

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②イヌを用いた飼料混入投与による慢性毒性試験

(資料 2-10)

試験機関 : Hazleton UK

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1992 年

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬, 1 群雌雄各 4 匹

投与開始時 7~8 カ月齢,

投与開始時体重範囲 雄, 6.75~9.85 kg; 雌 6.35~9.15 kg

投与期間 : 52 週間 (1990 年 5 月 29 日~1991 年 5 月 31 日)

投与方法 : 検体を 0, 30, 300, 1000 または 3000ppm の濃度で粉末飼料に混入し, 各動物に 1 日 1 回調製飼料の 400 g を 52 週間摂食させた。飼料調製は毎週行なった。

投与用量設定根拠;

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ;

試験期間中, 動物の一般状態と生死について毎日, さらに週 1 回は詳細な観察を行ない, 異常の有無を記録した。

3000ppm 群の雄 1 例, 雌 1 例においてそれぞれ投与第 26 及び 39 週以降に眼球混濁が見られた。

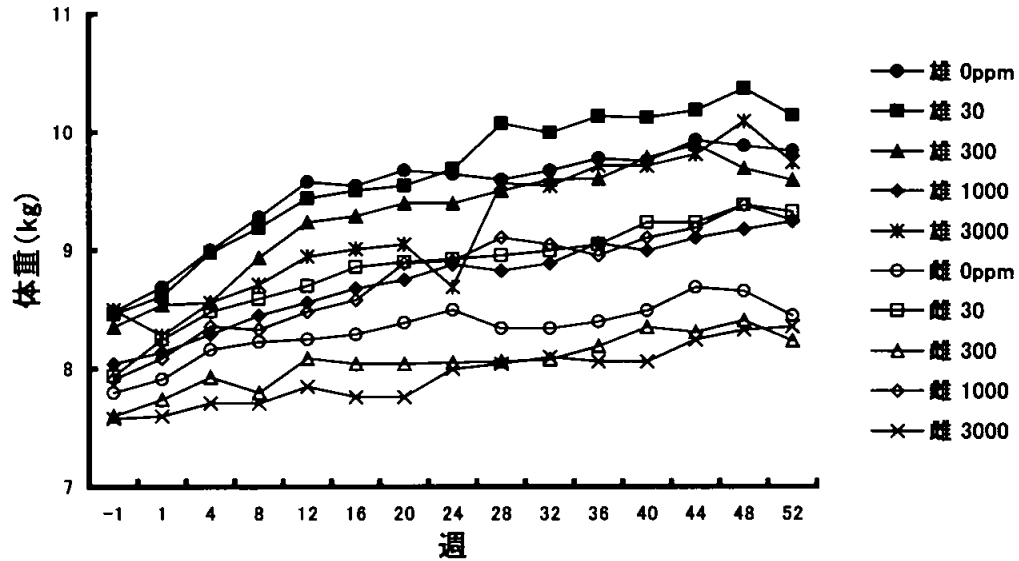
3000ppm 群の雄 1 例は第 32 週に下痢を伴う体重減少のため切迫殺にされたが, これらの病因に検体投与の影響はないと判断された。その他の群の雌雄に死亡はなかった。

体重 ; 各動物の体重を, 試験期間中毎週 1 回測定した。

体重推移を図示し, 体重増加量を表 1-1., 1-2. に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

体重変化



注) 28 週以降は 3000ppm 群の雄の切迫殺動物 1 例を除く。

表 1-1. 雄の体重増加量

用量群 (ppm)	体重増加量 (kg) :					
	期間 (週)	-1-13	13-26	26-39	39-52	-1-52
0		1.16	-0.11	0.29	0.04	1.38
30		0.96	0.19	0.56	-0.03	1.69
300		1.08	-0.03	0.43	-0.23	1.25
1000		0.51	0.31	0.21	0.18	1.21
3000		0.46DR↓	-0.18 ^a	0.32 ^a	0.07 ^a	0.72 ^a

^a : 切迫殺動物 1 例を除く。DR : 回帰分析による傾向検定, ↓, p < 0.01

表 1-2. 雌の体重増加量

用量群 (ppm)	体重増加量 (kg) :					
	期間 (週)	-1-13	13-26	26-39	39-52	-1-52
0		0.51	0.11	-0.03	0.05	0.65
30		0.78	0.14	0.31	0.16	1.39
300		0.44	-0.04	0.34	-0.10	0.64
1000		0.60	0.39	0.16	0.20	1.35
3000		0.28	0.09	0.13	0.30	0.79

3000ppm 群の雄の投与開始後 13 週間における体重増加量は対照群に比し低く、傾向検定の結果も有意であった。対照群との間の体重差は試験期間中改善されなかった。

3000ppm 群の雌及び 1000ppm 以下の投与群の雌雄に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及び内容の責任は株式会社クレハにある。

摂餌量； 各動物に1日当り400gの飼料を毎朝給餌し、食べ残した飼料は毎日午後に回収して秤量後廃棄した。摂餌量は、給与量から残量ないし廃棄量を差し引いて求めた。

3000ppm群の摂餌量は第1週にわずかに減少したが、その後は対照群との間に差は認められなかった。1000ppm以下の投与群の雌雄に異常は認められなかった。

平均検体摂取量(mg/kg/日)を表2-1, 2-2. に示す。

表 2-1. 雄の平均検体摂取量 (mg/kg/日)

用量群/投与週	1	7	13	26	39	52	総平均
30ppm	1.2	1.1	1.0	1.0	1.0	0.9	1.1
300ppm	12.6	13.0	11.1	12.0	12.3	11.2	12.1
1000ppm	39.9	40.0	38.1	37.7	35.5	33.8	39.0
3000ppm	96.6	124.2	111.0	106.2	108.5	98.1	110.6

表 2-2. 雌の平均検体摂取量 (mg/kg/日)

用量群/投与週	1	7	13	26	39	52	総平均
30ppm	1.2	1.2	1.0	1.0	1.1	1.0	1.1
300ppm	10.8	10.3	10.0	10.0	10.9	9.2	10.5
1000ppm	39.4	36.1	35.0	34.9	39.1	30.5	36.8
3000ppm	104.9	119.6	103.6	116.8	122.7	106.7	114.2

眼科学的検査；すべての動物について投与開始前に眼検査を実施し、その後は以下の頻度で検査した。

0ppm, 3000ppm群 : 6, 13, 22, 26, 30, 34, 39, 43, 47及び52週

1000ppm群 : 7, 13, 22, 26, 30, 34, 39, 43, 47及び52週

30ppm, 300ppm群 : 26及び52週

認められた所見を表3. に示す：

表 3. 眼科学的検査所見

用量群/性	所見	6	13	22	26	30	34	39	43	47	52週
0ppm 雄	小乳頭, 右眼	1*	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	角膜混濁								1	1	1
30ppm 雄	角膜混濁										1
300ppm 雄	水晶体混濁										1
3000ppm 雄	水晶体混濁		2	3	3	3	3	3	3	3	3
	ブドウ膜炎						1	1	1	1	1
0ppm 雌	水晶体混濁								1	1	3
1000ppm 雌	水晶体混濁										1
3000ppm 雌	水晶体混濁	1	3	2	2	2	2	2	2	2	2
	ブドウ膜炎						1	1	1	1	1

*: 例数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

眼の水晶体の混濁が、3000ppm 群の雄 3 例と雌 2 例の眼検査において発見された。初発時期は試験の第 6 週であった。試験の進行に伴い、この病変の重篤度は全般に高まっていったが、雌の 1 例では投与第 43 週以降その重篤度が低下した。3000ppm 群の他の雌 1 例では、13 週目の検査時のみで水晶体混濁が観察されたが、その後の検査では認められなかった。また、ブドウ膜炎が 3000ppm 群の雄 1 例及び雌 1 例で観察された。

その他の投与群では、投与に関連した病変はなかった。

血液学的検査；投与開始前、第 13、26 及び第 52 週に、約 18 時間絶食させた各動物の頸静脈から血液を採取して、以下の項目について検査した。

血色素量、赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、網赤血球数(絶対数及び百分率)、血小板数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、総白血球数および白血球ディファレンシャルカウント

表 4. に統計学的に有意差がある項目を示す。

表 4. 統計学的有意差を示す血液学的検査成績

検査項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		30	300	1000	3000	30	300	1000	3000
血色素量	0	110 ↑	109	108	106	97	103	94	90 ↓
	13					95	103	102	88 ↓
	52	119 ↑	110	109	113	99	105	102	87 ↓
赤血球数	13	115 ↑	114 ↑	111 ↑	118 ↑				
	52	118 ↑	107	111	121 ↑				
ヘマトクリット値 (PCV)	13	116 ↑	113 ↑	110 ↑	114				
	52	119 ↑	105	108	115	102	105	105	87 ↓
平均赤血球容積 (MCV)	52	101	99	98	95 ↓DR				
平均赤血球血色素量 (MCH)	13	100	98	97	95 ↓DR				
	52					92 ↓	99	95	95
血小板数 (PLAT)	0	109	57 ↓	84	79	87	107	106	124
	13	121	104	111	131	95	104	104	144 ↑
	26	109	90	99	135	98	102	108	145 ↑
	52	122	106	110	148 ↑DR	91	100	97	135↑DR
プロトロンビン時間 (PT)	26	101	127 ↑	105	99	75	74 ↓	76	95
白血球数 (WBC)	13	100	124	128	136 ↑DR				
	26	87	97	106	152				
	52	86	129	124	135 ↑DR				
好中球数 (N)	26	87	99	104	169 ↑DR				
リンパ球数 (L)	26					112	104	127	191 ↑

数字は対照群に対する投与群の割合 (%)

分散分析および Dunnett 検定、または Wilcoxon 検定：↑↓, p < 0.05; ↑↓, p < 0.01

DR: 回帰分析または Terpstra-Jonckheere の傾向検定, ↑↓, p < 0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

3000ppm 群の動物における血小板数は対照群よりも多かった。本変化を除き投与の影響で生じたと考えられる異常はなかった。なお、3000ppm 群雄で 26 週時に白血球数・好中球数に高い値がみられたのは、32 週で切迫殺された雄 1 例（慢性腸炎）のためだと考えられた。

血液生化学的検査；

投与開始前、第 13、26 及び第 52 週に、約 18 時間絶食させた各動物の頸静脈から血液を採取して、以下の項目について検査した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)、アルカリホスファターゼ、クレアチンホスホキナーゼ、ガンマグルタミルトランスフェラーゼ、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、ブドウ糖、尿素、総ビリルビン、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、総コレステロール、トリグリセライド

投与群において対照群に比し有意差の認められた変化を表 5. に示す。

表 5. 統計学的有意差を示す血液生化学的検査成績

検査項目	検査週	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		30	300	1000	3000	30	300	1000	3000
アルカリホスファターゼ	13	101	121	244 ↑	914 ↑	110	113	414	1341 ↑
	26	127	148	329 ↑	926 ↑	114	120	529	1519 ↑
	52	109	176	327 ↑	1231	135 ↑	145 ↑	478 ↑	1554 ↑
γ-グルタミルトランスフェラーゼ	13	71	57 ↓	71	114	150	100	125	175 ↑
クレアチンホスホキナーゼ	13	127	156	137	158 ↑DR				
	26	266	152	284	237 ↑DR				
塩素	13	101	102	103 ↑	100				
	26					100	101	102 ↑	100
総ビリルビン	13	157	171 ↑	143	114				
総蛋白	52	107	111 ↑	98	111				
アルブミン	13	97	100	93	90 ↓	97	100	94	91 ↓
	26	100	103	93	83 ↓				
	52					90 ↓	97	94	87 ↓
アルブミン/グロブリン比	13	92	92	92	83 ↓	93	93	86	71 ↓
	26					81	88	75 ↓	75
	52					80	100	90	80 ↓

数字は対照群に対する投与群の割合 (%)

分散分析および Dunnett 検定、または Wilcoxon 検定：↑↓, p < 0.05; ↑↓, p < 0.01

DR：回帰分析または Terpstra-Jonckheere の傾向検定、↑, p < 0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

1000ppm 及び 3000ppm 群の動物では、アルカリホスファターゼ活性が全ての投与週で高かった。但し、3000ppm 群雄の投与 52 週時は統計学的に有意差はなかった。クレアチンホスホキナーゼの活性には投与動物間でばらつきがみられた。投与量並びに投与期間との関連がないところから検体投与の影響とは考えなかった。3000ppm 群の動物では対照群と比較しアルブミン濃度（及び関連するアルブミン/グロブリン比）の低下傾向が観察された。その他、投与による影響と考えられる変化はなかった。

尿検査； 投与開始前、第 13、26 及び第 52 週に、各動物の膀胱への直接カテーテル挿入により尿を採取して、以下の項目について検査した。

外観(濁度および色調)、比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、総ビリルビン、
潜血、ウロビリノーゲン、還元物質、沈渣

尿検査に検体投与の影響は認められなかった。

臓器重量； 試験終了時に、各動物を放血によって安楽死させ、以下の臓器重量（絶対重量）を測定し、最終体重について補正した（補正重量，g，共分散分析の手法による）。

副腎、脳、心臓、腎臓(両側)、肝臓、卵巣(両側)、前立腺、脾臓、精巣および
精巣上体(両側)、甲状腺および上皮小体(両側)

いずれの臓器にも対照群に比し有意な増減はみられなかったが、3000ppm 群の雌雄の肝臓重量は対照群より大きかった。また 3000ppm 群の雄の脾臓および腎臓の重量も、対照群の値を上回った。結果を表 6. に示す。

表 6. 肝臓・脾臓・腎臓重量（補正重量）

投与群 (ppm)	30	300	1000	3000
臓器と性				
肝臓 雄	96	101	102	113
雌	99	105	101	128
脾臓 雄	82	81	79	114
雌	118	98	94	90
腎臓 雄	107	104	96	111
雌	97	90	94	94

表中の数字は対照群に対する百分率。

肉眼病理学的検査；

切迫殺動物および試験終了時の全生存動物を剖検して所見を記録した。

剖検時にはほとんどの組織に異常は見られなかった。眼の混濁と肝臓の退色、斑紋および腫大が 3000ppm 群の動物数例で観察されたが、これらは病理組織学的検査で観察された所見と関連していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

病理組織学的検査；

切迫殺動物および試験終了時に剖検した各動物の以下の臓器および組織について、病理組織学的に検査して所見を記録した。

副腎(両側)、大動脈(弓および前腹部)、脳(脳幹を含む)、盲腸、結腸、直腸、十二指腸、精巣上体(両側)、眼(両側、視神経を含む)、大腿骨(骨髄および関節表面を含む)、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓(両側)、肝臓、肺(主要気管支を含む)、リンパ節(下顎および腸間膜)、食道、卵巣(両側)、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺(下顎腺)、坐骨神経、骨格筋(大腿四頭筋)、皮膚、乳腺、脊髄(腰部、頸部、中胸部)、胸腺、胸骨(骨髄を含む)、胃、精巣(両側)、胸腺(識別できる場合)、甲状腺および上皮小体(両側)、気管、膀胱、子宮(体部及び頸部)、すべての肉眼的異常部位

眼の水晶体の変性およびこれに伴う病変が、3000ppm 群の雄 3 例および雌 2 例で観察された。3000ppm 群の動物数例で観察され投与に関連した病変は、肝臓の肝細胞肥大、クッパー細胞の色素沈着増加および赤血球貪食、そして脾臓の髄外造血亢進および食細胞色素沈着増加であった。

(申請者注) 雌の 3000ppm 群において気管の扁平上皮化生が増加傾向を示したが、病変は気管のごく一部に限局していたこと、粘膜下織に関連する異常がなかったこと、から偶発的所見と判断した。イヌは肥満防止のため制限給餌をしているところから、給餌時に餌を勢いよくむさぼり食べるため、食餌の一部が誤嚥され肺に肉芽腫性炎症巣を形成することも少なくない。このため、気管の扁平上皮化生の原因は明らかでないが、このように誤嚥された食餌による物理的刺激も考慮すべきであろう。

その他の投与群には、投与に関連した所見は認められなかった。

表 7. に上述した病変頻度を表示する。

表 7. 病理組織学的所見

性	雄					雌				
	0	30	300	1000	3000	0	30	300	1000	3000
所見/用量群 (ppm)	0	30	300	1000	3000	0	30	300	1000	3000
検査動物数	4	4	4*	4	4	4	4	4	4	4
眼										
水晶体変性	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2
肝臓										
肝細胞肥大(中間帯/小葉周辺性)	0	0	0	0	3	0	0	0	0	↑4
色素沈着(クッパー細胞)	1	1	1	0	4	1	1	0	3	4
赤血球貪食	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
脾臓										
髄外造血亢進	0	0	0	0	↑4	0	0	0	0	2
食細胞色素沈着										
程度										
軽度	3	4	3	4	1	3	3	4	4	0
中等度	0	0	0	0	2	1	0	0	0	4
重度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
気管										
扁平上皮化生	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3

統計学的有意差：↑ p<0.05 (Fisher の直接確率計算法, 申請者実施)

*: 脾臓については 3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

(申請者注) 眼の水晶体変性(白内障)の原因は明らかでないが、イヌはヒトに比し眼の GSH reductase が 3%¹⁾、ビタミンC 含量が 16%²⁾ しかないところから種々の原因による酸化ストレスに極めて脆弱であると推察される。このことが、本検体の種々の試験のうちでイヌのみに白内障が生じた原因と考えられる。一方、カニクイザルで試験したところ、摂餌量低下のない最大量を投与しても白内障は認められず、ヒトへの白内障発症のリスクは極めて低いと判断できる(資料 2-19 参照)。

参考文献

- 1) Rathbun, W.B., Bovis, M.G., and Holleschau, A.M.: Species survey of glutathione peroxidase and glutathione reductase: Search for an animal model of the human lens. *Ophthalmic Res.*, 18; 282-287, 1986.
- 2) Varma, S.D. and Richards, R.D.: Ascorbic acid and the eye lens. *Ophthalmic Res.*, 20; 164-173, 1988.

