかあるいは発生頻度の減少を示すものであった。

〔腫瘍性病変〕

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

Fisher の直接確率計算法を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、いずれの投与群においても、発生頻度が対照群と比較して有意に増加した所見はなく、検体投与による催腫瘍性はないものと判断された。

以上のように、検体のマウスに対する 78 週間混餌投与によるマウス発がん性試験において、1500 ppm の雄で飼料摂取量のわずかな増加と食餌効率の低下が、また脾臓重量の減少と脾臓の大型化の発生頻度の減少が認められたことから、無毒性量（NOEL）は雄で 300 ppm（カスガマイシン原体として、mg/kg 体重/日）、雌で 1500 ppm（カスガマイシン原体として、mg/kg 体重/日）であると判断した。また、催腫瘍性は認められなかった。

申請者注：カスガマイシン（遊離塩基）としての NOEL

雄 22.68 mg/kg 体重/日、雌 139.7 mg/kg 体重/日

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。

表 1. 非腫瘍性病変

[死亡・切迫殺動物： 中間計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
脾臓： [N=]	1	4	0	8	0	2	2	1
髄外造血亢進	0	0	0	5	0	1	0	0
精巣： [N=]	1	4	0	9	—	—	—	—
輸精管胚上皮変性	0	0	0	1	—	—	—	—

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

[投与後 52 週計画殺動物： 中間計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
肝臓： [N=]	19	1	1	11	20	0	0	19
結節増生	2	2	1	2	0	0	0	0
脾臓： [N=]	19	0	1	11	20	2	1	19
髄外造血亢進	0	0	0	0	0	0	1	0
精巣： [N=]	19	0	1	11	—	—	—	—
輸精管胚上皮変性	0	0	0	2	—	—	—	—

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

[死亡・切迫殺動物： 最終計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
肝臓： [N=]	21	20	20	21	7	10	4	9
結節増生	4	2	3	2	0	0	0	0
倍数性細胞増加	0	3	1	0	0	0	0	0
脾臓： [N=]	22	20	20	21	7	10	4	9
髄外造血亢進	5	7	7	6	3	4	0	2
精巣： [N=]	21	20	20	21	—	—	—	—
輸精管胚上皮変性	0	1	2	2	—	—	—	—
胸腺： [N=]	20	18	17	19	8	10	4	9
リンパ過形成	0	0	0	0	1	3	2	1

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

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

[投与後 78 週計画殺動物： 最終計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
肝臓： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
結節増生	4	6	↑12	2	0	0	1	0
倍数性細胞増加	1	7	↑9	3	0	1	0	0
脾臓： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
髓外造血亢進	2	1	↑9	2	5	7	4	1
精巣： [N=]	30	32	32	31	—	—	—	—
輸精管胚上皮変性	9	8	7	↓2	—	—	—	—
胸腺： [N=]	30	32	32	31	43	42	48	43
リンパ過形成	5	↑18	↑20	9	38	36	40	35

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

[全検査動物： 最終計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
肝臓： [N=]	51	52	52	52	51	52	52	52
結節増生	8	8	15	4	0	0	1	0
倍数性細胞増加	1	↑10	↑10	3	0	1	0	0
脾臓： [N=]	52	52	52	52	51	52	52	52
髓外造血亢進	7	8	16	8	8	11	4	3
精巣： [N=]	51	52	52	52	—	—	—	—
輸精管胚上皮変性	9	9	9	4	—	—	—	—
胸腺： [N=]	50	50	49	50	51	52	52	52
リンパ過形成	5	↑18	↑20	9	39	39	42	36

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

表 2. 腫瘍性病変

[死亡・切迫殺： 中間計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
腹部： [N=]	0	0	0	2	0	0	0	0
腹腔内肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
血液： [N=]	1	4	0	9	0	2	2	1
悪性リンパ腫 (M)	1	0	0	0	0	1	0	0
組織球性肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
乳腺： [N=]	0	0	0	0	0	0	0	1
乳腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
良性腫瘍数	0	0	0	0	0	0	0	0
悪性腫瘍数	1	0	0	2	0	1	0	1
腫瘍総数	1	0	0	2	0	1	0	1
担良性腫瘍動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
担悪性腫瘍動物数	1	0	0	2	0	1	0	1
担腫瘍動物数	1	0	0	2	0	1	0	1

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

[投与後 52 週計画殺： 中間計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
肝臓： [N=]	19	1	1	11	20	0	0	19
肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
肝細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
肺： [N=]	19	2	3	11	20	0	1	19
肺癌 (M)	0	0	1	1	0	0	0	1
肺腺腫 (B)	1	2	0	0	0	0	0	2
子宮： [N=]	-	-	-	-	20	11	10	19
平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	0	0	0	1
皮膚： [N=]	6	8	4	3	0	0	0	0
脂肪腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	0
良性腫瘍数	2	2	2	0	0	0	0	3
悪性腫瘍数	1	0	1	1	0	0	0	2
腫瘍総数	3	2	3	1	0	0	0	5
担良性腫瘍動物数	2	2	2	0	0	0	0	3
担悪性腫瘍動物数	1	0	1	1	0	0	0	2
担腫瘍動物数	3	2	3	1	0	0	0	5

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

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

[死亡・切迫殺： 最終計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
副腎 (皮質)： [N=]	22	20	20	21	7	10	4	9
皮質腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
脳： [N=]	22	20	20	21	7	10	4	9
上皮性髄膜腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
大腿骨： [N=]	22	20	20	21	8	9	4	8
骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓： [N=]	21	20	20	21	7	10	4	9
肝細胞癌 (M)	2	1	2	3	0	0	0	0
血管肉腫 (M)	0	1	0	0	1	1	0	0
肺： [N=]	22	20	20	21	8	10	4	9
肺癌 (M)	3	0	0	0	1	1	0	0
肺腺腫 (B)	3	1	0	1	0	1	1	0
膵臓： [N=]	21	19	19	20	7	10	3	7
膵島腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
脊髄： [N=]	22	20	20	21	8	10	4	9
髄膜腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓： [N=]	22	20	20	21	7	10	4	9
血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0
子宮： [N=]	-	-	-	-	7	10	4	9
血管肉腫 (M)	-	-	-	-	0	2	0	0
血液： [N=]	22	20	20	21	8	10	4	9
悪性リンパ腫 (M)	0	1	2	1	0	0	0	1
組織球性肉腫 (M)	2	0	0	1	2	0	0	1
皮膚： [N=]	22	20	20	21	8	10	4	9
肉腫 (M)	1	2	4	1	1	0	0	0
良性腫瘍数	5	1	0	1	0	1	1	0
悪性腫瘍数	9	5	8	6	5	6	1	3
腫瘍総数	14	6	8	7	5	7	2	3
担良性腫瘍動物数	2	1	0	1	0	1	1	0
担悪性腫瘍動物数	7	5	8	6	4	6	1	3
担腫瘍動物数	9	6	8	7	4	7	2	3

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

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

[投与後 78 週計画殺： 最終計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
副腎 (皮質)： [N=]	30	31	32	31	44	42	48	43
皮質腺腫 (B)	3	3	2	4	0	0	0	0
副腎 (髄質)： [N=]	30	31	32	31	44	42	47	43
褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
眼球： [N=]	30	32	32	31	43	42	48	43
毛様体乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
肝細胞癌 (M)	2	2	3	2	0	0	0	0
血管肉腫 (M)	0	1	1	0	0	0	0	0
肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
肺： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
肺癌 (M)	2	5	2	3	2	6	4	2
肺腺腫 (B)	1	1	3	1	1	5	1	1
卵巣： [N=]	-	-	-	-	44	41	48	43
嚢胞腺腫 (B)	-	-	-	-	2	0	0	1
顆粒細胞腫 (B)	-	-	-	-	1	0	0	0
血管腫 (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
下垂体： [N=]	30	32	30	31	41	41	46	41
腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1
胃： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺： [N=]	30	32	30	31	43	42	48	42
ろ胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	1	0
子宮： [N=]	-	-	-	-	44	42	48	43
腺癌 (M)	-	-	-	-	1	1	0	1
平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	3	0
線維腫 (B)	-	-	-	-	1	0	0	0
平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
血液： [N=]	30	32	32	31	44	42	48	43
悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0
左ハーマゲ腺： [N=]	5	4	5	3	17	13	11	13
腺腫 (B)	1	0	0	0	2	0	2	1

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

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

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
右ハータ腺： [N=]	5	4	5	3	17	13	11	13
腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
乳腺： [N=]	0	0	0	0	0	2	1	1
乳癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1
乳腺癌 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0
包皮腺： [N=]	8	3	8	12	-	-	-	-
腺腫 (B)	0	0	0	1	-	-	-	-
皮膚： [N=]	18	17	15	15	1	1	0	2
肉腫 (M)	1	0	2	0	0	0	0	0
角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
尾： [N=]	1	0	0	1	0	1	0	0
肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
良性腫瘍数	8	4	5	7	8	6	6	5
悪性腫瘍数	5	9	8	6	5	10	10	5
腫瘍総数	13	13	13	13	13	16	16	10
担良性腫瘍動物数	7	3	5	6	6	4	6	5
担悪性腫瘍動物数	4	9	6	5	5	9	10	4
担腫瘍動物数	11	12	10	10	9	12	16	9

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

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

[全検査動物： 最終計画殺動物]

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
副腎 (皮質)： [N=]	52	51	52	52	51	52	52	52
皮質腺腫 (B)	4	3	2	4	0	0	0	0
副腎 (髄質)： [N=]	52	51	52	52	51	52	51	52
褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
脳： [N=]	52	52	52	52	51	52	52	52
上皮性髄膜腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
眼球： [N=]	51	51	51	48	48	52	50	51
毛様体乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
大腿骨： [N=]	52	52	52	52	52	51	51	51
骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
肝臓： [N=]	51	52	52	52	51	52	52	52
肝細胞癌 (M)	4	3	5	5	0	0	0	0
血管肉腫 (M)	0	2	1	0	1	1	0	0
肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
肺： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
肺癌 (M)	5	5	2	3	3	7	4	2
肺腺腫 (B)	4	2	3	2	1	6	2	1
卵巣： [N=]	-	-	-	-	51	51	52	52
嚢胞腺腫 (B)	-	-	-	-	2	0	0	1
顆粒細胞腫 (B)	-	-	-	-	1	0	0	0
血管腫 (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
膵臓： [N=]	51	51	51	51	51	52	51	50
膵島腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
下垂体： [N=]	52	51	48	52	48	51	50	49
腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
脊髄： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	51
髄膜腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓： [N=]	52	52	52	52	51	52	52	52
血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	2	1
胃： [N=]	50	49	49	49	51	52	51	49
扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺： [N=]	51	52	50	51	50	51	52	50
ろ細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	1	0

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数，表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

