

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(12) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1) ラットにおける次世代繁殖性試験

(資料 A-28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度：

試験動物：CD 系ラット 体重約 6 週齢、1 群雌雄各 28 匹、

開始時体重 雄 147～233 g、雌 130～187g

投与期間：F0 世代；投与開始から F1 児離乳時までの 26 週間

F1 世代；離乳時から F2b 児離乳時までの 36 週間

(1990 年 7 月 16 日～1991 年 8 月 12 日)

投与方法：検体の 150、1000 及び 2000 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。検体混入飼料は毎週調製した。

用量設定根拠：

方法及び試験項目：

一般状態及び死亡率；全動物の一般状態及び生死を観察した。

交配の確認；交配は雌雄 1 対 1 で同居させ、腔栓及びスメアー中の精子の存在を確認し、その日を妊娠 0 日とした。

繁殖性の指標；下記の指標を算出した。

交尾所要日数＝同居開始から交尾成立まで

交尾率 (%) = (交尾動物数 / 同居動物数) × 100

受胎率 (%) = (妊娠動物数 / 交尾動物数) × 100 (妊娠させた雄数を分子とする)

繁殖率 (%) = (妊娠動物数 / 同居動物数) × 100

妊娠期間＝交尾成立から出産まで

出産率 (%) = (生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

出生率 (%) = (生後 1 日の生児数 / 生後 1 日の出生児総数) × 100

生後 4 日の生存率 (%) = (生後 4 日 (児数調整前) の生児数 / 生後 1 日の生児数) × 100

生後 4 日以後の生存率 (%) = (検査日 (児数調整後) の生児数 / 生後 4 日 (児数調整後) の生児数) × 100

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

**臓器重量**；副腎、肝臓、腎臓、精巣上体、前立腺、精囊、精巣、卵巣、子宮の重量をF0とF1の親動物について測定した。また、F2aとF2b児動物の肝臓重量を測定した。

**病理検査**；全動物の剖検を実施した。F0及びF1親動物は精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膣、下垂体及び肉眼的病変部について病理標本を作製した。病理組織学的検査を対照群と最高投与量群について実施した。さらにF0とF1親動物及びF2b児動物の全例については肝臓の病理組織学的検査を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

方法及び検査項目の概要を以下にまとめた。

世代	期間	作業手順	試験項目
F0	成育 (14週)		体重, 採餌量 (週1回)
	交配 (3週)	交配: 雌雄1対1 交尾確認: 膣栓及びスメア一中精子存在で確認 (妊娠0日)	交尾状況確認
	妊娠 (3週)		体重: 妊娠0、6、13、20日
	出産		出産状況の観察: 生存及び死亡児数、児性別、児体重
	哺育 (4週)	児数調整: 生後4日に同腹児数を雌雄各4匹に調整	母動物: 体重; 出産後1、4、7、14、21、25日 児動物: 体重; 生後1、4、7、14、21、25日
F1	離乳	継代選抜: 各腹より少なくとも雌雄1匹、計各群雌雄各28匹選抜	親動物 (F0雄): 剖検、病理組織学検査 余剰児動物: 剖検 (児数調整時、継代選抜時)
	成育 (10日間)		親動物 (F0雌): 剖検、病理組織学検査
	成育 (14週) 交配 (3週) 妊娠 (3週)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	F2a出産		(F0世代に準ずる)
	哺育 (4週)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	離乳		児動物: 剖検 (児数調整時、33日齢時)
	成育 (10日間) 二次交配*(3週) 妊娠 (3週)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
F2	F2b出産		(F0世代に準ずる)
	哺育 (4週)	(F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
	離乳		親動物 (F1雄): 剖検、病理組織学検査 児動物: 剖検 (児数調整時、33日齢時)
	成育 (10日間)		親動物 (F1雌): 剖検、病理組織学検査

\* : 1回目の交配において、150 ppm 群にのみ受胎率及び繁殖率が低かったため二次交配を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

世代	親：F0				親：F1				
	0	150	1000	2000	0	150	1000	2000	
投与群(ppm)									
動物数	雄 雌	28 28	28 28	28 28	28 28	28 28	28 28	28 28	
一般状態				背部 脱毛(雌)					
死亡数	雄雌各 1匹切 迫屠殺	雄1匹				雄1匹		雌1匹 切迫屠 殺	
体重変化(%)	雄 投与0-21週		95	91			96	94	
	雌 投与0-14週						93	93	
	妊娠0-13日		86 <sup>*</sup>	80 <sup>***</sup>				80 <sup>***</sup>	
	出産後1-25日								
摂餌量									
交配前検体摂取 量(mg/kg/day)*	雄 雌	0 0	9.85 11.5	67.0 79.3	134 156	0 0	11.1 12.5	72.6 85.6	149 175
同居4日以内交 尾率(雌, %)	a b	89 -	89 -	93 -	96 -	88 96	72 100	85 88	73 96
交尾率 (%)	a 雄 雌	96 96	96 96	96 96	100 100	93 93	89 89	96 96	93 93
	b 雄 雌	- -	- -	- -	- -	89 89	79 79	89 89	93 93
受胎率 (%)	a 雄 雌	78 78	85 81	81 81	93 93	88 88	60↓ 60↓	81 81	77 77
	b 雄 雌	- -	- -	- -	- -	92 92	91 91	84 84	65↓ 65↓
妊娠動物数	a b	21 -	22 -	22 -	26 -	23 23	15 20	22 21	20 17
繁殖率 (%)	a 雄 雌	75 75	81 79	79 79	93 93	82 82	54↓ 54↓	79 79	71 71
	b 雄 雌	- -	- -	- -	- -	82 82	71 71	75 75	61 61
出産率 (%)	a b	95 -	91 -	95 -	100 -	96 100	100 100	100 100	95 100
妊娠期間 (日)**	a b	22.7 -	22.8 -	23.0 -	22.9 -	22.8 22.6	23.1 22.9	23.2 23.0	23.0 22.8
肉眼的病理検査： 肝臓肥大(%)	雄 雌	0 0	3.7 0	3.7 0	14.3 0	0 0	0 0	0 0	17.9 0
肝臓重量：絶対	雄 雌				128△ 124△				134△ 112↑
相対	雄 雌			117△	137△ 125△			122△ 108↑	146△ 131△
病理組織学検査： 細葉周辺性 肝脂肪空胞(%)	雄 雌	7.4 0	11.1 3.6	67.9▲ 10.7	100▲ 92.9▲	25.0 0	50.0 0	96.3▲ 32.1△	100▲ 63.0▲

\*：申請者が各週の検体摂取量から平均値を算出した。

\*\*：申請者が平均値を算出した。

-：実施していない。

空欄：投与に関連した影響なし。

↑↓：p<0.05, △▽：p<0.01, ▲▼：p<0.001 (Dunnett's 検定、Behren's-Fisher's 検定、又は Fisher の確率検定)

†：p<0.05, ††：p<0.001 (Dunnett's 検定、Non parametric Dunnett's 検定；申請者による)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

世 代	児 : F1				児 : F2				
		0	150	1000	2000	0	150	1000	2000
投 与 群 (ppm)									
母 動 物 数	a	19	20	21	26	22	15	22	19
	b	—	—	—	—	23	20	20	17
新 生 児 数	a	13.8	14.1	14.0	13.4	13.5	14.1	14.7	14.2
	b	—	—	—	—	14.8	14.3	13.9	14.6
死 産 児 数	a	0.3	0.3	0.2	0.3	0.1	0	0	0.3
	b	—	—	—	—	0.2	0	0.1	0
出 生 率 (%)	a	98.1	98.2	98.6	98.3	99.7	100	100	98.1
	b	—	—	—	—	98.8	100	99.4	100
4 日 目 (調 整 前) の 性 比 雄 / 雌	a	1.18	0.93	0.89	1.05	0.93	1.16	1.03	1.16
	b	—	—	—	—	0.99	0.85	0.88	1.18
4 日 目 (調 整 前) の 生 存 率 (%)	a	96.5	95.7	96.9	97.6	96.6	96.2	90.7	97.3
	b	—	—	—	—	97.0	96.9	98.2	97.6
離 乳 時 の 生 存 率 (%)	a	100	98.7	99.4	98.5	99.4	99.2	99.4	100
	b	—	—	—	—	98.9	98.7	99.3	99.2
出 生 時 体 重 (g)	a 雄	6.8	6.9	6.8	6.8	6.8	6.9	6.9	6.5
	雌	6.5	6.6	6.6	6.4	6.4	6.5	6.5	6.0
	b 雄	—	—	—	—	6.9	6.8	6.9	6.6
	雌	—	—	—	—	6.5	6.4	6.6	6.2
4 日 目 (調 整 前) の 体 重 (g)	a 雄	9.7	9.6	9.6	9.5	10.1	10.2	9.9	8.8
	雌	9.3	9.2	9.4	9.1	9.4	9.6	9.4	8.4
	b 雄	—	—	—	—	10.3	10.3	9.9	9.2
	雌	—	—	—	—	9.8	9.8	9.5	8.7
離 乳 時 の 体 重 (g)	a 雄	90.1	87.5	85.3	77.2▼	86.1	86.7	80.9▽	71.9▼
	雌	84.1	83.2	81.1	73.3▼	80.8	78.6	76.2↓	68.1▼
	b 雄	—	—	—	—	85.0	84.5	80.8	73.3▼
	雌	—	—	—	—	80.9	80.1	74.5▽	70.4▼
一 般 状 態									
肉 眼 的 病 理 検 査 :									
肝 葉 表 面 の 暗 色 線 状 紋 (%)	a	0	0	1.0	6.6	0	0	0	29.6
	b	—	—	—	—	0	0	0.7	26.0
肝 葉 表 面 の 蒼 白 色 線 状 紋 (%)	a	0	0	0	0	0	0	0	10.7
	b	—	—	—	—	0	0	0.7	26.0
小 葉 像 明 瞭 (%)	a	0	0	0	0	0.6	1.7	22.6	73.9
	b	0	0	0	0	0	1.3	9.3	72.5
肝 臓 重 量 :									
(絶 対)	a 雄	—	—	—	—				121▲
	雌	—	—	—	—			115△	131▲
	b 雄	—	—	—	—			117▲	126▲
	雌	—	—	—	—			114△	131▲
(相 対)	a 雄	—	—	—	—		109↑	119▲	144▲
	雌	—	—	—	—		114▲	124▲	150▲
	b 雄	—	—	—	—		110↑	127▲	148▲
	雌	—	—	—	—		108↑	126▲	150▲
病 理 組 織 学 検 査 :									
細 葉 周 辺 性 肝 脂 肪 空 胞 (%)	b 雄	—	—	—	—	0	2.7	56.2	77.8
	雌	—	—	—	—	0	0	55.8	86.8
肝 葉 状 壊 死 (%)	b 雄	—	—	—	—	0	0	0	3.2
	雌	—	—	—	—	1.1	1.3	0	7.4

— : 実施していない 空欄 : 投与に関連した影響なし

↑ ↓ : p<0.05、△▽ : p<0.01、▲▼ : p<0.001 (Dunnett's test または t-検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

F0 及び F1 世代を通して検体の 0, 150, 1000, 2000 ppm を投与した結果、親動物では中、高投与群で体重増加抑制 (F0, F1)、肝臓肥大及び肝脂肪空胞形成の増加 (F0, F1) がみられた。繁殖指標である交尾率、受胎率、繁殖率、出産率については、各世代、各交配で対照群と比較して、投与によると考えられる変化はみられなかった。児動物では、中または高投与群で授乳期における体重増加抑制 (F1, F2) がみられた。また、同群では肝臓重量の増加及び肝脂肪空胞が観察された。両世代における児動物の一般状態、出生率、生存率については各投与群とも対照群と差はなかった。

F0 親動物の 150 ppm 群で投与 12 週目に雄 1 例、F1 親動物の 1000 ppm 群で投与 29 週目に雄 1 例の死亡がみられたが、それぞれ用量相関はなく、他に動物死亡が認められないことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。また、F1 親動物の 2000 ppm 群では、右子宮角内の授乳胎仔による腫脹がみられたため切迫屠殺したが、関連した他の所見がないことから、検体投与との関係を示唆するものではないと考えられた。

F1 親動物の 150 ppm 群の 1 回目交配、2000 ppm 群の 2 回目交配でそれぞれ受胎率が低かったが、これらの変化は 2 回の交配で相互に一貫性が認められなかったことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。

以上の結果から、検体の二世代にわたる飼料混入投与によるラット繁殖性試験において、繁殖に関する無毒性量は 2000 ppm (F0: 雄; 134 mg/kg/day, 雌; 156 mg/kg/day, F1: 雄; 149 mg/kg/day, 雌; 175 mg/kg/day) であると結論された。全投与群において、肝臓肥大、肝臓における脂肪空胞及び肝臓重量の増加から判断すると親動物における一般毒性に関する無毒性量を決めるには困難と考えられた。

#### [ARFD に関する追記 (2015 年 1 月)]

本試験では、有意差が見られていないものの、投与 0-21 週での雄親動物に、投与 0-14 週での F1 世代雌親動物に体重増加抑制が見られていることから、投与 0-1 週の体重変化について確認した。その結果、F0 世代雄動物 (Bartlett, Anova 検定)、F1 世代雌動物 (Bartlett, Anova, Dunnett) では投与 0-1 週の体重変化に群間で有意差は見られず、F1 世代雄動物 (Bartlett, Anova, Dunnett) は 150, 2000 ppm 群に有意差 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ) が見られた。1000 ppm 群では有意差は見られないこと、150 ppm 群の投与量では他のラットの反復投与試験で影響が見られないことから、150 ppm 群の体重増加量は投与に関連が無いと考えられた。

したがって、本試験における投与初期の体重増加抑制が見られない投与量は 1000 ppm であると考えられる。

用量 (ppm)	F1 雄
	投与 0-1 週の 体重増加量
150	91▽
1000	
2000	88▼

表の値は対照群を 100 とした場合の値    ▽:  $p < 0.05$ , ▼:  $p < 0.001$  (Bartlett, Anova, Dunnett の検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2) ラットにおける次世代繁殖性試験 (追加試験)

(資料 A-29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993 年

検体の純度:

供試動物: CD 系ラット、1 群雌雄各 32 匹、約 6 週齢、開始時体重 雄 128~175 g、雌 112~150 g

投与期間: F0 世代; 投与開始から F1 児離乳時までの 24 週間

F1 世代; 離乳時から F2b 児離乳時までの 24 週間

(1992 年 2 月 18 日から 1993 年 1 月 3 日まで)

投与方法: 検体の 50 及び 150 ppm 含有した飼料を自由に摂取させた。検体混入飼料は毎週調製した。

[投与量設定]

方法及び試験項目:

一般状態及び死亡率; 全動物の一般状態及び生死を観察した。

交配の確認; 交配は雌雄 1 対 1 で同居させ、膣栓及びスメアー中の精子の存在を確認し、その日を妊娠 0 日とした。

繁殖性の指標; 下記の指標を算出した。

交尾所要日数 = 同居開始から交尾成立まで (雌)

交尾率 (%) = (交尾動物数 / 同居動物数) × 100 (雌雄)

受胎率 (%) = (妊娠動物数 / 交尾動物数) × 100 (雌雄、  
雄では妊娠させた雄数を分子にする)

繁殖率 (%) = (妊娠動物数 / 同居動物数) × 100 (雌雄)

妊娠期間 = 交尾成立から出産まで (雌)

出産率 (%) = (生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

出生率 (%) = (生後 1 日の生児数 / 生後 1 日の出生児総数) × 100

生後 4 日の生存率 (%) = (生後 4 日 (児数調整前) の生児数 / 生後 1 日の生児数) × 100

生後 4 日以後の生存率 (%) = (検査日 (児数調整後) の生児数 / 生後 4 日 (児数調整後)  
の生児数) × 100

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

**臓器重量** ; 副腎、肝臓、腎臓、精巣上体、前立腺、精囊、精巣、卵巣、子宮の重量を F0 と F1 の親動物について測定した。また、F1 と F2 児動物の肝臓重量を測定した。

**病理学的検査** ; 全動物の剖検を実施した。F0 及び F1 親動物は精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膈、下垂体及び肉眼的病変部について病理標本を作製した。病理組織学的検査を対照群と最高投与群について実施した。更に F0 と F1 親動物の全例、対照群と最高投与群の F1 及び F2 児動物の全例については肝臓の病理組織学的検査を実施した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

方法及び検査項目の概要を以下にまとめた。

世代	期 間	作 業 手 順	試 験 項 目
F0	成育 (14週)		体重, 摂餌量 (週1回)
	交配 (3週)	交配: 雌雄1対1 交尾確認: 膣栓及びスメ アー中精子存在で確認 (妊娠0日)	交尾状況確認
	妊娠 (3週)		体重: 妊娠 0、6、13、20日
	出 産		出産状況の観察: 生存及び 死亡児数、児性別、児体重
	哺育 (4週)	児数調整: 生後4日に同腹 児数を雌雄各4匹に調整	母動物: 体重; 出産後 1、4、7、14、21、25日  児動物: 体重; 生後 1、4、7、14、21、25日
	離 乳	継代選抜: 各腹より少なく とも雌雄1匹、計各群雌雄 各32匹選抜	親動物 (F0雌雄): 剖検、病理組織学検査 余剰児動物: 剖検 (児数調整時、33日齢時)
F1	成育 (14週) 交配 (3週) 妊娠 (3週)	] (F0世代に準ずる)	(F0世代に準ずる)
F2出 産			(F0世代に準ずる)
哺育 (4週)	(F0世代に準ずる)		(F0世代に準ずる)
F2	離 乳		(F0世代に準ずる)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