結論すると、3000ppm の用量では眼の水晶体の変性に加えて、脾臓および肝臓に軽微な変化が引き起こされた。1000ppm の用量では、水晶体の変性や投与の影響を示唆するような顕微鏡で観察される組織の変化はみられなかったが、アルカリホスファターゼ活性に差が認められた。本試験では 300ppm 群に投与の影響を認めなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量 (NOAEL) を雌雄とも 300ppm (雄 12.1 mg/kg/日, 雌 10.5 mg/kg/日) と判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2) 発癌性

①ラットを用いた飼料混入投与による2年間発癌性試験

(資料 2-11)

試験機関: Sittingbourne Research Centre

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992年

検体の純度:

供試動物: Fischer系ラット, 1群雌雄各50匹,
投与開始時約6~8週齢,
投与開始時体重範囲 雄 109.0~159.1 g, 雌 93.2~125.5 g

投与期間: 2年間 (1989年5月30日~1991年6月12日)

投与方法: 検体をアセトンにて溶解し, 0, 100, 300, 1000ppmの濃度で飼料に混入し, 2年間にわたって
摂食させた。

用量設定根拠:

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 全動物について, 一般状態及び死亡・瀕死動物の有無を毎日観察した。
検体投与に関連した臨床症状は認められなかった。
試験終了時の死亡率を表1に示す。

表1. 死亡率

投与量 (ppm)		0	100	300	1000
死亡率 (%)	雄	40	44	50	34
	雌	34	40	38	32

死亡率に検体投与の影響は認められなかった。

体重変化: 投与開始後13週間は毎週1回, 以降は4週間に1回の頻度で体重を測定した。
1000ppm群の雌雄において投与開始時より体重増加抑制が見られた。雄では特に試験開始後13
週間で顕著であった。雌における抑制は試験期間を通じて持続した。投与期間中の体重増加量
は対照群の値より雄で6%, 雌で9%低く, 雌の(報告書では雄と記載されていたが雌の誤り)
最終体重は対照群に対し有意に低かった。
300ppm以下の投与群の雌雄の体重に検体投与による悪影響は認められなかった。
体重変化を次の図に, 体重増加量を表2に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

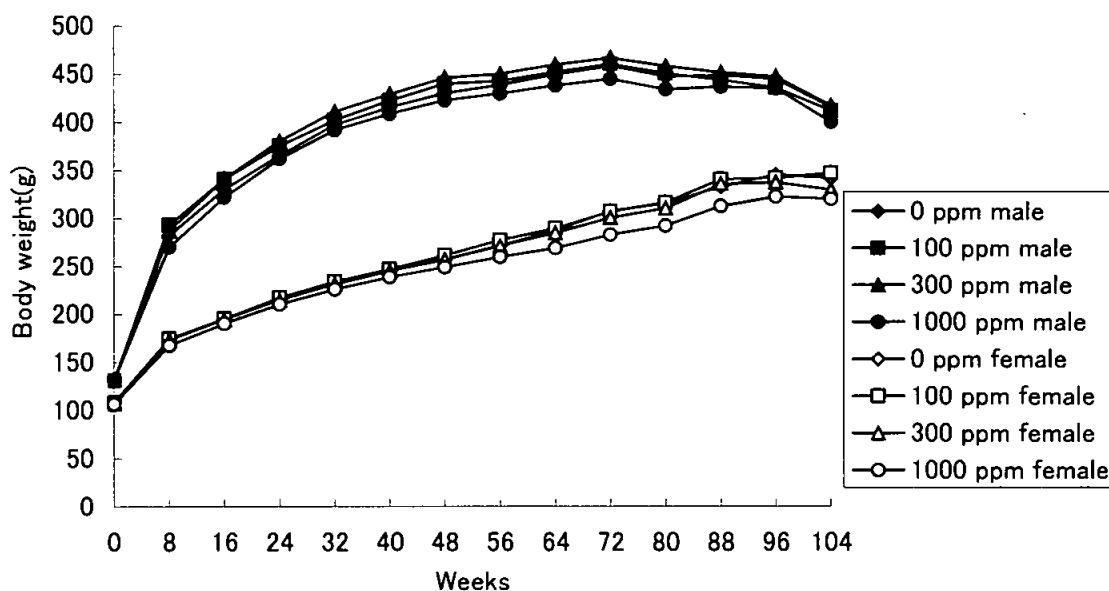


表 2. 体重増加量

投与量 (ppm)	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
0-13 週の増加	103.9	102.4	93.1	99.1	99.5	94.1
16-104 週の増加	83.5	89.6	92.3	102.6	91.6	87.9
0-104 週の増加	98.5	100.1	94.5	102.3	95.3	91.4

表中の数字は対照群に対する百分率。

摂餌量； 投与開始から 13 週間は週 1 回，その後は 4 週間に 1 回，全動物の摂餌量を測定した。摂餌量を表 3-1 に，有意差の認められた測定週を表 3-2 に示す。

表 3-1. 摂餌量

投与量 (ppm)	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
0-13 週	102.7	101.8	93.8	100.0	98.8	95.3
16-104 週	100.8	101.6	98.4	101.0	100.0	97.1
0-104 週	101.6	101.6	97.6	97.9	97.9	95.9

表中の数字は対照群に対する百分率。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 3-2. 摂餌量で有意差の認められた測定週

性別	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
投与期間 (週)	1		↓ 94			↓ 90
	2		↓ 91 ^d	↓ 97	↓ 96	↓ 91
	3		↓ 90			↓ 94
	4	↑104 ^d		↓ 91 ^d		↓ 94
	5			↓ 94 ^d		↓ 94
	6	↑107 ^d		↓ 94 ^d		↓ 96
	7			↓ 95		↓ 94
	8			↓ 94		↓ 95
	9					↓ 95
	10	↑107 ^d	↑111 ^d			↓ 96
	11	↑104 ^d				↓ 95
	13		↑104 ^d			↓ 96
	20	↑105 ^d				
	24					↓ 97
	28			↓ 97		
	40					↓ 97
	44					↓ 96
	48		↑104 ^d			↓ 97
	52					↓ 97
	56					↓ 96
60		↑105 ^d			↓ 95	
64					↓ 93	
68			↓ 95		↓ 92	
72					↓ 93	
80			↓ 94			

表中の数字は対照群に対する百分率。

Williams 多重比較法, ↑↓, p<0.05; ↑↓, p<0.01。

^dは Dunnett の多重比較法, ↑↓, p<0.05; ↑↓, p<0.01。

1000ppm 群の雌雄で投与初期より摂餌量がわずかに減少した。雄では試験開始後 8 週まで対照群に比し有意に減少した。雌における減少は試験期間を通して持続した。これらは検体投与の影響と判断した。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 4. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.61	13.8	46.5
	雌	5.51	16.6	56.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

眼検査； 投与開始前、各群各性 20 例について眼検査を実施した。さらに、投与 33 週時に対照群雄 24 匹及び雌 25 匹並びに高用量群雌雄各 25 匹について、投与終了時に対照群及び高用量群雌雄各 20 匹について眼検査を実施した。
1000ppm 群の雄で角膜混濁の発生頻度がわずかに上昇したが、この発生率増加は本系統の対照群ラットに観察される背景データの範囲内であり、検体投与とは無関係と考えた。

(申請者注) 報告書には上記のように記載されているが、角膜混濁は 0、1000ppm 群の雌雄ともほぼ検査した全例に認められており、1000ppm 群における発生率の上昇は認められない。また、程度の重篤化も認められなかった。角膜混濁の発生頻度を表 5 に示す。

表 5. 角膜混濁の発生頻度

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査時期								
投与開始前	18/20	16/20	18/20	19/20	18/20	19/20	19/20	18/20
33 週時	23/24	-	-	25/25	23/25	-	-	25/25
投与終了時	20/20	-	-	20/20	18/20	-	-	20/20

角膜混濁のみられた動物数/検査動物数。

- 検査せず。

その他いずれの投与群においても、検体投与に関連した眼病変は認められなかった。

血液学的検査；投与 52、78、101 週時に全生存動物の尾端より血液を採取した。また、試験途中の切迫殺動物については心臓採血によりサンプルを得た。これらの血液より塗抹標本を作製し、赤血球形態及び白血球百分比を観察した。
統計学的に有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 血液学的検査成績

検査項目	検査時期	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
単球	52 週			↑ 127			
好酸球	52 週						↓ 74
	101 週			↓ 65			
赤血球径	52 週			↓ 100			↓ 98
	78 週			↓ 98			
	101 週			↓ 98			
赤血球径標準偏差	101 週			↑ 114 [*]			

表中の数字は対照群に対する百分率。

Williams 多重比較法, ↑ ↓, p<0.05 ↓, p<0.01。

^{*}は Wilcoxon 検定法, ↑, p<0.01。

1000ppm 群の雌雄において 52 週時に赤血球径の減少 (小赤血球症) が見られた。雄ではこの変化は持続性であり、101 週時には球状赤血球症や赤血球の大小不同を伴っていた。
300ppm 以下の雌雄の投与群に異常はなかった。

(申請者注) 1000ppm 群でみられた上記以外の有意な変化はいずれも一時的であり、他に関連する変化もみられなかったため、偶発的なものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

臓器重量： 試験終了時の全生存動物について以下の臓器重量（絶対重量）を測定し、最終体重について補正した（補正重量，g，体重を共変量とした共分散分析の手法による）。

副腎，脳，心臓，腎臓，肝臓，卵巣，脾臓，精巣

統計学的有意差の認められた項目を表7に示す。

表7. 臓器重量(補正重量)

臓器	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
肝臓			↑112			↑113
副腎			↑107			
腎臓			↑113			
脾臓						↑121

表中の数字は対照群に対する百分率。

Williams 多重比較法，↑， $p < 0.05$ ；↑↑， $p < 0.01$ 。

1000ppm 群の雌雄で、肝臓重量が対照群に比較して有意に高かった。さらに、雄では副腎及び腎臓の、雌では脾臓の重量が有意に高かった。これらの変化は検体投与の影響と判断した。300ppm 以下の投与群雌雄には対照群に対して有意に変動した臓器はなかった。

肉眼病理学的検査；全動物を対象として剖検を行った。

発生頻度に統計学的有意差の認められた肉眼病理学的変化を表8に示す。

表8. 肉眼的病理学的変化

検査時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全動物	臓器	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	心臓	白色点/白色斑	1	↑7	↑10	↑10	7	3	2	3
	腎臓	退色	5	10	↑14	↑14	2	3	2	0
	前胃	潰瘍	5	↑13	↑15	↑14	8	6	11	10
	脾臓	腫大	16	18	18	13	6	9	9	↑14

Fisher の直接確率計算法 ↑， $p < 0.05$ ；↑↑， $p < 0.01$

表中の数字は病変の認められた動物数

すべての検体投与群の雄で前胃の潰瘍の発生頻度が上昇した。（病理組織学的検査非腫瘍性病変を参照）

1000ppm 群の雌では脾臓の腫大の発生頻度が対照群に比較して高かった。（病理組織学的検査腫瘍性病変を参照）

すべての投与群の雄で腎臓の退色の発生頻度が増加した（ただし100ppm 群では有意差なし）。（病理組織学的検査非腫瘍性病変を参照）

すべての投与群の雄で心臓の白色点/白色斑の発生頻度が有意に増加した。しかし、組織学的検査において発生頻度が増加した所見がなかったことから、この肉眼所見の増加は偶発的なものと判断した。

病理組織学的検査；対照群及び1000ppm 群の全動物及びその他の群の試験期間中の死亡・切迫殺動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

副腎、大動脈、骨（膝関節、大腿骨、胸骨、椎骨（報告書には腰椎と記載されているが、椎骨の誤り）3カ所）、脳、子宮頸部、精巣上体、眼球、ハーダー腺、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節（腸間膜及び下顎）、乳腺、坐骨神経、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺（顎下腺）、精のう、骨格筋（大腿筋）、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺/上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮（角）、肉眼的異常部位

また、100及び300ppm群の計画殺動物については肝臓、肺、腎臓、脾臓及び副腎（標的臓器）並びに肉眼的異常部位について病理組織学的検査を実施した。

[非腫瘍性病変]

発生頻度に統計学的有意差が認められた非腫瘍性病変を表11に示す。

肝臓において1000ppm群の雄では、肝細胞小増殖巣（明細胞、好酸性細胞及び空胞細胞）、小葉中心性肝細胞脂肪化、小葉中心性肝細胞肥大、色素沈着（クッパー細胞）の発生頻度が増加した。小葉中心性肝細胞肥大及び色素沈着（クッパー細胞）は300ppm群の雄でも有意に高い発生頻度で認められた。1000ppm群の雌では肝細胞小増殖巣（明細胞）及び小葉中心性肝細胞脂肪化が増加した。脾臓において脾臓の組織球集簇の発生頻度の増加が1000ppm群の雌雄で認められた。副腎において、皮質空胞化の発生頻度が300及び1000ppm群の雄で有意に高い値を示した。これらの変化はいずれも検体投与に起因する変化であると判断した。

腎臓において1000ppm群の雄では慢性腎症の程度が軽度に増加した。総発生頻度に有意差はみられなかったが、これらの動物では腎臓重量の増加が観察されていることから、投与による影響と判断した。

（申請者注）1000ppm群の雄でみられた腎臓の退色は上記の変化に関連している可能性があり、投与の影響と考えられた。これに対し、300及び100ppmの雄の退色には臓器重量や病理組織学的検査において対応する変化がみられなかったことから毒性を示すものとは考えなかった。

肉眼病理学的検査ですべての投与群の雄に前胃の潰瘍の発生頻度の増加が観察され、それに対応する病理組織学的所見として、前胃の棘細胞増生/粘膜上皮過形成、限局性粘膜下織炎あるいはびらん/潰瘍の発生頻度が対照群に比べ高値を示した。

そこで、試験実施施設（SRC）における試験期間が2年以上のFisher系ラットを用いた試験における胃のびらん/潰瘍あるいは炎症性変化の背景データとの比較を行った。以下に過去の7試験のデータを示す。

表9. Fisher系ラット試験における前胃の胃の病変の背景データ

性	試験番号	3803	3798	3588	3460	2885	2670	2604
雄	検査例数	50	39	40	50	50	57	50
	びらん/潰瘍	4	10	12	2	23	21	13
	棘細胞増生/粘膜上皮過形成	9	12	12	8	24	37	25
	水腫/炎症	7	11	13	6	5	23	21
雌	検査例数	49	40	40	50	50	59	50
	びらん/潰瘍	3	4	2	3	10	18	4
	棘細胞増生/粘膜上皮過形成	4	5	5	5	13	27	18
	水腫/炎症	2	6	4	8	8	23	7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

上記の比較の結果、投与群の発生頻度は背景的发生頻度内である一方、今回の雄の対照群の発生頻度はかなり低値であることが明らかとなった。各群の発生頻度と用量との間に関連性がなくラットの2年間慢性毒性試験やマウス発がん性試験でもこのような変化は認められていないことから、今回雄に見られた潰瘍性・炎症性変化は検体投与とは関連性のない偶発性変化であろうと考えられる。

(申請者注) 精巢において1000ppm群の雄で限局性間細胞過形成及び動脈炎が有意に増加した。しかし、間細胞腫の発生頻度は対照群よりむしろ低いこと(表12)、また90日間反復経口投与試験や慢性毒性試験では動脈炎の増加はみられていないことから、これらは検体の毒性とは考えなかった。投与群でみられたその他の有意な変化はいずれも用量と関連がないかあるいは発生頻度の減少であり、偶発的なものと判断された。

[腫瘍性病変]

認められた全腫瘍性病変を表12に示す。

下記のLGL白血病以外に統計学的に有意に増加した変化は認められなかった。1000ppm群の雌においてLGL白血病の発生頻度が有意に増加し、肉眼的病理検査でみとめられた脾臓腫大と対応していた。造血組織でのLGL白血病の発生頻度を表10に示す。

表10. LGL白血病の発生頻度

	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査例数	50	50(32)*	50(31)	50	50	50(22)	50(20)	50
発生頻度	17	22	21	14	5	8	7	↑↑15

*: 括弧内はプロトコル臓器の検査例数。LGL白血病は各群の全動物について検査した肝臓、脾臓等に初期病変が観察されるところから、発生頻度の有意差検定は対照群と全投与群について母数を50匹として実施した。