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

臓器：病変	性及び用量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	50	300	1500	0	50	300	1500
子宮： [N=]	-	-	-	-	51	52	52	52
腺癌 (M)	-	-	-	-	1	1	0	1
血管肉腫 (M)	-	-	-	-	0	2	0	0
平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	3	0
線維腫 (B)	-	-	-	-	1	0	0	0
平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
血液： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
悪性リンパ腫 (M)	0	1	2	1	0	0	1	1
組織球性肉腫 (M)	2	0	0	1	3	1	0	1
左ハダ腺： [N=]	9	6	8	3	19	18	13	15
腺腫 (B)	1	0	0	0	2	0	2	1
右ハダ腺： [N=]	9	6	8	3	19	18	13	15
腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
乳腺： [N=]	0	0	0	0	0	2	1	1
乳癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1
乳腺癌 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0
包皮腺： [N=]	12	8	9	17	-	-	-	-
腺腫 (B)	0	0	0	1	-	-	-	-
皮膚： [N=]	29	25	26	24	5	1	2	3
肉腫 (M)	2	2	6	1	1	0	0	0
角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
尾： [N=]	2	0	0	2	0	1	0	0
肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
良性腫瘍数	13	5	5	8	8	7	7	5
悪性腫瘍数	14	14	16	12	10	16	11	8
腫瘍総数	27	19	21	20	18	23	18	13
担良性腫瘍動物数	9	4	5	7	6	5	7	5
担悪性腫瘍動物数	11	14	14	11	9	15	11	7
担腫瘍動物数	20	18	18	17	13	19	18	12

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

[N=] 検査動物数、表中の[N=] の行以外の数値は所見発生数

③ イヌを用いた飼料混入投与による1年間反復投与毒性試験 (資料 毒性-19)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2003 年

検体の純度: カスガマイシン一塩酸塩 (遊離塩基として) %

供試動物: ビーグル犬

投与開始時月齢; 雌雄 4~6 ヶ月齢

投与開始時体重; 雄 6.5~8.8 kg、雌 5.8~8.1 kg

一群雌雄各 4 匹

投与期間: 52 週間 (2001 年 8 月 8 日~2002 年 8 月 8 日)

投与方法: 検体を 0、300、1000 及び 3000 ppm の濃度で飼料に混入し、52 週間にわたって 1 日 6 時間自由に摂取させた。検体を混入した飼料は純度 (遊離塩基として) で補正し、試験開始後 18 週間はほぼ週 1 回、その後は月 1 回調製した。

用量設定根拠;

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率;

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。

検体投与に関連のある一般状態の変化は認められなかった。

投与 14 日に 3000 ppm 群の雌 1 例で死亡が発見された。死亡に関連のある所見は、試験 10 及び 13 日に認められた無形便の他に、死亡当日にケージ受皿に認められた赤色分泌物のみであった。他の動物では認められないこと、及び毒性的に意義のある病理組織学的所見が認められないことから、検体投与に関連はないと判断された。死因は不明であった。

詳細な観察;

投与開始前に 1 回、投与期間中は毎週及び計画屠殺日に全動物を対象として、皮膚、被毛、眼及び粘膜の変化、分泌及び排泄、ならびに自律神経作用 (流涙、立毛、瞳孔の大きさ、異常呼吸パターンなど) について観察した。また、歩行異常についても週 1 回観察した。さらに、投与開始 1 週間前及び試験 52 週に心拍数、直腸温及び

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。

呼吸数を検査した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

体重変化；

全動物について、投与前に2回、投与開始日、その後14週までは毎週1回、その後4週間ごとに1回及び試験53週に測定した。

試験期間中（試験1週～53週）の体重増加量（kg）を次表に示す。

Dunnettの多重比較法を用いて危険率5%レベルで解析した結果、体重及び体重増加量のいずれも対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められず、検体投与の影響は認められなかった。

投与量 (ppm)		0	300	1000	3000
体重増加量 (kg)	雄	3.0	3.4	4.0	2.8
	雌	2.6	2.7	2.9	2.8

摂餌量及び食餌効率；

摂餌量は13週までは週1回、その後は少なくとも4週間ごとに1回及び52週時に測定した。また、食餌効率を算出した。

Dunnettの多重比較法を用いて危険率5%レベルで解析した結果、摂餌量に対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められず、検体投与の影響は認められなかった。また、食餌効率にも検体投与の影響は認められなかった。

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
300	10.5	9.4
1000	30.5	33.4
3000	99.6	103.6

表中の数値はカスガマイシン遊離塩基としての値。

血液学的検査；

投与開始1週間前、試験13、26、39及び53週（計画屠殺日）に全生存動物を対象として、一晚絶食後、無麻酔下で頸静脈から採血し、以下の項目の測定を行った。また、胸骨骨髓塗抹標本作製した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数、血球形態、型別白血球数及び百分率、活性部分トロンボプラスチン時間 (PTT)、プロトロンビン時間 (PT)

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。

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	試験週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		300	1000	3000	300	1000	3000
赤血球数	13	97	100	93	110	109	111
	26	102	99	97	114	112	↑125
	39	100	99	97	102	108	104
	53	93	95	98	107	117	104
ヘモグロビン量	13	98	102	94	108	108	107
	26	105	103	99	114	↑114	↑121
	39	103	103	100	103	112	103
	53	96	98	100	106	↑118	102
ヘマトクリット値	13	98	103	94	110	109	109
	26	104	102	98	114	113	↑122
	39	104	103	100	103	111	103
	53	96	99	100	108	↑119	102
リンパ球比率	13	125	105	110	85	111	107
	26	132	121	105	88	116	104
	39	↑139	133	100	96	122	126
	53	121	105	95	109	126	113
活性部分トロンボプラスチン時間 (PTT)	13	105	108	115	102	106	↑114
	26	100	102	↑114	100	102	110
	39	100	106	108	96	108	112
	53	101	102	110	104	107	112

Dunnett の多重比較法 : †‡ P ≤ 0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

検体投与群において、統計学的に有意な高値を示す項目が認められたが、一時的な変化であるか、または用量との関連性が明らかでないことから、いずれも検体投与による影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査；

血液学的検査で使用した血液と同じ血液を用いて、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、血糖、総ビリルビン、総コレステロール、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、トリグリセリド、塩素

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。また、総コレステロールについては実測値 (平均値) についても表で示した。

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

検査項目	試験週	性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		300	1000	3000	300	1000	3000
尿素窒素	13	100	109	109	92	100	108
	26	100	108	115	93	100	114
	39	118	118	118	100	92	115
	53	108	133	↑142	100	92	123
クレアチニン	13	100	111	111	100	100	111
	26	110	110	110	111	111	122
	39	100	110	110	100	100	110
	53	91	100	109	110	100	↑110
アルブミン	13	103	103	103	97	103	103
	26	103	103	103	100	107	110
	39	↑110	103	106	107	110	110
	53	103	100	103	97	103	103
コレステロール	13	86	↓79	↓70	↓66	↓78	↓63
	26	89	85	71	↓55	73	↓54
	39	99	94	80	77	74	62
	53	87	82	73	53	59	54
トリグリセリド	13	86	109	105	100	100	70
	26	77	127	92	100	103	90
	39	79	111	114	70	84	50
	53	64	92	132	67	67	↓60
γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)	投与前 (-1)	100	120	120	80	140	140
	13	3	133	133	75	75	100
	26	67	100	67	67	33	133
	39	100	125	100	100	100	150
	53	120	120	100	83	100	↑133
無機リン	13	109	113	102	119	111	117
	26	120	123	117	110	105	113
	39	126	↑132	106	129	119	123
	53	146	↑150	117	116	106	113
ナトリウム	13	101	101	101	99	100	99
	26	103	101	101	99	101	101
	39	101	99	100	99	↑102	100
	53	101	100	101	100	101	100
塩素	13	↑102	101	↑103	99	100	99
	26	103	99	102	96	99	99
	39	101	98	102	99	102	101
	53	101	100	102	100	101	102

Dunnett の多重比較法 : †† P ≤ 0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

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	試験週	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	300	1000	3000	0	300	1000	3000
コレステロール	-1*	204	179	165	162	181	145	160	144
	13	161	139	↓127	↑113	160	↑106	↑125	↑101
	26	139	124	118	98	183	↑101	133	↑99
	39	126	125	118	101	159	123	118	98
	52	142	123	116	104	202	108	119	110

Dunnnett の多重比較法 : †‡ P ≤ 0.05

表中の数値は実測値 (単位 : mg/dℓ)

*: 投与 1 週間前

3000 ppm 群の雌雄で尿素窒素及びクレアチニンのごく軽度の高値が認められ、尿素窒素は雄において、クレアチンは雌において統計学的に有意差が認められた。いずれも検体投与に関連のある変動と考えられた。3000 ppm 群の雌で試験 53 週時の GGT が統計学的に有意に増加したが、投与前の検査においてもすでに対照群よりも高い値を示しており、検体投与に関連しない変化と考えられた。その他、検体投与群において統計学的に有意な変動を示す項目が認められたが、一時的な変化であるか、または用量との関連性が明らかでなく、いずれも検体投与による影響ではないと考えられた。

尿検査 ;

投与開始 1 週間前、試験 13、26、39 及び 53 週 (計画屠殺日) に全生存動物から 16 時間尿を採取し、以下の項目について検査した。

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

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	試験週	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	300	1000	3000	0	300	1000	3000
尿量	13	-	98	83	97	-	149	219	112
	26	-	172	138	172	-	95	77	54
	39	-	266	355	↑464	-	87	82	64
	53	-	84	105	↑36	-	104	121	29
pH ^{a)}	13	6.9	6.9	7.0	7.5	6.8	6.3	7.1	6.3
	26	6.9	↑7.8	7.3	↑8.0	6.9	6.6	6.6	7.7
	39	7.3	6.8	7.8	6.9	7.0	6.9	6.5	6.8
	53	8.4	7.4	7.9	↑6.9	7.6	8.1	7.4	7.3
比重	13	-	100	101	99	-	100	99	100
	26	-	99	100	99	-	100	100	100
	39	-	100	100	↑99	-	100	100	100
	53	-	101	100	102	-	100	100	101

Dunnnett の多重比較法 : †‡ P ≤ 0.05

表中の数値は対照群を 100 とした時の相対値

a : pH は実数を示した

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

3000 ppm 群の雌雄で投与後 53 週に尿量の低値及び尿比重の高値が認められ、雄の尿量には統計学的に有意差が認められた。いずれも検体投与に関連するものと考えられた。

申請者注：

3000 ppm 群の雄の投与 39 週後の尿量が対照群対比で 464% の高い値を示していたが、投与 39 週後の対照群の尿量が極端に少なかったことによるものと考えられる。下表に対照群及び 3000 ppm 群の雄の尿量の平均値を示す。

試験群	尿量 平均値 (mL)				
	投与前 1 週	投与後 13 週	投与後 26 週	投与後 39 週	投与後 53 週
対照群 (雄)	445.5	329.5	206.0	91.3	445.0
3000 ppm 群 (雄)	177.8	319.0	353.3	423.8	160.5

眼科学的検査；

投与開始前 1 週及び投与後 53 週時に、全動物について検眼鏡による検査を行った。検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量；