世 代		親 : F0			親 : F1		
投 与 群 (ppm)		0	50	150	0	50	150
動 物 数	雄	32	32	32	32	32	32
	雌	32	32	32	32	32	32
一 般 状 態							
死 亡 数					雌 1 匹 切迫屠殺	雌 1 匹 雌雄各 1 匹 切迫屠殺	
体重変化 投与 0-21 週 雄							
投与 0-14 週 雌							
妊娠 0-13 日							
出産後 1-25 日							
投 餌 量							
交配前検体採取 量 (mg/kg/day)*	雄	0	3.62	10.86	0	3.77	11.43
	雌	0	4.05	12.13	0	4.32	13.17
同居 4 日以内交尾率 (雌, %)		87	75	90	77	82	86
交 尾 率 (%)	雄	94	88	91	97	88	91
	雌	94	88	91	97	88	91
受 胎 率 (%)	雄	73	79	97	65	71	72
	雌	73	79	97	65	71	72
妊 娠 動 物 数		22	22	28	20	20	21
繁 殖 率 (%)	雄	69	69	88	63	63	66
	雌	69	69	88	63	63	66
出 産 率 (%)		95	100	100	100	90	90
妊 娠 期 間 (日)**		23.4	22.8	23.1	22.8	22.7	22.9
肉眼的病理検査： 肝肥大 (%)		雄 雌					
肝 臓 重 量： (絶対)		雄 雌					
(相対)		雄 雌					
病理組織学検査：肝臓 細葉周辺性脂肪空胞 (%)		雄 雌	3.1 0	18.8 0	28.1△ 0	12.6 0	25.0 0
雄における脂肪空胞 グレード	軽微		0	6	5	3	5
	軽度		1	0	3	1	3
	中等度		0	0	1	0	0

\*：申請者が各週の検体採取量から平均値を算出した。

\*\*：申請者が平均値を算出した。

—：実施していない。

空欄：投与に関連した影響なし。

↑↓：p<0.05, △▽：p<0.01, ▲▼：p<0.001 (Dunnett's 検定、Behren's-Fisher's 検定、又は Fisher の確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

世 代	児 : F1			児 : F2		
	0	50	150	0	50	150
投 与 群 (ppm)	0	50	150	0	50	150
母 動 物 数	21	22	28	20	18	19
新 生 児 数	13.8	13.4	12.6	13.1	12.8	12.7
死 産 児 数	0.2	0.4	0.3	0.1	0.1	0.1
出 生 率 (%)	99	97	96	99	99	99
4 日 目 (調 整 前) の 性 比 雄 / 雌	0.87	1.12	1.01	1.05	0.83	1.30
4 日 目 (調 整 前) の 生 存 率 (%)	99	97	96	97	98	98
離 乳 時 の 生 存 率 (%)	99	99	100	99	99	99
出 生 時 体 重 (g)	雄 7.0 雌 6.7	雄 7.1 雌 6.7	雄 7.1 雌 6.6	雄 7.1 雌 6.7	雄 7.3 雌 6.9	雄 7.4 雌 6.9
4 日 目 (調 整 前) の 体 重 (g)	雄 10.4 雌 10.0	雄 10.7 雌 10.1	雄 11.1 雌 10.6	雄 10.8 雌 10.2	雄 11.4 雌 10.8	雄 11.4 雌 10.8
離 乳 時 の 体 重 (g)	雄 92.3 雌 85.5	雄 87.6 雌 82.4	雄 88.4 雌 83.9	雄 93.8 雌 86.6	雄 92.9 雌 88.1	雄 94.9 雌 89.2
一 般 状 態						
小 葉 像 明 瞭 (%)	0	0	0.7	0	0	0.7
肝 臓 重 量 :						
(絶 対)	雄 雌		107 ↑			
(相 対)	雄 雌		107 ↑ 107 △			109 ↑ 109 △
病 理 組 織 学 検 査 : 肝 臓 細 葉 周 辺 性 脂 肪 空 胞 (%)	雄 雌	0 0	0 1.4	0 0	0 1.5	0 4.3

空欄：投与に関連した影響なし

↑↓：p<0.05、△▽：p<0.01、▲▼：p<0.001 (Dunnett's testまたはt-検定)

肝臓の病理組織検査結果における数値は、統計学的有意差はない。

F0 及び F1 世代を通して検体の 0、50 及び 150 ppm を投与した結果、親動物については、一般状態及び体重増加については影響はみられなかった。病理組織学検査では肝脂肪空胞形成が、雄の F0、F1 で投与量に相関して増加した。しかし、統計学的有意差は 150 ppm 群にのみみられ、また同病変程度の増強は対照群と 50 ppm 群間ではみられなかった。交尾率、受胎率、繁殖率、出産率については、各世代、各交配で対照群と比較して一定した変化はなかった。児動物については、150 ppm 群で肝重量の僅かな増加 (F1、F2) が観察された。児動物の一般状態、出生率、生存率については各投薬群とも対照群と差はなかった。

F1 親動物の 50 ppm 群および 150 ppm 群の各 1 例の雌を異常分娩により切迫屠殺し、150 ppm 群の他の 1 例では分娩中の死亡がみられたが、高用量で実施した試験 (資料 No. A-28) でもみられず、他に動物死亡が認められないことから、これらは検体投与に起因するものではない。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

いと考えられた。また、F1 親動物の 150ppm 群の雄 1 例で左後肢の筋組織の腫瘍の急激な増大がみられたため切迫屠殺したが、32 例中 1 例のみであり、本検体の標的臓器ではないことから、検体投与に起因するものではないと考えられた。

以上の結果から、本試験においては繁殖に関する無作用量は、150 ppm (F0 : 雄 ; 10.9 mg/kg/day、雌 ; 12.1 mg/kg/day、F1 : 雄 ; 11.4 mg/kg/day、雌 ; 13.2 mg/kg/day)、また親動物一般毒性に関しては、肝脂肪空胞が高投与群で統計的有意に増加したことを考慮して、無毒性量として 50 ppm (F0 : 雄 ; 3.62 mg/kg/day、雌 ; 4.05 mg/kg/day、F1 : 雄 ; 3.77 mg/kg/day、雌 ; 4.32 mg/kg/day) であると結論された。

[申請者註]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3) ラットにおける催奇形性試験

(資料 A-30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

供試動物：CD 系ラット、1 群雌 25 匹、9～11 週齢、開始時体重 194～238 g

試験期間：交配から帝王切開まで 20 日間（1989 年 3 月 28 日～1989 年 4 月 21 日）

試験方法：検体は 0.5%メチルセルローズ中に懸濁し、0、30、150 及び 750 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間毎日 1 回経口投与した。雌雄を同居させ、腔腺及び腔スミアにおける精子の認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠：

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、体重を妊娠 0、3、6～16 日、18 日及び 20 日に測定した。摂餌量を妊娠 0～2、3～5、6～8、9～11、12～15、16～17 及び 18～19 日の各期間について測定した。妊娠 20 日に二酸化炭素吸入で屠殺後帝王切開し、剖検を行い、卵巣及び子宮の状態を観察して黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡吸収胚数を検査した。

生存胎児；性別、体重測定及び外形異常の観察を行った。

胎児の半数を内臓検査、残る半数を骨格検査に割り当てた。

試験結果：結果を次頁の表に示した。

投与期間中、150 及び 750 mg/kg 群の親動物において、体重増加抑制がみられた。投与期間後の体重増加量は対照群と同様であった。その他親動物に対する毒性はみられなかった。一方、認められた投与群の胎児の異常発生頻度は対照群のそれと差はなかった。

以上の結果から、本検体のラット親動物及び胎児における無作用量は、各々 30 mg/kg/day 及び 750 mg/kg/day であり、また、最高投与量 750 mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性を起こさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		0	30	150	750	
1群あたりの動物数		25	25	25	25	
親	一般状態					
	死亡率 (%)	0	0	0	0	
	妊娠動物数	24	25	24	24	
	体重変化 (妊娠 6~16 日)			▽ 91 ※	▽ 89 ※	
	体重変化 (妊娠 16~20 日)					
	摂餌量					
	解剖時の肉眼観察					
動物	着床所見	黄体数	15.8±2.0	15.3±1.9	15.4±2.5	15.5±1.6
		着床数	14.2±1.4	13.5±2.5	13.8±2.1	13.8±1.3
		生存胎児数	13.7±1.5	12.8±1.7	12.7±2.6	13.3±1.4
		早期吸収胚数	0.5±0.7	1.0±1.0	1.1±1.1	0.5±0.7
		後期吸収胚数	0	0.2±0.5	0	0
		胎盤重量 (g)	0.49±0.02	0.50±0.02	0.47±0.02	0.49±0.02

空欄：異常なし

▽：p<0.01 (妊娠第6日から16日までの体重変化量に対する一元配置分散分析とt検定)

※：対照群の体重増加量を100とした場合の数値

尚、摂餌量と生存胎児数は一元配置分散分析及びt検定、胎盤重量はNested型分散分析及び重みづけt検定、その他着床所見はMann-Whitney U検定を実施。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	30	150	750		
検査親動物数		24	25	24	24		
児 動 物	体重 (g)	3.41±0.06	3.46±0.07	3.41±0.07	3.32±0.06		
	性比 (雄/雌)	1.19	1.02	0.99	1.08		
	外 表 異 常	検査動物数	328	307	305	318	
		小胎児 (2.7g 以下) (%)	1.5	1.0	1.6	1.3	
		体水腫 (%)	0.0	0.3	0.0	0.0	
		短顎症 (%)	0.0	0.0	0.0	0.3	
	内 臓 異 常	検査動物数	166	157	153	162	
		奇 形	無眼球症 (%)	0.6	0.0	0.0	0.0
			小眼球症 (%)	0.0	0.6	0.0	0.0
			心室閉中隔欠損 (%)	0.0	0.0	0.0	0.6
		変 異	甲状腺の縮小 (%)	0.6	0.0	0.0	0.0
			脾臓の縮小 (%)	0.6	0.0	0.0	0.0
			腎臓の縮小 (%)	0.0	0.0	0.0	0.6
	骨 格 異 常	検査動物数	162	149	152	157	
		奇 形	下顎骨減少 (%)	0.0	0.0	0.0	0.6
			第 3, 4 胸骨分節癒合 (%)	0.6	0.0	0.0	0.0
		変 異	14 肋骨 (14/14) (%)	0.0	0.7	0.0	0.0
13 肋骨短小 (%)			10.5	5.4	4.6	11.5	
口蓋骨未化骨 (%)			1.9	0.0	0.0	0.0	
3 胸骨分節化骨遅延 (%)※			13.0	18.8	17.1	20.4	
尾椎体化骨遅延 (%)			0.6	2.0	3.9	1.3	
坐骨化骨遅延 (%)	1.2		0.7	0.7	1.3		

胎児体重は Nested 型分散分析及び重みづけ t 検定、胎児異常については Fisher の直接確率検定を実施したが、いずれも有意差はなかった。

※背景データの発生率 ; 1.1~23.3% (平均 12.0%) n=21268 ( /140 試験)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 A-31)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

供試動物：ニュージーランド白色系ウサギ、1 群雌 19 匹、16～24 週齢、開始時体重 3.38～4.87 kg

観察期間：授精から帝王切開まで 29 日間（1989 年 5 月 4 日から 1989 年 7 月 14 日まで）

試験方法：検体は 0.5%メチルセルロース中に懸濁し、0、10、30 及び 90 mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間毎日 1 回経口投与した。雄から採取した精子を 1:1 で雌に人工授精し、授精日を妊娠 0 日とした。

投与量設定根拠：

試験項目：

親動物；全ての動物の体重を毎日測定し、同時に一般状態及び生死を観察した。摂餌量を妊娠 1、6、10、14、18、20、24 及び 28 日に測定した。妊娠 29 日にペントバルビタールナトリウムを静脈内に注入して屠殺後帝王切開し、剖検を行い、卵巣及び子宮の状態を観察して黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡吸収胚数を検査した。

生存胎児；性別、体重測定及び外形異常の観察をおこなった。全胎児について内臓検査を実施後、骨格検査を行った。各母動物の 1/3 の胎児については頭部スライス断面標本作製し、頭部を検査した。

試験結果：次頁以後の表に示した。

親動物；90 mg/kg 群において、流産及び全胚吸収が各 1 匹に認められた。また、同群の摂餌量が妊娠 14 及び 18 日に減少し、糞排泄量も低下する傾向を示した。

胎児；投与群胎児に認められた奇形及び変異の発生頻度には対照群との間に差はみられなかった。

以上の結果から、本検体のウサギ親動物及び胎児における無作用量は、それぞれ 30 mg/kg/day 及び 90 mg/kg/day、また最高投与量 90 mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性を起こさないと判断された。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	90	
1群動物数		19	19	19	19	
親 動 物	一般状態			早産(1)	流産(1)	
	死亡率 (%)	0	0	0	0	
	妊娠動物数	15	16	15	15	
	体重変化					
	摂餌量				84↓ (14日) ※ 78↓ (18日) ※	
	肉眼的病理検査				全胚吸収(1)	
	着 床 所 見	黄体数	12.5±2.7	12.6±1.8	13.3±2.1	11.4±2.4
		着床数	9.9±4.0	10.9±2.5	10.8±3.5	10.1±2.5
		生存胎児数	8.7±3.9	9.8±2.8	9.2±3.6	8.3±2.4
		早期吸収胚数	0.5±0.7	0.7±0.8	0.6±0.8	0.8±0.9
後期吸収胚数		0.6±0.8	0.4±0.7	0.9±1.0	1.0±1.0	
	胎盤重量(g)	5.8±0.4	5.0±0.3	5.3±0.3	5.3±0.3	

一般状態及び肉眼的病理検査項目における括弧内数値は、動物数をしめす。

空欄：投与に関連した異常なし ↓：p<0.05 (Mann-Whitney U-検定)

※：数値は対照群の摂餌量を100とした場合の値

体重変化、胎盤重量及び生存胎児数は一元配置分散分析とt-検定、その他着床所見はMann-Whitney U-検定を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	90		
検査親動物数		15	16	14	13		
児 動 物	体重 (g)	40.8±2.4	38.4±1.7	40.0±1.9	40.3±1.9		
	性比 (雄/雌)	1.29	0.80	0.80	0.89		
	外 表 異 常	検査動物数	131	156	129	108	
		小胎児 (32g以下) (%)	17.6	24.4	21.7	19.4	
		両側性前肢彎曲 (%)	1.5	0.0	0.0	0.0	
		前肢短小彎曲 (%)	0.0	0.0	0.8	0.0	
		両側性後肢彎曲 (%)	3.8	0.0	0.0	0.0	
		膈ヘルニア (%)	0.0	0.0	0.8	0.0	
	内 臓 異 常	検査動物数	131(44)	156(50)	129(41)	108(37)	
		奇形	三叉神経/左小脳欠損 (%)	0.0	0.0	0.0	2.7
		変異	胆嚢変位 (%)	9.2	5.8	2.3	1.9
	骨 格 異 常	検査動物数	131[87]	156[106]	129[88]	108[71]	
		奇 形	頭頂骨間骨癒合減少 (%)	0.0	1.9	2.3	4.2
			前頭骨癒合 (%)	1.1	0.0	0.0	0.0
胸骨分節癒合 (%)			0.0	1.9	2.3	0.0	
変 異		頭頂骨化骨遅延 (%)	0.0	0.9	0.0	0.0	
		前頭縫合不規則化骨 (%)	11.5	10.4	15.9	12.7	
		13 肋骨短小 (%)	19.8	17.3	14.0	21.3	
		胸椎化骨遅延 (%)	0.0	0.0	0.0	0.9	
		尾椎化骨遅延 (%)	2.3	2.6	2.3	0.9	
		恥骨化骨遅延 (%)	3.1	1.9	2.3	0.9	

( ) 内は頭部スライス断面標本数

[ ] 内は頭部骨格検査数

胎児体重は一元配置分散分析と t-検定、胎児異常については Fisher の正確確率検定を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(13) 変異原性

1) DNA 損傷修復試験

(資料 A-32)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

試験方法：大腸菌 *Escherichia coli* の DNA 修復機構保持株 (WP2) と欠損株 (WP67, CM871) を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下における DNA の損傷誘発性を検定した。溶媒にはジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。予備試験結果から、本試験では 100、316、1000、3160 及び 10000  $\mu\text{g/mL}$  の検体溶液を用いることとした。各菌株の懸濁液 2 mL に各濃度の検体溶液 0.1 mL 及び S-9 Mix またはリン酸緩衝液 0.2 mL を加えて 2 及び 18 時間培養した (申請者註；培養液中の検体濃度は、それぞれ 4、14、43、137 及び 435  $\mu\text{g/mL}$  となる)。培養後、培養溶液の 0.1 mL を希釈 ( $10^{-5}$  または  $10^{-6}$ ) し、希釈液の 60  $\mu\text{L}$  をニュートリエント寒天平板培地上に播種した。平板培地上で 1 日培養し生じたコロニー数を用いて生存率を算出した。