↑; Williamsの多重比較法, $p < 0.05$

↑↑; Peto検定, $p < 0.01$

この差は統計学的に有意であったが、雄の発生頻度に対照群との差がないこと、1000ppm群の雌における発生率(30%)は試験実施施設の雌ラットの背景データ(5-28%, 平均10%)をわずかに上回るのみであること、及び公表されている同系統雌ラットの背景データ(6-31%, 平均20%, Haseman et al 1990)の範囲内にあること、さらに同時に実施した2年間慢性毒性試験の1000ppm群雌雄における本腫瘍の発生頻度に異常がなかったことから、偶発性の変化と判断した。その他には統計学的有意な腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

Hasemann et al (1990): Tumor incidences in Fischer 344 rats: NTP historical data. In: Pathology of the Fischer Rat Reference and Atlas (Boorman, Eutis, Elwell, Montgomery, MacKenzie, Eds.) pp 557-564. Academic Press.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

以上のように、本剤をラットに対し2年間飼料混餌投与したところ、発癌性は認められなかった。1000ppm群では摂餌量のわずかな減少及び体重増加量の減少が見られた。また、小赤血球症及び赤血球形態異常がみられ、脾臓重量の増加及び組織球集簇の発生頻度の増加がみられた。さらに肝臓重量の増加及び肝臓病変（肝細胞小増殖巣（明細胞、好酸性細胞及び空胞細胞）、小葉中心性肝細胞脂肪化、小葉中心性肝細胞肥大、色素沈着（クッパー細胞））の増加、副腎重量の増加及び副腎皮質空胞化の発生頻度増加並びに腎臓重量の増加及び慢性腎症の程度の増加傾向が見られた。300ppm投与群では、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大及び色素沈着（クッパー細胞）並びに副腎の皮質空胞化が観察された。100ppm（雄4.61 mg/kg/日、雌5.51 mg/kg/日）では検体投与に関連する変化は見られず、本濃度が無毒性量（NOEL）であると結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全動物	肝臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		小葉中心性肝細胞肥大	0	2	↑9	↑31	0	0	0	1
		小葉中心性肝細胞脂肪化	3	3	4	↑13	0	1	2	↑7
		肝細胞小増殖巣(空胞細胞)	8	↓1	11	↑18	19	↓7	↓6	16
		肝細胞小増殖巣(明細胞)	4	7	9	↑28	1	3	3	↑15
		肝細胞小増殖巣(好酸性細胞)	1	3	4	↑12	0	1	0	2
		色素沈着(クッパー細胞)	2	6	↑14	↑35	0	0	1	4
		胆管線維化	45	48	46	43	20	20	17	↓9
		肝細胞小増殖巣(好塩基性細胞)	32	27	34	38	36	34	33	↓23
		肝細胞小増殖巣(混合型)	6	↓0	5	1	0	0	0	0
		肝紫斑症	26	25	20	↓8	7	12	12	9
	脾臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		組織球集簇	2	1	1	↑20	11	5	7	↑31
		髄外造血亢進	5	8	5	9	31	28	↓20	27
	副腎	所見/検査動物数	50	50	49	50	50	50	50	50
		皮質空胞化	13	17	↑25	↑38	11	7	8	7
		髄質限局性過形成	4	↑13	↑18	10	4	2	3	1
	前胃*	所見/検査動物数	50	50(28)	50(33)	50	50	50(23)	50(21)	50
		びらん/潰瘍	5	↑13	↑15	8	8	7	8	8
		棘細胞増生/粘膜上皮過形成	7	14	↑17	↑17	12	8	13	11
		限局性粘膜下織炎	3	↑11	↑15	↑12	12	6	11	9
	大動脈	所見/検査動物数	50	23	27	50	50	20	19	50
		内膜下変性	18	↓2	5	24	30	↓6	↓5	33
		中膜石灰沈着	4	6	↑8	5	2	0	1	0
	脳	所見/検査動物数	50	24	28	50	50	24	25	50
		下垂体腫瘍による脳底部陥凹	5	5	↑10	1	10	↑11	↑15	13
	ハーダー腺	所見/検査動物数	50	22	25	50	50	20	19	50
		腺腔拡張	1	↑4	1	0	1	0	2	1
	大腸	所見/検査動物数	50	28	31	50	50	20	21	50
		腔拡張	8	↑11	9	9	6	2	2	2
	喉頭	所見/検査動物数	49	22	25	50	50	20	19	50
		喉頭炎	21	6	11	12	21	3	↓2	14
	リンパ節	所見/検査動物数	50	31	32	50	50	24	22	50
洞拡張(腸間膜リンパ節)		8	5	10	6	11	4	1	↓1	
膵臓	所見/検査動物数	50	30	28	50	50	21	20	50	
	動脈炎	0	↑4	1	0	0	0	0	0	
上皮小体	所見/検査動物数	49	25	30	48	50	21	18	50	
	過形成	8	10	↑14	11	1	3	3	0	
前立腺	所見/検査動物数	50	25	25	50	-	-	-	-	
	前立腺炎	3	↑9	6	9	-	-	-	-	

Fisherの直接確率計算法 ↑ ↓, p < 0.05; ↑↓, p < 0.01; ↑↓, p < 0.001

表中の数字は病変の認められた動物数。

*: 肉眼的異常は全て組織検査に供したため統計検定は母数を50例で実施した。検査動物数の括弧内の数字は実組織検査数(報告書 Table 4の脚注より)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11. 非腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全 動 物	小腸	所見/検査動物数	50	26	31	50	50	21	21	50
		腺腔拡張	5	↑8	↑10	6	1	3	1	0
		十二指腸粘膜細胞肥大	5	7	↑10	13	6	↑8	6	5
	腺胃	所見/検査動物数	50	29	31	50	50	26	22	50
		潰瘍	3	3	4	1	1	↑6	↑4	5
		粘膜上皮過形成	6	5	7	10	4	↑7	5	5
	精巣	所見/検査動物数	50	48	50	50	-	-	-	-
		限局性間細胞過形成	6	9	10	↑17	-	-	-	-
		動脈炎	3	7	9	↑11	-	-	-	-
	甲状 腺	所見/検査動物数	49	23	25	50	50	23	21	50
		C細胞過形成	10	6	4	16	19	↓2	↓2	↓8
	舌	所見/検査動物数	48	25	26	50	48	20	20	50
		血管壁転移性石灰沈着	47	↓21	23	50	42	16	17	45
	膀胱	所見/検査動物数	50	23	24	50	50	19	20	50
		移行上皮粘膜過形成	3	3	↑6	3	1	0	1	1

Fisher の直接確率計算法 ↑ ↓, $p < 0.05$; ↑, $p < 0.01$;

表中の数字は病変の認められた動物数。

*: 肉眼的異常は全て組織検査に供したもので統計検定は母数を 50 例で実施した (報告書 Table 4 の脚注より)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
途中死亡切迫殺動物	副腎	所見/検査動物数	20	22	26	17	17	20	19	16
		皮質腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		皮質腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		褐色細胞腫 (B)	2	2	3	3	0	0	1	0
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	2	0
	脳	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	1
		稀突起膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		髄膜腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	子宮頸	所見/検査動物数	-	-	-	-	16	20	19	16
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		未分化肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	腎臓	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		脂肪肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	肺	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	膵臓	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		島細胞腺腫 (B)	1	2	3	1	0	0	1	0
	下垂体	所見/検査動物数	20	22	25	16	17	20	19	16
		前葉腺腫 (B)	7	8	16	6	9	11	10	8
		前葉腺癌 (M)	0	1	0	0	2	0	1	0
	唾液腺	所見/検査動物数	20	21	25	17	16	20	19	16
		平滑筋肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	小腸	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脊髄	所見/検査動物数	19	21	25	17	17	20	19	16
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腺胃	所見/検査動物数	20	22	25	17	16	20	19	16
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	所見/検査動物数	20	22	25	17	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	15	16	16	7	-	-	-	-
	甲状腺	所見/検査動物数	20	22	25	17	16	20	19	16
		C細胞腺腫 (B)	4	1	↓0	0	0	0	0	1
	膀胱	所見/検査動物数	20	22	24	17	16	19	19	16
		移行上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮 (角)	所見/検査動物数	-	-	-	-	16	20	19	16
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	2	2	2	2
腺癌 (M)		-	-	-	-	1	0	0	0	
平滑筋肉腫 (M)		-	-	-	-	1	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法 ↓, p < 0.05 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変(続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
途中 死亡 切迫 殺動物	椎骨	所見/検査動物数	19	20	25	17	17	20	19	16
		骨肉腫 (M)	0	0	0	-	0	0	1	0
	胸腔 ^{b)}	所見/検査動物数	4	0	3	0	2	6	1	1
		未分化肉腫 (M)	0	-	0	-	0	0	1	0
	骨(他) ^{b)}	所見/検査動物数	1	2	1	1	0	0	1	0
		骨肉腫 (M)	0	1	1	0	-	-	0	-
	口腔 ^{b)}	所見/検査動物数	1	0	3	3	1	0	1	2
		口唇乳頭腫 (B)	0	-	0	0	1	-	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	-	0	0	0	-	0	1
		歯牙腫 (B)	0	-	0	1	0	-	0	0
	陰核腺 ^{b)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	1	1	1	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	1	1	1	-
	耳 ^{b)}	所見/検査動物数	0	3	0	2	1	0	1	0
		乳頭腫 (B)	-	0	-	0	0	-	1	-
	造血器	所見/検査動物数	20	22	25	17	17	20	19	16
		LGL 白血病 (M)	7	12	15	4	2	6	6	↑ 9
		リンパ肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺(他) ^{b)}	所見/検査動物数	2	1	7	1	1	6	1	3
		線維腺腫 (B)	0	0	1	0	0	4	0	2
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚(他) ^{b)}	所見/検査動物数	2	1	1	3	2	2	1	2
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	1	0	0
		線維腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮下 ^{b)}	所見/検査動物数	4	1	4	2	1	8	1	4
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		脂肪腫 (B)	0	1	0	0	0	1	0	0
		線維腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	0
平滑筋腫 (B)		0	0	0	1	0	0	0	0	
線維肉腫 (M)		0	0	0	1	0	0	0	0	
神経鞘腫 (M)		1	0	1	0	0	1	0	0	
褐色脂肪肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0	
ジンパル腺 ^{b)}	所見/検査動物数	0	2	0	0	0	0	0	0	
	腺癌 (M)	-	2	-	-	0	-	-	-	

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.01 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変 (続き)

検査 時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
最終屠殺動物	副腎	所見/検査動物数	30	28	23	33	33	30	31	34
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	1	1
		褐色細胞腫 (B)	5	6	8	4	1	0	2	1
		悪性褐色細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎臓	所見/検査動物数	30	28	25	33	33	30	31	34
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	1
		脂肪腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
		間葉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見/検査動物数	30	28	25	33	33	30	31	34
		肝細胞腺腫 (B)	0	1	1	0	1	1	0	1
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		胆管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	所見/検査動物数	30	28	25	33	33	30	31	34
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ節 ^{a)}	所見/検査動物数	30	9	7	33	33	4	3	34
		線維肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	卵巣 ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	33	10	5	34
		顆粒膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
	膵臓 ^{a)}	所見/検査動物数	30	8	3	33	33	1	1	34
		島細胞腺腫 (B)	2	5	1	1	1	0	0	0
		外分泌腺細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	下垂体 ^{a)}	所見/検査動物数	30	20	15	33	32	22	25	34
		前葉腺腫 (B)	10	13	10	12	16	10	20	16
		前葉腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		頭蓋咽頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	小腸 ^{a)}	所見/検査動物数	30	4	6	33	33	1	2	34
		腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見/検査動物数	30	28	25	33	33	30	31	34
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	0
	精巣 ^{a)}	所見/検査動物数	30	26	25	33	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	28	25	22	29	-	-	-	-
		中皮腫 (M)	1	0	0	0	-	-	-	-
	甲状腺 ^{a)}	所見/検査動物数	29	1	0	33	33	3	2	34
		C細胞腺腫 (B)	1	0	0	2	3	3	2	0
C細胞癌 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0	
ろ胞状腺腫 (B)		0	1	0	0	1	0	0	1	
ろ胞状腺癌 (M)		0	0	0	1	0	0	0	1	
舌 ^{a)}	所見/検査動物数	29	4	1	33	33	0	1	34	
	乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	-	0	0	
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	-	0	0	
子宮 (角) ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	33	8	9	34	
	内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	6	5	5	6	
	腺癌 (M)	-	-	-	-	0	0	0	1	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変(続き)

検査時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
最終屠殺動物	口腔 ^{b)}	所見/検査動物数	1	1	2	2	0	2	0	3
		口唇角化棘細胞腫 (B)	0	0	1	0	-	0	-	0
	陰核腺 ^{b)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	1	1	1	1
		腺腫 (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	1	0	1	0
	耳 ^{b)}	所見/検査動物数	0	4	2	4	0	0	0	0
		乳頭腫 (B)	-	0	0	1	0	-	0	-
	造血器 ^{a)}	所見/検査動物数	30	10	6	33	33	2	1	34
		LGL 白血病 (M)	10	10	6	10	3	2	1	6
		組織球形肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	乳腺(他) ^{b)}	所見/検査動物数	1	2	2	1	6	6	7	4
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	2	4	6	3
		腺腫 (M)	1	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜 ^{b)}	所見/検査動物数	1	1	0	1	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	-	1	-	0	-	-	-	-
	包皮腺 ^{b)}	所見/検査動物数	1	0	0	2	-	-	-	-
		腺腫 (B)	1	-	-	1	-	-	-	-
		腺癌 (M)	0	-	-	1	-	-	-	-
	皮膚(他) ^{b)}	所見/検査動物数	6	4	0	5	2	2	1	1
		乳頭腫 (B)	2	0	-	0	0	0	0	0
		角化棘細胞腫 (B)	1	0	-	2	0	0	0	0
		基底細胞腫 (B)	0	0	-	2	0	0	0	0
		皮脂腺腺腫 (B)	0	0	-	1	0	0	0	0
		毛のう上皮腫 (B)	0	0	-	0	1	0	0	0
		線維腫 (B)	0	0	-	0	0	0	0	1
		線維肉腫 (M)	0	0	-	0	1	0	1	0
	皮下 ^{b)}	所見/検査動物数	2	3	1	5	2	6	6	3
		血管腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	ジンパル腺 ^{b)}	所見/検査動物数	0	1	0	0	1	0	0	0
		腺癌 (M)	-	1	-	-	1	-	-	-

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全動物	副腎	所見/検査動物数	50	50	49	50	50	50	50	50
		皮質腺腫 (B)	0	1	0	1	0	0	1	1
		皮質腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		褐色細胞腫 (B)	7	8	11	7	1	0	3	1
		悪性褐色細胞腫 (M)	1	0	0	0	0	0	2	0
	脳 ^{a)}	所見/検査動物数	50	24	28	50	50	24	25	50
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	1
		稀突起膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		髄膜腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	子宮頸 ^{b)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	49	20	20	50
		内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		未分化肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0
	腎臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	1
		脂肪腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		間葉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫 (B)	0	1	1	0	1	1	1	1
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		胆管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	リンパ節 ^{a)}	所見/検査動物数	50	31	32	50	50	24	22	50
		線維肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	卵巣 ^{b)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	50	30	24	50
顆粒膜細胞腫 (B)		-	-	-	-	0	0	0	1	
腺臓 ^{b)}	所見/検査動物数	50	30	28	50	50	21	20	50	
	島細胞腺腫 (B)	3	7	4	2	1	0	1	0	
	外分泌腺細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変(続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全 動 物	下垂体 ^{a)}	所見/検査動物数	50	42	40	49	49	42	44	50
		前葉腺腫 (B)	17	21	26	18	25	21	30	24
		前葉腺癌 (M)	0	2	0	0	2	0	1	0
		頭蓋咽頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	唾液腺 ^{a)}	所見/検査動物数	50	21	25	50	49	20	19	50
		平滑筋肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	小腸 ^{a)}	所見/検査動物数	50	26	31	50	50	21	21	50
		腺癌 (M)	0	1	1	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脊髓 ^{a)}	所見/検査動物数	49	21	25	50	50	20	19	50
		星状膠細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾臓	所見/検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	0
	腺胃 ^{a)}	所見/検査動物数	50	29	31	50	50	26	22	50
		腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣 ^{a)}	所見/検査動物数	50	48	50	50	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	43	41	38	36	-	-	-	-
		中皮腫 (M)	1	0	0	0	-	-	-	-
	甲状腺 ^{a)}	所見/検査動物数	49	23	25	50	50	23	21	50
		C細胞腺腫 (B)	5	1	0	2	3	3	2	1
		C細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		ろ胞状腺腫 (B)	0	1	0	0	1	0	0	1
		ろ胞状腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	1
	舌 ^{a)}	所見/検査動物数	48	25	26	50	48	20	20	50
乳頭腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0	
扁平上皮癌 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	
膀胱 ^{a)}	所見/検査動物数	50	23	24	50	50	19	20	50	
	移行上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
子宮 (角) ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	49	28	28	50	
	内膜ポリープ (B)	-	-	-	-	8	7	7	8	
	腺癌 (M)	-	-	-	-	1	0	0	1	
	平滑筋肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0	

Fisherの直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と1000 ppm群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変(続き)