剖検時に以下の臓器重量を測定し、体重比及び脳重比を算出した。死亡動物について臓器重量の測定のみを行った。

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

Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、いずれの臓器にも対照群と比較して統計学的に有意な変動は認められず、検体投与の影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；

全生存動物について、試験 53 週（計画屠殺時）に剖検を行った。また、死亡して発見された動物の剖検も行った。

試験 14 日に死亡した 1 例を含む検体投与の全ての動物において、検体投与に関連のある異常所見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病理標本を作製し、検鏡した。

脳、眼（網膜及び視神経を含む）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、肺、心臓、大動脈（胸部）、唾液腺（顎下腺）、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、卵巣、子宮/頸部、膈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（腸間膜及び顎下）、骨格筋、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨、骨髄（大腿骨）、前立腺、乳腺（雌）、皮膚、咽頭、喉頭、舌、肉眼的異常部位

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。

90日間反復経口投与毒性試験（資料 毒性-13）で認められた舌の所見を含め、全生存動物における主な病理組織学的所見を次表に示す。

所見		性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	300	1000	3000	0	300	1000	3000
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	3
舌	リンパ組織球浸潤	1	0	0	0	0	1	0	1
肝臓	リンパ組織球浸潤	1	3	2	1	0	1	3	2
胆嚢	リンパ球浸潤	1	3	2	3	1	2	3	2
腎臓	鉍質沈着	4	4	4	4	4	4	4	3
精巣	変性	1	1	2	2	-	-	-	-
	慢性炎症	0	0	0	3	-	-	-	-

申請者が Fisher の直接確率計算法を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、いずれの投与群においても発生頻度が対照群と比較して有意に増加した所見はなく、検体投与に関連した異常所見は認められなかった。なお、90 日間反復経口投与毒性試験の 3000 ppm 群で認められた検体投与に関連した舌の病変は本試験では再現されなかった。また、3000 ppm 群の雌の死亡動物においても検体投与に関連のある異常所見は認められなかった。

以上のように、検体をビーグル犬に対して 52 週間にわたって反復経口投与したところ、3000 ppm 群の雌雄で尿素窒素及びクレアチニンの軽度の高値、雄で尿量の低値及び尿比重の高値が認められたことから、無毒性量 (NOAEL) は 1000 ppm (カスガマイシン (遊離塩基) として、雄 30.5 mg/kg 体重/日、雌 33.4 mg/kg 体重/日) であると判断した。

④ イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 毒性-20)

試験機関：

報告書作成年：1975年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：ビーグル犬

投与開始時月齢；6ヵ月齢

開始時体重； 雄 3.6～10.5 kg、 雌 5.7～7.9 kg

一群雌雄各4匹

試験期間：24ヵ月

申請者注：試験開始及び終了年月日については報告書に記載がないため不明

試験方法：検体を0、200、800及び4000 ppmの濃度で混入し、24ヵ月間にわたって随時摂取させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。なお、飼料調製の際、検体純度による補正は行わなかった。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；

一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与群において一般状態の異常は認められなかった。200 ppm 群の雄1匹は、投与後39週の時点で瀕死の状態となったため屠殺した。原因は腸閉塞であった。

また、800 ppm 群の雌1匹が投与後68週の時点で死亡した。原因は肝炎であった。

これら動物の死亡に、検体投与との関連性はなかった。

申請者注：統計学的検定を行うために必要となるデータがないことから、申請者による追加の統計検定は実施できなかった。

体重変化；

体重は毎週1回測定した。

申請者が、統計学的検定としてDunnettの多重比較法を用いて危険率5%及び1%レベルで解析した。その結果、統計学的有意差の認められた週とその体重及び試験開始から104週時までの投与期間を通じた体重増加量を次表に示す。なお、雄ではいずれの投与週においても統計学的に有意な体重の変動が認められなかったため、次表には雌のデータのみを示した。

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

投与週	雌： 用量群 (ppm)		
	200	800	4000
82	98	85	↓81
85	96	85	↓82
88	95	84	↓83
89	93	↓83	↓83
90	92	84	↓80
91	93	84	↓79
92	94	84	↓79
93	93	85	↓79
94	95	84	↓79
95	95	84	↓80
96	92	↓82	↓78
97	92	↓72	↓78
100	98	84	↓82
101	98	85	↓82
体重増加量	74	76	63

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

4000 ppm 群の雌において、体重増加抑制が認められた。

摂餌量及び食餌効率；

各投与群の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率は投与開始から 13 週まで算出した。検体投与群において、摂餌量及び食餌効率のいずれも対照群との差は認められなかった。

申請者注：統計学的検定を行うために必要となるデータがないことから、申請者による追加の統計検定は実施できなかった。

検体摂取量；

報告書に検体摂取量の記載がなかったので、申請者が算出した。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
200	(4.6)	(4.8)
800	(19.0)	(18.5)
4000	(93.1)	(90.0)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

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。

飲水量；

投与開始後 86 週から 104 週の間週 1 回測定した。
 検体投与群において対照群との差は認められなかった。

申請者注：統計学的検定を行うために必要となるデータがないことから、申請者による追加の統計検定は実施できなかった。

血液学的検査；

投与前、投与後 3、6、9、12、18 及び 24 ヶ月後に次の項目を検査した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球百分比

申請者が、統計学的検定として Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した。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	投与月	性及び用量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	200	800	4000	0	200	800	4000
ヘマトクリット値	12	-	92	↓90	98	-	101	101	100
ヘモグロビン量	12	-	92	↓91	99	-	101	101	99
白血球百分比 単球 (実測値 平均 %)	0	0.8	0.5	0.5	0.3	0.8	1.8	0.5	0.0
	3	1.8	0.8	0.5	1.3	0.3	0.5	0.0	2.3
	6	2.5	1.8	2.5	0.8	2.5	3.8	2.5	3.3
	9	1.8	3.3	2.5	2.5	2.5	3.3	2.0	3.3
	12	1.8	1.0	2.3	3.0	1.8	0.5	2.5	1.8
	18	0.3	↑2.3	1.0	1.8	1.8	2.8	2.7	2.8
白血球百分比 好酸球 (実測値 平均 %)	0	4.3	3.8	2.3	2.5	1.0	2.0	1.8	2.3
	3	3.0	5.0	3.8	3.0	3.5	3.5	3.5	4.3
	6	2.0	6.8	3.3	0.8	5.5	6.5	5.5	3.3
	9	4.3	4.5	4.5	2.0	7.3	3.3	3.0	↓2.3
	12	3.5	4.0	4.5	3.8	5.8	4.8	5.8	5.3
	18	4.3	3.3	2.8	4.8	2.5	3.0	5.3	5.0
24	4.3	6.7	4.3	3.3	3.0	4.0	3.7	4.5	

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

実測値は斜体文字で示した

検体投与群において統計学的に有意な変動を示す項目が認められたが、一時的な変化であるか、または用量との関連性が明らかでなく、いずれも検体投与による影響ではないと考えられた。

申請者注：上記の考察は統計検定の結果に基づき、申請者が考察した。

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

血液生化学的検査；

血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として次の項目を検査した。

尿素窒素 (BUN)、グルコース、アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、総蛋白*¹、蛋白電気泳動*¹、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比) *¹、クレアチニン*²

(*¹: 24 ヶ月時のみ測定、*²: 6、12、24 ヶ月時のみ測定)

申請者が、統計学的検定として Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5%及び 1% レベルで解析した。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	投与月	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		200	800	4000	200	800	4000
尿素窒素 (BUN)	0	82	100	93	98	121	100
	3	89	↑130	111	106	124	114
	6	98	110	95	113	122	105
	9	153	109	109	113	115	129
	12	127	135	↑158	↑138	↑140	↑142
	18	124	118	100	111	88	95
	24	90	118	96	111	107	111
グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)	0	92	87	93	73	73	91
	3	93	116	104	73	81	68
	6	117	149	131	108	115	70
	9	93	92	122	77	115	74
	12	146	142	166	128	157	110
	18	103	↑190	194	89	81	67
	24	85	114	115	98	72	89
クレアチニン	0	78	↓52	↓47	161	99	61
	12	101	106	83	156	52	66
	24	97	80	89	76	36	60

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

検体投与群において統計学的に有意な変動を示す項目が認められたが、一時的な変化であるか、または用量との関連性が明らかでなく、いずれも検体投与による影響ではないと考えられた。

申請者注：上記の考察は統計検定の結果に基づき、申請者が考察した。

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

尿検査；

血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として次の項目を検査した。

アルブミン、グルコース、pH、比重、顕微鏡検査（白血球、赤血球、結晶）、
フェノールスルホンフタレインによる腎機能検査（PSP）

申請者が、尿比重及び腎機能検査について統計学的検定として Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した。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。なお、その他の検査項目はいずれも定性的な評価であるため統計学的検定は行わなかった。

項目	投与月	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		200	800	4000	200	800	4000
尿比重	6	99	100	101	▲102	101	101
	18	▲103	100	101	99	100	99

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

200 ppm 群の雄の投与後 18 ヶ月及び同群雌の投与後 6 ヶ月に尿量の統計学的に有意な増加が認められたが、高用量ではこのような変動が認められないことから、検体投与による影響ではないと考えられた。

申請者注：上記の考察は統計検定の結果に基づき、申請者が考察した。

臓器重量；

投与終了後、全生存動物を対象として剖検した後、次の臓器の重量を測定した。
また、相対重量（体重比）も算出した。

肝臓、肺、腎臓、心臓、脳、脾臓、生殖腺、副腎、甲状腺、下垂体

申請者が、統計学的検定として Dunnett の多重比較法を用いて危険率 5% 及び 1% レベルで解析した。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。

なお、200 ppm 群の雄 1 例及び 800 ppm の雌 1 例で試験途中で死亡が認められたため、次表は死亡動物を含めた全動物の場合と死亡動物を除外した場合に分けてまとめた。

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。

(死亡動物を含めた全動物)

臓器		用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		200	800	4000	200	800	4000
肝臓	絶対重量	108	91	85	100	90	↓74
	体重比	107	100	93	104	107	88
	脳重比	114	92	77	89	↓83	↓69
腎臓 (両側)	絶対重量	120	88	91	97	104	92
	体重比	118	96	100	101	125	110
	脳重比	126	88	83	86	96	86
腎臓 (右)	絶対重量	121	91	93	99	95	93
	体重比	120	99	101	103	114	112
	脳重比	126	90	83	87	87	87
腎臓 (左)	絶対重量	119	85	90	96	113	91
	体重比	117	93	98	100	136	109
	脳重比	125	86	82	86	105	84

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

(死亡動物を除外)

臓器		性及び用量 (ppm)					
		雄			雌		
		200	800	4000	200	800	4000
肝臓	絶対重量	104	91	85	100	85	↓74
	体重比	98	100	93	104	99	88
	脳重比	107	92	77	89	↓80	↓69
腎臓 (両側)	絶対重量	108	88	91	97	85	92
	体重比	103	96	100	101	100	110
	脳重比	110	88	83	86	81	86
腎臓 (右)	絶対重量	110	91	93	99	73	93
	体重比	105	99	101	103	86	112
	脳重比	111	90	83	87	↓69	87
腎臓 (左)	絶対重量	106	85	90	96	96	91
	体重比	101	93	98	100	113	109
	脳重比	109	86	82	86	91	84