各菌株について得られた生存率を用い下記の式から生存係数 (Cs) を算出した。

$$Cs = \frac{\text{処理を行った修復機構欠損株の平均生存率 (\%)}}{\text{処理を行った修復機構保有株の平均生存率 (\%)}}$$

Cs 値が 0.1 未満の場合、修復機構欠損株への選択的毒性が発現したものととして陽性とした。陽性対照物質として S-9 Mix 非存在下では mitomycin C、S-9 Mix 存在下及び非存在下では 2-aminoanthracene、陰性対照物質として ampicillin を用いた。溶媒対照区も設定した。

結果：次頁の表に示す。

検体は S-9 Mix 非存在下及び存在下において、2 及び 18 時間暴露後にいずれの菌株に対しても有意な致死作用を示さなかった。

陰性対照物質では修復機構欠損株への選択的毒性が観察されなかった。

陽性対照物質では、S-9 Mix 非存在下において両暴露時間とも修復機構欠損株への選択的毒性が認められ、S-9 Mix 存在下においては 18 時間暴露で修復機構欠損株 CM871 に対し選択的毒性が認められた。

以上の結果より、検体は DNA 損傷誘発性がないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

DNA 損傷修復試験の結果

化合物	用量 μg/mL	S-9 Mix	生存係数 (Cs) *			
			WP67		CM371	
			2 時間暴露	18 時間暴露	2 時間暴露	18 時間暴露
検体	10000	-	0.79	1.04	0.79	1.09
	3160	-	0.93	1.27	0.94	1.18
	1000	-	0.84	1.12	0.79	1.20
	316	-	0.88	1.02	0.89	1.14
	100	-	0.74	1.09	0.82	1.10
検体	10000	+	0.88	1.10	0.96	1.02
	3160	+	0.81	1.04	0.84	1.07
	1000	+	0.76	1.10	1.02	0.98
	316	+	0.85	0.89	1.09	1.02
	100	+	0.87	1.05	1.02	1.03
Ampicillin	25	-	3.78	2.56	2.70	1.08
mitomycin C	0.05	-	0.055	$2.28 \times 10^{-3}$	$2.26 \times 10^{-4}$	$1.90 \times 10^{-5}$
2-aminoanthracene	5	-	0.99	1.18	0.92	1.26
2-aminoanthracene	5	+	0.85	1.08	0.46	0.010

\*: Cs : 処理を行った修復機構欠損株の平均生存率 (%) / 処理を行った修復機構  
保有株の平均生存率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) 復帰変異原性試験

(資料 A-33)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

用量設定根拠：予備試験の結果、TA98 及び WP2uvrA に対して毒性作用を示した最低用量が各々 500  $\mu$ g/plate 及び 2500  $\mu$ g/plate であったため、本試験の最高用量はサルモネラ菌で 500  $\mu$ g/plate、大腸菌で 2500  $\mu$ g/plate とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：詳細は次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異株の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

薬物	濃度* ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/ plate **					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 DMSO	—	—	20	17	116	8	25	44
検体	5 (25)	—	22	13	113	7	23	45
	16 (79)	—	22	12	112	7	24	43
	50 (250)	—	20	12	114	7	23	44
	158 (790)	—	19	10	106	7	22	45
	500 (2500)	—	10 <sup>T</sup>	7 <sup>T</sup>	48 <sup>T</sup>	5 <sup>T</sup>	23 <sup>T</sup>	33 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu$ g/ plate)	—	2AA (6.0)	SA (0.5)	SA (0.5)	9AA (50.0)	2NF (2.0)	2NF (1.0)
			19	486	814	357	445	358
			ENNG (2.0)	2AA (2.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)
			198	16	106	7	23	42

薬物	濃度* ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/ plate **					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 DMSO	—	+	22	16	111	7	25	47
検体	5 (25)	+	23	14	114	7	23	44
	16 (79)	+	22	14	115	7	23	45
	50 (250)	+	23	13	113	7	22	45
	158 (790)	+	22	8	113	6	23	48
	500 (2500)	+	15 <sup>T</sup>	0 <sup>T</sup>	48 <sup>T</sup>	3 <sup>T</sup>	25 <sup>T</sup>	16 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu$ g/ plate)	+	2AA (5.0)	2AA (2.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)
			169	473	1141	191	240	785

2NF : 2-Nitrofluorene

SA : Sodium azide

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine

2AA : 2-Aminoanthracene

BP : benzo(a)pyrene

\* : カッコ内は WP2uvrA での設定用量

\*\* : 3 プレーートの平均値

T : 菌の生育阻害が認められたプレート

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

薬物	濃度* ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/ plate **					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 DMSO	—	—	20	16	121	7	18	36
検体	5 (25)	—	21	16	120	8	18	37
	16 (79)	—	22	13	124	6	19	35
	50 (250)	—	24	13	121	6	17	34
	158 (790)	—	20	14	115	7	18	35
	500 (2500)	—	11 <sup>T</sup>	4 <sup>T</sup>	48 <sup>T</sup>	4 <sup>T</sup>	15 <sup>T</sup>	30 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu$ g/ plate)	—	2AA (5.0)	SA (0.5)	SA (0.5)	9AA (50.0)	2NF (2.0)	2NF (1.0)
			21	522	722	433	431	401
			ENNG (2.0)	2AA (2.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)
			234	16	113	7	26	41

薬物	濃度* ( $\mu$ g/ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/ plate **					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 DMSO	—	+	24	18	122	6	19	38
検体	5 (25)	+	19	18	121	7	20	38
	16 (79)	+	24	15	119	7	19	40
	50 (250)	+	23	16	120	7	19	33
	158 (790)	+	21	12	116	7	21	36
	500 (2500)	+	13 <sup>T</sup>	3 <sup>T</sup>	55 <sup>T</sup>	3 <sup>T</sup>	20 <sup>T</sup>	22 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu$ g/ plate)	+	2AA (5.0)	2AA (2.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)
			176	437	880	141	315	629

2NF : 2-Nitrofluorene

SA : Sodium azide

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine

2AA : 2-Aminoanthracene

BP : benzo(a)pyrene

\* : カッコ内は WP2uvrA での設定用量

\*\* : 3 プレーートの平均値

T : 菌の生育阻害が認められたプレート

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) における *in vitro* 染色体異常試験 (資料 A-34)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度:

試験方法: 検体をジメチルスルホキシド(DMSO)を用いて下表に示す濃度に溶解し、チャイニーズハムスターの継代した卵巣細胞(CHO-K1)に添加した。

用量設定根拠:

1 回目の試験では、溶媒及び無処理の対照群で許容範囲を超えた異常細胞出現頻度が認められたため、染色体異常の評価は行わなかった。また、1 回目の試験の S-9 Mix 存在下では、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  処理細胞で細胞が得られなかった。以上の結果から、下記に示す用量で 2 回目の試験を行い、さらに、2 回目の試験結果を確認するため 3 回目の試験を行なった。

本試験での用量設定を以下に示す。

回数	方法	処理	標本作成	検定に使用した濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
1	S-9 Mix 非存在下	3時間	21時間目	4、20、50、100
	S-9 Mix 存在下	3時間	21時間目	4、20、100、200
2	S-9 Mix 非存在下	3時間	21時間目	4、20、100
	S-9 Mix 存在下	3時間	21時間目	4、20、100、150
3	S-9 Mix 非存在下	3時間	21時間目	50、100

各濃度で 100 個の中期分裂像を観察し、染色体数及び染色体の異常を評価した。染色体の構造異常は染色体型及び染色分体型のギャップ、切断、断片化及び交換、その他に分類し、計測した。多発性異常、核内倍加、細粉化中期細胞及び倍数性を示す細胞についても計測した。異常細胞の出現頻度はギャップ型の異常を含めた場合と除外した場合の両方について評価した。検定法は Fisher の検定を用い有意に高い値をもたないものを陰性とした。陽性対照として S-9 Mix 存在下では cyclophosphamide、S-9 Mix 非存在下では chlorambucil を用いた。

結果: 結果を次頁以降の表に示す。

2 回目の本試験の S-9 Mix 存在下では、試験した全ての用量群で生物学的及び統計学的に有意な異常細胞出現頻度の増加は認められなかった。S-9 Mix 非存在下では、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  処理でギャップを評価に含めた場合及び、含めない場合の両評価で統計学的に有意な異常細胞出現頻度の増加が認められた。S-9 Mix 非存在下の 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  処理群では評価可能な分裂中期細胞数が 1 フラスコ当たり 50 個未満であったことを考慮し、S-9 Mix 非存在下についてのみ追



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

加試験を行った。追加試験で1フラスコ当たり100個の分裂中期細胞を評価した結果、ギャップ評価の有無にかかわらず、いずれの用量群でも異常細胞出現頻度に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照の cyclophosphamide 及び chlorambucil では、異常細胞出現頻度の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体はチャイニーズハムスターの卵巣細胞(CHO-K1細胞)においてS-9 Mix非存在下及びS-9 Mix存在下とも染色体異常誘発性はないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果 (本試験) :

薬物	S-9 Mixの有無	濃度 μg/mL	細胞分裂 指数※ (%)		観察 細胞数	異常を有する細胞数 (3回の合計)											異常細胞出現 頻度 (%)		ギャップを除外 した異常細胞出現 頻度 (%)			
						SSC	DSG	SSB	DSB	SSP	DSP	e	E	M	End	P						
溶媒対照 (DMSO)	-	-	2.1	(2.8)	100	16	2	2	0	0	6	0	16	0	0	49	9	(12.3)	6	(7.3)		
			3.7		100												13		7			
			2.7		100												15		9			
検 体	-	4.0	2.7	(3.1)	67	12	2	4	0	1	1	1	12	1	0	74	13.4	(12.9)	7.5	(7.6)		
			4.1		82												18.3		11			
			2.5		100												8		5			
	-	20.0	1.5	(2.0)	100	25	5	4	1	0	4	1	17	0	0	35	16	(16.9)	8	(9.4)		
			2.7		100												17		10			
			1.7		67												17.9		10.4			
-	100.0	2.5	(1.6)	46	12	2	4	2	0	2	3	6	1	2	14	19.6	(22.4)**	15.2	(15.5)*			
		1.4		42												23.8		14.3				
		0.9		28												25		17.9				
cyclophos phamide	-	7.5	2.4	(2.1)*	100	9	5	4	0	0	1	0	13	0	1	68	9	(10.0)	7	(6.0)		
			2.3		100												8		6			
			1.7		100												13		5			
chloram bucil	-	1.0	2.2	(1.5)	96	20	6	13	5	0	2	8	20	0	1	67	24	(22.0)**	15.6	(15.2)**		
			1.1		100												18		10			
			1.2		100												24		20			
溶媒対照 (DMSO)	+	-	5.7	(4.9)	100	15	2	9	4	0	0	3	14	0	5	44	14	(15.0)	11	(10.3)		
			4.1		100												11		8			
			4.9		100												20		12			
検 体	+	4.0	3.0	(5.6)	100	8	1	4	2	0	2	1	14	0	0	50	10	(10.0)	9	(7.3)		
			6.4		100												14		8			
			7.3		100												6		5			
	+	20.0	4.4	(5.4)	100	16	2	6	1	0	2	3	8	0	0	36	10	(11.3)	4	(6.7)		
			5.7		100												11		7			
			6.0		100												13		9			
+	100.0	4.4	(5.4)	100	9	0	5	1	0	0	5	4	0	5	44	6	(8.7)*	5	(6.0)*			
		5.9		100												9		5				
		5.9		100												11		8				
+	150.0	N		N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		N			
		cyclophos phamide	+	7.5	2.0	(1.3)	100	34	6	69	14	3	9	175	32	14	0	36	82	(78.5)**	75	(73.2)**
					1.2		100												76		73	
0.6	28	75	67.9																			

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果（追加試験）：

薬物	S-9 Mixの有無	濃度 μg/mL	細胞分裂 指数※ (%)		観察 細胞数	異常を有する細胞数（3回の合計）								異常細胞 出現頻度 (%)		ギャップを除いた 異常細胞出現 頻度 (%)		
						SSG	DSG	SSB	DSB	DSF	e	E	End					P
溶媒対照 (DMSO)	—	—	4.3	(4.9)	100	11	1	3	0	3	0	13	0	38	10	(10.0)	8	(6.3)
			3.8		100										7		2	
			6.5		100										13		9	
検体	—	50.0	3.9	(4.4)	100	13	3	2	2	6	0	5	1	39	9	(9.7)	6	(4.7)
			6.0		100										7		0	
			3.4		100										13		8	
	—	100.0	4.6	(3.3)	100	15	1	2	1	4	1	8	10	30	9	(13.7)	6	(5.3)
			2.9		100										14		6	
			2.5		100										18		4	
chloram bucil	—	1.0	2.1	(2.6)	100	13	2	2	2	6	6	11	1	32	14	(20.0)**	9	(13.0)**
			3.1		100										26		17	

( ) 内の値は平均値

※細胞分裂指数 = (分裂中期の細胞数 / 全細胞数) × 100

SSG: 染色分体型ギャップ, DSG: 染色分体型ギャップ, SSB: 染色分体型切断, DSB: 染色分体型切断, SSF: 染色分体型断片化, DSF: 染色分体型断片化,

e: 染色分体型交換, E: 染色分体型交換, P: 倍数体, M: 多発性異常, End: 核内倍化, N: 生存細胞がないため評価せず

Fisherの検定による有意差: \* ; P<0.05, \*\* ; P<0.01, \*\*\* ; P<0.001

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

4) マウスを用いた小核試験

(資料 A-35)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1989 年

検体の純度 :

試験動物 : CD-1 系マウス、1 群雌雄各 5 匹、約 4~5 週齢 (体重 16.8~24.2 g)

試験方法 : 検体を 0.5%メチルセルロース溶液中に懸濁し、胃ゾンデを用いて胃内に単回強制経口投与した。陽性対照物質として chlorambucil を、陰性対照物質として溶媒を用いた。

検体の低、中投与群、陰性対照群及び陽性対照群は投与 24 時間後、検体の高投与群及び陰性対照群は 24、48 及び 72 時間後にマウスを屠殺し大腿骨より骨髓細胞の直接的塗抹標本を作成した。標本をメタノール固定し、Giemsa 染色した後、鏡検により各動物の正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合、多染性赤血球 1000 個中の小核出現頻度及び正染性赤血球 1000 個中の小核出現頻度を計測した。

試験結果 :

屠殺時間	薬剤	薬量 (mg/kg)	多染性赤血球数 / 正染性赤血球数 (比率の平均)	小核多染性赤血球出現頻度 # 平均±S. D.	小核正染性赤血球出現頻度 * 平均±S. D.
24 時間	溶媒対照	—	1.0	0.7±0.7	0.1±0.3
	検体	200	1.0	0.4±0.5	0.4±0.5
		1000	1.0	0.5±0.5	0.8±0.7
		5000	1.0	0.9±0.8	0.3±0.5
	陽性対照 chlorambucil	30	0.8	58.5±17.2▲	1.0±0.6
48 時間	溶媒対照	—	1.0	1.3±1.3	0.5±0.5
	検体	5000	0.9	0.7±0.9	0.8±0.8
72 時間	溶媒対照	—	1.0	0.4±0.7	0.6±0.9
	検体	5000	1.0	0.7±0.5	0.8±0.7

▲ : p<0.01 (Mann-Whitney の検定)

# : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有するものの数

\* : 正染性赤血球 1000 個のうち、小核を有するものの数

陽性対照群では多染性赤血球の小核出現数が有意に増加したのに対し、検体投与群ではこれらの値に有意な増加は見られなかった。また、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合も正常であった。

以上の結果から、検体は骨髓細胞に対し細胞遺伝学的影響を誘起しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

5) 哺乳動物培養細胞 (V79 細胞) を用いた前進突然変異性試験

(資料 A-36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

検体の純度:

試験方法: 継代培養したチャイニーズハムスター由来細胞 (V79 細胞) を用い、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) 遺伝子座での検体の突然変異誘発性を検索した。検体はジメチルスルホキサイド (DMSO) に溶解させた。

用量設定根拠:

V79 細胞を所定濃度の検体を含んだ培地で 3 時間培養した。処理後、細胞を洗浄し検体処理直後の細胞の一部を細胞毒性評価のため別に培養し、コロニー形成率 (P.E.) を求めた。同時に検体処理細胞を 7 日間培養した後、6-thioguanine を含む選択培地と P.E. 評価用の 6-thioguanine を含まない培地に移した。6 日間培養後、6-thioguanine 耐性コロニー (突然変異コロニー) を計数し、下記の式を用いて突然変異頻度を計算した。

$$[10^6 \text{ 生存細胞数当たりの突然変異誘発頻度}] = \frac{\text{P.E. 測定用播種細胞数}}{\text{P.E. プレートの平均コロニー数}} \times [\text{6-thioguanidine 耐性コロニー数の平均}]$$