検査 時期	性 別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全 動 物	椎骨 ^{a)}	所見/検査動物数	49	21	25	50	50	20	19	50
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腹腔 ^{b)}	所見/検査動物数	5	1	3	-	4	12	3	5
		未分化肉腫 (M)	0	0	0	-	0	0	1	0
	骨(他) ^{b)}	所見/検査動物数	2	2	1	2	-	-	1	-
		骨肉腫 (M)	0	1	1	0	-	-	0	-
	口腔 ^{b)}	所見/検査動物数	2	1	5	5	1	2	1	5
		口唇角化棘細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		口唇乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		歯牙腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	陰核腺 ^{b)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	2	2	2	1
		腺腫 (B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		腺癌 (M)	-	-	-	-	2	2	1	0
	耳 ^{b)}	所見/検査動物数	-	7	2	6	1	-	1	-
		乳頭腫 (B)	-	0	0	1	0	-	1	-
	造血器 ^{a)}	所見/検査動物数	50	32	31	50	50	22	20	50
		LGL 白血病 (M)	17	22	21	14	5	8	7	↑15
		リンパ肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	1
	乳腺 (他) ^{b)}	所見/検査動物数	3	3	9	2	7	12	8	7
		線維腺腫 (B)	0	0	1	0	2	8	6	5
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜 ^{b)}	所見/検査動物数	1	1	2	2	1	-	-	-
		脂肪腫 (B)	0	1	0	0	0	-	-	-
包皮腺 ^{b)}	所見/検査動物数	1	-	-	3	-	-	-	-	
	腺腫 (B)	1	-	-	1	-	-	-	-	
	腺癌 (M)	0	-	-	1	-	-	-	-	

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.05 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 12. 腫瘍性病変(続き)

検査 時期	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		0	100	300	1000	0	100	300	1000
全 動 物	皮膚(他) ^{b)}	所見/検査動物数	8	5	1	8	4	4	2	3
		乳頭腫 (B)	2	0	0	0	1	1	0	0
		角化棘細胞腫 (B)	1	0	0	2	0	0	0	0
		基底細胞腫 (B)	0	0	0	2	0	0	0	0
		皮脂腺腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		毛のう上皮腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		線維腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	1
		扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	1	0
	皮下 ^{b)}	所見/検査動物数	6	4	5	7	3	14	7	7
		血管腫 (B)	0	1	0	0	0	1	0	0
		脂肪腫 (B)	0	1	0	0	0	1	0	0
		線維腫 (B)	1	0	1	0	0	0	0	0
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		神経鞘腫 (M)	1	0	1	0	0	1	0	0
		横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		褐色脂肪肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	ジンバル腺 ^{b)}	所見/検査動物数	0	3	0	0	1	0	0	0
腺癌 (M)		-	3	-	-	1	-	-	-	
合 計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	腫瘍数	良性	88	86	83	77	46	44	57	47
		悪性	27	31	27	20	15	14	17	21
	腫瘍総数		115	117	110	97	61	58	74	68
	担腫瘍動物数	良性	49	48	50	44	33	35	38	34
		悪性	24	29	25	20	15	13	15	20
担腫瘍動物総数		49	50	50	46	43	38	43	44	

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

a): 対照群と 1000 ppm 群の統計検定を実施, b): 統計検定を実施せず。

表中の数字は病変の認められた動物数

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料 2-12)

試験機関：Hazleton UK

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度：

供試動物： Cr1: CD-1 (ICR) BR マウス, 投与開始時 6~7 週齢

主群 (91 週間投与) ; 1 群雌雄各 51 匹,

衛星群 (52 週間投与) ; 1 群雌雄各 12 匹

投与開始時体重範囲 ; 雄 25.2~35.7 g、雌 18.5~29.1 g

投与期間： 91 週間 (1989 年 8 月 22 日—1991 年 5 月 29 日)

投与方法： 検体をアセトンにて溶解し, 0, 30, 300, 1000ppm の濃度で飼料に混入し, 91 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；主群及び衛星群の全動物について、一般状態および死亡・瀕死動物の有無を毎日観察し、毎週 1 回詳細な臨床観察を行った。

試験後期に、1000ppm 群の雌雄において腹部膨満の発生頻度が増加した。本所見は肝臓腫大が原因であり検体投与の影響と考えた。

主群動物の試験終了時における死亡率を表 1 に示す。

表 1. 主群の死亡率

投与量 (ppm)		0	30	300	1000
死亡率 (%)	雄	53	56	58	57
	雌	49	46	↓31	44

Kaplan-Meier 法及び log-rank 法 ↓, $p < 0.05$ 。

300ppm 群の雌で統計学的に有意な死亡率の低下が認められたが、検体投与によるものとは考えられない。

1000ppm 群の雌で死亡率の変化は認められないが、肝腫瘍による死亡が多くみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

体重変化；投与開始日，投与開始から16週までは週1回，88週までは4週間に1回，及び剖検時に全ての生存動物の体重を測定した。

体重変化を次図に，体重増加量を表2に示す。

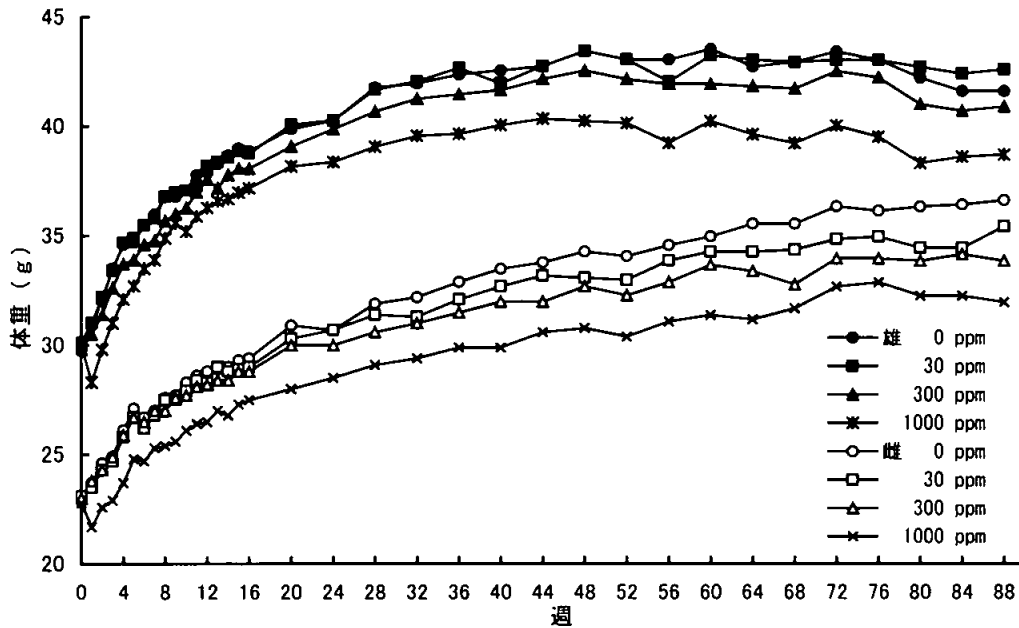


表2. 体重増加量

試験週	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	0	30	300	1000	0	30	300	1000
0-1	1.0	0.9	0.7	↓ -1.7	0.8	↓ 0.4	0.8	↓ -1.0
1-13	7.4	7.4	6.7	↑ 8.3	5.2	5.5	4.6	5.3
13-28	3.6	3.2	3.4	↓ 2.6	3.0	2.4	↓ 2.2	↓ 2.0
1-88	11.3	11.9	10.7	11.2	12.7	12.2	10.2	↓ 10.2 ^{DR}
0-88	12.3	13.0	11.2	↓ 9.2	13.7	12.5	11.0	↓ 9.3

ANOVA, 回帰及び Dunnett's 検定 (雄の0-1週のみ Kruskal Wallis, Terpstra-Jonckheere 及び Wilcoxon 検定) ↓, $p < 0.001$; ↓, $p < 0.01$; ↑ ↓, $p < 0.05$ 。

^{DR} 用量反応性検定の結果有意。

1000ppm 群の雌雄で1週時に体重が減少した。雌ではその後も軽度な体重増加抑制が持続した。1週時の体重減少を反映して試験0週から88週の体重増加量は雌雄とも統計学的に有意に減少した。300ppm 以下の群の変動はいずれも軽微であるが，用量との関連性がなかったため偶発的なものと考えた。

摂餌量；投与開始から16週間は週1回，その後は4週間に1回，全生存動物の摂餌量を測定した。

統計学的に有意差の認められた摂餌量を表3に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 3. 摂餌量

試験週	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	30	300	1000	30	300	1000
1	98	98	↘ 86	102	105	↘ 90
2-13	101	100	100	103	102	↓ 96 ^{DR}
56-88	102	100	97	100	96	↓ 94 ^{DR}

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

ANOVA, 回帰及び Dunnett's 検定 ↘, p<0.001; ↓, p<0.05。

^{DR} 用量反応性検定の結果有意。

投与開始週に 1000ppm 群の雌雄で摂餌量が統計学的に有意に減少し、この摂餌量の減少は 1000ppm 群雌では 7 週で対照群と同様の摂餌量を示すようになるまで持続した。

その他に認められた統計学的有意差は生物学的に意義のある変化とは考えなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった（申請者計算）。

表 4. 検体摂取量

投与量 (ppm)		30	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.2	40.3	144.4
	雌	5.2	52.5	178.1

血液学的検査；投与開始後 52 週時（衛星群）及び 91 週時（主群）に全生存動物を対象として眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目を検査した。

総白血球数、ディファレンシャルカウント

統計学的に有意差の認められた項目を表 5 に示す。

表 5. 血液学的検査成績

検査項目	週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	1000	30	300	1000
総白血球数	52						(172)
	91		↑ 135	↑ 168			↑ 330
好中球数	52						(188)
	91			↑ 191			↑ 418
リンパ球数	52	↓ 59	↓ 61		↓ 65		↑ 171
	91			↑ 140			↑ 364

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

ANOVA, 回帰及び Dunnett's 検定 (52 週時のリンパ球のみ Kruskal Wallis, Terpstra-Jonckheere 及び Wilcoxon 検定) ↑, p<0.001; ↑↓, p<0.01; ↑, p<0.05。

() は統計学的有意差がないが、参考値として表示。

91 週時に 300ppm 以上の投与群の雄及び 1000ppm 群の雌で総白血球数が統計学的に有意に増加した。1000ppm 群の雌雄では好中球数とリンパ球数も有意に増加した。また、1000ppm 群雌では 52 週時にもこれらの項目に有意な増加あるいは増加傾向が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

(申請者注) その他の変化は用量との関連性がなかったため、検体投与とは無関係と考えた。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)、総コレステロール、トリグリセライド

統計学的に有意差の認められた項目を表6に示す。

表6. 血液生化学的検査成績

検査項目	週	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	300	1000	30	300	1000
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	52			↑ 163	↓ 86	↑ 121	↑ 309
	91			↑ 353		↑ 116	↑ 413
アラニンアミノトランスフェラーゼ	52			↑ 249			↑ 651
	91			↑ 442		↑ 194	↑ 1140
総コレステロール	52		↓ 62	↓ 36		↓ 63	↓ 54
	91		↓ 67			↓ 53	
トリグリセライド	52			↓ 64			↓ 69 ^{DR}
	91			↓ 69 ^{DR}			↓ 65

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

ANOVA, 回帰及びDunnett's 検定 (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ；雌の 52 及び 91 週, アラニンアミノトランスフェラーゼ；雌の 91 週, 総コレステロール；雌の 91 週のみ Kruskal Wallis, Terpstra-Jonckheere 及び Wilcoxon 検定) ↑↓, $p < 0.001$; ↓, $p < 0.01$; ↑ ↓, $p < 0.05$ 。

^{DR} 用量反応性検定の結果有意。

52 週時に 1000ppm 群の雄と 300ppm 以上の投与群の雌でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの増加が認められ、1000ppm 群の雌雄でアラニンアミノトランスフェラーゼの増加がみられた。300ppm 以上の投与群の雌雄で総コレステロール値の低下がみられ、1000ppm 群の雌雄でトリグリセライド値の低下が認められた。91 週時に 1000ppm 群の雄と 300ppm 以上の投与群の雌でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアラニンアミノトランスフェラーゼの増加がみられた。300ppm 群の雌雄で総コレステロール値の低下がみられ、1000ppm 群の雌雄でトリグリセライド値の低下が認められた。

(申請者注) これらの血液生化学的検査値の変化は肝臓での重量増加や肉眼及び組織学的検査における肝臓病変の増加に関連すると判断した。30ppm 群の雌におけるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの減少は高用量群と変動の向きが逆であったことから偶発的変化と考えた。

その他に認められた有意差はいずれも軽微であり、検体投与とは無関係と考えた。

臓器重量；52 週間投与後の中間屠殺群 (衛星群) の全動物と試験終了時の最終屠殺群 (主群) より選出した各用量群雌雄 10 匹を対象として以下の臓器重量 (絶対重量) を測定し、最終体重について補正した (補正重量, g, 体重を共変量とした共分散分析の手法による)。また、比体重値 (相対重量) を算出した。統計検定は補正重量及び相対重量について実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

副腎, 脳, 心臓, 腎臓, 肝臓, 卵巣, 脾臓, 精巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表7に示す。

表7. 臓器重量

検査項目		週	投与量 (ppm)					
			雄			雌		
			30	300	1000	30	300	1000
脾臓	補正重量	52			↓75			(63)
		91			↓51			
肝臓	補正重量	52			↑151			
		91 ^a			↑247		(128)	↑335
	相対重量	52					↑121	↑221
		91			↑192			

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

ANCOVA 及び Dunnett's 検定 (最終屠殺: 雄の肝臓, 心臓, 精巣重量のみ ANOVA, 回帰及び Dunnett's 検定; 中間屠殺: 雌の肝臓重量のみ Kruskal Wallis, Terpstra-Jonckheere 及び Wilcoxon 検定)

↑, p<0.001; ↑, p<0.01; ↓, p<0.05。

() は統計学的有意差はないが, 参考値として表示。

a: 異常な高値を示した対照群の雄1例を除いて評価。

52週間投与後に1000ppm群の雄で肝臓の補正重量が増加し, 300ppm以上の投与群の雌で肝臓の相対重量が上昇した。1000ppm群の雄で脾臓の補正重量が低下し, 統計学的有意差はなかったが雌の脾臓の補正重量も低下した。91週間投与後に1000ppm群の雌雄で肝臓の補正重量及び雄で相対重量の上昇が認められ, 統計学的有意差はなかったが300ppm群の雌でも肝臓の補正重量が増加した。加えて, 1000ppm群の雄では脾臓の補正重量の低下がみられた。これらの変化は検体投与によるものと考えられた。

肉眼的病理検査; 途中死亡・切迫屠殺, 中間屠殺 (衛星群) 及び最終屠殺 (主群) 動物を対象として剖検を行った。

対照群と比べ, 発生頻度に統計学的有意差が認められた肉眼的病理所見を表8に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表8. 肉眼的病理所見

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
衛星群全動物		所見/検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
	肝臓	斑紋	0	0	2	↑5	0	0	2	↑5
		白色斑	2	0	3	3	0	0	1	↑9
	脾臓	退色	0	0	0	↑5	0	0	1	↑6
尾	損傷	1	3	1	4	7	9	7	↓2	
主群全動物		所見/検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51
	盲腸	内容物暗調化	5	1	2	2	0	1	0	↑5
	結腸	内容物暗調化	5	1	2	2	0	1	0	↑5
	回腸	内容物暗調化	4	1	2	2	0	1	0	↑5
	空腸	内容物暗調化	5	1	3	2	0	1	0	↑5
	肝臓	腫大	2	0	1	↑15	2	5	0	↑12
		斑紋	0	1	0	↑9	1	2	0	↑7
		白色斑 (pale area)	1	4	2	↑9	2	2	0	3
		白色部 (pale focus)	0	1	0	↑13	0	2	0	↑14
		退色 (pale)	2	2	1	5	1	3	↑12	2
		多発性腫瘤	3	7	5	↑19	0	0	0	↑35
	肺	暗調化	10	↓2	9	6	8	6	7	↓2
	精のう	所見/検査動物数	51	51	51	51	-	-	-	-
		腫大	11	10	9	↓1	-	-	-	-
	脾臓	所見/検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51
		腫大	8	9	5	4	11	9	↓1	6
		萎縮	1	1	0	↑11	1	1	5	↑11
退色		2	0	0	↑22	0	0	1	↑25	
胃	所見/検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51	
	内容物暗調化	7	↓1	5	2	0	3	0	↑7	
尾	所見/検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51	
	損傷	13	14	↑22	↑25	20	24	27	13	

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisherの直接確率計算法 ♂, p<0.001; ♂↓, p<0.01; ♂↓, p<0.05 (申請者実施)。

衛星群では、1000ppm 群の雌雄に肝臓の斑紋及び脾臓の退色がみられ、さらに雌では肝臓の白色斑が有意に増加した。

主群では、1000ppm 群の雌雄において肝臓の腫大、斑紋、白色斑/白色部ないし多発性腫瘤、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

ならびに脾臓の萎縮、退色の発生頻度が対照群に比し有意に増加した。これらの変化は臓器重量の変化及び病理組織学的所見と関連しており、検体投与に起因したものと考えられた。