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

4000 ppm 群及び 800 ppm 群の雌で肝臓の脳重比が、4000 ppm 群の雌ではさらに肝臓の絶対重量が統計学的に有意に減少したが、体重比には対照群と比較して明らかな変動は認められず、病理組織学的検査においても異常所見が認められないことから、検体投与に関連しない変動と考えられた。また、800 ppm 群の雌で右側

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。

腎臓の脳重比が統計学的に有意に低値であったが、絶対重量及び体重比には対照群と比較して明らかな差はなく、用量相関性も認められないことから偶発的な変動と考えられた。

申請者注：上記の考察は統計検定の結果に基づき、申請者が考察した。

肉眼的病理検査；

投与終了後、全生存動物を対象として剖検を行った。

申請者が Fisher の直接確率計算法を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、いずれの投与群においても発生頻度が対照群と比較して有意に増加した所見はなく、また、検体投与に関連したと考えられる異常所見も認められなかった。

申請者注：上記の考察は統計検定の結果に基づき、申請者が考察した。

病理組織学的検査；

投与終了後、全生存動物を対象として剖検した後、次の組織の病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、大動脈（腹部）、骨髄（胸骨）、脳（大脳、小脳、脳橋）、盲腸、結腸、食道、眼、胆嚢、生殖腺、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（頸部、腸間膜）、筋肉（骨格）、視神経、膵臓、末梢神経（坐骨）、下垂体、前立腺、唾液腺（下顎）、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、脊髄、脾臓、胃（噴門、幽門、基底部）、甲状腺、気管、膀胱、子宮

申請者が Fisher の直接確率計算法を用いて危険率 5% レベルで解析した結果、いずれの投与群においても発生頻度が対照群と比較して有意に増加した所見はなく、検体投与に関連したと考えられる異常所見も認められなかった。

申請者注：上記の考察は統計検定の結果に基づき、申請者が考察した。

以上のように、検体をビーグル犬に対して 24 ヶ月にわたって反復経口投与したところ、4000 ppm 群の雌で体重増加抑制が認められた。雄では最高用量の 4000 ppm 投与群においても、検体投与の影響は認められなかった。

したがって、無毒性量 (NOEL) は雄で 4000 ppm (カスガマイシン原体として mg/kg/日)、雌で 800 ppm (カスガマイシン原体として mg/kg/日) と判断した。

申請者注：1) 上記の結論は申請者の判断に基づく。

2) カスガマイシン (遊離塩基) としての NOEL

雄 93.1 mg/kg 体重/日、雌 18.5 mg/kg 体重/日

(11) 繁殖毒性及び発生毒性

① ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 毒性-21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1993 年

検体の純度：カスガマイシンー塩酸塩 (遊離塩基として) %

供試動物：Cr1:CD®BR VAF/Plus®ラット

一群雌雄各 25 匹

投与開始時週齢 6 週齢 (F0 世代)

投与開始時体重 F0 世代 雄 187.7~229.0 g、雌 120.8~150.2 g

F1 世代 雄 73.7~215.1 g、雌 63.8~172.2 g

投与期間：F0 世代；投与開始から F1 児離乳後の剖検までの約 19 週間

F1 世代；離乳時から F2b 児離乳後の剖検までの約 29 週間

申請者注：投与年月日については記載なし

投与方法：検体を 0、200、1000 及び 6000 ppm の濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。なお、飼料調製の際、検体純度 (一塩酸塩として) による補正を行った。

用量設定根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目・方法及び試験項目：概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡；

全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

交配及び妊娠の確認；

交配は少なくとも 10 週間の投与後雌雄 1 対 1 で同居させ、投与期間中膣栓及び膣垢中の精子により交尾を確認し、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。

F2児を得るためにF1親動物を交配させた結果、最高用量の6000 ppm群において明らかな受胎率の低下が認められ、この確認のためにF1親動物については再度交配した。F1親動物による1回目の交配で得られた児動物はF2a児、2回目の交配で得られた児動物はF2b児として示した。F2b児を得るための2回目の交配は、F2a哺育終

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。

了の6日後から開始し、F2a児を得るための交配で同腹児を得られなかった雄は同腹児を出産した雌と同居させ、また、F2a児を得るための交配で同腹児を得た雄は同腹児を出産しなかった雌と同居させて行った。

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

交尾率 (%) = (交尾を認めた雌数/交配に用いた雌数) × 100

受胎率 (%) = (妊娠雌数/交尾した雌数) × 100

妊娠率 (%) = (妊娠雌数/交配に用いた雌数) × 100

授精率 (%) = (雌を妊娠させた雄数/交配に用いた雄数) × 100

出産率 (%) = (生存児出産雌数/妊娠雌数) × 100

同居日数 = 雌雄を同居後、雌の膈垢中に精子が確認されるまでの日数

妊娠期間 = 交尾を認めた日 (妊娠 0 日) から出産完了日までの日数

児生存率：生後 0 日生存率 = 生存児数/出産児数

性比 = 総雄産児数/総産児数

生後 4 日生存率 = 生後 4 日選抜前生存児数/生後 0 日出生児数

離乳率 = 生後 21 日生存児数/生後 4 日選抜後生存児数

肉眼的病理検査；

各親動物 (F0 及び F1) 雌雄は F1 及び F2b 児動物の離乳後、麻酔下で瀉血屠殺し、剖検した。体表、すべての開口部、頭蓋腔、脳及び脊髄の外表面、胸腔、腹腔及び骨盤腔ならびに内臓の肉眼的検査を行った。また選抜した各群の F1、F2a 及び F2b 離乳児雌雄各 10 匹についても剖検した。子宮及び卵巣は、雄と交尾したが同腹児を出産しなかった雌親動物の子宮と卵巣について着床部位数及び黄体を検査し、全ての F1 雌の卵巣について検査した。

病理組織学的検査；

対照群及び 6000 ppm 群の F0 及び F1 親動物のすべてを対象として以下の臓器について病理組織学的検査を行った。

舌 (F1 親動物以降)、直腸、下垂体、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膈、病変部

また精巣は 200 及び 1000 ppm 群の F1 親動物雄についても検査した。さらに交尾しなかった、あるいは交尾はしたが妊娠または出産しなかった 200 及び 1000 ppm 群の動物の繁殖臓器も組織学的に検査した。

表 1. 試験手順の概要

世代	期間 (週間)	交配/調整/選抜	観察/検査項目
F0	生育(10週)	雌雄 1 対 1 で同居交配、膈垢中の精子あるいは膈栓で交尾を確認(妊娠 0 日)	一般状態、生死の観察(毎日)
	交配(3週)		体重・摂餌量：交配前毎週 交配状況の観察
	妊娠(3週)		体重：妊娠 0、7、14、20 日に測定 摂餌量：妊娠 0~7、7~14、14~20 日に測定
	出産-----		出産状況の観察
	哺育(3週)		同腹児数調整(生後 4 日、原則として雌雄各 4 匹)
F1	離乳-----	継代用各群雌雄各 25 匹ずつ各腹から(できる限り)雌雄各 1 匹を無作為に選抜	F1 世代離乳後 F0 世代母動物を剖検、組織検査 死亡及び哺育 4 日目の屠殺児、F1 世代選抜後の各群雌雄各 10 匹の離乳児：外表異常、頸部、胸部及び腹部内臓異常の肉眼的検査
	生育(10週)		母動物の対照群と最高用量 6000 ppm 群について剖検し病理組織学的検査、精巣は全群について組織検査 離乳児は非継代動物から各群雌雄各 10 匹を選抜し剖検、残りは屠殺/廃棄
	交配(3週) (F1:1 回目)		(F0 世代に準ずる)
	妊娠(3週)		(F0 世代に準ずる)
	出産 哺育(3週)		
F2a	離乳-----	(F0 世代に準ずる)	離乳児は各群雌雄各 10 匹を選抜し肉眼的検査、残りは屠殺/廃棄
	交配(3週) (F1:回目)		(F0 世代に準ずる)
	妊娠(3週)		(F0 世代に準ずる)
出産 哺育(3週)			
F2b	離乳-----	(F0 世代に準ずる)	F1 世代母動物の対照群と最高用量群について剖検、子宮検査、病理組織学的検査、精巣は全群について検査 離乳児は各群雌雄各 10 匹を選抜し肉眼的検査、残りは屠殺/廃棄

結 果： 概要を表 2～5 にまとめた。

親動物

死亡及び一般状態；

F0 世代の 1000 ppm 群雄 2 例（試験 11 及び 17 週に各 1 例）、F1 世代の 6000 ppm 群雄 1 例（F2a 段階の試験 8 週）及び 1000 ppm 群雄 1 例（F2b 段階の試験 8 週）を瀕死状態で屠殺した。これらの動物には痩せ、努力呼吸、円背位、自発運動の低下、肛門生殖器周囲の被毛の赤色汚染、眼の周囲に乾燥褐色物質、鼻領域の腫大及び不整交合、潰瘍あるいは痂皮が観察された。これら瀕死状態で屠殺したいずれの個体にも投与との関連性は考えられなかった。

投与に唯一関連があると考えられる症状である肛門開口部周囲皮膚の赤色及び腫大が、6000 ppm 群で両世代の雌雄親動物に認められた。この症状は F0 親動物では最初に試験 10 週に発現し、雄 25 例中 7 例と雌 25 例全例に認められた。F1 親動物では F2a 段階の試験 5 週から発現し、雄 25 例中 21 例と雌 25 例全例に認められた。

その他の臨床症状は低頻度あるいは対照群で観察された所見と同程度であり、投与との関連性は考えられなかった。

体 重；

6000 ppm 群 F0 雄の平均体重は試験開始 6～9 週で、また F0 雄 1000 ppm の平均体重は試験開始 4～9 週及び 11 週で対照群を有意に下回り、これら 2 群の雄の平均体重は F0 世代の残りの期間中も有意差は無いものの対照群を下回っていた。

1000 ppm 群 F0 雌の平均体重は妊娠 7 及び 14 日、哺育 0 及び 21 日に対照群より有意に高かったが、6000 ppm 群 F0 では同様の現象は認められておらず、検体投与との関連性は考えられなかった。

F1 雌雄はいずれの群も検体投与との関連性が考えられる影響は認められなかった。

体重増加量；

F0 雄の 1000 ppm 及び 6000 ppm 群の平均累積体重増加量は生育期間中対照群より著しく低く、1000 ppm 群では試験 3～9 週にかけて、6000 ppm 群では試験 3～14 週にかけて有意に低かった。F0 雌の累積体重増加量は 1000 ppm 群及び 6000 ppm 群で F1 哺育 14～21 日に体重が有意に減少したが、6000 ppm 群の F1 哺育期間中（0～21 日）の体重増加量は有意に高かった。