検体の突然変異頻度が溶媒対照の値に比べて生物学的に有意で再現性のある増加が認められ、明らかに用量相関性がある場合、陽性と判断した。陽性対照として ethylmethanesulphonate (EMS) 及び 7, 12-dimethylbenzanthracene (DMBA) を用いた。

試験結果: 1 回目の本試験において 40  $\mu$ g/mL の検体処理で対照値より明らかに高い変異コロニー数及び突然変異誘発頻度が観察された。しかし、2 回目の試験では同一用量で同様の結果は得られなかった。また、他の用量では 2 回の試験とも溶媒対照値と異なる変異コロニー数あるいは突然変異誘発頻度は認められなかった。一方、陽性対照として用いた EMS 及び DMBA では明らかな前進突然変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本検体は S-9 Mix 非存在下及び S-9 Mix 存在における本試験条件下では、前進突然変異誘発性を有さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：第1回目試験（各用量について3プレート×2系列で実施）

薬物	濃度 μg/ml	S-9 Mix の有無	平均コロニー 形成率(a) (P.E.)	平均コロニー 形成率(b) (P.E.)	選択培地での 平均コロニー数	10 <sup>5</sup> 細胞当りの変 異コロニー数(c)
溶媒対照 (DMSO)	—	—	100	106.9 91.2	7.0 2.7	6.6 3.0
検体	10	—	95.5 180.8	108.5 112.0	1.0 3.0	0.9 2.7
			143.9 115.8	72.9 99.9	5.0 5.7	6.9 5.7
	40	—	95.5 149.2	99.9 75.4	26.0 19.3	26.0 25.6
			110.5 140.3	91.9 85.4	0.3 0.7	0.3 0.8
	120	—	0.8 0.8	73.4 82.0	0.0 0.0	0.0 0.0
EMS			1000	—	169.2 177.1	77.2 78.0
DMBA	10	—	62.4 94.7	107.9 96.0	61.0 0.7	47.3 0.7
溶媒対照 (DMSO)	—	+	100	97.2 102.9	14.0 5.3	14.4 5.2
検体	10	+	105.0 116.6	108.7 112.2	1.0 5.0	0.9 4.5
			93.9 116.6	98.7 99.2	9.7 7.3	9.8 7.4
	40	+	98.2 117.9	81.5 73.0	9.3 0.0	11.4 0.0
			105.5 104.4	111.0 105.7	21.7 0.0	19.5 0.0
	120	+	171.3 143.6	85.9 107.2	0.3 4.3	0.3 4.0
DMBA			10	+	33.1 27.6	76.0 68.7

(a)：細胞毒性評価を目的として、検体処理直後の細胞の一部を別に培養し、コロニー数を計数した。表中の数値は溶媒対照値に対する変動率(%)で示した。

(b)：6-thioguanidine 選択培地に処理細胞を播種すると同時に、処理細胞の一部を6-thioguanidine を含まない培地に播種し、選択培地と同様に6日間培養後コロニー数を計数した。

(c)：下記の式から算出した：

$$[10^5 \text{ 生存細胞数当たりの突然変異誘発頻度}] = \frac{\text{P.E. 測定用播種細胞数}}{\text{P.E. プレートの平均コロニー数}} \times [\text{6-thioguanidine 耐性コロニー数の平均}]$$

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験結果：第2回目試験（各用量について3プレート×2系列で実施）

薬物	濃度 μg/mL	S-9 Mix の有無	平均コロニー 形成率(a) (P.E.)	平均コロニー 形成率(b) (P.E.)	選択培地での 平均コロニー数	10 <sup>5</sup> 細胞当りの変 異コロニー数(c)
溶媒対照 (DMSO)	—	—	100	58.0 78.8	0.0 5.7	0.0 7.2
検体	10	—	90.5	71.4	1.3	1.8
			107.0	91.5	0.7	0.8
	20	—	85.9	86.2	0.0	0.0
			100.9	75.0	6.3	8.4
	40	—	63.6	62.2	0.7	1.1
67.5			93.4	0.7	0.7	
80	—	127.7	68.2	5.3	7.8	
		75.6	73.0	4.0	5.5	
100	—	20.1	82.0	0.3	0.4	
		40.0	78.2	0.0	0.0	
EMS	1000	—	92.8	76.0	57.0	75.0
			75.1	85.4	82.0	96.1
DMBA	10	—	111.2	58.9	0.3	0.6
			0.0	79.0	2.0	2.6
溶媒対照 (DMSO)	—	+	100	75.0 71.7	3.7 3.0	4.9 4.2
検体	20	+	86.1	76.5	4.3	5.6
			77.2	93.4	4.0	4.3
	40	+	88.4	53.2	2.7	5.1
			96.4	51.7	0.0	0.0
	80	+	90.6	70.0	0.7	1.0
98.7			61.7	0.0	0.0	
120	+	91.0	47.4	0.3	0.6	
		88.4	74.4	5.0	6.7	
160	+	108.4	68.2	1.7	2.5	
		99.5	95.2	1.0	1.1	
DMBA	10	+	25.8	55.0	15.7	28.5
			35.7	73.5	60.3	82.0

(a)：細胞毒性評価を目的として、検体処理直後の細胞の一部を別に培養し、コロニー数を計数した。表中の数値は溶媒対照値に対する変動率(%)で示した。

(b)：6-thioguanidine 選択培地に処理細胞を播種すると同時に、処理細胞の一部を6-thioguanidine を含まない培地に播種し、選択培地と同様に6日間培養後コロニー数を計数した。

(c)：下記の式から算出した：

$$[10^5 \text{ 生存細胞数当たりの突然変異誘発頻度}] = \frac{\text{P.E. 測定用播種細胞数}}{\text{P.E. プレーットの平均コロニー数}} \times [\text{6-thioguanidine 耐性コロニー数の平均}]$$

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

6) ラット骨髓細胞における *in vivo* 染色体異常試験

(資料 A-37)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験動物：CD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹 (処理時体重雄 141~189, 雌 119~149 g)

方法：検体を 1.5%メチルセルロース溶液中に懸濁し、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。

陽性対照物質として chlorambucil 15 mg/kg を単回強制経口した。溶媒対照群は 1.5%メチルセルロース溶液を経口投与した。検体の低、中用量群、溶媒対照群および陽性対照群は投与 24 時間後に、検体の高用量群および陰性対照群は 6、24 及び 48 時間後に屠殺し、大腿骨髓細胞の中期分裂像標本を作成して、染色体構造および数的異常について 1 匹あたり可能な限り 50 個の中期分裂像を観察した。各群屠殺 2 時間前に有糸分裂阻害剤である vinblastine sulfate 5 mg/kg を腹腔内投与した。

試験結果：	処理時間 (hr)	処理群	染色体異常細胞出現率 (%)		倍数体数 / 観察細胞数
			Gap を含まない	Gap を含む	
6	6	溶媒 15 mL/kg	0.4	2.0	2/450
		検体 5000 mg/kg	2.0*	3.4	3/500
24	24	溶媒 15 mL/kg	2.6	4.8	1/500
		検体 200 mg/kg	1.0	1.8	1/500
		検体 1000 mg/kg	1.8	2.0	5/500
		検体 5000 mg/kg	2.1	3.4	4/467
		chloram bucil 15mg/kg	29.8***	38.9***	14/352
48	48	溶媒 15 mL/kg	3.0	4.3	2/464
		検体 5000 mg/kg	2.3	0.2	1/442

\* : p<0.05, \*\*\* : p<0.001 (Fisher の直接確率法)

処理 6 時間の検体処理群において異常細胞出現率に有意差を認めたが、これは対照群の出現頻度が少ない事より生じたものであり、検体に関連がないと考えられた。背景データの範囲内 (本試験におけるギャップを除外した場合の異常細胞出現率：雄で 1.6%、雌で 2.4%；背景データ：雄で 0~4%、雌で 0~6%) でもあった。その他の検体処理群は溶媒対照群と比較して、ラット骨髓細胞染色体異常の有意な増加および染色体数の有意な変化は認めなかった。

以上のことから、検体はこの *in vivo* 試験系においてラット骨髓細胞の染色体損傷および染色体数の変化は起こさないと判断され、染色体異常を引き起こす恐れはないと考えられる。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

7) HeLa 細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

(資料 A-87)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

使用細胞：HeLa S3 細胞

試験方法：DMSO で溶解した検体とヒドロキシン尿素を、単層を形成した HeLa S3 細胞の培地に添加した。1 時間培養後、 $^3\text{H}$ -thymidine を加えてさらに 3 時間培養し、培地を除去して細胞を集めた。トリクロロ酢酸処理後、水酸化カリウム水溶液で溶解させて細胞を溶出させた後、再度トリクロロ酢酸により DNA を沈殿させ、加熱により抽出した。これにシンチレーターを加えて液体シンチレーションカウンターにて、細胞内に取りこまれた  $^3\text{H}$ -thymidine の活性 (DPM) を  $n=3$  で測定した。一方、Burton 染色法により細胞内の DNA 量も測定し、DNA 量あたりの活性 (DPM/ $\mu\text{g}$  DNA) を求めた。S-9 Mix は非存在下及び存在下の双方を設定した。

尚、陽性対照物質として S-9 Mix 非存在下では 4-nitroquinoline-N-oxide (4-NQO) を、S-9 Mix 存在下では Benzo[a]pyrene を使用した。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁以降の表に示す。

S-9 Mix 非存在下では、1 回目の試験では最低濃度区を除きやや細胞毒性が見られたことから、2 回目は設定濃度を 1/10 にして行った。しかしそれでも試験区の活性は対照区に比べて低下していた。陽性対照区は対照区に比べ高い活性を示した。

S9 Mix 存在下では、1 回目の試験でやや細胞毒性が見られたことから、2 回目は設定濃度を 1/10 にして行ったところ、対照区と同等の傾向が見られた。陽性対照区は対照区に比べ高い活性を示した。

以上の結果から、検体は HeLa S3 細胞に対し、S-9 Mix 非存在及び S-9 Mix 存在の両条件下において不定期 DNA 合成を誘発しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

・ S-9 Mix 非存在下

処理濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	1 回目		2 回目	
	DPM/ $\mu\text{gDNA}$ (カッコ内は平均値)		DPM/ $\mu\text{gDNA}$ (カッコ内は平均値)	
0.00	81.8	(98.2)	120.7	(130.0)
	113.4		157.3	
	99.3		112.1	
0.0234	—	—	100.5	(104.5)
	—		109.4	
	—		103.5	
0.0740	—	—	88.1	(95.1)
	—		95.8	
	—		101.4	
0.234	110.7	(92.9)	98.2	(94.7)
	101.1		98.3	
	66.9		87.7	
0.740	68.6	(67.1)	82.3	(88.8)
	64.4		95.2	
	68.3		88.9	
2.34	76.6	(66.4)	97.2	(90.8)
	58.1		90.1	
	64.6		85.2	
7.40	71.6	(68.9)	—	—
	69.8		—	
	65.2		—	
23.4	127.5	(86.5)	—	—
	63.9		—	
	68.0		—	
陽性対照 (4-N00)	1644.6	(1622.9)	1513.8	(1627.0)
	1682.9		1712.4	
	1541.2		1645.7	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

・ S9 Mix 存在下

処理濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	1 回目		2 回目	
	DPM/ $\mu\text{gDNA}$ (カッコ内は平均値)		DPM/ $\mu\text{gDNA}$ (カッコ内は平均値)	
0.00	183.0	(185.6)	114.5	(127.7)
	183.3		141.0	
	190.7		127.6	
0.0469	—	—	138.2	(137.6)
	—		129.8	
	—		144.7	
0.148	—	—	163.6	(148.0)
	—		109.4	
	—		170.9	
0.469	200.5	(169.3)	198.0	(157.2)
	183.2		132.7	
	124.3		140.8	
1.48	131.8	(114.9)	150.8	(140.3)
	106.7		131.3	
	106.1		138.7	
4.69	56.4	(88.3)	131.7	(125.1)
	113.1		124.7	
	95.4		118.9	
14.8	130.2	(131.3)	—	—
	96.6		—	
	167.2		—	
46.9	87.8	(105.4)	—	—
	80.8		—	
	147.5		—	
陽性対照 (Benzo[a] pyrene)	301.7	(297.1)	229.0	(245.9)
	340.3		245.3	
	249.4		263.3	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(14) 生体の機能に及ぼす影響

1) 一般薬理試験

(資料 A-38)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年

検体の純度:

1. 中枢神経系に対する作用

1.1. 一般状態観察

供試動物: ICR 系雄マウス、体重 24~29 g、1 群 3 匹

方 法: 検体は 0.5%カルボキシルメチルセルロース (CMC) 溶液中に懸濁して、300、1000 及び 3000 mg/kg を単回経口投与し、投与後 0.5、1、2 及び 4 時間に Irwin の多次元観察法に準じ一般状態を観察した。また、投与 1 及び 2 日後に死亡の有無と一般状態を観察した。

結 果: 3000 mg/kg 投与群で投与後 30~60 分に自発運動の軽度な低下、投与後 30~120 分に軽度の散瞳、及び投与後 60 分に身繕い行動の減少が観察された。他の投与群では影響は認められなかった。

1.2. 自発運動量に及ぼす影響

供試動物: ICR 系雄マウス、体重 26~32 g、3 匹を 1 例として 1 群 6 例

方 法: 検体は 0.5% CMC 溶液中に懸濁して、300、1000 及び 3000 mg/kg を単回経口投与し、投与直後から 5 時間後まで 30 分毎に自発運動量測定装置を用いて運動量を測定した。

結 果: 3000 mg/kg 投与群で投与後 30~90 分に自発運動の有意な低下が観察された。他の投与群では影響は認められなかった。

1.3. 痙攣誘発作用 (電撃痙攣)

供試動物: ICR 系雄マウス、体重 24~31 g、1 群 10 匹

方 法: 検体は 0.5% CMC 溶液中に懸濁して、300、1000 及び 3000 mg/kg を単回経口投与し、1 時間後に電撃痙攣装置を用いて角膜を電撃した。電撃後、強直性屈曲性痙攣、強直性伸展性痙攣、間代性痙攣及び昏睡の有無を観察した。

陽性対照群には、ベンチレンテトラゾール 40 mg/kg を電撃 15 分前に皮下投与した。

結 果: 全検体投与群において痙攣誘発作用は認められなかった。陽性対照群では、有意な痙攣誘発作用が観察された。

1.4. 正常体温に及ぼす影響

供試動物: Wistar 系雄ラット、体重 120~140 g、1 群 6 匹

方 法: 検体は 0.5% CMC 溶液中に懸濁して、300、1000 及び 3000 mg/kg を単回経口投与し、投与前、投与後 0.5、1、2 及び 4 時間にデジタル電子体温計を用いて直腸温を測定した。

結 果: 全検体投与群において投与による影響は認められなかった。

## 2. 循環器系に対する作用

### 2.1. 無麻酔ラットの血圧、心拍数に及ぼす影響

供試動物：Wistar系雄ラット、体重230～250 g、1群6匹

方法：検体は0.5% CMC溶液中に懸濁して、300、1000及び3000 mg/kgを単回経口投与し、投与前、投与後1、2及び4時間に無麻酔下で収縮期血圧及び心拍数を尾動脈圧測定装置を用い測定した。

結果：全検体投与群において投与による影響は認められなかった。

## 3. 自律神経系及び平滑筋に及ぼす影響

### 3.1. 摘出モルモット回腸に及ぼす作用

供試動物：Hartley系雄モルモット、体重500～550 g、各収縮薬について4例

方法：回腸を摘出し、Krebs-Henseleit溶液を満たしたマグヌス管に懸垂させた。収縮薬としてアセチルコリン( $3 \times 10^{-6}$ )、ヒスタミン( $3 \times 10^{-6}$ )及び塩化バリウム( $3 \times 10^{-3}$ )を用いそれぞれの収縮反応が安定した後、検体を $3 \times 10^{-8}$ 、 $3 \times 10^{-7}$ 及び $3 \times 10^{-6}$  g/mlの濃度で添加し、各収縮薬に対する影響を検討した。なお、検体の前処置時間は5分とした。

結果：各収縮薬の収縮反応に対し、いずれの濃度でも影響は認められなかった。

### 3.2. 瞳孔径に及ぼす影響

供試動物：Wistar系雄ラット、体重140～160 g、1群6匹

方法：検体は0.5% CMC溶液中に懸濁して、300、1000及び3000 mg/kgを単回経口投与し、投与前、投与後0.5、1、2及び4時間に実体顕微鏡下に瞳孔径を測定した。陽性対照群には硫酸アトロピン1 mg/kgを経口投与した。

結果：全検体投与群において投与による影響は認められなかった。

陽性対照群では、投与後4時間まで瞳孔径の有意な拡張が観察され、散瞳作用が認められた。

## 4. 消化器系に及ぼす影響

### 4.1. マウス腸管輸送能に対する作用

供試動物：ICR系雄マウス、体重20～25 g、1群8匹

方法：検体は0.5% CMC溶液中に懸濁して、300、1000及び3000 mg/kgを18時間絶食後に単回経口投与した。検体投与1時間後に5%アラビアゴム液に5%濃度で懸濁した炭末0.2 mlを各マウスに経口投与した。炭末投与30分後に胃を含む全小腸部を摘出し、炭末の移動度を測定した。