(申請者注) 統計学的有意差の認められたその他の変化は、対応する組織所見の増加がみられないか、用量との関連性を欠く変化あるいは発生頻度の減少であり毒性学的意義はないものと判断した。なお報告書では300ppm群の雌においても1000ppm群と同様に肝臓及び脾臓の病変が増加したと記載されているが、発生頻度に統計学的有意差がないため、検体投与の影響とはしなかった。

病理組織学的検査；中間（衛星群）及び最終屠殺群（主群）について、0ppm及び1000ppm群の全動物、ならびに死亡・切迫殺動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

副腎、大動脈、脳（脳幹を含む）、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼球（及び視神経）、大腿骨（及び骨髄）、胆のう、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺（及び主幹気管支）、リンパ節（頸部および腸間膜）、食道、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下腺）、坐骨神経、精のう、骨格筋（大腿四頭筋）、皮膚及び乳腺、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胸骨（及び骨髄）、胃、精巣、胸腺（存在した場合）、甲状腺（及び上皮小体）、気管、膀胱、子宮、全ての肉眼的異常部位

また、30および300ppm群の中間および最終計画殺動物について肉眼的異常部位、副腎、腎臓、肝臓、肺および脾臓を検査した。

[非腫瘍性病変]

発生頻度に統計学的有意差が認められた非腫瘍性病変を表10に示す。

300ないし1000ppm群の雌雄で肝臓の肝細胞空胞化、びまん性肝細胞肥大、類洞内細胞数増加/単一細胞性肝細胞壊死/色素沈着（クッパー細胞）、卵円形細胞過形成、胆管増生、肝細胞小増殖巣（多発性）の発生頻度が統計学的に有意に増加した。また、脾臓の萎縮/脾柱・間質明瞭化及び副腎の皮髄境界部色素沈着の発生頻度が統計学的に有意に増加した。

これらの所見は検体投与の影響と考えられた。

(申請者注) 肝細胞肥大の部位については原文中に「主に小葉全域にわたり」と記載されているために「びまん性」とした。

この他、300ないし1000ppm群の雌で腎臓の糸球体腎症の発生頻度が有意に増加あるいは増加傾向を示したが、雄では逆の傾向が認められたため、毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。

(申請者注) 統計学的有意差の認められたその他の変化は、本系統の同週齢マウスにおいて種々の頻度で認められる病変の軽度な増加にすぎないこと、両性に共通した変化がみられないこと、用量との関連性が認められないことあるいは発生頻度の減少であることから、検体の毒性を示すものではないと判断した。

[腫瘍性病変]

主群および衛星群において認められた全腫瘍性病変を表11に示す。

1000ppm群の雌雄では、肝臓の肝細胞腺腫の統計学的に有意な発生頻度の増加が認められ、雌では肝細胞癌の発生頻度も増加した。化学物質のある臓器における発癌性を考察する場合、良性腫瘍と悪性腫瘍の合計頻度で評価することが一般的である。衛星群を含めた全動物における肝細胞

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

腫瘍発生頻度(担肝細胞腫瘍動物数)を表9に示す。本腫瘍では腺腫と癌を合計した結果、1000ppm群の雄及び300ppm以上の投与群の雌で統計学的に有意な差が認められた。したがって、肝細胞腫瘍の発生頻度の増加は検体投与の影響と考えた。

(申請者注) 1000ppm群の雄では途中死亡切迫殺動物(及び全動物)において皮膚/皮下組織の肉腫が統計学的に有意に増加したが、最終屠殺動物において全く発生がみられなかったこと、また雌ではこのような変化はみられなかったことから、検体投与に起因するものとは考えなかった。腫瘍性病変発生頻度においてみられたその他の有意な変化はいずれも減少であり、偶発的所見と判断した。

表9. 肝細胞腫瘍発生頻度

性別	雄				雌			
	検査時期(週)				検査時期(週)			
投与量(ppm)	91週(主群)		52週(衛星群)		91週(主群)		52週(衛星群)	
所見/検査動物数	62	63	63	62	62	63	63	63
肝細胞腺腫(B)	11	17	16	↑35	0	1	4	↑50
肝細胞癌(M)	4	4	7	7	0	1	0	↑20
*担肝細胞腫瘍動物	13	17	19	↑38	0	2	↑4	↑52

担肝細胞腫瘍動物以外はFisherの直接確率計算法 \uparrow , $p < 0.001$; \uparrow $p < 0.05$ (申請者実施)。

*担肝細胞腫瘍動物については下記の方法で統計学的解析を実施。同一個体に癌と腺腫が存在する場合は、担癌動物として計数。総発生頻度が3~10; permutation法, 10以上; log-rank法 \uparrow , $p < 0.001$; \uparrow , $p < 0.05$

以上の結果から、本剤のマウスに対する91週間飼料混餌投与による発がん性試験における影響として、1000ppm群の雄及び300ppm以上の投与群の雌で肝細胞腫瘍の発生頻度が増加した。肝臓腫瘍に関する無影響量は雄では300ppm、雌では30ppmであったが、300ppm群の雄においても血液生化学的変化がみられ肝臓、脾臓及び副腎における非腫瘍性病変が増加したことから、無毒性量(NOEL)は雌雄とも30ppm(雄4.2mg/kg/日、雌5.2mg/kg/日)であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 10-1. 非腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主群 最終 屠殺	肝臓	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		肝細胞空胞化	10	8	14	↑20	9	11	↑31	↑28
		びまん性肝細胞肥大	0	0	↑9	↑20	0	0	↑7	↑26
		類洞内細胞数増加/単一 細胞性肝細胞壊死/色素 沈着 (クッパー細胞)	0	1	↑6	↑16	0	0	↑17	↑24
		卵円形細胞過形成	0	0	0	↑8	0	0	0	↑9
		胆管増生	0	1	0	↑5	0	1	0	↑11
		肝細胞小増殖巣 (多発性)	0	0	0	↑15	0	0	0	↑29
		脾臓	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	35
	髓外造血亢進		10	↓2	9	↓3	7	5	5	10
	萎縮/脾柱・間質明瞭化		1	1	↑7	↑22	0	0	↑13	↑25
	副腎	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		アミロイド沈着	3	1	6	4	8	↓2	↓1	↓1
		皮髄境界部色素沈着	2	4	↑8	↑17	10	8	↑36	↑31
	腎臓	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		糸球体腎症	8	10	7	6	3	4	10	↑11
		のう胞	8	10	↑14	6	6	3	4	2
	肺	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		白血球集簇	5	7	8	6	9	15	15	↑19

表中の数字は病変の認められた動物数

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.001; ↑↓, p<0.01; ↑↓, p<0.05 (申請者実施)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 10-2. 非腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主 群 途 中 死 亡 切 迫 殺	大腿骨 骨髓	所見/検査動物数	27	29	29	29	25	26	15	20
		骨髓細胞過形成	4	↑11	5	9	7	7	4	5
	胸骨 骨髓	所見/検査動物数	26	29	29	29	25	26	15	20
		骨髓細胞過形成	2	↑9	5	↑9	7	8	3	4
	肝臓	所見/検査動物数	26	29	29	29	24	26	15	20
		白血球集簇	5	↑13	6	↑17	9	7	9	11
		肝細胞空胞化	1	2	6	↑17	2	1	5	↑16
		びまん性肝細胞肥大	0	0	4	↑24	0	0	1	↑12
		類洞内細胞数増加/単一 細胞性肝細胞壊死/色素 沈着(クッパー細胞)	0	0	4	↑21	0	0	1	↑11
		卵円形細胞過形成	0	0	0	4	0	0	0	↑5
		肝細胞小増殖巣(多発性)	0	1	0	↑16	0	0	0	↑15
	脾臓	所見/検査動物数	25	29	27	28	24	26	15	18
		萎縮/脾柱・間質明瞭化	0	0	2	↑17	0	0	2	↑16
	結腸	所見/検査動物数	24	29	25	29	21	25	14	19
		線虫	4	3	4	2	0	↑6	1	↑5
	副腎	所見/検査動物数	25	29	29	29	25	26	15	20
		被膜下細胞増生	4	7	7	3	14	17	12	↑17
		皮髄境界部色素沈着	0	0	1	↑18	7	5	↑13	↑19
	卵巣	所見/検査動物数	-	-	-	-	24	25	14	20
		のう胞	-	-	-	-	14	↑22	9	10
肺	所見/検査動物数	26	29	29	29	24	26	15	20	
	うっ血	9	8	12	9	6	↓1	2	3	

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ①, p<0.001; ↑, p<0.01; ↑↓, p<0.05 (申請者実施)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 10-3. 非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主 群 全 動 物	胸骨 ^{a)} 骨髓	所見/検査動物数	50	29	30	51	51	26	16	51
		骨髓細胞過形成	7	9	5	↑18	16	8	3	17
	肝臓	所見/検査動物数	50	51	51	51	50	51	51	51
		白血球集簇	16	↑28	17	↑32	28	25	37	35
		肝細胞空胞化	11	10	↑20	↑37	11	12	↑36	↑44
		びまん性肝細胞肥大	0	0	↑13	↑44	0	0	↑8	↑38
		類洞内細胞数増加/ 単一細胞性肝細胞壊死/ 色素沈着(クッパー細胞)	0	1	↑10	↑37	0	0	↑18	↑35
		卵円形細胞過形成	0	0	0	↑12	0	0	0	↑14
		胆管増生	0	1	1	↑8	0	1	0	↑13
		肝細胞小増殖巣(多発性)	0	1	0	↑31	0	0	0	↑44
	脾臓	所見/検査動物数	49	51	49	50	50	51	50	49
		萎縮/脾柱・間質明瞭化	1	1	↑9	↑39	0	0	↑15	↑41
	結腸 ^{a)}	所見/検査動物数	48	30	25	51	47	25	14	50
		線虫	6	3	4	4	2	6	1	↑13
	副腎	所見/検査動物数	49	51	51	51	51	51	51	51
		アミロイド沈着	8	5	11	7	14	8	↓1	↓2
		皮髄境界部色素沈着	2	4	↑9	↑35	17	13	↑49	↑50
	腎臓	所見/検査動物数	50	51	51	51	49	51	50	50
		糸球体腎症	10	18	14	11	10	10	16	↑22
		のう胞	12	14	16	10	8	5	6	↓2
	膀胱 ^{a)}	所見/検査動物数	50	29	31	51	47	24	14	50
		白血球集簇	1	0	0	2	0	0	0	↑5
	肺	所見/検査動物数	50	51	51	51	50	51	51	51
		白血球集簇	9	13	10	11	12	16	18	↑24

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ↑↓, p<0.001; ↑, p<0.01; ↑↓, p<0.05 (申請者実施)。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 10-4. 非腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
衛星 群 全 動物	肝臓	所見/検査動物数	12	12	12	11	12	12	12	12
		肝細胞空胞化	3	4	5	6	5	4	↑10	↑10
		びまん性肝細胞肥大	0	0	↑9	↑11	0	0	3	↑10
		類洞内細胞数増加/ 単一細胞性肝細胞壊死/ 色素沈着(クッパー細胞)	0	0	2	↑9	0	0	3	↑11
		肝細胞小増殖巣(多発性)	0	0	0	1	0	0	0	↑9
	脾臓	所見/検査動物数	12	12	12	11	12	12	12	12
		萎縮/脾柱・間質明瞭化	0	0	1	↑8	0	1	1	↑10
	副腎	所見/検査動物数	12	11	12	11	12	12	11	12
		皮髄境界部色素沈着	2	2	5	↑9	4	3	↑11	↑12

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.001 ; ↑, p<0.01 ; ↑, p<0.05 (申請者実施)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-1. 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主 群 最 終 屠 殺	皮膚/ 皮下 組織 ^{a)}	所見/検査動物数	24	7	6	22	26	4	4	31
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	0	1	0	1	1	0	0
	乳腺 ^{a)}	所見/検査動物数	0	0	0	1	26	1	0	28
		癌 (M)	-	-	-	0	0	1	-	0
	肝臓	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		血管腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	8	13	10	↑18	0	1	2	↑28
		肝細胞癌 (M)	1	3	2	4	0	1	0	↑10
	脾臓	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	35	31
		血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	胃 ^{a)}	所見/検査動物数	24	6	4	22	26	5	4	31
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	1
	副腎	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	精巣 ^{a)}	所見/検査動物数	24	5	5	22	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	2	1	0	0	-	-	-	-
		組織球性肉腫 (M)	0	0	1	0	-	-	-	-
卵巢 ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	26	20	33	30	
	乳頭状腺腫 (B)	-	-	-	-	1	1	0	0	
	管状腺腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1	
	黄体腫 (B)	-	-	-	-	0	2	0	0	

表中の数字は病変の認められた動物数

Fisher の直接確率計算法 \hat{p} , $p < 0.001$ \uparrow , $p < 0.01$ (申請者実施)。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-2. 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主群 最終 屠殺	子宮 ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	26	21	28	31
		血管腫 (B)	-	-	-	-	2	0	1	0
		脱落膜腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	0
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	2	0	0	0
		間質ポリープ (B)	-	-	-	-	2	0	5	0
		癌 (M)	-	-	-	-	0	1	0	0
		組織球形肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	1	0
	肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0	
	肺	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		腺腫 (B)	9	4	9	↓ 1	2	3	4	4
		癌 (M)	1	1	0	0	0	0	2	0
	下垂体 ^{a)}	所見/検査動物数	24	0	0	22	26	1	0	31
		腺腫 (B)	0	-	-	0	0	1	-	0
	脳 ^{a)}	所見/検査動物数	24	0	1	22	26	0	0	31
		髄膜腫 (B)	0	-	1	0	0	-	-	0
	血液/ リンパ/ 網内系	所見/検査動物数	24	22	22	22	26	25	36	31
		悪性リンパ腫 (リンパ球型) (M)	0	0	0	0	1	1	0	2
		悪性リンパ腫 (混合型) (M)	0	0	0	0	1	1	1	3
	舌 ^{b)}	所見/検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0
		乳頭腫 (B)	-	-	-	-	-	-	1	-

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ↓, p<0.01 (申請者実施)。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-3. 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
途中 死亡 切迫 殺	皮膚/ 皮下 組織	所見/検査動物数	27	28	28	29	24	26	14	20
		乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	2	2	↑5	0	1	1	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	所見/検査動物数	1	4	0	0	18	23	10	19
		癌 (M)	0	0	-	-	1	0	0	1
	肝臓	所見/検査動物数	26	29	29	29	24	26	15	20
		血管腫 (B)	1	2	2	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	2	3	5	↑16	0	0	2	↑14
		肝細胞癌 (M)	3	1	5	3	0	0	0	↑9
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	所見/検査動物数	27	29	29	29	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	0	1	0	0	-	-	-	-
	卵巣	所見/検査動物数	-	-	-	-	24	25	14	20
		黄体腫 (B)	-	-	-	-	0	2	0	0
	子宮	所見/検査動物数	-	-	-	-	24	26	15	20
		血管腫 (B)	-	-	-	-	0	1	1	0
		脱落膜腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
		間質ポリープ (B)	-	-	-	-	0	2	0	0
		癌 (M)	-	-	-	-	1	0	1	0
		組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	1	3	0	0
	肉腫 (M)	-	-	-	-	1	0	0	0	
		所見/検査動物数	26	29	29	29	24	26	15	20
		腺腫 (B)	3	4	7	3	5	1	0	3
		癌 (M)	2	0	1	0	1	0	0	0
	甲状腺	所見/検査動物数	26	29	28	29	23	26	15	19
		ろ胞状腺腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0
	耳 ^{b)}	所見/検査動物数	3	4	4	6	2	1	2	0
		扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	-

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisherの直接確率計算法 ↑, p<0.001; ↑, p<0.05 (申請者実施)。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と1000ppm群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-4. 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
途中死亡 切迫殺	包皮/ 陰核腺 ^{b)}	所見/検査動物数	7	10	4	5	1	0	0	0
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	-	-	-
	血液/ リンパ/ 網内系	所見/検査動物数	27	29	29	29	25	26	15	20
		悪性リンパ腫 (リンパ球型) (M)	0	0	0	1	2	2	2	1
		悪性リンパ腫 (混合型) (M)	0	0	1	0	3	3	0	1
		悪性リンパ腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	0
		顆粒球性白血病 (M)	1	0	0	0	0	1	0	0
		リンパ球性白血病 (M)	0	1	2	1	0	0	1	0
	腹腔 ^{b)}	所見/検査動物数	1	5	3	1	2	4	2	4
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	骨 (他) ^{b)}	所見/検査動物数	2	0	0	0	2	0	1	0
		骨肉腫 (M)	1	-	-	-	0	-	1	-
	ハタゲ腺 ^{b)}	所見/検査動物数	0	1	0	0	0	0	1	0
		腺腫 (B)	-	1	-	-	-	-	0	-
主群全動物	皮膚/皮 下組織 ^{a)}	所見/検査動物数	51	35	34	51	50	30	18	51
		乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	1	0
		線維腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	2	3	↑5	1	2	1	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺 ^{a)}	所見/検査動物数	1	4	0	1	44	24	10	47
		癌 (M)	0	0	-	0	1	1	0	1