F1 世代では F2b を得るための交配及び交配後期間中、6000 ppm 投与群の雄の累積体重増加量が対照群と比べて試験 1～3 週、5 週、6 週及び 9～11 週では有意に少なかった。

200 ppm 投与群雌の累積体重増加量は F2b を得るための段階で試験 1 週及び 2 週、6 週で対照群より有意に少なかったが、これらは 1000 ppm 投与群で認められない変化であるため、検体と関連性のある影響とは考えられなかった。F1 雌の 6000 ppm 群は F2a 哺育 14～21 日の期間中、累積体重増加量が対照群より有意に高かった。また同 6000 ppm 群の F2b 哺育 14～21 日の間、平均体重の減少が対照群の半分で

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。

あったが有意差は認められなかった。

以上のように F0 あるいは F1 世代の親動物について、体重及び累積体重増加量は F0 世代の 6000 及び 1000 ppm 群の雄で低かった。

摂餌量；

F0 世代の雄では 200 ppm 群で試験 0～1 週と 3～4 週、1000 ppm 群の試験 3～4 週に摂餌量が対照群より有意に低かったが、6000 ppm 群では同様の変化が認められないため、検体投与との関連性は考えられなかった。F0 世代の雌では 6000 ppm 群の平均摂餌量が、F1 妊娠期間の妊娠 14～20 日及び F1 哺育 14～17 日に対照群より有意に高かったが、これらは孤立して発生しており検体投与投与との関連性は考えられなかった。

F1 世代の雄では 200 ppm 群で試験 0～1 週の平均摂餌量が有意に少なかったが、高濃度の 2 群では同様の変化が認められず、投与との関連性があるとは考えられなかった。F1 世代の雌は 6000 ppm 群で F2b 段階の妊娠 0～7 日及び 7～14 日の期間は平均摂餌量が対照群より有意に少なかったが、検体投与と関連があるとは考えられなかった。

検体摂取量；

試験期間中の検体平均摂取量は(mg/kg/日)は、以下に示すとおりであった。

検体摂取量(mg/kg/日)

投与量 (ppm)	雄						雌					
	F0 世代			F1 世代			F0 世代			F1 世代		
	200	1000	6000	200	1000	6000	200	1000	6000	200	1000	6000
交配前 (10 週)	(11.89)	(61.39)	(370.00)	(12.17)	(62.00)	(376.09)	(14.31)	(74.44)	(443.13)	(14.11)	(70.98)	(440.10)
妊娠期間 (F1, F2a)							(11.71)	(60.04)	(377.41)	(11.27)	(57.82)	(379.37)
哺育期間 (F1, F2a)	(8.55)	(40.63)	(258.16)	(8.72)	(38.47)	(264.47)	(26.90)	(130.02)	(862.67)	(27.56)	(136.08)	(879.82)
妊娠期間 (F2b)	/	/	/				/	/	/	(11.56)	(48.88)	(321.25)
哺育期間 (F2b)	/	/	/	(7.41)	(37.59)	(238.78)	/	/	/	(25.09)	(124.25)	(669.71)
平均検体 摂取量 (mg/kg)	(10.23)	(51.02)	(314.08)	(9.43)	(46.02)	(293.11)	(17.64)	(88.17)	(561.07)	(17.92)	(87.60)	(538.05)

表中括弧内はカスガマイシン遊離塩基としての値。

注)「交配前」については試験実施機関による。それ以外の値は申請者にて算出した。

繁殖能力；

投与群 F0 雌雄の繁殖能あるいは受胎率及び平均同居日数は対照群と比較して有意差は認められなかった。

F2a 及び F2b を得るために交配した F1 親動物において、いずれの検体群においても交尾を認めた雌数あるいは交尾率に対照群との間に差が認められず、検体投与による雌雄の繁殖能への影響は認められなかった。しかし、受胎率には 6000 ppm 群で悪影響がみられた。

6000 ppm 群の F2b を得るための交配の平均同居日数は対照群より有意に延長し、性的衝動に及ぼす検体の影響の可能性が示唆された。

交配パターンは妊娠率に及ぼす影響が雄にあり、雌にはなかったことを示している（即ち、授精が確認された雄と同居させた 1 回目の交配で不妊の雌は通常同腹児を出産した。これに対して、授精が確認されていない雄と同居させた 1 回目の交配で妊娠した雌は妊娠しなかった）。

なお 1000 ppm 群の F2a を得るための交配平均同居日数が対照群より有意に短かったが、この現象に毒性学的な意義は無いと考えられた。

子宮検査データ；

F2a 及び F2b を得るために 2 回交配が行われているため、着床痕の多くは重複しており、すべての着床痕を計数できたわけではない。このため着床痕数を出産児数で減じた値が、負数を示す腹も存在した。このように着床痕数を出産児数で減じた値は不確実なものであるが、この値に対照群と検体群との間で明らかな差は認められておらず、胚生存性に及ぼす検体投与の悪影響は無いものと判断された。

肉眼的所見；

肉眼的に、6000 ppm 群雌雄では F0 及び F1 親動物の直腸は肛門との境界部で高頻度の赤色域及び壁肥厚がみられた。また、この群の雄では、体液を含む精巣がみられた。その他の所見にはすべて対照群と投与群間に顕著な差は認められなかった。

病理組織学的検査；

6000 ppm 群では F0 及び F1 親動物で直腸—肛門境界部で直腸粘膜の潰瘍を生じ、その隣接部及び粘膜下に慢性活性炎症を伴っていた。また、F1 雄では、この群で精巣の両側変性及び精細管胚上皮消失が発生し、精細管萎縮及び一部間質の浮腫がみられた。その他の所見にはすべて対照群と投与群間に顕著な差は認められなかった。

児動物

F1、F2a あるいは F2b 同腹児に関して、出産率、生存率あるいは離乳率ならびに性比（雄の比率）に有意差は認められなかった。

6000 ppm 群の F1 雌児動物の哺育 21 日の共変量調整した平均体重は対照群と比較して有意に低かった。しかし、有意差がこの世代の雄児動物及び次世代の雌雄児動物（F2a あるいは F2b）にも認められなかったため、この差が投与に関連があるか不明確である。

すべての世代あるいは交配から、淘汰した児動物あるいは死亡して発見された児動物の肉眼的検査で投与に関連のある所見は認められなかった。

以上の結果より、本剤を2世代にわたって混餌投与したとき、1000 ppm以上投与群の雄親動物の体重または体重増加が低い傾向にあった。さらに、6000 ppm群のF0及びF1世代の雄雌親動物において直腸-肛門境界部で直腸粘膜の潰瘍を生じ、その潰瘍隣接部粘膜及び粘膜下に慢性活動性炎症 (chronic-active inflammation) を伴っていた。また、6000 ppm群のF1世代の雄親動物では精巣で精細管に両側変性及び胚上皮の消失を生じ、結果として精細管萎縮及び一部間質の浮腫 (some intertubular edema) を生じた。繁殖能に関しては、6000 ppm群のF1世代の雄親動物に起因する受胎率の低下が認められた。児動物に対しては、6000 ppm群においても検体投与の影響は認められなかった。

親動物に対する無毒性量 (NOEL) は雄 200 ppm (カスガマイシン-塩酸塩として、F0 : mg/kg 体重/日、F1 : mg/kg 体重/日)、雌 1000 ppm (カスガマイシン-塩酸塩として、F0 : mg/kg 体重/日、F1 : mg/kg 体重/日) であった。繁殖能及び妊娠指標に対する無影響量 (NOEL) は 1000 ppm (カスガマイシン-塩酸塩として、雄 : F0 ; mg/kg 体重/日、F1 ; mg/kg 体重/日、雌 : F0 ; mg/kg 体重/日、F1 ; mg/kg 体重/日) であった。児動物の生存率及び生育に対する無毒性量 (NOEL) は 6000 ppm (カスガマイシン-塩酸塩として、雄 : F0 ; mg/kg 体重/日、F1 ; mg/kg 体重/日、雌 : F0 ; mg/kg 体重/日、F1 ; mg/kg 体重/日) であった。

申請者注 : カスガマイシン (遊離塩基) としての換算値

親動物に対する無毒性量 (NOEL)

雄 F0 : 10.23 mg/kg 体重/日、F1 : 9.43 mg/kg 体重/日

雌 F0 : 88.17 mg/kg 体重/日、F1 : 87.6 mg/kg 体重/日

繁殖能及び妊娠指標に対する無影響量 (NOEL)

雄 F0 ; 51.02 mg/kg 体重/日、F1 ; 46.02 mg/kg 体重/日

雌 F0 ; 88.17 mg/kg 体重/日、F1 ; 87.6 mg/kg 体重/日

児動物の生存率及び生育に対する無毒性量 (NOEL)

雄 F0 ; 314.08 mg/kg 体重/日、F1 ; 293.11 mg/kg 体重/日

雌 F0 ; 561.07 mg/kg 体重/日、F1 ; 538.05 mg/kg 体重/日

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。

表 2. 親世代の一般症状、体重、摂餌量及び検体摂取量 (F1 のみ 2 回交配)

世代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2a, F2b			
投与量 (ppm)		0	200	1000	6000	0	200	1000	6000
供試動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25
一般状態	肛門開口部周囲皮膚の赤色及び腫大								
	雄/雌	0/-	0/-	0/-	7/25	0/0	0/0	0/0	21/25
死亡数 ¹⁾	雄 a/b	0/-	0/-	2/-	0/-	0/0	0/0	0/1	1/0
	雌 a/b	0/-	0/-	0/-	0/-	0/0	0/0	0/0	0/0
体重	雄 :			↓4-9 週 ↓11 週	↓6-9 週				
	雌 :			↑妊娠 7-14 日					
体重増加量	雄 :			↓3-9 週	↓3-14 週				↓F2b 1-3, 5, 6, 9-11 週
	雌 :			↓哺育 14-21 日	↓哺育 14-21 日 ↑哺育 0-21 日		↓F2b 1, 2, 6 週		↑F2a 哺育 14-21 日
摂餌量	雄 :		↓0-1 週 ↓3-4 週	↓3-4 週			↓0-1 週		
	雌 :				↑妊娠 14-20 日 ↑哺育 14-17 日				↓F2b 0-7, 7-14 日

a/b : 第 1 産児 / 第 2 産児を示す。

統計学的方法 ; 一元配置 ANOVA ↑↓ P ≤ 0.05, ↑ ↓ P ≤ 0.01

統計学的有意差の見られた場合のみ記した。

1 : 死亡例はいずれも切迫屠殺

- : 該当なし

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

表 3. 繁殖能への影響 (F1 のみ 2 回交配)