結果：全検体投与群において投与による影響は認められなかった。

## 5. 骨格筋に及ぼす影響

### 5.1. 懸垂動作試験

供試動物：ICR系雄マウス、体重26～32 g、1群8匹

方法：検体は0.5% CMC溶液中に懸濁して、300、1000及び3000 mg/kgを単回経口投与した。検体投与0.5、1、2及び4時間後に各マウスを前肢で針金に懸垂させ、後肢を針金に

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

10秒以内にかかる反応の有無を観察した。

結果：全検体投与群において投与による影響は認められなかった。

以上より、検体は中枢神経系に対して高用量で抑制傾向が認められるが、自律神経系、循環器系、消化器系及び骨格筋に対しては影響を及ぼさないと考えられた。

次表に試験結果のまとめを示す。

メパニピリム原体の生体の機能に及ぼす影響に関する試験の総括表

試験対象 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	測定項目	投与量 (mg/kg)	動物数 /1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 Irwin法 (マウス)	単回経口 (CMC)	一般症状	300, 1000 3000	雄/3	1000	3000	自発運動の軽度 低下、軽度の散睡 及び身振い行動 の減少が認め られた。
中枢神経系 (マウス)	単回経口 (CMC)	自発 運動量	300, 1000 3000	雄/18	1000	3000	投与後30~90分に 自発運動の有意な低 下が認められた。
中枢神経系 (マウス)	単回経口 (CMC)	電撃痙攣	300, 1000 3000	雄10	>3000	—	痙攣誘発作用は 認められなかった。
中枢神経系 (ラット)	単回経口 (CMC)	正常体温	300, 1000 3000	雄6	>3000	—	影響は認めら れなかった。
循環器系 (ラット)	単回経口 (CMC)	血圧、 心拍数	300, 1000 3000	雄6	>3000	—	影響は認めら れなかった。
自律神経系 平滑筋 (モット)	投与 (Krebs- Hensel- Eit液)	摘出回腸 収縮反応	$3 \times 10^{-6}$ $3 \times 10^{-7}$ $3 \times 10^{-6}$ g/ml	雄4	$>3 \times 10^{-6}$ g/ml	—	影響は認めら れなかった。
自律神経系 平滑筋 (ラット)	単回経口 (CMC)	瞳孔径	300, 1000 3000	雄6	>3000	—	影響は認めら れなかった。
消化器系 (マウス)	単回経口 (CMC)	腸管 輸送能	300, 1000 3000	雄8	>3000	—	影響は認めら れなかった。
骨格筋 (マウス)	単回経口 (CMC)	懸垂動作	300, 1000 3000	雄8	>3000	—	影響は認めら れなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

## 2. 代謝物及び原体混在物

### (1) 急性経口毒性

#### 1) 代謝物 M-1 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-39)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 124~136 g、雌 120~136 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

観察期間中、一般状態の異常は見られなかった。

観察期間中、全ての動物で体重が順調に増加した。

試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2) 代謝物 M-4 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-40)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1990 年

検体の純度 :

供試動物 : SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 141~155 g、雌 122~149 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果 : 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間及び終了時間	投与 3 日後~投与 3 日後
症状発現及び 消失時間	投与翌日~投与 7 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5000 雌 <5000

投与 3 日後に雌 1 例が死亡した。

一般状態の異常として、雌 2 例および雄 1 例で円背位および立毛が観察された。この雄ではさらに嗜眠及び運動失調が観察された。5 例の動物で、体重減少または体重増加抑制が認められた。死亡動物の剖検では肺の赤色化及び肝臓の暗色化が認められた。

試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) 代謝物 M-5 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 A-41)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 141~155 g、雌 122~149 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目: 一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。

観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果: 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 2000、2378、2828、3363、4000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雄 3943 (95%信頼限界: 2620~5934) 雌 4008 (95%信頼限界: 2623~6124)
死亡開始時間及び終了時間	投与 1 日後~投与 2 日後
症状発現及び消失時間	投与 30 分後~投与 6 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2828

投与 3 日後に雌 1 例が死亡した。一般状態の異常として、円背位、嗜眠、立毛及び眼瞼下垂で、付加的に呼吸数減少、運動失調及び正反射の喪失が観察された。少数例では鼻吻周囲の赤褐色の着色及び昏睡も認められた。観察期間中、全ての動物で体重減少または体重増加抑制が認められた。

死亡動物の剖検では肺の出血、赤色化及び肝臓の暗色化、腎臓の暗色化または蒼白化が認められた。試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

4) 代謝物 M-6 (混在物 I-2) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-42)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1990 年

検体の純度:

供試動物: SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 145~170 g、雌 122~153 g、1 群雌雄各 8 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目: 一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果: 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与 30 分後~投与 1 日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例はなかった。一般状態の異常として、円背位、嗜眠、立毛が観察された。さらに雌 1 例では眼瞼下垂、呼吸数減少、正反射の喪失が観察された。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。

試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

5) 代謝物 M-11 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-43)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、5～8 週齢、体重範囲 雄 136～146 g、雌 126～137 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例は無く、一般状態の異常も見られなかった。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

6) 代謝物 M-29 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-44)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、5～8 週齢、体重範囲 雄 136～170 g、雌 135～145 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晚絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例はなく、一般状態の異常も見られなかった。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

7) 代謝物 M-30 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-45)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1990 年

検体の純度 :

供試動物 : SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 149~176 g、雌 120~142 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果 : 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例は無く、一般状態の異常も見られなかった。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

8) 代謝物 M-31 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-46)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1990 年

検体の純度 :

供試動物 : SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 132~159 g、雌 133~154 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 動物を一晚絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果 : 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与 30 分後~ 投与 2 日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例はなかった。一般状態の異常として、円背位、嗜眠、立毛及び運動失調が観察された。少数例では、眼瞼下垂、正反射の喪失及び呼吸数減少も観察された。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

9) 代謝物 M-36 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-47)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、5～8 週齢、体重範囲 雄 136～156 g、雌 122～146 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晚絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与 2 時間後～ 投与 3 日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例はなかった。一般状態の異常として、全体に円背位、嗜眠が見られ、加えて立毛、運動失調、呼吸数減少が観察された。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。  
試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

10) 代謝物 M-37 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-48)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体の純度：

供試動物：F344 系ラット、5～8 週齢、体重範囲 雄 90～104 g、雌 76～85 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晩絶食後、検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース Na 溶液に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5000

死亡例はなく、一般状態の異常も見られなかった。観察期間中、各動物の体重は順調に増加した。試験終了時の剖検では肉眼的異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

11) 代謝物 M-39 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-49)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1993 年

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、5～8 週齢、体重範囲 雄 130～190 g、雌 130～158 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晚絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 1000、1414、2000、2828、4000、5657
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 >5000
死亡開始時間及び終了時間	検体投与に関連した死亡例なし (雄 1 例が共食いにより死亡)
症状発現及び消失時間	投与 30 分後～投与 4 日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄 5657 (検体投与に関連した死亡例がないため)

検体投与に関連した死亡はなかった。一般状態の異常として、運動失調、円背位、嗜眠、呼吸困難、呼吸数減少、正反射の喪失、昏睡がみられた。付加的または少数例に眼瞼下垂及びよろめき歩行が観察された。観察期間中、全ての動物で体重減少または体重増加抑制が認められた。試験終了時の剖検では肉眼的異常は認められなかった。なお、共食いにより死亡した動物は剖検を行わなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

12) 代謝物 M-41 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-50)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検体の純度 :

供試動物 : SD 系ラット、5~8 週齢、体重範囲 雄 126~159 g、雌 120~150 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : 動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果 : 結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 397、500、630、794、1000、1587、2519
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雄 955 (95%信頼限界 : 645~1413) 雌 1122 (95%信頼限界 : 749~1682)
死亡開始時間及び終了時間	投与 4 時間後~投与 3 日後
症状発現及び消失時間	投与 30 分後~投与 4 日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄 397 雌 500

一般状態の異常として、円背位、嗜眠及び眼瞼下垂で、加えて運動失調、呼吸困難、呼吸数減少、眼、口または鼻吻周囲の着色が認められた。少数例で、振戦、肛門周囲の血液による汚れ、過度の流涎、活動性増加、削瘦、よろめき歩行及び四肢の蒼白が観察された。観察期間中、雌 1 例で軽度の体重減少が見られた。その他の生存動物の体重は順調に増加した。死亡動物に共通して観察された剖検所見は、肺の出血、肝臓の暗色化または斑点状の蒼白化、腎臓の暗色化または蒼白化であった。更に、脾の蒼白化、胃のガスによる膨満、胃粘膜の出血または蒼白化及び大腸・小腸の出血が見られた。試験終了時の生存動物の剖検で、4 例に肝臓の暗色化が観察された。残りの生存動物の剖検では異常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および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

13) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 A-51)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

供試動物：SD 系ラット、5～8 週齢、体重範囲 雄 120～181 g、雌 120～146 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：動物を一晩絶食後、検体を落花生油中に懸濁させ、単回強制経口投与した。

観察項目：一般状態及び生死を 14 日間観察した。体重を投与直前、投与 7 及び 14 日後に測定した。  
観察終了時に全ての生存動物を剖検し、肉眼的異常を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄 1143, 1563, 2138, 2924, 4000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雄 977 (95%信頼限界：441～2164) 雌 522 (95%信頼限界：算出不可能)
死亡開始時間及び終了時間	投与 30 分後～投与 6 日後
症状発現及び 消失時間	投与 30 分後～投与 8 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 <1143

一般状態の異常として、円背位、立毛、嗜眠、呼吸数減少、眼瞼下垂、運動失調であった。加えて、痩衰、四肢の蒼白、昏睡、鼻吻または眼周囲の赤褐色の着色、振戦が見られた。観察期間中、全ての動物の体重減少及び体重増加抑制がみられた。

死亡動物に観察された剖検所見は、肺の出血、肺の赤色化、肝臓の暗色化または蒼白化、腎臓の暗色化、胃粘膜の出血であり、更に、脾の蒼白化、消化管に出血が見られた。試験終了時の生存動物の剖検では異常はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

14) 代謝物 M-1 の復帰変異原性試験

(資料 A-52)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して毒性作用が認められなかったため、5000 µg/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix 存在の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性はないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

3 プレーートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate*				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	26.3	12.3	96.0	13.0	20.3
検体	8.0	—	22.3	11.0	95.0	13.3	15.3
	40	—	23.7	15.0	103.0	11.0	21.7
	200	—	22.3	10.0 <sup>c</sup>	103.0	12.0	16.3
	1000	—	22.7	13.0	85.0	11.0	18.3
	5000	—	30.3	19.3	82.5 <sup>c</sup>	8.7	21.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG (2.0) 464.7	ENNG (5.0) 72.0	ENNG (3.0) 397.3	9AA (80.0) 410.7	4NQO (0.2) 180.3
対照 (DMSO)	—	+	25.3	14.0	105.3	12.7	24.0
検体	8.0	+	21.0	13.3	96.0	11.0	23.0
	40	+	24.3	10.7	105.0	13.0	22.3
	200	+	20.7	14.0	104.3	14.3	22.0
	1000	+	21.0	11.3	103.3	14.0	22.3
	5000	+	20.3	6.3	106.7	4.3	18.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (20.0) 532.0	2AA (2.0) 80.3	BP (5.0) 400.3	BP (5.0) 127.3	BP (5.0) 434.3

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    9AA : 9-Aminoacridine

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

陽性対照の項で、括弧内数値は処理濃度を示す。

c : コンタミしたプレートがあった為、2 プレーートの平均値

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	19.7	11.3	76.0	10.7	21.3
検体	8.0	—	22.7	11.3	74.0	8.7	17.7
	40	—	18.7	11.3	76.0	9.7	19.0
	200	—	19.3	11.7	76.7	9.7	18.0
	1000	—	15.7	10.7	77.0	8.0	19.0
	5000	—	23.7	7.0	74.0	6.0	13.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG	ENNG	ENNG	9AA	4NQO
			(2.0)	(5.0)	(3.0)	(80.0)	(0.2)
			444.0	112.3	354.7	426.3	144.7
対照 (DMSO)	—	+	23.7	12.7	103.7	13.7	25.7
検体	8.0	+	22.7	14.3	105.7	12.3	23.7
	40	+	23.7	13.3	100.3	12.7	30.0
	200	+	24.0	12.3	101.7	13.3	23.7
	1000	+	26.3	8.3	97.7	11.0	20.3
	5000	+	25.7	5.3	99.0	9.0	16.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	BP	BP	BP
			(20.0)	(2.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)
			587.0	96.3	464.0	164.0	382.7

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    9AA : 9-Aminoacridine

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

陽性対照の項で、括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

15) 代謝物 M-4 の復帰変異原性試験

(資料 A-53)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 2500  $\mu$ g/plate 以上の用量で毒性作用が認められたので、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix 存在の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	15.7	15.3	74.0	8.0	12.7
検体	8.0	—	15.0	14.0	78.0	5.7	12.0
	40	—	15.7	12.3	69.0	8.7	13.7
	200	—	13.3	12.0	76.3	5.3	9.7
	1000	—	12.0	12.0	54.0	5.0	8.0
	5000	—	3.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	4.0 <sup>T</sup>	2.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO (3.3) 629.5 <sup>c</sup>	MNNG (2.0) 572.3	MNNG (2.0) 849.0	9AA (50.0) 364.7	4NOPD (10.0) 688.0
対照 (DMSO)	—	+	23.0	15.0	76.3	8.0	25.3
検体	8.0	+	15.7	18.7	71.7	10.0	22.7
	40	+	15.7	10.3	71.3	6.7	25.0
	200	+	11.7	13.3	66.3	5.7	20.3
	1000	+	14.7	12.7	62.3	11.0	14.0
	5000	+	8.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 263.7	2AA (2.5) 100.0	2AA (2.5) 669.0	2AA (2.5) 91.3	2AA (2.5) 466.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine 4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine 2AA : 2-Aminoanthracene

T : バックグラウンドローンの希薄化を示したプレート

陽性対照の項で、括弧内数値は処理濃度を示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	20.7	13.0	86.0	11.3	19.7
検体	156.25	—	15.3	10.0	69.7	8.0	19.0
	312.5	—	16.3	13.3	68.0	7.0	15.7
	625	—	15.7	11.0	62.7	11.0	17.3
	1250	—	15.0	7.7	54.7	11.7	16.7
	2500	—	17.0	3.0 <sup>T</sup>	17.3 <sup>T</sup>	11.3 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
	5000	—	8.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	8.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			761.0	647.0	886.7	476.0	690.7
対照 (DMSO)	—	+	23.3	12.7	84.0	8.3	19.7
検体	156.25	+	23.3	10.7	70.3	6.7	20.0
	312.5	+	21.0	10.3	69.3	6.7	19.0
	625	+	23.0	13.0	71.0	7.7	17.0
	1250	+	21.7	11.3	63.7	8.7	19.0
	2500	+	15.0	2.0 <sup>T</sup>	20.7 <sup>T</sup>	7.0	14.0 <sup>T</sup>
	5000	+	9.3 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	1.7 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			360.3	113.0	823.0	128.3	504.7

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

T : バックグラウンドローンの希薄化を示したプレート

陽性対照の項で、括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

16) 代謝物 M-5

の復帰変異原性試験

(資料 A-54)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 1250  $\mu$ g/plate 以上の用量で毒性作用が認められたので、2000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1536	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	12.7	11.7	72.3	9.7	24.0
検体	3.5	—	14.3	10.0	74.0	9.3	21.0
	16	—	9.3	9.0	80.7	8.0	17.0
	80	—	11.7	13.0	67.3	9.3	19.0
	400	—	11.7	9.3	73.3	6.3	16.7
	2000	—	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			793.3	760.3	538.0	297.7	655.7
対照 (DMSO)	—	+	21.0	15.7	90.3	7.0	21.7
検体	3.5	+	24.0	16.0	90.7	9.3	20.7
	16	+	23.0	17.0	82.3	13.0	24.7
	80	+	21.0	13.7	83.0	11.7	20.7
	400	+	18.7	17.0	78.7	6.3	17.3
	2000	+	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			197.3	108.0	624.7	64.7	273.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminocanthracene

T : バックグラウンドローンの希薄化を示したプレート

陽性対照の項における括弧内数値は、処理濃度を示す

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	25.3	19.7	98.0	13.3	20.3
検体	62.5	—	24.7	12.7	87.7	13.3	21.3
	125	—	27.3	15.7	86.0	11.7	20.3
	250	—	16.7	14.7	88.0	13.0	20.7
	500	—	15.7	11.7	90.7	11.0	20.3
	1000	—	13.3	14.0	80.0	10.3	22.0
	2000	—	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	4.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			790.7	314.7	495.0	370.7	718.3
対照 (DMSO)	—	+	15.3	14.3	91.3	9.0	21.7
検体	62.5	+	22.0	12.0	76.0	9.3	22.3
	125	+	18.7	13.0	87.0	7.0	20.3
	250	+	22.0	12.3	69.0	6.3	24.0
	500	+	20.0	18.0	76.0	7.7	18.7
	1000	+	13.7	11.0	67.7	6.3	16.0
	2000	+	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			122.7	113.0	823.0	128.3	604.7