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.05 (申請者実施)。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-5. 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主 群 全 動 物	肝臓	所見/検査動物数	50	51	51	51	50	51	51	51
		血管腫 (B)	1	3	2	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	10	16	15	↑34	0	1	4	↑42
		肝細胞癌 (M)	4	4	7	7	0	1	0	↑19
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓	所見/検査動物数	49	51	49	50	50	51	50	49
		血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	胃	所見/検査動物数	46	35	27	47	49	29	17	49
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	1
	副腎	所見/検査動物数	49	51	51	51	51	51	51	51
		癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	精巣 ^{a)}	所見/検査動物数	51	34	34	51	-	-	-	-
		間細胞腫 (B)	2	2	0	0	-	-	-	-
		組織球性肉腫 (M)	0	0	1	0	-	-	-	-
	卵巣 ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	50	45	47	50
		乳頭状腺腫 (B)	-	-	-	-	1	1	0	0
		管状腺腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
		黄体腫 (B)	-	-	-	-	0	4	0	0
	子宮 ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	50	47	43	51
		血管腫 (B)	-	-	-	-	2	1	2	0
		脱落膜腫 (B)	-	-	-	-	0	1	0	1
		平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	2	0	0	0
		間質ポリープ (B)	-	-	-	-	2	2	5	0
		癌 (M)	-	-	-	-	1	1	1	0
		組織球性肉腫 (M)	-	-	-	-	2	3	1	0
	肉腫 (M)	-	-	-	-	2	0	0	0	
肺	所見/検査動物数	50	51	51	51	50	51	51	51	
	腺腫 (B)	12	8	16	↓4	7	4	4	7	
	癌 (M)	3	1	1	0	1	0	2	0	

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ↑, p<0.001; ↓, p<0.05 (申請者実施)。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-6. 腫瘍性病変

検査 時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主群 全動物	甲状腺 ^{a)}	所見/検査動物数	50	29	28	51	49	26	16	50
		ろ胞状細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	1	0	0	0
	下垂体 ^{a)}	所見/検査動物数	49	29	28	51	51	27	14	50
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脳 ^{a)}	所見/検査動物数	49	29	29	51	50	26	14	50
		髄膜腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	耳 ^{b)}	所見/検査動物数	5	5	6	9	2	4	3	0
		扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	-
	包皮/ 陰核腺 ^{b)}	所見/検査動物数	8	10	7	8	1	0	0	0
		乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	-	-	-
	血液/ リンパ/ 網内系	所見/検査動物数	51	51	51	51	51	51	51	51
		悪性リンパ腫 (リンパ球型) (M)	0	0	0	1	3	3	2	3
		悪性リンパ腫 (混合型) (M)	0	0	1	0	4	4	1	4
		悪性リンパ腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	0
		顆粒球性白血病 (M)	1	0	0	0	0	1	0	0
		リンパ球性白血病 (M)	0	1	2	1	0	0	1	0
	腹腔 ^{b)}	所見/検査動物数	1	5	3	1	3	4	5	9
		血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	骨 (他) ^{b)}	所見/検査動物数	2	0	0	0	2	0	1	1
骨肉腫 (M)		1	-	-	-	0	-	1	0	
ハタゲ腺 ^{b)}	所見/検査動物数	0	1	0	0	0	0	1	0	
	腺腫 (B)	-	1	-	-	-	-	0	-	
舌 ^{b)}	所見/検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0	
	乳頭腫 (B)	-	-	-	-	-	-	1	-	

表中の数字は病変の認められた動物数。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 11-7. 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
主 群 合 計	検査動物数		51	51	51	51	51	51	51	51
	腫瘍数	良性	36	47	41	67	16	15	19	106
		悪性	11	10	17	18	15	17	11	36
	腫瘍総数		47	57	58	85	31	32	30	142
	担腫瘍動物数	良性	24	24	28	36	15	12	15	43
		悪性	9	10	14	15	14	16	11	26
担腫瘍動物数		29	28	33	41	25	24	25	45	

表 11-8. 腫瘍性病変

検査 時期	性 別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	30	300	1000	0	30	300	1000
衛 星 群 全 動 物	肝臓	所見/検査動物数	12	12	12	11	12	12	12	12
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	1	1	0	0	0	↑ 8
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	胃 ^{a)}	所見/検査動物数	12	3	1	11	12	1	3	12
		扁平上皮乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	子宮 ^{a)}	所見/検査動物数	-	-	-	-	12	6	6	12
		脱落膜腫 (B)	-	-	-	-	0	0	0	1
	肺	所見/検査動物数	12	12	12	11	12	12	12	12
		腺腫 (B)	5	↓ 0	2	↓ 0	1	1	0	0
	血液/ リンパ/ 網内系	所見/検査動物数	12	12	12	11	12	12	12	12
		顆粒球性白血病 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		リンパ球性白血病 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	口腔 ^{b)}	所見/検査動物数	0	0	0	0	0	1	0	0
		乳頭腫 (B)	-	-	-	-	-	1	-	-
合 計	検査動物数		12	12	12	11	12	12	12	12
	腫瘍数	良性	6	1	3	1	1	3	0	9
		悪性	0	0	0	1	0	0	0	2
	腫瘍総数		6	1	3	2	1	3	0	11
	担腫瘍動物数	良性	5	1	3	1	1	2	0	9
		悪性	0	0	0	1	0	0	0	2
担腫瘍動物数		5	1	3	2	1	2	0	10	

表中の数字は病変の認められた動物数。

Fisher の直接確率計算法 ↑, $p < 0.001$; ↓, $p < 0.05$ (申請者実施)。

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍。

a) : 対照群と 1000ppm 群の統計検定を実施, b) : 統計検定を実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

VIII.1.8. 繁殖毒性及び催奇形性

1) 繁殖毒性

①ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料 2-13)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体の純度：

供試動物：Crj:CD(SD) [IGS]ラット，1 群雌雄各 24 匹，投与開始時 P 世代 5 週齢

投与期間：P 世代；投与開始から F1 児離乳時までの雌雄ともに 18 週間

F1 世代；離乳時から F2 児離乳時まで雄 18 週間，雌 19 週間

(2001 年 2 月 27 日～2001 年 11 月 7 日)

投与方法：検体を 0，30，150 及び 750ppm 含有した飼料を自由に摂食させた。

投与量の設定；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表 1. にまとめた。

一般状態及び死亡率；P 及び F1 親動物については 1 日 2 回一般状態と死亡の有無を観察した。児動物は哺育期間中毎日一般状態と死亡の有無を観察した。また，親動物・児動物ともに体重を測定する際，個々の動物を手にとって詳細に観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は投与第 10 週終了後の翌日から雄を交配用ケージに移し，雌は膣垢像観察して発情前期の日の夕刻に雄のケージに移し，1 対 1 で同居させた。翌日から膣栓有無と精子により交尾を確認した（妊娠 0 日）。

妊娠の確認は分娩の有無または子宮内の着床痕の有無によって行った。

繁殖性に関する指標；交配，妊娠及び分娩時期の観察に基づき，次の指標を算出した。

雄の交尾率 (%) = (交尾を認めた雄数 / 交配に用いた雄数) × 100

雌の交尾率 (%) = (交尾を認めた雌数 / 交配に用いた雌数) × 100

交尾の平均日数 = 群毎の同居開始から交尾の証拠が得られた日までの日数

受胎率 (%) = (妊娠雌数 / 交尾を認めた雌数) × 100

出産率 (%) = (正常出産雌数 / 妊娠雌数) × 100

妊娠期間：交尾を認めた日から分娩完了までの日数

平均着床数：子宮内の着床痕の数から，各群の 1 腹当りに換算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

また、全てのP及びF1雄親動物から、剖検時に精巣精子頭部及び精巣上体精子を採取し、精子頭部数、精子数、運動性及び形態異常を調べた。

臓器重量測定；全てのP及びF1動物の、脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精嚢及び前立腺の重量を測定した。

病理組織学的検査；対照群と高用量群のP及びF1親動物10組について生殖器官（卵巣、卵管、子宮、膈または精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺及び前立腺）、下垂体および副腎の病理標本作製し、鏡検した。

妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組、分娩時に死亡した雌及び異常出産または全哺育児の死亡が認められた雌については、生殖器官、下垂体および副腎の病理組織学的検査を行った。

さらに、次の臓器については全群で病理組織学的検査を行った。

P世代：雌雄親動物の肝臓

F1世代：雌雄親動物の肝臓、雄親動物の精嚢、雌親動物の卵巣及び脾臓

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 1. 交配・調整・選抜および観察・検査項目の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成(10週)		体重・摂餌量を週1回測定
			第8週終了後から発情周期観察
	交配	雌雄1対1で交配。交配は陰栓の有無と精子により確認(妊娠0日)	交配状況の観察 交尾率、同居開始から交尾までの平均日数
	妊娠		雌の体重妊娠0、7、14、20日に測定
	出産		分娩状況の観察 受胎率、出産率、妊娠期間、着床数、新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児体重測定。
P	哺育(3週)	哺育4日に哺育児数が8匹になるよう無作為に選抜。	雌の体重哺育0、7、14、21日及び剖検日に測定 F1児は哺育0、4、7、14および21日に体重測定
			哺育4及び21日に生存児数測定。 途中死亡及び哺育4日に選抜されなかったF1哺育児を剖検した。
F1	離乳	群ごとに、21～27日齢のF1離乳児から雌雄それぞれ24匹を選抜。最も多く出産が見られた日を含む6日間に出産した腹から各性1-2匹を無作為に選抜	全てのP親動物及びF1世代親未選抜動物を剖検した。 対照群と高用量群のP親動物10組について病理組織学的検査。 全ての雄動物の精子検査 全群のP親動物の肝臓の病理組織学的検査 離乳児のうち原則各腹雌雄1匹の脳、脾臓、胸腺及び子宮重量測定
	育成(10週)		体重・摂餌量を週1回測定
			雄は包皮分離、雌は陰開口を観察
			第8週終了後から発情周期観察
	交配	雌雄1対1で交配。交配は陰栓の有無と精子により確認(妊娠0日)	交配状況の観察 交尾率、同居開始から交尾までの平均日数測定
	妊娠		雌の体重妊娠0、7、14、20日に測定
F1	出産		分娩状況の観察 受胎率、出産率、妊娠期間、着床数、新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児体重測定。
			雌の体重哺育0、7、14、21日及び剖検日に測定 F2児は哺育0、4、7、14および21日に体重測定
F1	哺育(3週)	哺育4日に哺育児数が8匹になるよう無作為に選抜。	哺育4及び21日に生存児数測定。 途中死亡及び哺育4日に屠殺した動物全てを剖検した。
F2	離乳	群ごとに、21～27日齢のF1離乳児から雌雄それぞれ24匹を選抜。最も多く出産が見られた日を含む6日間に出産した腹から各性1-2匹を無作為に選抜	全てのF1親動物の剖検。 全ての雄F1動物の精子検査 対照群と高用量群のF1親動物10組について病理組織学的検査。 全群のF1雌雄親動物の肝臓、雄親動物精囊、雌親動物の卵巣及び脾臓の病理組織学的検査
	育成(25～27日齢)		体重・摂餌量を週1回測定 25～27日齢で剖検

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：概要を表 2. に示した。

i. P 及び F1 親動物の一般毒性

P 及び F1 世代親動物の 750ppm 投与群では、検体の投与に関連すると思われる中毒症状は認められなかったが、体重増加抑制と摂餌量の低下が認められた (表 3 及び 4.)。体重増加抑制は、P 雄と F1 雄ではそれぞれ投与開始後から 2 及び 4 週間、P 雌と F1 雌ではそれぞれ育成期間中 (投与 1-10 週) と投与 10 週に認められた。P 雌では妊娠 20 日にも有意な体重増加抑制が認められた。また、逆に哺育第 3 週で通常みられる体重増加量の低下は P 雌でやや弱く、哺育 0-21 日の体重増加量は有意に高かった。摂餌量の低下は、P 雄ではみられなかったが、F1 雄の投与 1-4 週と 10 週、P 雌の妊娠 14-20 日及び F1 雌の投与 2 週に認められた (表 4.)。

検体の投与に関連した臓器重量の変化としては、肝臓の絶対重量及び体重比の増加または増加傾向が P 及び F1 世代の雌雄に、卵巣の絶対重量および体重比の増加が P 及び F1 雌にみられたほか (表 2.)、脾臓重量体重比の増加傾向が F1 雌に認められた。これらの臓器を病理組織学的に検査したところ、P 及び F1 雄の肝臓には小葉中心性肝細胞脂肪化、P 及び F1 雌の肝臓には小葉中心性肝細胞肥大、F1 雌の脾臓にはうっ血が高い頻度で観察された。卵巣については、重量増加と関連する所見はみられなかった。また、脳および腎臓絶対重量の低下が F1 親動物の雌雄に、下垂体絶対重量の低下および精囊重量の体重比の増加が F1 雄親動物に認められた。脳と腎臓に関しては、剖検等で異常はみられなかったものの、胎児期に起きた全身性発育抑制を反映した変化とも考えられ、検体投与の影響の可能性があると考えられた。下垂体については病理組織学的異常がみられないことおよび下垂体ホルモンに連動して変化する精巣や副腎、甲状腺などに異常がみられないことから低体重に伴う変化と考えられた。また、精囊重量体重比の高値についても、病理組織学的異常が認められない上、精巣や精巣上体、前立腺などの関連臓器の重量に変化が見られないことから偶発的な変化と考えられた。

ii. P 及び F1 親動物の繁殖能力 (表 2-1.)

P 及び F1 世代の親動物の繁殖能力に関しては、30 及び 150ppm 投与群では検体投与の影響はみられなかった。750ppm 投与群では、雄親動物の性成熟、交尾能力及び精子形成に異常はみられなかった。しかし、雌親動物では、発情周期長の延長が P 雌で認められたほか、P 及び F1 ともに妊娠期間の延長と分娩時の死亡 (P 雌 5 匹と F1 雌 4 匹) がみられ、出産率は有意に低下した。750ppm 投与群の交尾率、受胎率、平均着床数は対照群とほぼ同じであり、正常に分娩した雌では児の哺育も正常に行われた。

iii. F1 及び F2 児動物への影響

F1 及び F2 児動物に対する検体投与の影響は、30 及び 150ppm 投与群では認められなかった。一方、750ppm 投与群では、F2 児の哺育 0 日と 4 日における生存率の低下、F1 児雌雄ともに哺育 14 日と 21 日の体重がやや低く、F2 児雌雄では哺育 0 日、14 日及び 21 日に有意に体重が低かった (表 5.)。また、750ppm 投与群でみられる脳重量の有意な低下は、体重が小さいことによる影響と判断された。

脾臓重量体重比が雌雄の F1 及び F2 離乳児で増加した。このため、脾臓を病理組織学的に検査したが、異常は認められなかった。

以上の結果から、2 世代にわたって本検体を飼料中に混入して投与した場合 750ppm 投与群で、親動物の体重増加抑制、脳及び腎臓重量、肝臓および脾臓への影響がみられた。また、同じく 750ppm 投与群雌動物で妊娠期間の延長と分娩時の死亡がみられ、出産率が低下した。

したがって、ラット親動物における本検体の一般毒性的影響に関する中毒量は 750ppm (雄：平均 43.2 mg/kg/日、雌：平均 63.2 mg/kg/日)、無毒性量は 150ppm (雄：平均 8.49 mg/kg/日、雌：平均 12.88 mg/kg/日) と判断される。親動物の繁殖能力に対する無毒性量、ならびに F1 及び F2 児に対する無毒性量はいずれも 150ppm と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 2-1. 結果の概要 (P 及び F1 世代親動物)