世代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2a, F2b			
投与量 (ppm)		0	200	1000	6000	0	200	1000	6000
交配に用いた動物数	雄	25	25	25	25	25	25	25	25
	雌	25	25	25	25	25	25	25	25
交尾した雌数	a	24	25	24	25	23	24	25	25
	b	-	-	-	-	22	24	24	23
妊娠した雌数	a	23	22	23	22	22	22	24	16
	b	-	-	-	-	22	22	24	9
受胎率 (%)	a	96	88	96	88	88	88	96	↓64
	b	-	-	-	-	88	88	96	↓36
妊娠率 (%)	a	92	88	92	88	96	92	96	↓64
	b	-	-	-	-	100	92	100	↓39
雌を妊娠させた雄数	a	23	22	23	22	22	22	24	16
	b	-	-	-	-	22	22	24	9
授精率 (%)	a	92	88	92	88	88	88	96	67
	b	-	-	-	-	88	88	96	↓38
出産雌数	a	23	22	23	22	22	22	24	14
	b	-	-	-	-	22	22	24	9
生存児出産腹数	a	23	22	23	22	22	22	24	14
	b	-	-	-	-	22	22	24	9
死産児出産腹数	a	3	2	3	3	5	3	5	3
	b	-	-	-	-	6	3	2	1
生存児のいない腹数	a	0	0	0	0	0	0	0	0
	b	-	-	-	-	0	0	0	0
未出産雌	a	0	0	0	0	0	0	0	2
	b	-	-	-	-	0	0	0	0
出産率 (%)	a	100	100	100	100	100	100	100	88
	b	-	-	-	-	100	100	100	100
同居日数	a	3.09	2.83	3.59	2.75	3.74	4.26	↓2.04	2.92
	b	-	-	-	-	2.23	2.68	2.87	↑5.73
妊娠期間 (日)	a	22	22	21.9	21.9	22	21.9	21.9	21.9
	b	-	-	-	-	22.2	21.9	22.2	22.5
妊娠 0 日の雌の週齢	a	23	24	22	24	23	23	24	25
	b	-	-	-	-	22	22	23	22

a : 第 1 産児 b : 第 2 産児

統計学的方法 : 繁殖指標 ; Cochran-Armitage 検定及び Fisher-Irwin 確率検定

↑↓ P ≤ 0.05、◆◆ P ≤ 0.01

- : 該当なし

表 4. 子宮検査、肉眼的及び組織学的検査

世代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2a、F2b					
投与量 (ppm)		0	200	1000	6000	0	200	1000	6000		
子宮検査	検査腹数 ¹⁾		-	-	-	-	10	12	11	14	
	着床痕数 ²⁾ (腹あたり)		-	-	-	-	27.3	25.6	26.3	15.6	
	出産児数 ³⁾ (腹あたり)		-	-	-	-	25.1	25.0	25.0	14.6	
	着床痕数から出産児数を減じた値 ⁴⁾ (腹あたり)		-	-	-	-	2.2	0.6	1.3	1.0	
肉眼的所見	不整交合		雄	0	0	3	2	1	6	2	5
			雌	1	1	1	4	2	6	1	2
	直腸	赤色域	雄	0	0	0	20	0	0	0	20
			雌	0	0	0	25	0	0	0	25
		壁肥厚	雄	0	0	0	0	0	0	0	11
			雌	0	0	0	0	0	0	0	25
	精巣	小型	雄	1	1	0	3	0	0	0	9
		体液貯留	雄	0	0	0	0	0	0	1	16
組織学的所見	直腸	慢性活性炎症 (chronic-active inflammation)	雄	0	0	0	25	0	0	0	24
			雌	0	0	0	24	0	0	0	25
		潰瘍	雄	0	0	0	25	0	0	0	24
			雌	0	0	0	22	0	0	0	23
	精巣	両側萎縮/変性	雄	1	1	0	1	0	0	0	15

- 1: 着床痕数から出産児数を減じた値が負数になった腹は除外した
 - 2: 2回の交配を行っているため、着床痕の多くが重複しており、すべては計数できていない
 - 3: 2回の出産児数の合計
 - 4: この値は、着床痕数が正確に計数されていないため不確実なものではあるが、着床後胚損失を表す目安となる
- : 該当なし

表 5. 児動物に関する成績 (F1 のみ 2 回交配)

世代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2a, F2b					
投与量 (ppm)		0	200	1000	6000	0	200	1000	6000		
供試 動物数	雄	a	25	25	25	25	25	25	25		
		b	-	-	-	-	25	25	24		
	雌	a, b	-	-	-	-	25	25	25		
生後 0 日	出産児総数	a	333	314	324	307	307	319	343	207	
		b	-	-	-	-	345	337	369	132	
	出産児数(腹あたり)	a	14.48	14.27	14.09	13.95	13.95	14.5	14.29	14.79	
		b	-	-	-	-	15.68	15.32	15.38	14.67	
	生存児総数	a	330	309	321	302	301	307	338	204	
		b	-	-	-	-	338	332	366	131	
	生存児数(腹あたり)	a	14.35	14.05	13.96	13.73	13.68	13.95	14.08	14.57	
		b	-	-	-	-	15.36	15.09	15.25	14.56	
	死産児数+不明確	a	3	5	3	5	6	12	5	3	
		b	-	-	-	-	7	5	3	1	
	生存率	生後 0 日	a	99	98	99	98	98	97	99	99
			b	-	-	-	-	98	98	99	99
生後 4 日(淘汰前)		a	99	98	99	98	99	98	94	99	
		b	-	-	-	-	98	98	96	99	
生後 21 日(離乳率)		a	100	100	100	100	97	100	100	100	
		b	-	-	-	-	95	98	95	100	
性比 (雄の%)	生後 0 日	a	51	54	51	50	55	56	48	49	
		b	-	-	-	-	51	47	52	60	
	生後 21 日	a	51	51	49	51	50	50	49	50	
		b	-	-	-	-	48	52	50	50	
体重(g)	生後 0 日	a 雄	6.41	6.45	6.26	6.39	6.31	6.38	6.29	6.29	
		a 雌	6.10	6.17	6.04	6.07	5.98	5.98	5.96	5.94	
		b 雄	-	-	-	-	6.51	6.38	6.55	6.61	
		b 雌	-	-	-	-	6.12	6.05	6.20	6.30	
	生後 21 日	a 雄	55.95	58.64	55.89	54.04	57.74	60.15	59.20	54.90	
		a 雌	54.37	56.72	54.52	51.19	55.27	56.76	56.48	52.93	
		b 雄	-	-	-	-	59.65	59.40	60.97	58.59	
		b 雌	-	-	-	-	55.90	56.10	56.70	54.53	
肉眼的所見		すべての児動物で特記すべき異常なし									

a : 第 1 産児 b : 第 2 産児

統計学的方法 : 繁殖指標 ; Cochran-Armitage 検定及び Fisher-Irwin 確率検定

児体重 ; 共分散一元配置分散分析 (腹あたり児数を用いた)

↑↓ P ≤ 0.05, ▲▼ P ≤ 0.01

- : 該当なし

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

② ラットにおける催奇形性試験

(資料 毒性-22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度: カスガマイシン一塩酸塩 (遊離塩基として) %

供試動物: Crj:CD (SD) 妊娠ラット (13 週齢)、一群雌 24 匹

投与期間: 妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間 (1990 年 7 月 23 日~8 月 5 日)

投与方法: 検体を純水に溶解し、0、40、200 及び 1000 mg/kg の投与用量で妊娠後 6 日目から 15 日目までの 10 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。対照群に純水を同様に投与した。

なお、検体投与液調製の際、検体は純度補正を行いカスガマイシン (遊離塩基) としての濃度に調製した。

妊娠は、交配後膣栓及び膣垢中の精子の有無を調べ、いずれかを認めた場合に交尾したものと判定し、その日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠;

観察・検査項目:

親動物;

一般状態及び生死を毎日少なくとも 1 回観察し、投与期間中は投与前と投与後に状態を観察した。

体重は妊娠 0 日、投与期間中の 6~15 日までの毎日及び 20 日に測定した。これらの測定値より妊娠 0 日における体重を減じて体重増加量を求めた。また妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じた体重を補正体重として表した。

飼料摂取量を妊娠 0~6 日、6~9 日、9~12 日、12~15 日及び 15~20 日の各期間について測定した。

妊娠 20 日目に帝王切開し、黄体数、子宮重量、着床数、胎児及び胚の生存及び死亡・吸収数を検査した。

生存胎児；

体重及び胎盤重量を測定し、性別、外表奇形の有無を検査した。

各同腹児群の約半数の胎児については Stuckhardt と Poppe の未固定内臓検査法に従い内臓異常の有無を調べ、母動物の卵巣及び内臓検査後の胎児と胎盤を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定保存した。残りの胎児については 70% エタノールで固定した後、アリザリンレッド S で染色して透明骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果： 概要を次頁の表に示した。

親動物の 1000 mg/kg 群では、一般状態において投与期間中軟便の出現頻度に有意な増加がみられた。体重及び体重増加量は投与第 3 日（妊娠 8 日）から帝王切開時まで対照群より有意に低かった。また摂餌量も投与期間を通して有意な低下がみられ、さらに剖検所見では盲腸の膨満の出現頻度が有意に高かった。200 mg/kg 群では投与期間中の前半で摂餌量の有意な低下がみられた。

帝王切開時の検査では、1000 mg/kg 群では胎盤重量に有意な低下がみられたがこの変化の毒性学的意味は不明であり、その他の検査項目については検体投与によると思われる変化はみられなかった。

生存胎児の奇形学的検査では、200 mg/kg 群で骨格変異を持つ胎児の総出現頻度が有意に高かったが、個々の骨格変異の出現頻度では対照群との間で有意な差が見られず、用量相関性も見られないことから偶発的変動と考えられた。また 1000 mg/kg 群の第 13 肋骨の短縮または欠損の出現頻度 (3.9%) が対照群より有意に高かったが、試験実施機関の背景対照データの範囲内 (0.00%~4.19% : 1985 年~1990 年実施の 9 試験、対照群 1436 例の胎児データに基づく) にあり、かつ骨格変異を持つ胎児の総出現頻度に有意な増加が認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。またその他対照群を含む各群に認められた奇形は、いずれも出現頻度が低く用量相関性も無いことから、検体投与による変化とは考えられなかった。

申請者注：

奇形学的検査における所見を有する腹数について、申請者が Fisher の直接確率計算法により危険率 5% 及び 1% レベルで統計検定を行った結果、いずれの検体投与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所見は認められなかった。

以上の結果より、200 mg/kg 体重/日群以上で摂餌量の低下が認められた。さらに、1000 mg/kg 体重/日群では体重及び体重増加量の低値、軟便及び盲腸の膨満の出現頻度の増加が認められた。胎児動物に対しては最高用量の 1000 mg/kg 体重/日群でも毒性影響が認められなかった。

したがって、母動物に対する無毒性量はカスガマイシン（遊離塩基）として 40 mg/kg 体重/日であり、胎児に対する無毒性量はカスガマイシン（遊離塩基）として 1000 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