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

T : バックグラウンドローンの希薄化を示したプレート

陽性対照の項における括弧内数値は、処理濃度を示す

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

17) 代謝物 M-6

の復帰変異原性試験

(資料 A-55)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株(TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>)に対して 5000 μg/plate の用量で毒性作用が認められたので、5000 μg/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate*				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1635	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	14.0	13.0	69.3	8.3	20.3
検体	8.0	—	11.3	10.7	76.3	6.0	18.7
	40	—	8.0	13.7	74.0	5.7	15.0
	200	—	9.0	8.7	75.3	6.3	19.0
	1000	—	7.3	10.3	61.7	5.0	18.0
	5000	—	9.3	3.3	33.0	2.0 <sup>T</sup>	0.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			793.3	760.3	538.0	297.7	655.7
対照 (DMSO)	—	+	21.0	14.7	73.7	8.3	21.0
検体	8.0	+	19.0	14.3	71.7	10.7	18.0
	40	+	17.7	10.3	79.3	6.3	16.3
	200	+	22.3	14.7	63.3	8.0	15.0
	1000	+	20.0	11.0	71.0	7.3	13.0
	5000	+	14.3	2.7	41.0	6.0	9.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			197.3	108.0	624.7	64.7	273.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

T : バックグラウンドローンの希薄化を示したプレート

陽性対照の項における括弧内数値は、処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate*				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	19.3	12.3	78.3	6.7	19.7
検体	312.5	—	17.3	12.3	74.0	3.7	17.3
	625	—	14.0	12.0	70.0	5.3	19.3
	1250	—	11.0	9.7	65.0	4.0	19.3
	2500	—	15.7	10.7	52.3	7.3	16.0
	5000	—	6.7	6.3	37.7	2.7 <sup>T</sup>	3.0 <sup>T</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO (3.3)	MNNG (2.0)	MNNG (2.0)	9AA (50.0)	4NOPD (10.0)
			629.5 <sup>a</sup>	572.3	849.0	364.7	688.0
対照 (DMSO)	—	+	18.7	10.7	75.0	11.7	23.7
検体	312.5	+	17.0	11.0	70.7	11.0	17.7
	625	+	9.7	10.7	74.3	8.3	19.0
	1250	+	13.3	10.7	69.7	9.0	20.7
	2500	+	8.0	5.3	48.0	5.0	13.0
	5000	+	9.0	6.0	48.0	3.0	7.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0)	2AA (2.5)	2AA (2.5)	2AA (2.5)	2AA (2.5)
			669.0	100.0	669.0	91.3	466.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

T : バックグラウンドローンの希薄化を示したプレート

陽性対照の項における括弧内数値は、処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

18) 代謝物 M-11 の復帰変異原性試験

(資料 A-56)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったため、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では、S-9 Mix 存在下において TA98 株のコロニー数の増加が認められた。それ以外の株ではいずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は TA98 株に対し本試験条件下で復帰変異誘発性を有すると判定される。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	-	-	29.0	11.7	110.3	12.0	21.7
検体	8.0	-	20.7	10.7	95.0	13.7	19.7
	40	-	18.7	17.0	110.0	14.0	16.7
	200	-	26.0 <sup>c</sup>	12.3	99.7	14.5 <sup>c</sup>	21.7
	1000	-	19.3	14.0	92.7	13.3	18.0
	5000	-	21.7	19.0	92.3	13.3	20.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	-	ENNG (2.0) 464.7	ENNG (5.0) 72.0	ENNG (3.0) 397.3	9AA (80.0) 410.7	4NQO (0.2) 180.3
対照 (DMSO)	-	+	23.7	13.0	121.3	13.3	28.3
検体	8.0	+	23.0	14.3	123.7	14.7	30.0
	40	+	19.0	14.0	113.7	12.7	29.3
	200	+	22.3	12.7	113.0	15.3	29.3
	1000	+	23.7	15.0	110.3	14.0	38.7
	5000	+	25.7	16.3	120.3	16.3	96.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (20.0) 532.0	2AA (2.0) 80.3	BP (5.0) 400.3	BP (5.0) 127.3	BP (5.0) 434.3

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide

9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

C : コンタミしたプレートがあった為、2プレートの平均値

陽性対照の項における括弧内数値は、処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	22.7	10.7	93.7	7.3	21.7
検体	312.5	—	24.0	11.3	72.7	11.7	18.0
	625	—	20.3	13.3	77.3	8.7	18.3
	1250	—	15.3	12.0	74.0	11.3	19.0
	2500	—	19.7	11.3	76.3	11.0	17.3
	5000	—	18.7	14.7	74.3	9.3	16.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG	ENNG	ENNG	9AA	4NQO
			(2.0)	(5.0)	(3.0)	(80.0)	(0.2)
対照 (DMSO)	—	+	444.0	112.3	354.7	426.3	144.7
検体	312.5	+	25.3	14.0	101.0	11.3	26.7
	625	+	26.0	16.3	107.3	12.0	30.0
	1250	+	29.7	14.3	100.3	12.7	33.0
	2500	+	26.7	12.7	108.3	12.7	47.7
	5000	+	25.3	16.0	91.0	13.3	72.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	BP	BP	BP
			(20.0)	(2.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)
			587.0	96.3	464.0	164.0	382.7

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-Nitroquinolino N-oxide

9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

陽性対照の項における括弧内数値は、処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

19) 代謝物 M-29 の復帰変異原性試験

(資料 A-57)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup> 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったため、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では、S-9 Mix の有無にかかわらず TA98、TA100、TA1537 株のコロニー数の増加が認められた。それ以外の株ではいずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は TA98、TA100 及び TA1537 株に対し、本試験条件下で復帰変異誘発性を有すると判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	25.0	14.7	103.0	14.3	23.7
検体	8.0	—	28.0	16.3	116.0	45.3	267.0
	40	—	26.3	13.3	136.3	59.7	307.7
	200	—	20.3	16.0	143.3	57.0	372.3
	1000	—	20.0	14.0	200.0	53.7	432.0
	5000	—	23.7 <sup>P</sup>	12.0 <sup>P</sup>	201.7 <sup>P</sup>	67.7 <sup>P</sup>	685.3 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO (3.3) 623.3	MNNG (2.0) 487.7	MNNG (2.0) 664.7	9AA (50.0) 131.7	4NOPD (10.0) 1025.0
対照 (DMSO)	—	+	23.3	16.7	92.0	13.3	33.0
検体	8.0	+	27.7	12.3	103.7	35.0	173.3
	40	+	28.7	16.0	110.7	30.7	226.7
	200	+	25.0	13.7	150.3	59.3	450.0
	1000	+	20.7	15.7	185.0	50.7	591.3
	5000	+	17.0	15.0 <sup>P</sup>	209.0 <sup>P</sup>	62.7 <sup>P</sup>	778.0 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 164.0	2AA (2.5) 111.3	2AA (2.5) 936.3	2AA (2.5) 164.7	2AA (2.5) 342.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

P : 沈殿生成

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	23.7	19.7	83.7	12.7	27.7
検体	312.5	—	23.0	24.3	124.0	53.7	439.3
	625	—	21.3	20.7	137.3	59.7	679.3
	1250	—	24.7	20.3	181.1	75.0	699.7
	2500	—	20.7	20.3 <sup>P</sup>	203.7 <sup>P</sup>	67.3 <sup>P</sup>	806.3 <sup>P</sup>
	5000	—	17.0	18.3 <sup>P</sup>	239.0 <sup>P</sup>	83.7 <sup>P</sup>	786.3 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			790.7	328.0	495.0	370.7	718.3
対照 (DMSO)	—	+	22.0	23.3	86.3	9.3	23.7
検体	312.5	+	26.3	17.7	128.0	48.3	181.0
	625	+	22.7	15.0	138.3	60.7	244.3
	1250	+	25.7	18.3	185.3	63.3	422.3
	2500	+	22.7 <sup>P</sup>	16.0 <sup>P</sup>	242.7 <sup>P</sup>	69.0 <sup>P</sup>	538.7 <sup>P</sup>
	5000	+	18.7 <sup>P</sup>	14.0 <sup>P</sup>	251.0 <sup>P</sup>	80.7 <sup>P</sup>	784.0 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			122.7	113.0	823.0	128.3	504.7

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine 4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine 2AA : 2-Aminoanthracene

P : 沈殿生成

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

20) 代謝物 M-30 の復帰変異原性試験

(資料 A-58)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったため、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：

検体処理群では、S-9 Mix の有無にかかわらず TA98、TA100 株のコロニー数の増加が認められた。TA1537 株においても弱い反応が認められた。それ以外の株ではいずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は TA98、TA100、TA1537 株に対し、本試験条件下で復帰変異誘発性を有すると判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	21.7	13.7	85.0	14.3	32.3
検体	8.0	—	26.7	14.0	95.0	13.7	78.3
	40	—	23.7	16.7	102.0	16.3	90.7
	200	—	20.0	13.7	101.0	13.0	119.0
	1000	—	23.7	16.0	122.7	19.7	176.3
	5000	—	17.3 <sup>P</sup>	12.0 <sup>P</sup>	171.0 <sup>P</sup>	16.7 <sup>P</sup>	224.3 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			523.3	487.7	664.7	131.7	1025.0
対照 (DMSO)	—	+	23.3	19.3	94.3	14.0	36.0
検体	8.0	+	29.3	20.7	106.3	22.0	120.3
	40	+	19.7	16.3	110.3	23.7	120.0
	200	+	23.3	19.3	131.7	31.3	141.3
	1000	+	22.7	23.3	170.0	27.7	233.3
	5000	+	23.0 <sup>P</sup>	13.3 <sup>P</sup>	253.0 <sup>P</sup>	29.0 <sup>P</sup>	363.3 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			164.0	111.3	936.3	164.7	342.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminanthracene

P : 沈殿生成

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	27.0	17.7	85.0	11.0	31.0
検体	312.5	—	19.3	16.7	88.3	14.0	86.0
	625	—	13.7	13.7	81.3	17.0	130.7
	1250	—	16.7 <sup>P</sup>	17.3 <sup>P</sup>	85.0 <sup>P</sup>	12.7 <sup>P</sup>	169.3 <sup>P</sup>
	2500	—	21.0 <sup>P</sup>	17.3 <sup>P</sup>	121.3 <sup>P</sup>	13.0 <sup>P</sup>	295.0 <sup>P</sup>
	5000	—	19.3 <sup>P</sup>	13.7 <sup>P</sup>	139.0 <sup>P</sup>	20.7 <sup>P</sup>	392.0 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			790.7	328.0	495.0	370.7	718.3
対照 (DMSO)	—	+	23.7	13.3	78.7	10.0	26.7
検体	312.5	+	24.7	13.0	115.7	10.3	95.7
	625	+	26.7	15.7	115.7	12.7	104.3
	1250	+	21.3 <sup>P</sup>	14.3 <sup>P</sup>	122.3 <sup>P</sup>	16.7 <sup>P</sup>	136.7 <sup>P</sup>
	2500	+	19.3 <sup>P</sup>	15.0 <sup>P</sup>	162.7 <sup>P</sup>	16.7 <sup>P</sup>	221.3 <sup>P</sup>
	5000	+	19.7 <sup>P</sup>	10.7 <sup>P</sup>	176.0 <sup>P</sup>	19.0 <sup>P</sup>	313.7 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			122.7	113.0	823.0	128.3	504.7

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

P : 沈殿生成

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

21) 代謝物 M-31 の復帰変異原性試験

(資料 A-59)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量で毒性作用が認められたので、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	12.3	12.0	73.0	9.3	21.3
検体	8.0	—	17.0	14.0	72.7	13.3	18.3
	40	—	13.0	12.3	77.0	9.3	17.7
	200	—	14.7	8.0	81.3	11.3	17.0
	1000	—	11.0	10.3	76.7	9.3	18.7
	5000	—	10.3	5.3	55.0	7.7	9.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO (3.3) 793.3	MNNG (2.0) 760.3	MNNG (2.0) 538.0	9AA (50.0) 297.7	4NOPD (10.0) 655.7
対照 (DMSO)	—	+	22.3	18.0	91.3	14.3	21.3
検体	8.0	+	23.3	17.3	89.7	11.3	27.0
	40	+	22.0	16.0	86.3	12.0	23.3
	200	+	22.0	14.3	78.3	9.0	20.7
	1000	+	20.0	13.3	91.0	8.7	28.0
	5000	+	17.7	15.3	82.3	5.7	15.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 197.3	2AA (2.5) 108.0	2AA (2.5) 624.7	2AA (2.5) 64.7	2AA (2.5) 273.0

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	23.0	24.3	83.7	12.7	26.3
検体	312.5	—	21.0	21.3	76.7	13.0	25.7
	625	—	21.0	24.0	80.0	12.3	27.3
	1250	—	19.3	18.0	81.0	9.3	25.7
	2500	—	20.7	14.7	68.0	12.3	20.7
	5000	—	13.3	14.0	73.3	8.7	16.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO	MNNG	MNNG	9AA	4NOPD
			(3.3)	(2.0)	(2.0)	(50.0)	(10.0)
			790.7	328.0	495.0	370.7	718.3
対照 (DMSO)	—	+	20.0	11.3	88.0	8.0	20.3
検体	312.5	+	15.7	12.0	81.7	7.7	25.0
	625	+	21.7	12.0	72.0	6.7	22.0
	1250	+	18.7	15.7	75.3	5.7	16.0
	2500	+	14.0	10.7	69.0	8.0	19.0
	5000	+	9.3	10.7	67.7	6.0	18.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
			(10.0)	(2.5)	(2.5)	(2.5)	(2.5)
			122.7	113.0	823.0	128.3	504.7

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide    MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine    4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine    2AA : 2-Aminoanthracene

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

22) 代謝物 M-36 の復帰変異原性試験

(資料 A-60)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1991 年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA1538 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったため、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果 : 結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	—	—	19.7	15.3	137.3	13.0	20.7	17.7
検体	8.0	—	16.3	19.7	150.0	13.7	19.0	17.0
	40	—	13.3	12.0	144.0	13.7	24.3	19.7
	200	—	15.3	12.7	136.3	16.0	27.0	17.3
	1000	—	18.0 <sup>c</sup>	18.7	148.7	12.0	22.0	18.0
	5000	—	12.3	19.0	140.7	12.0	22.7	18.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG	ENNG	ENNG	9AA	4NOPD	4NQO
			(2.0)	(5.0)	(3.0)	(80.0)	(5.0)	(0.2)
			430.3	168.3	624.0	895.0	351.0	185.0
対照 (DMSO)	—	+	18.7	15.7	146.0	15.0	23.3	26.7
検体	8.0	+	15.0	13.3	138.3	14.0 <sup>c</sup>	14.7	19.7
	40	+	19.7	14.0	165.0 <sup>c</sup>	14.0	23.0	23.0
	200	+	16.0	14.0 <sup>c</sup>	148.3	13.3	21.3	19.0
	1000	+	16.0	11.0	139.3	13.0	20.7	20.3
	5000	+	17.0	14.0	140.7	13.0	20.0	20.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	BP	BP	BP	BP
			(10.0)	(2.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)
			188.3	177.0	408.3	99.3	171.3	178.3

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide      MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine      4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine      2AA : 2-Aminoanthracene

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine      BP : Benzo(a)pyrene

C : コンタミしたプレートがあった為、2プレートの平均値

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	—	—	14.0	14.3	171.7	12.7	16.0	19.3
検体	312.5	—	14.7	15.0	160.0	13.7	20.0	17.0
	625	—	11.0	14.0	142.3	12.7	15.7	21.0
	1250	—	13.0	14.7	160.3	10.7	18.7	20.0
	2500	—	13.7 <sup>c</sup>	13.3	179.3	10.0	17.0 <sup>c</sup>	23.7
	5000	—	13.0	14.3	164.0	14.0	17.7	18.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG (2.0)	ENNG (5.0)	ENNG (3.0)	9AA (80.0)	4NOPD (5.0)	4NQO (0.2)
対照 (DMSO)	—	+	309.0	214.7	582.7	665.7	417.7	225.0
検体	312.5	+	13.3	13.3	133.7	15.0	21.5 <sup>c</sup>	31.3
	625	+	16.7	15.0	136.3	15.3	19.0	27.0
	1250	+	15.7	11.7	136.3	15.7	19.0	31.3
	2500	+	16.7	13.0 <sup>c</sup>	126.0	13.3	22.3	28.7
	5000	+	15.7	11.7	129.3	12.7	21.0	20.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	14.0	12.0	135.3	12.7	21.3	26.3
			2AA (10.0)	2AA (2.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)	BP (5.0)
			239.0	197.0	382.0	105.7	167.7	346.7

4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide      MNNG : N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9AA : 9-Aminoacridine      4NOPD: 4-Nitro-O-phenylenediamine      2AA : 2-Aminoanthracene

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine      BP : Benzo(a)pyrene