世代		親:P				児:F1				親:F1				児:F2				検 定 方 法	
投与量 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750	0	30	150	750	0	30	150	750		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	#1	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24		
一般状態		投与に関連する症状は見られなかった								投与に関連する症状は見られなかった								#1	
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	#1	
	雌	0	0	0	↑20.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16.7		
最終平均体重 18W (g)	雄	578	562	577	575	628	614	609	590	628	614	609	590	628	614	609	590	#1	
	雌	307	309	303	304	346	345	344	324	346	345	344	324	346	345	344	324		
最終平均体重 18W 増加量 (g)	雄	432	416	430	429	542	528	524	513	542	528	524	513	542	528	524	513	#1	
	雌	190	192	186	187	265	264	266	252	265	264	266	252	265	264	266	252		
検体摂取量(平均) (mg/kg/day)	雄	0	1.73	8.49	43.2	0	1.81	9.05	45.7	0	1.81	9.05	45.7	0	1.81	9.05	45.7	#1	
	雌	0	2.54	12.88	63.2	0	2.51	12.67	62.1	0	2.51	12.67	62.1	0	2.51	12.67	62.1		
肉眼的病理検査		投与に関連する異常は見られなかった								投与に関連する異常は見られなかった								#2	
臓器重量(数値は対照に対する相対値(%))																			
脳 (絶対)	雄																	↓94	
	雌																		↓93
下垂体 (絶対)	雄																		↓91
	雌																		
肝臓 (絶対) (体重比)	雄																		
	雌				↑112														
	雄				↑106														
腎臓 (絶対)	雄																		↑112
	雌																		↓91
精囊 (絶対) (体重比)	雄																		↓90
	雌																		↑114
卵巣 (絶対) (体重比)	雄				↑118														↑125
	雌				↑119														↑134
病理組織学的検査																			
肝臓:小葉中心性肝細胞脂肪化	雄				↑														↑
	雌																		
小葉中心性肝細胞肥大	雄				↑														↑
	雌																		
脾臓:うっ血	雄																		↑
	雌																		
繁殖能力																			
平均発情周期長(日)		4.1±0.3	4.1±0.2	4.1±0.2	↑4.4±0.5	4.3±0.6	4.6±1.3	4.1±0.3	4.1±0.2	4.3±0.6	4.6±1.3	4.1±0.3	4.1±0.2	4.3±0.6	4.6±1.3	4.1±0.3	4.1±0.2	#3	
交尾率(%)	雄	100.0	100.0	100.0	100.0	95.8	100.0	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0	#2	
	雌	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		
同居から交尾までの平均日数(日)		1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.0	1.3±1.2	2.0±1.7	1.7±1.7	1.4±1.1	↓1.2±0.8	1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.0	1.3±1.2	2.0±1.7	1.7±1.7	1.4±1.1	↓1.2±0.8	#3	
受胎率(=妊娠雌数/交尾を認めた雌数)		24/24	23/24	24/24	21/24	22/24	23/24	20/24	24/24	24/24	23/24	20/24	24/24	22/24	23/24	20/24	24/24	#2	
出産率(=正常出産雌数/妊娠雌数)		24/24	23/23	24/24	↓14/21	22/22	23/23	20/20	↓18/24	24/24	23/23	20/20	↓18/24	22/22	23/23	20/20	↓18/24	#2	
妊娠期間(日)		22.2	22.3	22.4	↑23.0	22.4	22.3	22.3	22.7	22.2	22.3	22.3	22.7	22.4	22.3	22.3	22.7	#3	
着床数		14.4±1.8	14.3±2.1	14.3±1.5	13.4±3.6	13.5±3.7	14.0±3.3	14.9±1.6	13.5±2.7	14.4±1.8	14.3±2.1	14.3±1.5	13.4±3.6	13.5±3.7	14.0±3.3	14.9±1.6	13.5±2.7	#1	
検定方法:		#1 ①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01 ↑↓:P<0.001 #2 Fisherの直接確立計算法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01 #3 Mann-WhitneyのU検定法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01																	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 2-2. 結果の概要 (F1 及び F2 児動物)

世 代		親:P				児:F1				親:F1				児:F2				検定方法
投 与 量 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750	0	30	150	750	0	30	150	750	
親 動 物 数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	#1
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
児	平均産児数(匹)	13.3±2.4	13.4±2.8	13.3±1.5	11.8±3.5	11.7±3.6	13.0±3.2	13.9±1.7	10.3±4.1	#1								
	生存児数(匹)	308	304	318	157	253	299	275	169									
	死産児数(匹)	10	4	1	8	4	1	3	↑16	#3								
	臨床観察(哺育0日)																	
	尾端部欠失(匹)						1											
	下顎部咬傷(匹)							1										
	臨床観察(哺育1-4日)																	
	死亡(匹)									#3								
	喰失(匹)	1	2	1	4	0	2	4	3									
	曲尾(匹)				1													
動 物	尾の痂皮形成(匹)								1									
	尾端部欠失(匹)						1											
	性比(雄/雌)	0.497	0.516	0.443	0.491	0.508	0.497	0.489	0.508	#2								
	同腹生存児体重(g)	7.0±0.6	6.9±0.8	7.0±0.5	6.8±0.8	7.4±0.9	7.0±0.7	6.9±0.6	↓6.4±0.7	#1								
	4日生存率(%)	99.7	99.5	99.7	96.3	100.0	95.4	98.5	88.5									
	21日生存率(%)	94.8	97.8	97.4	98.2	100.0	100.0	97.5	100.0									
	膈開口(日)	雌 31.1±1.1	30.9±1.5	31.1±1.8	31.2±1.4					#3								
	包皮分離(日)	雄 40.8±1.4	40.8±1.6	41.0±1.5	41.7±2.5													
	肉眼的病理検査	雄	投与に関連する異常は見られなかった				投与に関連する異常は見られなかった											
		雌																
臓器重量(25-27日)(数値は対照に対する相対値(%))																		
脳:絶対重量	雄				↓93													#1
	雌				↓93													
脾臓:体重比	雄				↑121													#1
	雌				↑115													
病理組織学的検査																		
脾臓:異常なし/検査数	雄	23/23	23/23	23/23	11/11	22/22	22/22	20/20	16/16	#1								
	雌	22/22	23/23	24/24	12/12	22/22	22/22	20/20	16/16									
検定方法:	#1	①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01 ↑↓:P<0.001																
	#2	Fisherの直接確率計算法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01																
	#3	Mann-WhitneyのU検定法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01																

表 3-1. 期間毎の平均体重 (g) の推移 (雄)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間							最終体重 週	
		投与週:										投与週:								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		17
P	0	146 4	206 10	264 15	318 19	361 23	398 27	430 31	453 35	473 38	488 39	500 41	513 42	527 45	537 45	544 46	557 48	565 49	574 49	578 48
	30	146 4	206 11	263 15	315 20	356 25	387 29	416 33	437 36	457 37	474 39	488 41	500 43	513 45	523 48	528 50	542 52	551 53	557 55	562 56
	150	146 4	202 9	259 14	315 18	356 20	391 24	421 27	447 31	467 33	484 35	500 38	512 37	522 38	534 38	542 42	555 41	562 43	571 44	577 44
	750	146 4	↓196 7	↓251 12	308 18	355 21	394 25	424 28	448 33	468 36	487 39	502 41	510 41	521 41	534 44	541 47	553 47	560 49	570 51	575 51
F1	0	86 10	140 13	205 15	272 18	334 21	381 25	422 31	455 35	484 38	508 40	529 42	542 42	560 45	573 45	585 45	596 48	609 48	619 49	628 50
	30	86 10	139 16	202 20	267 23	329 26	379 27	420 30	452 31	480 32	503 37	522 40	534 39	551 44	565 47	576 49	585 54	594 56	605 59	614 60
	150	86 7	137 12	199 15	263 19	325 23	373 27	412 31	445 33	473 37	494 39	512 42	528 45	546 50	558 48	569 51	578 53	589 55	601 56	609 58
	750	↓77 8	↓123 11	↓181 14	↓238 17	↓299 22	↓355 25	↓397 30	↓427 32	↓452 36	↓474 39	↓491 40	↓505 42	↓523 44	↓536 47	549 49	560 52	568 54	579 56	590 58

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett 法または Scheffe 法 ② Dunnett 型または Scheffe 型順位和検定法

↓: P≤0.05, ↓↓: P≤0.01, ↓↓↓: P≤0.001

表 3-2. 期間毎の平均体重 (g) の推移 (雌)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間								最終体重週	
		投与週:										妊娠日:				哺育日:					
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	0	7	14	20	0	7	14		21
P	0	117	150	175	196	214	229	243	252	261	266	272	275	305	336	410	300	329	338	311	307
		4	6	8	9	11	12	13	14	12	15	15	15	15	16	18	21	20	18	18	16
	30	117	150	174	198	216	231	245	259	267	271	279	284	310	341	411	302	330	335	310	309
		4	8	10	13	16	18	23	24	24	25	29	29	27	29	36	27	24	25	23	23
F1	150	117	149	171	194	209	222	236	249	257	263	267	274	300	330	400	290	327	335	307	303
		3	8	11	14	15	18	20	19	18	21	23	23	23	23	25	22	24	26	22	19
	750	117	146	168	190	205	220	↓230	↓240	↓249	↓255	↓259	265	292	↓321	↓384	282	323	329	311	304
		3	5	7	11	14	16	16	16	18	16	17	18	15	16	26	18	16	15	15	19
F1	0	81	122	163	193	222	242	260	274	288	296	305	305	336	366	434	337	363	367	338	346
		8	9	9	11	15	15	18	20	19	20	22	18	20	21	25	26	23	25	22	23
	30	81	121	160	191	215	238	254	273	284	294	301	304	333	364	437	328	357	366	332	345
		11	14	14	17	18	18	22	23	24	21	21	24	20	23	32	25	20	20	20	23
F1	150	79	118	158	188	214	238	256	271	283	291	300	304	334	364	438	327	360	370	338	344
		8	11	14	16	20	24	27	27	28	30	30	32	32	35	40	38	36	34	28	32
	750	↓72	↓110	↓150	↓178	↓204	↓224	↓238	↓252	↓264	↓272	↓277	↓281	↓308	↓338	↓404	↓309	↓331	344	321	324
		8	11	13	14	14	17	16	16	18	19	18	20	21	22	32	22	23	20	23	22

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnnett 法または Scheffe 法 ② Dunnnett 型または Scheffe 型順位和検定法

↓: 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及び内容の責任は株式会社クレーンにある。

表 3-3. 期間毎の平均体重増加量 (g) の推移 (雄)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間						投与期間 0-18週		
		投与週:																		
		0-1	0-2	0-3	0-4	0-5	0-6	0-7	0-8	0-9	0-10	0-11	0-12	0-13	0-14	0-15	0-16		0-17	
P	0	60	118	171	215	251	284	307	327	341	354	367	380	391	398	411	419	428	432	
		7	12	16	21	25	29	33	36	37	39	41	43	43	44	46	47	48	46	
	30	60	117	169	210	241	270	291	311	328	342	354	367	377	382	396	405	411	416	
		7	12	17	22	27	31	34	35	38	40	41	44	47	48	51	51	53	55	
150	56	113	169	210	245	275	301	321	338	354	366	376	388	396	409	416	425	430		
	6	11	16	19	23	25	29	32	34	37	36	36	37	41	40	42	43	43		
750	50 \downarrow	105 \downarrow	162	208	247	278	302	322	340	356	364	375	388	395	407	414	424	429		
	6	11	17	20	24	27	32	35	38	41	41	40	43	46	46	49	50	51		
F1	0	54	119	185	248	295	335	368	397	422	443	456	473	487	499	510	522	532	542	
		5	9	14	19	24	30	34	37	40	43	42	45	45	46	49	49	50	51	
	30	53	116	181	243	292	334	366	393	417	436	448	465	478	490	499	508	519	528	
		6	11	15	19	21	25	27	28	34	36	36	41	44	46	50	52	55	57	
150	52	114	178	239	288	327	360	388	409	427	442	460	472	483	492	504	516	524		
	5	9	14	19	24	29	31	35	37	40	44	48	46	49	52	54	55	56		
750	47 \downarrow	104 \downarrow	162 \downarrow	223 \downarrow	278	320	351	376	397	415	428	446	460	472	483	491	503	513		
	4	8	13	18	23	27	30	34	37	38	40	42	45	48	50	52	54	57		

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

\downarrow : $p \leq 0.01$ \downarrow : $p \leq 0.001$

表 3-4. 期間毎の平均体重増加量 (g) の推移 (雌)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間						投与期間 0-19週
		投与週:										妊娠日:			哺育日:			
		0-1	0-2	0-3	0-4	0-5	0-6	0-7	0-8	0-9	0-10	0-7	0-14	0-20	0-7	0-14	0-21	
P	0	33	58	79	97	112	126	135	144	149	155	30	61	135	29	39	12	190
		5	7	9	11	12	12	13	13	15	15	8	11	16	12	17	12	
	30	33	57	81	99	114	128	142	150	154	162	26	57	127	27	33	8	192
		6	9	12	15	17	21	24	24	24	28	8	9	20	18	19	17	
	150	31	54	77	92	105	119	132	140	146	150	26	56	127	37	45	17	186
		5	9	12	13	17	18	17	16	20	21	6	8	13	11	12	11	
	750	29↓	51↓	73	88↓	103	113↓	123↓	132↓	137	142↓	26	55	118↓	40	47	29↑	187
		4	6	10	13	15	15	15	17	15	15	8	8	21	13	17	17	
F1	0	41	81	112	141	160	179	193	206	215	223	31	61	129	26	30	1	265
		4	8	11	14	16	19	22	21	22	24	8	12	22	16	17	15	
	30	40	79	111	135	158	173	192	204	213	220	28	60	132	29	39	4	264
		4	7	12	12	13	17	19	19	16	17	8	12	20	17	19	20	
	150	39	79	109	135	159	177	192	204	212	221	30	60	134	34	44	11	266
		4	9	12	15	19	23	23	24	26	26	8	12	17	17	18	20	
	750	38	78	106	132	152	166	180	191	200	204↓	27	57	124	24	37	14	252
		4	8	10	12	14	14	16	17	18	17	6	8	19	10	16	18	

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

↓: $p \leq 0.05$ ↑↓: $p \leq 0.01$

表 4-1. 期間毎の平均摂餌量 (雄)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間							
		投与週:										投与週:							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
P	0	19.7 0.6	22.0 0.8	24.2 0.9	24.5 1.1	24.9 1.3	24.9 1.3	24.7 1.3	24.6 1.4	23.9 1.4	23.6 1.1	-	23.9 1.5	23.9 1.3	23.7 1.4	23.4 1.9	23.7 1.7	23.4 1.3	-
	30	19.8 0.6	22.4 0.6	24.4 0.7	24.4 1.1	24.2 1.4	24.3 1.5	24.2 1.7	23.9 1.6	23.8 1.6	24.0 1.4	-	23.8 1.5	23.8 1.6	23.7 1.6	23.7 1.5	23.8 1.5	23.4 1.8	-
	150	19.6 0.8	22.5 0.9	24.7 1.0	24.3 0.9	24.4 1.1	24.3 0.8	24.4 1.1	24.1 0.8	23.5 1.2	23.5 1.1	-	23.5 1.0	23.3 1.2	23.3 1.3	22.9 1.2	23.0 1.2	22.6 1.1	-
	750	19.0 0.8	21.6 1.2	24.0 1.4	24.5 1.4	25.5 1.2	25.3 1.1	24.9 1.1	24.1 1.2	24.0 1.4	23.9 1.4	-	23.7 1.3	24.0 1.7	24.2 1.7	23.9 1.6	24.2 1.7	23.8 1.4	-
F1	0	13.9 0.6	19.4 0.9	23.7 1.4	26.1 1.6	26.7 1.7	26.0 1.5	25.9 1.3	25.9 1.3	25.2 1.1	25.0 1.3	-	24.7 1.4	25.0 0.8	24.7 1.0	24.9 0.8	24.8 0.9	24.6 1.1	-
	30	14.0 0.5	19.3 0.7	23.5 0.7	26.0 0.7	27.0 0.9	26.4 0.6	26.2 0.7	26.4 0.6	25.4 0.7	24.7 0.6	-	24.8 0.9	25.2 1.0	25.4 0.9	25.0 1.1	24.7 0.6	24.6 0.7	-
	150	13.9 0.4	19.1 0.9	23.1 1.1	25.7 1.6	26.5 1.8	25.8 1.6	26.0 1.6	25.7 1.5	24.9 1.4	24.3 1.4	-	24.1 1.4	24.9 1.6	24.8 1.6	24.6 1.5	24.3 1.5	24.1 1.3	-
	750	11.8↓ 0.5	17.2↓ 0.8	21.1↓ 1.1	23.6↓ 1.3	25.5 1.0	25.2 0.8	25.1 0.8	25.1 0.8	24.0 1.0	23.5↓ 0.8	-	24.5 0.7	25.3 0.6	24.5 0.6	24.9 0.7	24.2 0.7	24.4 0.8	-

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

↓: $p \leq 0.05$ ↓↓: $p \leq 0.01$ ↓↓↓: $p \leq 0.001$

表 4-2. 期間毎の平均摂餌量 (雌)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間					
		投与週:										妊娠日:			哺育日:		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	0-7	7-14	14-20	0-7	7-14	14-21
P	0	14.2	14.8	15.1	15.6	15.6	15.7	15.5	15.7	14.8	14.5	17.9	20.7	21.6	34.1	51.8	64.5
		0.3	0.4	0.4	0.6	1.0	0.8	0.9	0.5	0.9	0.6	2.5	1.9	1.8	4.6	4.0	4.8
	30	14.4	15.2	15.7	16.1	16.1	16.5	16.4	16.2	15.4	15.8	18.3	20.4	21.6	35.3	51.7	65.3
		0.8	0.7	0.8	0.9	1.1	1.3	1.4	1.2	1.1	1.2	2.4	2.0	2.1	5.8	6.5	8.3
	150	14.4	14.9	15.6	15.7	15.6	16.1	16.1	16.0	15.1	15.1	17.9	19.7	20.9	36.9	52.6	65.7
		0.4	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.4	0.8	0.7	0.9	2.3	1.8	1.7	4.7	6.6	7.3
	750	14.0	14.5	15.1	15.1	15.2	15.2	15.2	15.3	14.4	15.0	17.7	19.6	19.9↓	35.9	50.2	62.9
		0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.5	0.9	0.9	0.7	0.9	1.6	1.5	2.0	4.9	6.7	10.4
F1	0	11.1	15.3	16.2	17.0	16.9	17.2	17.1	17.5	16.6	16.4	18.4	22.4	22.8	33.9	50.3	61.1
		0.5	0.6	0.6	0.9	0.9	0.9	1.0	1.1	1.2	1.0	1.9	2.8	2.1	5.4	8.1	10.3
	30	11.5	15.4	16.1	16.6	17.4	17.3	17.6	17.3	17.0	16.6	17.5	21.3	22.9	35.6	54.3	64.8
		0.7	0.7	0.9	0.8	0.9	1.0	1.0	1.1	0.8	0.7	2.1	2.2	2.5	5.1	4.8	6.3
	150	11.5	15.2	16.2	17.0	17.7	17.6	17.5	17.8	17.5	17.2	18.6	21.5	23.4	36.2	53.6	64.4
		0.6	0.7	1.2	1.2	1.3	1.3	1.4	1.2	1.6	1.0	1.2	2.4	2.8	5.0	3.7	4.2
	750	10.5	14.5↓	15.4	16.0	16.1	16.3	16.5	16.4	16.0	15.7	17.4	20.8	21.6	31.8	47.3	57.2
		0.4	0.4	0.4	0.5	0.6	0.5	0.7	0.6	0.7	0.6	2.0	2.1	2.3	5.6	9.2	12.2
		数値は上から、平均値、標準偏差															
		検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法															
		↓: $p \leq 0.05$															