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

結果の概要

投与群 (mg/kg/日)		0	40	200	1000
1 群 当 り 動 物 数		24	24	24	24
親動物	一般状態				
	異常なし	23	24	23	16
	軟便	0	0	0	7↑
	皮下腫瘍	0	0	1	0
	膺からの赤色排泄物	0	0	0	2
	脱毛	1	0	0	0
	死亡数 (率)	0	0	0	0
	体重 (g)				
	妊娠 0日	266	266	266	266
	6日	299	296	299	298
	9日	309	307	306	295↓
	12日	320	319	318	303↓
	15日	340	338	336	317↓
	20日	414	410	411	390↓
	飼料摂取量 (g/日)				
0~6日	22	21	22	22	
6~9日	23	23	21↓	14↓	
9~12日	23	24	23	19↓	
12~15日	24	24	23	20↓	
15~20日	25	25	26	26↑	
妊娠数	24	24	24	24	
剖検所見	外観				
	削瘦	0	0	0	1
	消化器系				
	小腸:				
	ガスによる膨満	0	0	0	1
大腸:					
盲腸の膨満	0	0	1	5↑	
外皮系					
皮膚:					
脱毛	1	0	0	0	
皮下腫瘍	0	0	1	0	
着床所見	妊娠親動物数	24	24	24	24
	黄体数*	15.7	17.0	16.7	16.8
	着床数*	15.0	15.5	16.0	15.3
	生存胎児数*	14.3	14.4	15.2	14.4
	胎児死亡率	4.7	7.3	5.1	6.3
胎盤重量 (mg)	496	469	469	437↓	

↑↓ P ≤ 0.05、↑↓ P ≤ 0.01

(臨床所見と剖検所見は Fisher の直接確率計算法、胎児死亡率は Mann-Whitney の U 検定、その他は Dunnett または Scheffe の多重比較法による)

*: 一腹あたりの数を示す。

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 群 (mg/kg/日)		0	40	200	1000
胎 児 動 物	胎児重量 (mg)				
	雄	3459	3434	3477	3318
	雌	3328	3280	3332	3192
	性 比 (雄数/生胎児数)	0.496	0.451	0.453	0.475
	外表奇形検査胎児数	343(24)	346(24)	364(24)	345(24)
	小眼球症	0(0)	0(0)	2(2)	0(0)
	臍帯ヘルニア	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)
	総出現頻度	2(1)	0(0)	2(2)	0(0)
	内臓奇形検査胎児数	165(24)	167(24)	178(24)	166(24)
	血管輪	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
	総出現頻度	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
	内臓変異検査胎児数	165(24)	167(24)	178(24)	166(24)
	胸腺の頸部残留	12(7)	10(6)	8(7)	16(10)
	腎盂または尿管の拡張	4(3)	5(2)	1(1)	0(0)
	左側臍動脈	0(0)	1(1)	2(2)	2(2)
	総出現頻度	16(10)	16(8)	11(10)	18(11)
	骨格奇形検査胎児数	178(24)	179(24)	186(24)	179(24)
	胸椎椎体化骨核の分離	3(3)	2(2)	2(1)	1(1)
	胸椎椎体化骨核の欠損	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
胸椎椎体化骨核の片側性骨化	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
胸椎椎弓の癒合	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
胸椎椎弓の減形成	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	
肋骨の癒合または分岐	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
総出現頻度	3(3)	2(2)	2(1)	2(2)	
骨格変異検査胎児数	178(24)	179(24)	186(24)	179(24)	
胸骨分節の分離または非対称	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	
頸肋	1(1)	5(2)	3(2)	1(1)	
第13肋骨の短縮または欠損	0(0)	3(1)	4(1)	7 [▲] (4)	
腰肋	1(1)	2(2)	3(3)	1(1)	
仙椎前椎骨数 25 個	1(1)	1(1)	4(2)	5(3)	
総出現頻度	4(3)	10(5)	14 [†] (7)	10(7)	

Fisher の直接確率計算法 : †† P ≤ 0.05、[▲]_▼ P ≤ 0.01 (腹数については申請者が同じ統計検定を行った)
 () 内の数値 : 腹数を示す

③ ウサギにおける催奇形性試験

(資料 毒性-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度：カスガマイシン一塩酸塩（遊離塩基として） %

供試動物：New Zealand White 系ウサギ（約 21～27 週齢）、体重 3.53～4.39 kg
一群雌 15 匹（ただし、最高用量群は 16 匹）

投与期間：投与期間は器官形成期（妊娠 6～19 日）の 14 日間
（1985 年 7 月 22 日～9 月 3 日）

投与方法：動物の入荷時に、黄体ホルモン（Pregnyl）25 i. u. 単位を静注し、発情周期を同期化させた雌ウサギを人工授精させ、授精後さらに黄体ホルモン 25 i. u. 単位を静注した。人工授精日を妊娠 0 日とした。

検体は蒸留水に溶解し、1、3 及び 10 mg/kg の投与用量で妊娠 6 日から 19 日まで 14 日間毎日 1 回強制経口投与した。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。投与液は毎日調製した。

なお、検体投与液調製の際、検体は純度補正を行いカスガマイシン（遊離塩基）としての濃度に調製した。

用量設定根拠：

試験項目：

母動物：

一般症状及び生死を毎日観察した。

体重は毎日測定し、妊娠 6、8、10、12、14、16、18、20、24 及び 28 日につき統計学的評価を行った。摂餌量は妊娠 1～5 日、6～12 日、13～19 日、20～23 日、24～28 日の時期の間に測定し、1 日当りの平均摂取量（g/rabbit/日）を算出した。

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

妊娠 29 日に屠殺し、肉眼的病理検査を行い、卵巣と子宮を調べ、黄体数、着床数、初期と後期死胚数、生存胎児数と死亡胎児数及び子宮内配置を検査し、胎盤の外表異常を観察し、重量を測定した。明らかに不妊の動物は Salewski, E の染色技法を用いて着床痕の存在を調べた。なお、切迫屠殺及び死亡動物は肉眼的病理検査を行い、流産した動物はそれが認められた日に屠殺し、肉眼的病理検査を行うとともに黄体数と着床痕数を調べた。

生存胎児；

全生存胎児につき性別を調べ、体重を測定し、外表異常の観察を行い、安楽死させた後胸腹部腔を切開して内臓検査した。各腹の 1/3 の胎児についてはブアン液に固定し、フリーハンド連続切片による頭部の検査を行った。

胎児の胴体部と残りの胎児は内臓を摘出し、メチル化エチルアルコールに固定して、Tesh, J. M. によるドーソン・アリザリン染色技法の変法（1968 年）を用いて骨格異常について検査を行った。

なお胎児の所見についての統計処理は、試験実施機関により行われていなかったため、申請者が実施し追記した。

結 果：

母 動 物；

結果について概要を表に記した。

10 mg/kg 投与群で摂餌量と排便量の軽度減少がみられ、1 匹が妊娠 7 日目（投与 2 日目）に死亡したが、検体投与に関する所見は認められなかった。

また、投与の始めに一時的な軽度の体重減少を示したが、その後は回復し、体重増加量は対照群と同程度かもしくはわずかに大きかった。摂餌量は投与期間の前半に軽度の減少を示した。

1 及び 3 mg/kg 投与群では体重変化及び摂餌量とも検体投与による影響は認められなかった。

投与群の死亡例及び生存例とも剖検で検体投与に関係すると考えられる肉眼的変化は観察されなかった。

また 3 mg/kg 投与群の 1 匹は妊娠 19 日目（投与 14 日目）に偶発的な気管への送管のため切迫屠殺した。1 及び 10 mg/kg 投与群の各 2 匹ずつの動物が妊娠 20～23 日の間に流産した。各々の場合、それに先行して体重減少がみられ、剖検所見は摂餌量の減少と一致していた。即ち、胃腸管内容物の減少と盲腸に液体内容物がみられた。さらに 10 mg/kg 投与群の 1 匹には呼吸器の疾病があった。また最終剖検で 10 mg/kg 投与群の 1 匹に胎児の全死亡がみられた。

着床所見について、投与群には検体投与による影響は認められなかった。

以上の様に、母動物では 10 mg/kg 投与群に体重と摂餌量及び排便量の減少が認められたが、それ以外の検査項目については検体投与による影響は認められず、統計学的有意差も認められなかった。

胎児動物；

胎児の剖検時の検査、頭部の連続切片による検査、及び骨格標本の検査結果について、対照群との間に有意差が認められた所見を表に記した。ただし各所見の認められた「腹数」については、いずれも統計学的有意差は認められなかった。

剖検所見により、胎盤の退色と緑色の羊膜嚢が共に 1 mg/kg 投与群に 7.2% の割合で 1 腹に認められ有意に増加した。しかしながら、胎盤の退色は試験実施機関の背景データ範囲内であり（背景データ：0.0～16.3%）、また緑色の羊膜嚢も背景データの範囲をわずかに超える頻度であった（背景データ：0.0～6.6%）。さらに、両所見ともに 3 及び 10 mg/kg 投与群では認められておらず、投与用量との相関性が無いため、検体投与に関連する所見とは考えられなかった。

頭部の連続切片による検査により、1 個所以上の領域における結晶性沈着物が 1 mg/kg 投与群において対照群よりも多く、有意差が認められた。しかしこの所見は検体投与量との相関性が無いため、検体投与に関連する所見とは考えられなかった。

頭部骨格検査により、小さい前泉門の出現率が 1 mg/kg 投与群と 10 mg/kg 投与群で対照群よりも有意に減少し、また中等度の大きさの前泉門の出現率が 1 mg/kg 投与群と 10 mg/kg 投与群で有意に増加した。しかし前者は試験実施機関の背景データの範囲内であり（背景データ：4.4～57.8%）、対照群の値が大きかったため

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。

に有意差がついたと考えられ、また後者も 1 mg/kg 及び 10mg/kg 投与群ともに背景データの範囲内にあり（背景データ：38.5～93.8%）、さらに、いずれの所見にも投与量との相関性が無いため、検体投与との関連性は無いと考えられた。

胸郭と脊柱の骨格検査により、肋骨数が 12/12 である胎児数が 10 mg/kg 投与群で有意に減少し、一方肋骨数 13/13 である胎児数が同じく 10 mg/kg 投与群で有意に増加した。また前仙椎骨が 26 である胎児数が 3 mg/kg 投与群と 10 mg/kg 投与群で有意に減少し、前仙椎骨が 27 である胎児数が 3 mg/kg 投与群と 10 mg/kg 投与群で有意に増加した。しかしこれらの変化はいずれも明確な用量相関性が無く、かつ試験実施機関の背景データ範囲内である事から、検体投与に関連するものでは無いと考えられた。

四肢及び胸部と骨盤周囲の骨格検査により、中手骨及び/または指骨の化骨不全が 10 mg/kg 投与群で有意に増加していたが、明確な用量相関性が無く試験実施機関の背景データ範囲内である事から、検体投与には関連しないと考えられた。また恥骨の化骨不全または欠損が 1 mg/kg 投与群と 10 mg/kg 投与群において有意に増加していたが数値に用量相関性が認められず、検体投与には関連しないと考えられた。