C : コンタミしたプレートがあった為、2プレートの平均値

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

23) 代謝物 M-37 の復帰変異原性試験

(資料 A-61)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

予備試験の結果、使用菌株 に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったので、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：検体処理群では S-9 Mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1636	TA100	TA1637	TA98
対照 (DMSO)	—	—	38	16	115	5	21
検体	156	—	30	16	108	8	20
	313	—	35	13	94	5	25
	625	—	29 <sup>P</sup>	18 <sup>P</sup>	98 <sup>P</sup>	7 <sup>P</sup>	18 <sup>P</sup>
	1250	—	32 <sup>P</sup>	11 <sup>P</sup>	97 <sup>P</sup>	5 <sup>P</sup>	10 <sup>P</sup>
	2500	—	35 <sup>P</sup>	13 <sup>P</sup>	100 <sup>P</sup>	1 <sup>P</sup>	5 <sup>P</sup>
	5000	—	32 <sup>P</sup>	17 <sup>P</sup>	94 <sup>P</sup>	5 <sup>P</sup>	13 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	AF-2 (0.01) 118	NaN <sub>3</sub> (0.5) 460	AF-2 (0.01) 621	9AA (80.0) 619	AF-2 (0.1) 440
対照 (DMSO)	—	+	33	14	127	17	30
検体	156	+	26	18	151	7	28
	313	+	33	18	135	9	25
	625	+	33	17	123	11	26
	1250	+	38 <sup>P</sup>	9 <sup>P</sup>	123 <sup>P</sup>	7 <sup>P</sup>	22 <sup>P</sup>
	2500	+	32 <sup>P</sup>	11 <sup>P</sup>	123 <sup>P</sup>	4 <sup>P</sup>	22 <sup>P</sup>
	5000	+	34 <sup>P</sup>	11 <sup>P</sup>	113 <sup>P</sup>	6 <sup>P</sup>	20 <sup>P</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 697	2AA (2.0) 383	2AA (1.0) 624	2AA (2.0) 104	2AA (0.5) 355

2AA : 2-Aminoanthracene 9AA : 9-Aminoacrydine

P : 検体の析出が認められた。

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

24) 代謝物 M-39 の復帰変異原性試験

(資料 A-62)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解させた。予備試験の結果、使用菌株(TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>)に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったため、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では、S-9 Mix の有無に関係なく、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下において復帰変異誘発性を有しないと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

3 プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	11.7	11.0 <sup>c</sup>	128.0	7.5 <sup>c</sup>	18.3
検体	8.0	—	12.3	11.0	153.3	7.3	15.0 <sup>c</sup>
	40	—	11.0	8.7	133.0	8.0	15.3
	200	—	11.0	14.3	142.0	8.7	15.5 <sup>c</sup>
	1000	—	10.0	7.7	133.3	6.7	18.3
	5000	—	11.3	10.0	138.3	6.3	10.5 <sup>c</sup>
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG	ENNG	ENNG	9AA	4NQO
			(2.0)	(5.0)	(3.0)	(80.0)	(0.2)
			180.0	115.7	439.0	836.7	156.3
対照 (DMSO)	—	+	17.7	11.0	154.7	10.7	17.0
検体	8.0	+	25.3	12.3	132.7	7.3	17.3
	40	+	18.3	9.0	148.3	9.7	17.3
	200	+	13.7	8.7	138.0	13.0	16.3
	1000	+	18.0	8.3	131.7	10.3	18.3
	5000	+	13.3	9.0	146.0	7.0	17.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	BP	BP	BP
			(10.0)	(2.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)
			212.3	130.0	412.7	138.7	156.3

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide

9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

C : コンタミしたプレートがあった為、2プレートの平均値

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2回目			3プレートの平均値				
薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	21.3	12.7	156.0	9.0	16.0
検体	312.5	—	22.7	14.3	164.0	7.3	16.7
	625	—	21.0	11.7	167.3	8.3	17.7
	1250	—	16.3	14.0	168.7	8.0	17.3
	2500	—	17.7	13.3	169.7	6.7	15.3
	5000	—	16.3	12.7	173.0	8.0	16.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG (2.0) 189.3	ENNG (5.0) 179.7	ENNG (3.0) 576.3	9AA (80.0) 757.7	4NQO (0.2) 116.0
対照 (DMSO)	—	+	17.3	16.0	147.3	13.3	25.7
検体	312.5	+	19.0	18.0	121.0	11.0	25.7
	625	+	17.0	11.0	136.7	12.7	19.0
	1250	+	20.3	13.3	123.0	14.0	21.3
	2500	+	17.7	14.7	133.0	10.3	19.3
	5000	+	18.3	17.5 <sup>c</sup>	127.3	9.7	21.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 204.7	2AA (2.0) 140.0	BP (5.0) 432.0	BP (5.0) 130.7	BP (5.0) 166.3

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide

9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

C : コンタミしたプレートがあった為、2プレートの平均値

陽性対照の項における括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

25) 代謝物 M-41 の復帰変異原性試験

(資料 A-63)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 5000  $\mu$ g/plate の用量でも毒性作用が認められなかったため、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

検体処理群では、S-9 Mix の有無に関係なく、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下において復帰変異誘発性を有しないと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	18.3	16.0	122.7	9.0	21.3
検体	8.0	—	21.7	14.3	130.0	4.3	16.0
	40	—	21.3	16.0	119.3	10.3	19.7
	200	—	17.3	14.3	124.0	6.3	16.0
	1000	—	18.3	17.3	112.0	4.0	15.3
	5000	—	21.0 <sup>c</sup>	18.5 <sup>e</sup>	125.0	8.3	15.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG (2.0) 188.0	ENNG (5.0) 271.7	ENNG (3.0) 592.3	9AA (80.0) 557.3	4NQO (0.2) 172.3
対照 (DMSO)	—	+	28.0	14.0	124.0 <sup>c</sup>	14.7	27.0
検体	8.0	+	20.0	12.3	114.7	11.7	20.7
	40	+	18.0	15.7	123.3	14.7	24.3
	200	+	18.0	20.3	95.3	12.7	19.7
	1000	+	21.0	20.0	104.7	9.7	18.7
	5000	+	20.0	18.7	118.7	10.7	15.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 384.7	2AA (2.0) 178.0	BP (5.0) 704.0	BP (5.0) 131.7	BP (5.0) 306.3

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide

9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

C : コンタミしたプレートがあった為、2プレートの平均値

陽性対照の項において括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2回目

3プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1536	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	19.3	10.7	113.0	9.0	16.3
検体	312.5	—	18.0	10.7	110.7	12.0	14.7
	625	—	12.3	11.7	105.3	10.7	9.7
	1250	—	17.7	6.3	109.3	10.0	9.7
	2500	—	11.7	11.3	105.3	10.3	11.3
	5000	—	14.0	14.7	102.7	8.3	16.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	ENNG	ENNG	ENNG	9AA	4NQO
			(2.0) 796.7	(5.0) 300.7	(3.0) 625.0	(80.0) 463.3	(0.2) 148.3
対照 (DMSO)	—	+	24.0	14.3	129.7	18.3	20.0
検体	312.5	+	20.3	11.0	124.3	14.7	19.7
	625	+	22.7	11.0	112.7	11.0	22.3
	1250	+	19.3	8.3	106.3	14.0	18.3
	2600	+	25.0	11.0	97.0	11.7	21.0
	5000	+	24.0	18.7	122.0	9.0	15.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA	2AA	BP	BP	BP
			(10.0) 154.7	(2.0) 183.3	(5.0) 255.3	(5.0) 113.0	(5.0) 354.3

ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-Nitroquinoline N-oxide

9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene    BP : Benzo(a)pyrene

陽性対照の項において括弧内数値は処理濃度をしめす。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

26) の復帰変異原性試験

(資料 A-64)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia Coli* WP2uvrA<sup>-</sup>株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。予備試験の結果、使用菌株 (TA100 及び WP2uvrA<sup>-</sup>) に対して 1250  $\mu$ g/plate の用量で軽度の毒性作用が認められたので、5000  $\mu$ g/plate を最高用量とした。試験は実施日を変えて 2 回行った。

結果：検体処理群では、S-9 Mix の有無に関係なく、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下において復帰変異誘発性を有しないと判定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

3 プレートの平均値

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	14.7	12.7	74.0	6.7	19.7
検体	8.0	—	16.0	11.0	70.7	6.7	17.0
	40	—	16.0	11.0	77.0	6.7	16.3
	200	—	12.3	11.7	72.3	9.7	18.7
	1000	—	12.3	3.0	19.7	6.3	11.0
	5000	—	11.0	4.0	12.7	2.3	11.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO (3.3) 629.5 <sup>c</sup>	MNNG (2.0) 572.3	MNNG (2.0) 849.0	9AA (50.0) 364.7	4NOPD (10.0) 688.0
対照 (DMSO)	—	+	16.3	16.7	78.3	9.7	28.7
検体	8.0	+	17.0	13.3	76.0	8.0	25.0
	40	+	15.3	11.3	72.7	8.7	26.7
	200	+	16.0	9.0	77.0	6.0	18.7
	1000	+	19.3	6.3	53.7	6.3	13.7
	5000	+	13.0	4.7	25.0	4.0	7.3
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 263.7	2AA (2.5) 100.0	2AA (2.5) 669.0	2AA (2.5) 91.3	2AA (2.5) 466.0

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-nitroquinoline N-oxide

4NOPD: 4-nitro-O-phenylenediamine    9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene

C : コンタミしたプレートがあったため、2プレートの平均値

陽性対照の項において括弧内数値は処理濃度を示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2 回目			3 プレーートの平均値				
薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA <sup>-</sup>	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	—	—	21.3	14.3	77.7	8.3	19.0
検体	312.5	—	13.3	12.7	81.7	10.3	17.7
	625	—	15.7	13.7	73.7	7.0	15.7
	1250	—	16.7	10.7	50.7	6.7	14.7
	2500	—	11.0	3.7	19.0	4.3	9.7
	5000	—	18.7	4.0	30.0	4.3	11.0
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	—	4NQO (3.3) 900.0	MNNG (2.0) 647.0	MNNG (2.0) 886.7	9AA (50.0) 476.0	4NOPD (10.0) 690.7
対照 (DMSO)	—	+	13.3	15.0	74.0	10.3	20.0
検体	312.5	+	9.3	13.0	87.7	7.7	15.3
	625	+	11.3	13.0	73.3	9.3	15.3
	1250	+	12.3	7.7	54.3	8.7	17.3
	2500	+	13.3	4.0	27.3	4.7	9.3
	5000	+	9.0	5.7	26.3	4.0	8.7
陽性 対照	化合物名 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	+	2AA (10.0) 122.7	2AA (2.5) 113.0	2AA (2.5) 823.0	2AA (2.5) 128.3	2AA (2.5) 504.7

MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine    4NQO : 4-nitroquinoline N-oxide

4NOPD: 4-nitro-O-phenylenediamine    9AA : 9-Aminoacridine    2AA : 2-Aminoanthracene

陽性対照の項において括弧内数値は処理濃度を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

27) 代謝物 M-11 のチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL) における *in vitro* 染色体異常試験

(資料 A-71)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

試験方法: チャイニーズハムスターの継代した肺線維芽細胞 (CHL) を用いた。検体をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。予備試験として細胞毒性試験を実施し、試験細胞に S-9 Mix 存在下及び S-9 Mix 非存在下の 6 時間処理では 21.5~2750  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 8 用量で処理した。S-9 Mix 非存在下における 24 時間処理では 21.5~1375  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 8 用量、更に、48 時間処理では 10.7~1375  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 9 用量を処理した。その結果、有糸分裂抑制がみられた。

観察可能な最高濃度と、それ以下の 2 用量の中期分裂像について検定した。各試験方法における処理濃度を次表に示す。

試験方法	処理時間	検体処理後 標本作製時間	処理濃度、 $\mu\text{g}/\text{mL}$
代謝非活性化	6 時間	24 時間	343.8, 687.5, 1375
代謝活性化	6 時間	24 時間	343.8, 687.5, 1375
代謝非活性化	24 時間	24 時間	85.9, 171.9, 257.8
代謝非活性化	48 時間	48 時間	85.9, 171.9, 343.8

各濃度で 1 プレート当たり 100 個の中期分裂像を、溶媒対照については 4 プレート、その他では 2 プレート観察した。染色体損傷はギャップ、染色分体型切断、染色体型切断、染色分体型交換、染色体型交換、その他に分類し計測した。倍数性の出現についても計測した。Fisher の検定を用い、溶媒対照と比べ有意に高い値を持たないものを陰性とした。陽性対照として代謝非活性化では mitomycin C 及び carbendazin、代謝活性化では cyclophosphamide を用いた。

結果: 結果を次頁以降の表に示す。

代謝活性化の有無にかかわらず、全ての試験の最高用量において、染色体異常を示す細胞の有意な増加が認められた。倍数体の有意で、背景データを上回る発生率の増加は認められなかった。一方、陽性対照の mitomycin C、carbendazin 及び cyclophosphamide では、異常細胞出現頻度の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体はチャイニーズハムスターの肺線維芽細胞において代謝活性化の有無にかかわらず染色体異常誘発性を示すと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処理 時間	標本 作成 時間	観察 細胞 数	S-9 Mix	倍数体※		構造的異常※							判定	
							判定	ギャップ	染色体型		染色体型		その他	異常細胞総数		
									ctb	cte	csb	cse		ギャップ含まない		ギャップ含む
陰性対照		6	24	200	+	4 (2)	NR	4 (2)	0	0	1 (0.5)	0	0	1 (0.5)	5 (2.5)	NR
溶媒対照(DNCB)	10 $\mu\text{L/mL}$			400		9 (2.25)	NR	4 (1)	2 (0.5)	1 (0.25)	3 (0.75)	0	0	6 (1.5)	10 (2.5)	NR
検 体	343.8			200		5 (2.5)	-	0	3 (1.5)	2 (1)	3 (1.5)	0	0	6 (3)	6 (3)	-
	687.5			200		14 (7)	- **	2 (1)	2 (1)	0	2 (1)	0	0	4 (2)	6 (3)	-
	1375			200		11 (5.5)	-	10 (5)	18 (9)	9 (4.5)	5 (2.5)	0	0	25 (12.5)	32 (16)	+ ***
陽性対照(CP)	10			197		NR	NR	13 (6.6)	79 (40.1)	94 (47.7)	37 (18.8)	0	10 (5.1)	128 (65.0)	130 (65.0)	+ ***
陰性対照		8	24	200	-	7 (3.5)		1 (0.5)	1 (0.5)	2 (1)	0	1 (0.5)	2 (1)	5 (2.5)	6 (3)	NR
溶媒対照(DNCB)	10 $\mu\text{L/mL}$			400		15 (3.75)		4 (1)	2 (0.5)	3 (0.75)	0	1 (0.25)	2 (0.5)	8 (2)	12 (3)	NR
検 体	343.8			200		2 (1)	-	4 (2)	0	0	0	5 (2.5)	5 (2.5)	8 (4)	8 (4)	-
	687.5			200		4 (2)	-	6 (3)	3 (1.5)	4 (2)	0	2 (1)	8 (4)	12 (6)	12 (6)	-
	1375			200		5 (2.5)	-	11 (5.5)	8 (4)	22 (11)	2 (1)	1 (0.5)	2 (1)	32 (16)	38 (19)	+ ***
陽性対照(MMC)	0.4			200		NR	NR	8 (4)	15 (7.5)	44 (22)	1 (0.5)	1 (0.5)	5 (2.5)	58 (29)	60 (30)	+ ***
陽性対照(CB)	12	200	50 (25)	+ ***	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR		
陰性対照		24	24	200	-	3 (1.5)	NR	2 (1)	13 (6.5)	1 (0.5)	0	0	0	14 (7)	16 (8)	NR
溶媒対照(DNCB)	10 $\mu\text{L/mL}$			400		4 (1)	NR	0	12 (3)	1 (0.25)	1 (0.25)	0	0	14 (3.5)	14 (3.5)	NR
検 体	85.9			200		2 (1)	-	0	10 (5)	1 (0.5)	0	0	0	10 (5)	10 (5)	-
	171.9			200		0	-	1 (0.5)	2 (1)	0	0	0	0	2 (1)	3 (1.5)	-
	257.8			181		3 (1.6)	-	1 (0.6)	16 (9.2)	1 (0.5)	1 (0.6)	0	0	18 (10.3)	19 (10.3)	+ **
陽性対照(MMC)	0.2			200		NR	NR	0	24 (12)	12 (6)	1 (0.5)	0	1 (0.5)	34 (17)	34 (17)	+ ***
陽性対照(CB)	12	200	163 (81.5)	+ ***	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR			
陰性対照		48	48	200	-	1 (0.5)	NR	0	0	0	0	0	0	0	0	NR
溶媒対照(DNCB)	10 $\mu\text{L/mL}$			400		5 (1.25)	NR	0	2 (0.5)	0	0	0	0	2 (0.5)	2 (0.5)	NR
検 体	85.9			200		1 (0.5)	-	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	171.9			200		4 (2)	-	0	2 (1)	0	0	0	0	2 (1)	2 (1)	-
	343.8			200		7 (3.5)	-	1 (0.5)	12 (6)	1 (0.5)	0	0	0	13 (6.5)	14 (7)	+ ***
陽性対照(MMC)	0.2			200		NR	NR	0	28 (14)	15 (7.5)	8 (4)	0	0	41 (20.5)	41 (20.5)	+ ***
陽性対照(CB)	12	200	184 (92)	+ ***	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR			