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 5. F1 及び F2 児の平均体重

同腹仔	投与量 (ppm)	雄哺育児体重 哺育 日:					雌哺育児体重 哺育 日:				
		0	4	7	14	21	0	4	7	14	21
F1児	0	7.0	11.3	18.7	39.0	63.3	6.6	11.0	18.2	38.1	61.4
		0.6	1.2	2.2	2.6	3.6	0.6	1.2	2.1	2.4	3.2
	30	6.9	11.8	19.5	39.9	64.8	6.6	11.2	18.4	38.2	61.7
		0.8	1.6	1.9	2.1	3.9	0.8	1.7	2.6	3.4	5.3
	150	7.0	11.5	18.9	39.4	65.2	6.7	11.2	18.5	38.0	62.2
		0.5	1.2	2.1	3.2	5.0	0.6	1.2	2.0	3.3	5.1
	750	6.8	11.7	18.2	37.5	60.5	6.4	10.8	17.5	35.9	57.4
		0.8	1.4	2.3	2.8	4.8	0.7	0.9	1.6	2.3	3.9
F2児	0	7.4	12.7	20.3	41.4	68.0	7.1	12.3	19.8	40.4	65.7
		0.9	2.1	2.6	3.3	6.3	0.9	2.0	2.4	3.0	4.8
	30	7.0	11.8	19.7	40.7	67.1	6.7	11.2	18.5	38.9	63.5
		0.7	1.3	1.9	2.7	4.6	0.7	1.4	2.2	3.0	4.4
	150	6.9	11.5	19.0	40.3	66.6	6.5	11.0	17.9	38.7	63.6
		0.6	1.2	1.8	3.3	5.4	0.7	1.3	2.0	3.4	5.1
	750	6.4↓	11.8	18.8	37.7↓	60.9↓	6.3↓	11.2	18.1	36.5↓	58.1↓
		0.7	1.4	1.7	3.1	4.5	0.5	1.3	2.0	3.6	5.3

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

↓: $p \leq 0.05$

↓: $p \leq 0.01$

↓: $p \leq 0.001$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

2) 催奇形性

①ラットにおける催奇形性試験

(資料 2-14)

試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd.

[GLP 対応]

<試験実施番号: KRA/069 22919>

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: Sprague-Dawley [CrI:CD®(SD)IGS BR] ラット, 1 群当り自然交配雌 22 匹

妊娠 0 日: 9~10 週齢, 体重 232~289 g

試験期間: 動物試験期間 28 日間 (2002 年 2 月 4 日~3 月 3 日)

投与期間 妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間

投与方法: 検体を 1%メチルセルロース溶液に懸濁し, 0, 1, 4, 16 または 64 mg/kg/日の用量で, 妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間毎日 1 回 4 mL/kg 体重の容量で強制経口投与した (腔垢中精子または腔栓確認日を妊娠 0 日とした)。なお, 対照群の動物には媒体の 1%メチルセルロース溶液を同様に投与した。

用量設定根拠:

観察・検査項目:

母動物: 妊娠 0~20 日の間, 一般状態及び死亡について毎日少なくとも 2 回観察して所見を記録した。各雌の体重を妊娠 0 日, 3 日, 6~20 日に測定し, それらの体重値から体重増加量を算出した。各雌の摂餌量を妊娠 0~2, 3~5, 6~9, 10~13, 14~17, 18~19 日の期間について記録した。妊娠 20 日に母動物を安楽死させて剖検し, 妊娠の成否と肉眼による病理学的変化について調べた。卵巣と子宮を摘出して, 卵巣について黄体数を数え, 子宮については妊娠子宮重量, 着床数, 吸収・死亡胚数及び生存胎児数を記録した。

胎児: 各生存胎児の体重を測定し, 性を判定して外表異常について検査した。各腹半数の胎児について, 未固定の状態の内臓を検査した。各腹残り半数の胎児を変性アルコールで固定した後, アリザリンレッド S とアルシアンブルーで骨・軟骨の二重染色を施した標本作製し, 骨格の変化について検査した。構造の変化は, 下記のとおり分類した。

奇形: 稀でおそらく致死性のもの (たとえば外脳症)。

異常: 骨格検査 (たとえば二分椎体) または内臓検査 (たとえば尿管拡張) によって比較的頻繁に認められる「正常」との違い。

骨格変異: 対照集団に恒常的に発生している代替的構造 (たとえば腰肋や第 5 及び第 6 胸骨分節不完全骨化)。

本試験で“心室中隔膜性部の狭小な穿孔”と“心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔”

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

が観察された(申請者注:明らかな母体毒性がみられた 64 mg/kg に限られている)。これらは心臓の膜性中隔と筋性中隔の結合部にみられる欠損である [W. J. Larsen 著 Human Embryology, Churchill Livingstone Inc., 1993, 157~158 頁参照]。“心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔”は、膜性中隔と筋性中隔の結合部の極めて狭小な穿孔で、細い毛で注意深く探って認められる程度の開存であり、胎児/新生児がさらに発育すれば存続するとは考えられないものであった。“心室中隔膜性部の狭小な穿孔”は、膜性中隔と筋性中隔の結合部の穿孔がやや大きいものの、やはり狭小な穿孔であり、出生後の生存に支障をきたすほど重篤ではなかった。したがって、これらは異常に分類した。

結果:概要を次ページ以下の表に示す。

64 mg/kg で母体毒性が明らかであった。投与開始後に体重減少または体重増加の停滞と摂餌量の減少が観察された。死亡が 1 例(妊娠 18 日に動物愛護の理由で屠殺)あったが、投与との関連は明確にできなかった。胎児への影響は、着床後胚死亡が明らかに増加し、早期及び後期胚吸収率の有意な増加によって生存同腹児数が有意に減少した。胎盤重量が有意に増加し、すべての胎盤に腫大、またいくつかには退色や斑紋もみられた。胎児体重は対照より有意に低かった。検体投与に関連する外表、内臓及び骨格の奇形は認められなかったが、心臓の異常(心室中隔膜性部の狭小な、あるいは極めて狭小な穿孔)、肋骨の異常・変異(頸肋、腰肋など)及び胸骨分節の異常・変異(異常配列、不完全骨化)の発生率が増加した。

(申請者注:心室中隔膜性部の狭小な異常を除き、これらの異常・変異の発生率の増加は統計学的に有意であった。4 mg/kg 投与群で仙椎・尾椎及び腸骨・坐骨・恥骨の骨化不全の胎児出現頻度が統計学的に有意に高かったが、16 及び 64 mg/kg 投与群で有意な増加がみられていないことから毒性学的意義はない。また、1 または 16 mg/kg 投与群で他(第 5/第 6 以外)の胸骨分節不完全骨化及び頭蓋中心部の骨化不全の出現頻度にもみられた統計学的に有意な低値についても減少の変化であり、毒性学的意義はない。)

内臓検査で腎乳頭/腎盂、また軽度ながら尿管に緑色の“沈着”のある胎児が高頻度で観察された。この所見は、対照群または他の投与群では観察されず、背景対照にもみられていない。これらの胎児はブアン液で固定されていることから、この緑色沈着は固定処理に関連があると考えられる。選抜された胎児の顕微鏡による検査によって、沈着物はリポフスチン(脂質及びリポ蛋白の酸化による分解産物)であることが示されたが、胎児腎臓の構造に影響はないようであった。64 mg/kg 投与で胎盤が明らかに生理的ストレスを受けていることから、この所見は必ずしも直接的な胎児への影響を示しているわけではない。すべての胎盤が腫大しており、観察された胎盤重量の増加と一致した所見であり、また剖検時に多くが退色または斑紋を呈していた。これらの胎盤では老廃物の除去機能が落ちており、その結果腎盂内に残屑が蓄積する可能性があり、あるいはその物質は、胎盤移行中にまたは羊水を経て受け取られている胎盤由来の可能性がある。

16 mg/kg/日で、胎盤は剖検時に肉眼的には正常なようであり、対照よりわずかに 5%重いだけであった。すなわち 16 mg/kg/日以下の用量では、母動物及び胎児におけるすべての試験成績は、本質的に対照と同様であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

母動物：

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64			
1群当り交配雌動物数	22	22	22	22	22			
死亡雌動物数	0	0	0	0	1			
生存雌動物数	22	22	22	22	21			
妊娠雌動物数	22	22	22	22	22			
生存胎児のある雌動物数 (帝王切開時)	22	22	22	22	21			
一般状態	—	検体投与に起因する異常は認められなかった						
体重	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓妊娠7-20日			
補正体重 ^a (g)	329	333	334	323	↓299			
体重増加量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓妊娠7-20日			
補正体重増加量 ^a (g)	38	41	42	33	↓11			
摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓妊娠6-19日			
剖検所見	—	検体投与に起因する異常は認められなかった						
妊娠子宮重量 ^a (g)	85.7	85.6	85.5	91.6	↓77.0			
着床所見	検査腹数	22	22	22	22	21		
	黄体数 ^a	15.9	16.0	15.7	16.6	15.5		
	着床数 ^a	15.7	15.5	15.5	15.9	15.4		
	胚死亡率 ^a (%)	着床前						
			着床後	2.9	4.7	3.3	4.2	2.0
	腹当り吸収胚数 ^a	早期						
			後期	4.4	6.1	3.3	3.6	↑17.7
				0.7	1.0	0.5	0.5	↑1.6
	生存胎児数 ^a	後期						
				0.0	0.0	0.0	0.0	↑1.0
	生存胎児数 ^a	15.0	14.5	15.0	15.3	↓12.8		
	性比(%雄) ^a	48.1	51.1	49.7	49.3	50.8		
	同腹児重量 ^a (g)	54.20	54.64	54.66	56.39	↓38.55		
胎児体重 ^a (g)：雄	雌							
			3.73	3.87	3.75	3.79	↓2.99	
胎児体重 ^a (g)：雌	雄							
			3.55	3.63	3.58	3.58	↓2.95	
胎盤重量 ^a (g)	0.55	0.55	0.55	↑0.58	↑0.80			

^a 平均

Williams 検定：体重，補正体重，体重増加量，補正体重増加量，摂餌量，妊娠子宮重量，黄体数，着床数，胚死亡率，腹当り吸収胚数，生存胎児数，性比，同腹児重量，胎児体重，胎盤重量
 ↑↓：p<0.05，↑↓：p<0.01，↑：p<0.001で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

胎児；

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64
外表所見：検査胎児(腹)数	329 (22)	320 (22)	329 (22)	337 (22)	268 (21)
奇形：					
尾無発生，鎖肛	0	0	0	1	0
痕跡/糸状尾，鎖肛	0	0	0	0	2(2)
内臓所見：検査胎児(腹)数	163 (22)	159 (22)	163 (22)	168 (22)	136 (21)
奇形：					
上行大動脈転位/肺動脈幹背方偏位/心室中隔欠損	0	0	0	1	0
食道後大動脈弓	0	1	0	0	0
重複後大静脈	0	1	0	0	0
横隔膜ヘルニア	0	0	0	0	1
異常：					
眼，大きさの変異	0	0	2(1)	0	3(2)
眼，水晶体不整	0	1	0	0	1
甲状腺，小型葉	0	1	1	1	0
食道，右側	0	0	0	0	1
胸腺，部分的下降不全	2(2)	2(2)	5(4)	2(2)	1
腕頭動脈，欠損/痕跡的	3(2)	0	2(2)	0	5(3)
鎖骨下動脈，起始変異	0	0	0	0	2(2)
心臓，心室中隔膜性部の狭小な穿孔	0	0	0	0	3(3)
心臓，心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔	0	0	0	0	↑8 (↑6)
横隔膜，肝臓突出を伴う菲薄化	6(4)	1	4(4)	3(3)	1
肝臓，過剰葉	2(2)	1	1	1	3(3)
肝臓，葉の形態異常	0	0	0	0	1
腎臓，腎乳頭痕跡的/欠損	4(4)	0	2(2)	0	0
尿管，拡張	1	1	0	0	4(2)
腎臓/尿管，緑色沈着物	0	0	0	0	↑61 (↑20)
精巣，位置異常	3(3)	8(5)	4(4)	1	8(7)
臍動脈，左側	2(2)	2(2)	0	3(2)	2(2)

括弧内の数値は腹数を表す。

Fisher の直接確率計算法またはカイ二乗検定：胎児の外表，内臓所見，

↑：p<0.01，↑↑：p<0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

胎児；

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64
骨格所見：検査胎児(腹)数	166 (22)	159 (22)	165 (22)	167 (22)	129 (21)
奇形：					
外脳症；小顎症/下顎骨癒合；底蝶形骨奇形；底後頭骨，頸椎～第4胸椎(軟骨)分離/部分的分離	0	0	1	0	0
正常脊柱末端腰部で停止/後肢回転異常	0	0	0	0	1
正常脊柱末端腰部で停止	0	0	0	1	1
異常/変異：					
頭蓋，縫合骨	1	0	3(3)	0	0
頭蓋，頭頂間骨二分骨化	0	0	0	0	1
椎骨，胸椎異常	1	1	0	1	4(4)
胸椎軟骨，不完全癒合	1	1	0	0	0
肋骨，肥厚/屈曲	4(2)	1	2(2)	1	0
胸骨分節，配列異常	1	0	0	1	1
肋軟骨，配列異常	0	0	0	0	1
剣状突起軟骨，穿孔	4(4)	4(3)	6(5)	2(2)	4(3)
頸肋	2(2)	0	0	1	↑25(↑12)
第13肋骨短小/肋軟骨欠損	0	1	0	0	0
完全第14肋骨/肋軟骨	0	0	0	0	2(2)
過剰仮肋(1)/遊離肋骨/肋軟骨欠損(1)	7(5)	5(4)	4(4)	4(4)	2(1)
仮肋欠損(1)/過剰遊離肋骨/肋軟骨(1)	1	0	2(2)	1	↑7(5)
胸骨への結合のない第7肋軟骨	2(2)	3(1)	4(3)	3(2)	2(1)
軟骨性棘突起の方向尾方へ転換	2(1)	1	1	1	4(3)
胸椎・腰椎数 20	0	0	0	0	3(2)
胸椎・腰椎数 21	1	0	0	0	0
後肢帯配列異常	0	0	0	0	2(2)

括弧内の数値は腹数を表す。

Fisher の直接確率計算法またはカイ二乗検定：胎児の骨格所見，

↑：p<0.05，↑↑：p<0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり（申請者実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64
骨格所見：検査胎児(腹)数	166 (22)	159 (22)	165 (22)	167 (22)	129 (21)
変異：					
肋骨数13/14または14/14(腰肋) (腹あたりの発生率%)	22(10) (13.0)	13(8) (8.69)	29(15) (18.1)	28(13) (16.7)	↑62(↑18) (↑45.8)
第5/第6胸骨分節不完全骨化	109(21)	100(22)	105(21)	93(21)	↑109(21)
他(第5/第6以外)の胸骨分節不 完全骨化	8(6)	2(↓1)	3(2)	↓1(↓1)	↑16(11)
骨化不全：					
頭蓋中心部	21(11)	11(6)	25(9)	↓3(↓2)	↓6(↓3)
頸椎	2(2)	0	3(2)	1	0
胸椎	3(3)	1	3(3)	6(6)	6(4)
腰椎	0	0	0	0	1
仙椎・尾椎	10(8)	16(7)	↑27(8)	3(2)	3(2)
腸骨・坐骨・恥骨	2(2)	4(2)	↑11(6)	2(1)	1
中手骨/中足骨	1	0	4(3)	0	0
全骨格	1	1	0	0	3(2)

括弧内の数値は腹数を表す。

Fisherの直接確率計算法またはカイ二乗検定：胎児の骨格所見（申請者実施）

腰肋の腹あたりの発生頻度はKruskal-Wallis検定で多群の比較を実施し、有意な場合は

Wilcoxonの順位和検定を実施（申請者実施）

↑↓：p≤0.05, ↑↓：p≤0.01, ↑↓：p≤0.001

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は両方とも16mg/kg/日であった。64mg/kg/日では、心臓の異常（心室中隔膜性部の狭小な、あるいは極めて狭小な穿孔）、肋骨の異常・変異（頸肋、腰肋など）及び胸骨分節の異常・変異（異常配列、不完全骨化）の発生率が増加した。しかし、奇形の誘発はみられなかった。