以上の結果より、最高用量の 10 mg/kg 体重/日*においても検体投与の影響は認められなかった。

したがって、母動物における無毒性量（NOEL）はカスガマイシン（遊離塩基）として 10 mg/kg 体重/日と判断された。また、催奇形性は認められなかった。

*：申請者注：

試験報告書では、最高用量の 10 mg/kg/日群において体重の減少傾向及び摂餌量の減少傾向が認められたため、無影響量（NOEL）を 3 mg/kg 体重/日と結論づけている。しかしながら、10 mg/kg 体重/日群の体重及び摂餌量の変化は極く軽微であり統計学的な有意差も認められないことから、上述の結論に記載したとおり 10 mg/kg 体重/日を無毒性量と判断した。

ラットの催奇形性試験に比較してウサギでは低用量域での試験となっているが、抗菌剤に対してウサギは感受性の高い動物種であることが一般に知られており、本剤においてもこの動物種間差があらわれたものと考えられる。

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

投与群 (mg/kg/日)		背景データ ^{a)} 平均値 [範囲]	対照	1	3	10	
1 群当り動物数		—	15	15 ^{a)}	15	16	
母動物	一般状態	—	異常なし			排便の軽度減少	
	死亡数	—	0	0	1 (偶発事故で 切迫屠殺)	1	
	体重変化	—				投与期間の初期に軽度減少、後回復	
	全期間の体重増加量 (g)	—	380	380	490	540	
	摂取量	—	異常なし			投与期間の前半に極くわずかに減少	
	妊娠数	—	14	14	14	15	
	流産数	—	0	2	0	2	
	胎児全死亡の母動物数	—	0	0	0	1	
	妊娠 29 日生胎児保有母動物数	—	14	12	13	11	
	剖検所見	—	死亡例、生存例とも検体投与に関係すると考えられる異常な所見は認められなかった。				
	着床所見 (1 腹当り)	黄体数	11.1 [9.3~13.5]	11.2	10.9	10.5	11.4
		着床数	9.0 [6.5~11.0]	8.8	9.3	7.8	9.7
		着床前死亡率 (%)	18.8 [4.7~35.7]	21.7	14.5	25.5	14.4
		着床後死亡率 (%)	10.5 [1.0~20.5]	15.4	13.4	9.8	19.6
初期吸収胚数		0.4 [0.0~1.0]	0.6	0.6	0.4	0.9	
後期吸収胚数		0.6 [0.0~1.4]	0.7	0.7	0.4	1.0	
流産と胎児全死亡率 (%)		4.9 [0.0~33.3]	0	14.3	0	21.4	
生胎児数		8.0 [5.5~9.8]	7.4	8.1	7.1	7.8	
胎盤重量 (g)		5.9 [5.0~7.2]	5.6	5.8	6.3	5.7	
胎児動物	体重 (g)	41.5 [37.0~46.9]	39.8	39.3	41.2	38.8	
	性比 (雄/雌)	4.0 [2.3~5.9] /4.0 [2.5~5.5] (1.00)	3.6/3.6 ^{b)} (1.00)	4.0/4.1 (0.98)	3.8/3.3 (1.15)	3.5/4.3 (0.81)	

a : 1 匹病気のため投与開始前に試験から除いた。

b : 剖検時性別を記録しなかった 2 匹の胎児は除外した。

c : 試験例数は 82 試験

†‡ P ≤ 0.05, †† P ≤ 0.01

体重、体重変化、胎児体重、胎盤重量、1 腹当り胎児数、摂取量；多重 t 検定または t 検定

黄体数、着床数、吸収数；マン・ホイットニーの U 検定

着床前死亡、着床後死亡；χ² 検定、フィッシャーの確立法、またはマン・ホイットニーの U 検定

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

投与群 (mg/kg/日)	背景データ 平均値 [範囲]	0	1	3	10
剖検所見 (%)					
検査胎児数(腹数)	8798 [-] ^{a)}	104(14)	97(12)	92(13)	86(11)
胎盤の退色	1.17 [0.0~16.3]	0	7.2† (1)	0	0
緑色の羊膜嚢	0.09 [0.0~6.6]	0	7.2† (1)	0	0
頭部所見 (%) (連続切片検索)					
検査胎児数(腹数)	—	33(14)	29(12)	29(13)	27(11)
頭部1ヵ所以上の結晶性沈着物	—	24.2(6)	51.7† (10)	34.5(7)	22.2(4)
骨格所見 (%)					
<u>頭部</u>					
検査胎児数(腹数)	8407 [-] ^{b)}	71(14)	68(12)	63(13)	59(11)
前泉門の大きさ-小	23.39 [4.4~57.3]	47.9(11)	23.5♣ (9)	50.8 (12)	28.8♠ (7)
前泉門の大きさ-中	72.84 [38.5~93.8]	52.1(13)	75.0♣ (12)	49.2(11)	71.2† (10)
<u>胸郭と脊柱 :</u>					
検査胎児数(腹数)	8655 [-] ^{b)}	104(14)	97(12)	92(13)	86(11)
肋骨数-12/12	51.82 [20.6~81.0]	60.6 (14)	50.5 (11)	47.8 (11)	43.0♠ (11)
肋骨数-13/13	35.91 [11.9~61.0]	26.9(12)	38.1(10)	37.0(11)	43.0† (10)
前仙椎骨数-26	80.80 [55.7~92.0]	80.8(14)	73.2 (12)	64.1♠ (13)	65.1♠ (11)
前仙椎骨数-27	18.12 [7.2~44.3]	19.2(9)	26.8(10)	35.9† (11)	34.9† (11)
<u>四肢、胸部と骨盤周囲 :</u>					
検査胎児数(腹数)	8655 [-] ^{b)}	104(14)	97(12)	92(13)	86(11)
中手骨及び/または指骨の化骨不全	11.91 [1.9~53.2]	11.5(7)	13.4(6)	7.6(6)	25.6† (8)
恥骨の化骨不全または欠損	0.39 [0.0~4.0]	1.0 (1)	8.2 † (2)	1.1 (1)	8.1† (3)

† P ≤ 0.05、♣ P ≤ 0.01 (χ²検定)

a : 試験例数は 87 試験

b : 試験例数は 86 試験

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。

(12) 変異原性

① 細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 毒性-24)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体の純度: カスガマイシンー塩酸塩 (遊離塩基として) %

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537) とトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で復帰突然変異原性を検定した。

検体は滅菌蒸留水に溶解し、1 回目試験では 1.5~5000 µg/プレート の範囲の 8 濃度で実施し、その結果に基づき、2 回目試験 (確認試験) では TA1537 で 15~5000 µg/プレート の範囲の 6 濃度、WP2 *uvrA* で 1.5~1500 µg/プレート の範囲の 7 濃度、その他の菌株で 5.0~1500 µg/プレート の範囲の 6 濃度で実施した。

1 回目試験は 2 連制、2 回目試験は 3 連制で行った。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体は、S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株でも最高用量 (5000 µg /プレート) を含む用量において、陽性反応は認められなかった。また、沈殿は観察されなかった。

一方、各菌株の陽性対照として用いた 2-ニトロフルオレン (2NF)、アジ化ナトリウム (SA)、9-アミノアクリジン (9AAD)、メタンスルホン酸メチル (MMS)、2-アミノアントラセン (2AA) では復帰変異コロニー数の明らかな増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は陰性であると結論された。

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。

変異原性試験の結果(1回目試験)

(表中の数値は2反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の 存在	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
対照(水)		—	100	21	49	18	9	
検体	1.5	—	93	14	53	14	7	
	5.0	—	106	21	45	17	7	
	15	—	104	22	41	18	8	
	50	—	106	21	38	16	8	
	150	—	81	22	22	13	7	
	500	—	3	5	8	0	5	
	1500	—	2	0	0	0	0	
	5000	—	0*	0*	0	0*	1	
対照(水)		+	111	12	52	22	8	
検体	1.5	+	124	13	49	24	7	
	5.0	+	117	16	44	19	9	
	15	+	107	15	27	19	7	
	50	+	106	10	30	26	8	
	150	+	106	17	24	22	11	
	500	+	10	4	21	2	6	
	1500	+	1	0	0	0	1	
	5000	+	0	0	0	0	0	
陽 性 対 照	2NF	1.0	—			153		
	SA	1.0	—	527	344			
	9AAM	75	—				282	
	MMS	1000	—			255		
	2-AA	1.0	+		73		672	75
		2	+	880				
		10	+			186		

空欄：試験せず *：生育阻害

2NF：2-ニトロフルオレン

SA：アジ化ナトリウム

9AAM：9-アミノアクリジン

MMS：メタンサルホン酸メチル

2AA：2-アミノアントラセン

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。

変異原性試験の結果(2回目試験：確認試験)

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の 存在	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
対照(水)		—	142	20	33	49	8	
検体	1.5	—			36			
	5.0	—	117	20	37	45		
	15	—	141	21	36	44	13	
	50	—	125	13	35	37	7	
	150	—	144	23	29	43	8	
	500	—	14	12	19	2	10	
	1500	—	0	1	1	3	0	
	5000	—					1	
対照(水)		+	151	13	34	35	14	
検体	1.5	+			34			
	5.0	+	159	18	34	38		
	15	+	136	16	36	35	8	
	50	+	143	22	40	41	8	
	150	+	156	15	34	34	7	
	500	+	18	6	17	4	9	
	1500	+	0	1	3	0	2	
	5000	+					0	
陽 性 対 照	2NF	1.0	—			402		
	SA	1.0	—	770	650			
	9AAD	75	—				384	
	MMS	1000	—			483		
	2-AA	1.0	+		90		872	93
		2	+	1187				
		10	+			228		

空欄：試験せず

2NF：2-ニトロフルオレン

SA：アジ化ナトリウム

9AAD：9-アミノアクリジン

MMS：メタンサルホン酸メチル

2AA：2-アミノアントラセン

② 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 毒性-25-1)

試験機関：

報告書作成年：1976 年

検体の純度：カスガマイシンー塩酸塩（遊離塩基として） %

試験方法：枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17) 及び欠損株 (M-45) を用いて、Rec-assay 法で DNA 損傷の誘起性を検定した。

検体は蒸留水に溶解し、20~2000 µg/disk の範囲の 5 濃度で実施した。試験は 2 連制で行った。

試験結果：

(表中の数値は 2 反復の測定値)

薬物	濃度	阻止域 (mm)		差
	(µg/disk)	M-45	H-17	(mm)
対照 (蒸留水)	0	0	0	0
		0	0	0
検体	20	0	0	0
		0	0	0
	100	0	0	0
		0	0	0
	200	0	0	0
		0	0	0
	1000	1.5	<1.0	—
		2.0	1.0	1.0
2000	3.0	1.5	1.5	
	2.5	1.5	1.0	
陰性対照 (カナマイシン)	10	5.0	4.5	0.5
		5.5	5.5	0
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.1	8.0	1.0	7.0
		9.0	1.0	8.0

—: 計算せず

検体では、H-17 株と M-45 株の間にほとんど生育阻止の差を認めなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両株の間に著明な阻止の差を生じ、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止を認めた。

以上の結果より検体の DNA 損傷性は認められなかった。