※カッコ内の数値は発生率

\*\* :  $p < 0.01$  \*\*\* :  $p < 0.001$  (Fisherの確率検定)

異常 ctb : 染色体型切断、cte : 染色体型交換、csb : 染色体型切断、cse : 染色体型交換

陽性対照 MMC : Mitomycin C、CP : Cyclophosphamide、CB : Carbenidazin

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

28) 代謝物 M-11 のマウスを用いた小核試験

(資料 A-72)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

試験動物：BDF1 系雄マウス、1 群各 6 匹、9 週齢 (体重 25.8~28.7 g)

試験方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース Na 溶液中に懸濁し、マイクロシリンジを用いて腹腔内に 1 回投与した。陰性対照物質として溶媒を用いた。陽性対照物質として mytomicin C を用いた。

陽性対照群は投与 24 時間後、検体投与群及び陰性対照群は投与開始 48 時間後にマウスを屠殺し大腿骨より骨髓細胞の塗抹標本を作成した。標本をメタノール固定し、Giemsa 染色した後、鏡検により各動物の観察赤血球 200 個中の多染性赤血球の割合、多染性赤血球 1000 個中の小核出現頻度を計測した。

用量設定根拠：同一試験機関による予備試験により、およそ 2600 mg/kg が腹腔内投与での最大耐量と考えられたため最高用量とし、以下公比 2 で除した 2 濃度を中用量、低用量とした。

結果：結果を次表に示す。

屠殺時間	薬剤	投与量※ (mg/kg)	多染性赤血球数 /観察赤血球数 (%の平均)	小核多染性 赤血球出現頻度# 平均±S. D.	小核細胞数 の範囲
48 時間	溶媒対照	—	58.0±7.8	0.17±0.15	0-4
	検体	650	60.1±3.7	0.32±0.20	1-7
		1300	46.4±14.1	0.18±0.15	0-4
		2600	29.4±8.3▼	0.40±0.14△	2-6
24 時間	陽性対照	2	38.0±8.9▼	6.88±1.43▲	51-91

※：検体純度換算した値

陽性対照：mytomicin C

△：p<0.05 ▲▼：p<0.01 (kastenbaum and Bowman の推計学的方法、または Dunnett の t 検定)

#：多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有するものの数

陽性対照群では多染性赤血球数が有意に減少し、多染性赤血球中の小核数が有意に増加した。一方、検体投与群では 2600 mg/kg 群で多染性赤血球数が有意に減少し、陽性対照群ほどではないが多染性赤血球中の小核数が有意に増加した。なお、陽性対照群における小核細胞数が増加した。

以上の結果から、検体は骨髓細胞に対し小核誘発性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

29) 代謝物 M-11 のマウスを用いた小核試験

(資料 A-89)

試験機関：-

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

試験動物：BDF1 系雄マウス、1 群各 6 匹、9 週齢 (体重 26.4~28.5 g)

試験方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース Na 溶液中に懸濁し、マイクロシリンジを用いて腹腔内に 1 日 1 回 2 日間投与した。陰性対照物質として溶媒を用いた。陽性対照物質として mytomicin C を用い、1 回投与した。

陽性対照群は投与 24 時間後、検体投与群及び陰性対照群は投与開始 48 時間後にマウスを屠殺し大腿骨より骨髓細胞の塗抹標本を作成した。標本をメタノール固定し、Giemsa 染色した後、鏡検により各動物の観察赤血球 1000 個中の多染性赤血球の割合、多染性赤血球 1000 個中の小核出現頻度を計測した。

用量設定根拠：

結果：結果を次表に示す。

屠殺時間	薬剤	投与量 (mg/kg)	多染性赤血球数 / 観察赤血球数 (%の平均)	小核多染性赤血球出現頻度 # 平均±S. D.	小核細胞数の範囲
48 時間	溶媒対照	-	53.8±5.4	0.20±0.19	0-5
	検体	375	69.5±4.3	0.15±0.10	0-3
		750	31.6±5.5▼	0.20±0.21	0-6
		1500	15.6±2.4▼	0.35±0.18	1-5
24 時間	陽性対照	2	34.4±6.1▼	7.55±1.56▲	56-93

陽性対照：mytomicin C

△：p<0.05 ▲▼：p<0.01 (kastenbaum and Bowman の推計学的方法、または Dunnett の t 検定)

#：多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有するものの数

陽性対照群では多染性赤血球数が有意に減少し、多染性赤血球中の小核数が有意に増加した。一方、検体投与群では 750 及び 1500 mg/kg 群で多染性赤血球数が有意に減少した。検体投与群では多染性赤血球中の小核数は陰性対照群と同等の値であった。

以上の結果から、検体は骨髓細胞に対し小核誘発性を有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

30) 代謝物 M-11 の *in-vivo-in-vitro* 不定期 DNA 合成試験

(資料 A-88)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

検体の純度：

試験動物：SD 系雄ラット、8 週齢、投与時体重 301～350 g

1 群 3 匹×7 群（無処理対照、検体投与群×4、陽性対照群×2）

試験方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース Na(CMC-Na) 溶液中に懸濁し、500 及び 2000 mg/kg を強制経口投与した。Butterworth と Mirsali's の方法に基づき、2 時間後または 16 時間後にラットを屠殺し、各動物の肝細胞を単離した。これら肝細胞を chamber slide に移し ( $1 \times 10^6$  cells/well, 2 wells/rat)、370 kBq/mL の methyl- $^3\text{H}$ -thymidine を含む培地を添加して 4 時間培養後、非標識の thymidine を含む培地に置換して 18 時間培養した。細胞を酢酸/エタノール溶液 (1:3) で固定し、autoradiographic emulsion を添加した。chamber slide 当たり 50 個 (=ラット 1 匹あたり 100 個) の細胞を観察し、(核内に見える粒子数) - (細胞質内に見える粒子数) の値を求めた。

尚、陽性対照として、2-AAF (2-acetylaminofluorene) をコーンオイルに懸濁させ投与した群と、DMN(dimethylnitrosamine) を注射用水に懸濁させ投与した群とを設定した。これらは検体投与群と同様の操作を行った。

用量設定根拠：

試験結果：結果を次頁の表に示す。

検体投与群は対照群と同様に、核内の粒子と細胞質内の粒子がほぼ同数であることから、培養期間中における DNA 合成量は対照群と同等であったと考えられた。一方、陽性対照群では核内の粒子は細胞質内の粒子よりも多いことから、DNA 合成量が対照群よりも多く、従って、不定期な DNA 合成が行われていたと考えられた。尚、屠殺までの各動物の体重は順調な増加を示した。

以上から、検体はラット肝細胞に対し、不定期 DNA 合成能を有しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

群	投与量 (mg/kg)	投与後～ 屠殺までの 時間(hr)	動物 番号	核内の粒子数 (細胞 100 個の 平均)①	細胞質内の 粒子数(細胞 100 個の平均)②	①-②
対照群	—		10101	3.19	3.58	-0.39
			10102	3.21	3.33	-0.12
			10103	3.62	3.91	-0.29
検体投与群	500	2	10201	3.57	4.13	-0.56
			10202	2.98	3.26	-0.28
			10203	3.21	3.56	-0.35
		16	10301	3.67	4.16	-0.49
			10302	3.65	3.65	0.00
			10303	3.92	3.96	-0.04
	2000	2	10401	4.15	4.10	0.05
			10402	4.70	4.99	-0.29
			10403	4.55	4.72	-0.17
		16	10501	3.71	4.16	-0.45
			10502	4.90	5.25	-0.35
			10503	2.87	2.99	-0.12
陽性 対照群	DMN 10	2	10601	13.42	2.61	10.81
			10602	14.32	2.34	11.98
			10603	11.47	2.40	9.07
	2-AAF 50	16	10701	12.56	3.35	9.21
			10702	12.40	3.07	9.33
			10703	10.83	2.65	8.18

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

31) 代謝物 M-11 のラットを用いた SCG 試験 (コメットアッセイ)

(資料 A-90、A-91)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2013 年

検体の純度:

試験動物: F344 系雌ラット、1 群各 5 匹、8 週齢 (体重 120~130 g)

試験方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース Na 溶液中に懸濁し、投与用量 0、500、1000 および 2000 mg/kg を動物に 2 回強制経口投与した。2 回目の投与は初回投与後 21 時間 (屠殺前 3 時間) に行った。陽性対照物質として ethyl methansulfonate (EMS) を、陰性対照物質として溶媒を用いた。陽性対照群には EMS 200 mg/kg を被験物質投与同様に 2 回強制経口投与した。陰性対照群には同容量 (10 mL/kg) を被験物質投与同様に 2 回強制経口投与した。

用量設定根拠:

#### コメットアッセイ

第 2 回投与の 3 時間後に動物を屠殺し、肝臓の切片を採取した。適切な方法で単個細胞液を調製し、それぞれ適切に希釈後、スライドを作製した。スライドを電圧 25V および初期電流約 300 mA で 20 分間電気泳動を行った。その後、SYBR Gold で染色し、コメットアッセイ解析装置で各細胞の泳動像を取り込んだ後、コメットテイルに含まれる DNA の割合 (%tail DNA)、テイル長およびオリーブテイルモーメントを測定した。スライド 1 枚あたり 50 個の細胞を計数し、合計で動物あたり 100 個の泳動像を解析した。

結果 : 試験期間中、検体投与群に死亡例は認められず、また体重増加の抑制及び一般状態の変化も認められなかった。剖検では肉眼的異常は認められなかった。

コメット像: 得られた結果を次表に示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

薬剤	投与量 (mg/kg)	測定細胞数	コメットテイルに含まれる DNA の割合 (%tail DNA ; 平均±S. D.)	テイル長 (平均±S. D.)	オリーブテイルモーメント (平均±S. D.)
溶媒対照	—	500	1.63±0.32	8.33±2.00	0.21±0.06
検 体	500	500	1.80±0.33	7.32±1.61	0.21±0.05
	1000	500	1.66±0.41	6.48±1.23	0.20±0.06
	2000	500	1.61±0.28	8.02±1.69	0.20±0.05
陽性対照	200	500	17.82±2.40▲	27.71±3.68▲	2.97±0.63▲

陽性対照 : EMS

▲ : P < 0.025 (Student の t 検定もしくは Aspin-Welch の t 検定)

すべての検体投与群で%tail DNA、テイル長およびオリーブテイルモーメントは対照群と同等であった。

以上の結果から、検体は肝臓細胞に対し DNA 損傷性は有しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

32) 代謝物 M-29 及び M-30 のチャイニーズハムスター肺繊維芽細胞における  
*in vitro* 染色体異常試験

(資料 A-65)

試験機関：

報告書作成年：1992 年

検体の純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの継代した肺線維芽細胞（CHL 細胞）を用いた。検体はジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解させた。

予備試験として M-29 では 1~64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (7 段階)、M-30 では 1~32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (6 段階) の検体を処理し、M-29 の代謝非活性化法では  $\text{IC}_{50}$  付近より、その他では溶解限界より本試験の最高濃度を選択した。試験群及び検定に使用した濃度の設定を以下に示す。

試験方法	S-9 Mix の有無	処理時間	検体処理後 標本作製時間	処理濃度、 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
				M-29	M-30
代謝非活性化	/	24 時間	24 時間	16、32、64	8、16、32
代謝非活性化	/	48 時間	48 時間	16、32、64	8、16、32
代謝活性化	+	24 時間	24 時間	16、32、64	8、16、32
代謝活性化	-	24 時間	24 時間	16、32、64	8、16、32

各濃度で 200 個の中期分裂像を観察した。染色体損傷はギャップ、染色分体型切断、染色分体型交換、染色分体型切断、染色分体型交換、断片化に分類し、計測した。倍数性を示す細胞についても計測した。異常細胞の出現率が 5%未満のものを陰性、5~10%のものを疑陽性、10%以上のものを陽性とした。

陽性対照として、代謝活性化法では Bezo(a)pyrene (B(a)P)、代謝非活性化法では N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) を用いた。

結果：結果を次頁以降の表に示す。

代謝活性化の有無にかかわらず、M-29、M-30 ともいずれの場合にも染色体異常の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では全て高率の染色体構造異常を認め、試験系が有効であることを確認した。

以上の結果から、代謝物 M-29 及び M-30 の染色体異常誘発性は、いずれも本試験条件下で陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

M-29の染色体異常試験

S9-Mix	処理時間	標本作成時間	薬物	濃度 ( $\mu$ g/ mL)	観察 細胞数	倍数体		構造的異常								
						細胞数	判定	染色分体型			染色体型		frg	異常 細胞数	判定	
								ctg	ctb	cte	csb	csc				
+	6	24	無処理	—	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
			溶媒対照 (DMSO)	—	200	1	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
			M-29	16.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	—
				32.0	200	2	—	0	0	1	0	0	0	0	1	—
				64.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	0	—
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	15.0	200	2	—	23	24	112	0	0	0	128	+++				
—	6	24	無処理	—	200	0	—	0	0	0	0	0	0	—		
			溶媒対照 (DMSO)	—	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
			M-29	16.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
				32.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
				64.0	200	1	—	0	0	1	0	0	0	1	—	
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	15.0	200	0	—	0	1	0	0	0	0	1	—				
—	24	24	無処理	—	200	0	—	0	0	0	0	0	0	—		
			溶媒対照 (DMSO)	—	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
			M-29	16.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
				32.0	200	1	—	1	1	0	0	0	0	2	—	
				64.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
陽性対照 (MNNG)	1.5	200	0	—	16	28	64	0	0	0	91	++				
—	48	48	無処理	—	200	1	—	0	0	0	0	0	0	—		
			溶媒対照 (DMSO)	—	200	1	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
			M-29	16.0	200	1	—	1	0	0	0	0	0	1	—	
				32.0	200	0	—	0	0	0	0	0	0	0	—	
				64.0	200	0	—	1	0	0	0	0	0	1	—	
陽性対照 (MNNG)	1.5	200	0	—	24	45	108	0	0	0	124	+++				

異常 ctg: キ・ャツ' ctb: 染色分体型切断 cte: 染色分体型交換 csb: 染色体型切断 csc: 染色体型交換 frg: 断片化

判定基準 —: 異常細胞発生率 5%未満 ±: 5%以上10%未満 +: 10%以上20%未満 ++: 20%以上50%未満 +++: 50%以上

陽性対照 B( $\alpha$ )P: Benzo(a)pyrene MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

M-30の染色体異常試験

S9-Mix	処理時間	標本作成時間	薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	観察細胞数	倍数体		構造的異常							
						細胞数	判定	染色分体型			染色体型		frg	異常細胞数	判定
								ctg	ctb	cte	csb	cse			
+	6	24	無処理	-	200	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-
			溶媒対照 (DMSO)	-	200	1	-	0	0	0	0	0	0	0	-
			M-30	8.0	200	1	-	0	0	0	0	0	0	0	-
				16.0	200	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-
				32.0	200	1	-	0	0	0	0	0	0	0	-
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	15.0	200	2	-	23	24	112	0	0	0	128	+++			
-	6	24	無処理	-	200	0	-	0	0	0	0	0	0	-	
			溶媒対照 (DMSO)	-	200	0	-	0	0	0	0	0	0	-	
			M-30	8.0	200	0	-	0	1	0	0	0	0	1	-
				16.0	200	1	-	0	0	1	0	0	0	1	-
				32.0	200	1	-	0	0	1	0	0	0	1	-
陽性対照 (B( $\alpha$ )P)	15.0	200	2	-	0	1	0	0	0	0	1	-			
-	24	24	無処理	-	200	0	-	0	0	0	0	0	0	-	
			溶媒対照 (DMSO)	-	200	0	-	0	0	0	0	0	0	-	
			M-30	8.0	200	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-
				16.0	200	2	-	0	0	0	0	0	0	0	-
				32.0	200	0	-	1	1	0	0	0	0	1	-
陽性対照 (MNNG)	1.5	200	0	-	16	28	64	0	0	0	91	++			
-	48	48	無処理	-	200	1	-	0	0	0	0	0	0	-	
			溶媒対照 (DMSO)	-	200	1	-	0	0	0	0	0	0	-	
			M-30	8.0	200	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-
				16.0	200	0	-	0	0	1	0	0	0	1	-
				32.0	200	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-
陽性対照 (MNNG)	1.5	200	0	-	24	45	108	0	0	0	124	+++			

異常 ctg: 177' ctb: 染色分体型切断 cte: 染色分体型交換 csb: 染色体型切断 cse: 染色体型交換 frg: 断片化

判定基準 -: 異常細胞発生率 5%未満 ±: 5%以上10%未満 +: 10%以上20%未満 ++: 20%以上50%未満 +++: 50%以上

陽性対照 B( $\alpha$ )P: Benzo( $\alpha$ )pyrene MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine