

(資料 5-2)

イヌにおける 52 週間反復経口カプセル投与毒性試験

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験動物 : ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、投与開始時週齢；約 22~24 週齢
投与開始時体重範囲；雄 7.7~10.4 kg、雌 7.6~10.0 kg

試験期間 : 投与期間 52 週間

投与方法 : 検体を 10、100 及び 1000 mg/kg/日の用量でゼラチンカプセルに封入し、52 週間にわたって連続して経口投与した。毎日投与する検体量は最も近い時期に測定した体重をもとに投与前に計算した。検体は直接ゼラチンカプセルに秤量し、給餌前に投与した。対照群には 1000 mg/kg/日群の動物と同じサイズの空のカプセルを投与した。

投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率； 毎日症状を観察した。さらに各ケージについて一般状態の悪化を示す跡、例えば吐物、血液あるいは軟便の有無を毎日観察した。

検体投与に関連すると考えられる症状は認められなかった。

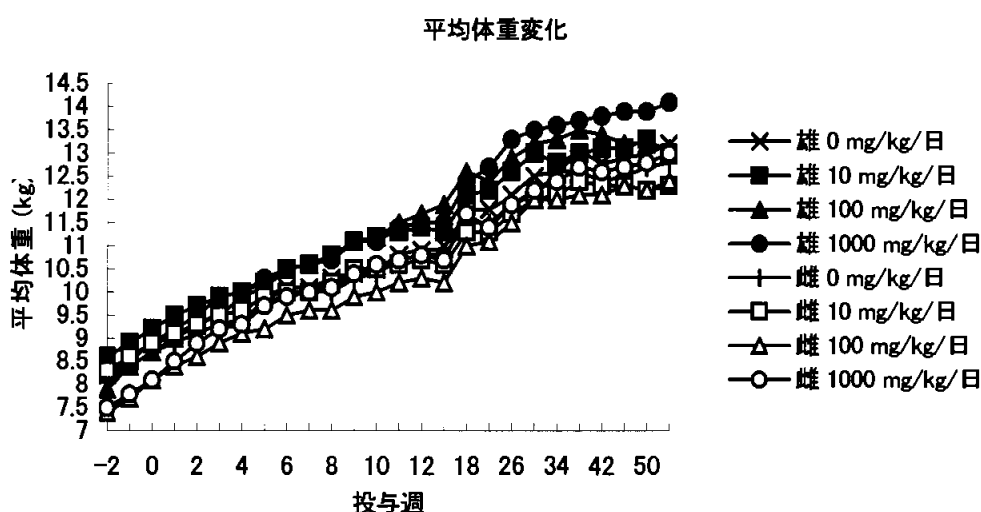
なお、高用量群(1000 mg/kg/日投与群)の雌 2 例は投与期間中(それぞれ投与第 15 週及び第 23 週)に人道的見地から殺処分した。これらの動物で認められた異常は、何れも投与と関連していないことは明らかであった。イヌにおける一連の毒性試験を通して検体投与に対する反応性に一貫性があり、また性差が認められなかったことから、この高用量群の雌 2 例の死亡は結果の解釈及び試験の信頼性を損なうものではなか

った。

体重変化； 馴化期間中毎週1回、投与開始日、投与第14週まで毎週1回、その後4週間に1回及び剖検前に体重を測定した。

体重増加量は1000 mg/kg/日投与群の雌雄では対照群に比し、軽度増加した（統計学的有意差なし）。100ならびに300 mg/kg/日投与群の体重増加量は対照群と同様であった。

投与期間中の体重変化を下図に示す。



次表に投与期間中の総体重増加量を示す。

用量群 (mg/kg/日)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
総体重増加量 (kg)	4.4	3.8	4.5	5.2	4.0	3.5	4.3	5.1

摂餌量； 馴化、投与期間中各2匹ずつペアの動物に与えた給餌量と食べ残し量及びこぼした餌の推定量を毎日記録した。これらの値から馴化期間の終わりの2週間、投与期間のはじめの14週間、その後4週間毎に1週間における各週の1匹あたりの平均摂餌量を計算した。

摂餌量において投与による影響は認められなかった。

次表に総摂餌量を示す。

用量群 (mg/kg/日)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
1-13週総摂餌量 (kg/匹)	67.2	67.2	67.2	67.2	66.7	67.2	66.5	67.1

眼科学的検査； 投与開始前、投与第51週に全動物について、1.0% tropicamide を点眼後、間接検眼鏡で眼科学的検査を実施した。

投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

血液学的検査； 投与開始前、投与第 13、26 及び 52 週に一晚絶食させた後、全ての動物について頸静脈より採血し、以下の項目について測定した。

ヘマトクリット、血色素量、赤血球数、白血球数及び白血球百分率、血小板数、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積、血液塗抹 (Romanowsky 染色し、正赤芽球及びハウエル ジョリー小体を含む異常の有無を検査)、網赤血球数(プリリアントクレシルブルー染色し、網赤血球及びハインツ小体を含む異常について検査：網赤血球数は試験開始前に手動計数で、その後の検査では自動計数で行った)、メトヘモグロビン、スルフヘモグロビン、プロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間

次表に投与期間中の検査において統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目		用量群 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
血色素量	13 週			↓87			
平均赤血球血色素濃度	13 週	↓97	↓95	↓94	↓98	↓94	↓92
	26 週	↓95	↓94	↓93		↓94	↓92
	52 週		↓96	↓92		↓94	↓92
平均赤血球容積	13 週			↑108			
	26 週			↑110			
単球	52 週		↓57				
メトヘモグロビン	13 週			↑-			
	26 週			↑-			
網赤血球数	26 週		↑397	↑629			
	52 週		↑284	↑449			

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したものの、ただし、13 及び 26 週雄のメトヘモグロビンは対照群が 0 で算出できないため“-”とした。

Wilcoxon 順位和検定あるいは Dunnett 法で統計解析を実施 ↑↓:p<0.05 ↑↓:p<0.01 ↑↓:p<0.001

血液学的検査において検体投与に関連した変化が赤血球に関連する項目に認められた。変化は 1000 mg/kg/日群で最も顕著であり、10 mg/kg/日投与群では軽微な傾向にあった。投与 13、26 及び 52 週の検査において 1000 mg/kg/日投与群では対照群に比し雌雄ともにヘマトクリット、赤血球数(この 2 項目は統計学的有意差なし)、血色素量(雄 13 週のみ有意差)及び平均赤血球血色素濃度の低下が観察された。また、平均赤血球容積、網赤血球数及びメトヘモグロビンの上昇(何れも雄でのみ有意差)が観察された。同様の結果が 100 mg/kg/日投与群でも認められたが、対照群との群間差は最高用量群に比べて小さい傾向にあった。第 13 週に 1000 mg/kg/日投与群の数例及び 100 mg/kg/日投与群の雌 1 例でスルフヘモグロビンが高かった。また、両投与群の雌雄においてハウエル ジョリー小体及びハインツ小体が観察された。

10 mg/kg/日投与群では第 26 週の雄で有意差を持ってハウエル ジョリー小体が軽微観察されたが、これは一過性的変化と考えられ、10 mg/kg は中毒量とは考えられなかった。次表にハウエル ジョリー小体及びハインツ小体の検査結果を示す(統計処理は申請者による)。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

項目	検査 時期	程度	用量群 (mg/kg/日)							
			雄				雌			
			0	10	100	1000	0	10	100	1000
ハウエル ジョリー小体	13週	なし	4	4	3	1	4	4	1	1
		軽微	0	0	1	0	0	0	0	0
		軽度	0	0	0	3	0	0	3	3
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	0
		重度	0	0	0	0	0	0	0	0
		発現数	0	0	1	3	0	0	3	3
		発現数	0	0	1	3	0	0	3	3
	26週	なし	4	0	0	0	4	4	0	0
		軽微	0	4	0	0	0	0	0	0
		軽度	0	0	4	4	0	0	4	2
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	0
		重度	0	0	0	0	0	0	0	0
		発現数	0	↑4	↑4	↑4	0	0	↑4	2
		発現数	0	↑4	↑4	↑4	0	0	↑4	2
	52週	なし	4	3	3	0	4	4	2	0
		軽微	0	1	0	0	0	0	0	0
		軽度	0	0	1	4	0	0	2	2
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	0
重度		0	0	0	0	0	0	0	0	
発現数		0	1	1	↑4	0	0	2	2	
発現数		0	1	1	↑4	0	0	2	2	
ハイツ小体	13週	なし	4	4	2	0	4	4	1	0
		軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
		軽度	0	0	1	0	0	0	1	1
		中等度	0	0	1	0	0	0	1	0
		重度	0	0	0	4	0	0	1	3
		発現数	0	0	2	↑4	0	0	3	↑4
		発現数	0	0	2	↑4	0	0	3	↑4
	26週	なし	4	3	1	0	4	4	1	0
		軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
		軽度	0	1	3	0	0	0	3	0
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
		重度	0	0	0	4	0	0	0	1
		発現数	0	1	3	↑4	0	0	3	2
		発現数	0	1	3	↑4	0	0	3	2
	52週	なし	4	4	1	0	4	4	0	0
		軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
		軽度	0	0	1	0	0	0	3	0
		中等度	0	0	2	0	0	0	1	0
重度		0	0	0	4	0	0	0	2	
発現数		0	0	3	↑4	0	0	↑4	2	
発現数		0	0	3	↑4	0	0	↑4	2	

表中の数値は動物数。 Fisher の直接確率計算法で統計解析を実施 ↑:p<0.05。

血液生化学的検査； 投与開始前、投与第 13、26 及び 52 週の血液学的検査と同時に、全ての動物から採血し、以下の項目について測定した。

アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、クレアチンホスホキナーゼ、γ-グルタミルトランスアミナーゼ、総ビリルビン、グルコース、尿素、クレアチニン、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比(A/G比)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

次表に投与期間中の検査において統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目		用量群 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
総ビリルビン	13週			↑200			↑300
	26週					↑-	↑-
	52週		↑200	↑300			↑500
総蛋白	13週						↑110
ナトリウム	13週		↑101				
塩素	13週					↑103	
無機リン	52週						↓72

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの、ただし、26週雌の総ビリルビンは対照群が0で算出できないため“-”とした。

Wilcoxon順位和検定あるいはDunnett法で統計解析を実施 ↑↓:p<0.05 ↑↑:p<0.01 ↑↓↓:p<0.001

1000 mg/kg/日投与群の雌では総ビリルビン濃度が一貫して対照群に比し高かった。雄においては一貫性はなかった。この他にいくつかの項目で対照群に比し有意な群間差が認められたが、何れも小さな変化であること、あるいは用量相関性を欠くまたは検査間で一貫性がないことから、正常な生物学的変動であると考えられた。

尿検査： 投与開始前、投与第12、25及び51週に全ての動物から採尿した。各動物を代謝ケージに移し飼料及び水を取り除き一晚採尿した。採取した尿試料について以下の項目を検査した。

外観、尿量、pH、尿比重、尿蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、血液、尿沈渣の顕微鏡的検査

次表に投与期間中の検査において統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目		用量群 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
尿量	25週	↓52	↓20				
pH	12週		↑122				

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの。

Dunnett法で統計解析を実施 ↑:p<0.05 ↓:p<0.01 ↓↓:p<0.001

尿量及びpHで対照群に比し有意な群間差が認められたが、何れも用量相関性を欠くこと及び検査間で一貫性がないことから、検体投与に関連しないものと考えられた。

臓器重量： 52週間の投与終了後全動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比を計算した。

脳、甲状腺及び上皮小体、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、卵巣、前立腺、精巣上体、子宮及び子宮頸部

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

次表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目		用量群 (mg/kg/日)					
		雄			雌		
		10	100	1000	10	100	1000
絶対重量	脾臓		↑226	↑255			↑157
体重比	脾臓		↑235	↑252			

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの
Dunnett 法で統計解析を実施 ↑:p<0.05 †:p<0.01

100 及び 1000 mg/kg/日投与群の雄では脾臓の絶対重量及び体重比が、1000 mg/kg/日投与群の雌では脾臓の絶対重量が対照群に比し有意に増加した。

肉眼的病理検査； 全ての動物を詳細に剖検した。

投与 52 週後の肉眼病理検査において投与に関連した所見は認められなかった。

病理組織学的検査； 全ての動物について以下の組織を検鏡した。また、全群の全ての動物に認められた肉眼的異常部位についても検鏡した。

副腎、卵巣、大動脈(胸部)、脾臓、脳、下垂体、盲腸、前立腺、結腸、直腸、十二指腸、唾液腺、精巣上部、坐骨神経、眼、骨格筋(腿)、大腿骨及び骨髄、脊髄、胆嚢、皮膚、脾臓、心臓、胸骨及び骨髄、回腸、胃、空腸、精巣、腎臓、胸腺、肝臓、甲状腺及び上皮小体、肺、気管、リンパ節(顎下及び腸間膜)、膀胱、子宮及び子宮頸部、乳腺(尾側部)、膣、食道、肉眼的異常部位

次表に切迫殺を含めた動物において統計学的に有意差の認められた所見を示す。

所見	程度	用量群 (mg/kg/日)							
		雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
大腿骨：造血亢進	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	軽度	1	2	3	0	0	3	0	0
	中等度	0	0	1	4	0	0	4	4
	合計	1	2	4	4	0	3	↑4	↑4
脾臓：脾洞うっ血	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	有り	0	0	1	↑4	0	0	2	2
胸骨：造血亢進	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	軽度	0	3	3	0	1	1	2	0
	中等度	0	0	1	4	0	0	2	4
	合計	0	3	↑4	↑4	1	1	4	4

Fisher の直接確率計算法で統計解析を実施 ↑:p<0.05

また、次表に全動物の脾臓の赤脾髓うっ血の頻度及び程度について示す。

所見	程度	用量群(mg/kg/日)							
		雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
脾臓：赤脾髄うっ血	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	軽微	1	0	0	0	0	0	0	0
	軽度	0	1	0	0	1	2	0	1
	中等度	2	1	1	0	3	2	2	0
	重度	1	2	3	4	0	0	2	3
	合計	4	4	4	4	4	4	4	4

Fisher の直接確率計算法で統計解析を実施 有意差なし

投与に関連した顕微鏡的变化が肝臓、脾臓及び骨髄に観察された。上表に示すように脾臓においては100及び1000 mg/kg/日投与群で脾洞のうっ血が観察された。また、これらの用量では赤脾髄のうっ血の程度が顕著であった。検体投与群の動物の胸骨及び大腿骨骨髄においては用量に相関した造血亢進が認められたが、10 mg/kg/日で観察されたものは、対照群の雄の大腿骨骨髄及び雌の胸骨骨髄で観察されたものと同様な程度であり、正常な生理学的応答の発現が軽度亢進したものと考えられた。投与群の動物の肝臓において種々の程度で褐色色素を含む細胞の凝集が観察されたことから、シュモール染色及びパール染色により褐色色素の特性を確認した結果、投与群では褐色色素(ヘモジデリン陽性)を含む細胞凝集及びクッパー細胞の出現頻度とヘモジデリン沈着の程度が対照群に比し増加した(下表：統計学的有意差なし)。この他に認められた病理組織学的変化は本研究所において同年齢のイヌで認められる変化と同様の種類と頻度であった。

次表に全動物の肝臓の色素沈着の頻度及び程度について示す。

所見	程度	用量群(mg/kg/日)							
		雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
肝臓：褐色色素を含む細胞の凝集	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	軽微	1	0	3	0	1	1	1	1
	軽度	0	1	0	1	1	0	2	0
	中等度	0	1	0	3	0	0	1	2
	重度	0	0	0	0	0	0	0	1
	合計	1	2	3	4	2	1	4	4
肝臓：クッパー細胞；パール染色陽性色素(ヘモジデリン沈着)	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	軽微	1	2	1	0	0	3	0	0
	軽度	2	1	2	0	1	1	2	1
	中等度	1	1	1	1	1	0	1	1
	重度	0	0	0	2	0	0	1	2
	極度	0	0	0	1	0	0	0	0
合計	4	4	4	4	2	4	4	4	
肝臓：シュモール染色陽性色素	(評価数)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
	軽微	1	0	1	3	1	1	2	4
	軽度	0	3	1	1	3	1	2	0
	中等度	3	1	1	0	0	2	0	0
	合計	4	4	3	4	4	4	4	4

Fisher の直接確率計算法で統計解析を実施 有意差なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

以上のように、検体のビーグル犬における 52 週間反復経口カプセル投与毒性試験を実施したところ、10、100 及び 1000 mg/kg/日の全ての投与群で検体による死亡は認められなかった。赤血球が毒性の第一次の標的であり、二次的な変化が肝臓及び脾臓に認められ、骨髄で適応応答が見られた。即ち、100、1000 mg/kg/日投与群の雌雄において赤血球に関する多くの検査項目で投与に関連した変化が認められ、また、脾臓の重量増加が雄では絶対重量、体重比ともに 100、1000 mg/kg/日投与群で、雌では 1000 mg/kg/日投与群の絶対重量で認められた。さらに病理組織学的検査では雌雄ともに 1000 mg/kg/日投与群で相対的に重い、100 mg/kg/日投与群で軽い骨髄での造血亢進が認められた。10 mg/kg/日投与群では軽度な一過性の変化が雄の赤血球に認められ、わずかな適応応答が骨髄で観察されたが、この骨髄における変化は同様の強さで対照群の動物においても観察されたことから、正常な生理学的応答の発現が軽度に亢進したものであると考えられた。全体として 10 mg/kg/日投与群における変化が軽微なものであったことから、10 mg/kg/日は本試験における無毒性量 (NOAEL) であると考えられた。

(資料 5-3)

マウスを用いた飼料混入投与による 18 カ月間発癌性試験

試験機関：

報告書作成年：

検体純度：

試験動物：ICR 系マウス、主群：1 群雌雄各 51 匹、衛星群：1 群雌雄各 15 匹(採血用)、
開始時 37~41 日齢
試験開始時体重範囲(雄；26.1~35.4 g、雌；20.0~30.1 g)
衛星群雌雄各 10 匹について、投与 13、26、52、78 週時に各群の血液学的検査を実施した。主群の全動物について、投与 78 週後剖検及び病理組織学的検査を実施した。

試験期間：18 カ月間

投与方法：検体を 0、30、450、7000 ppm の濃度で飼料に混入し、18 カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。
投与量設定根拠；

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び死亡率を毎日観察し、触診を含むより詳細な観察を毎週実施した。

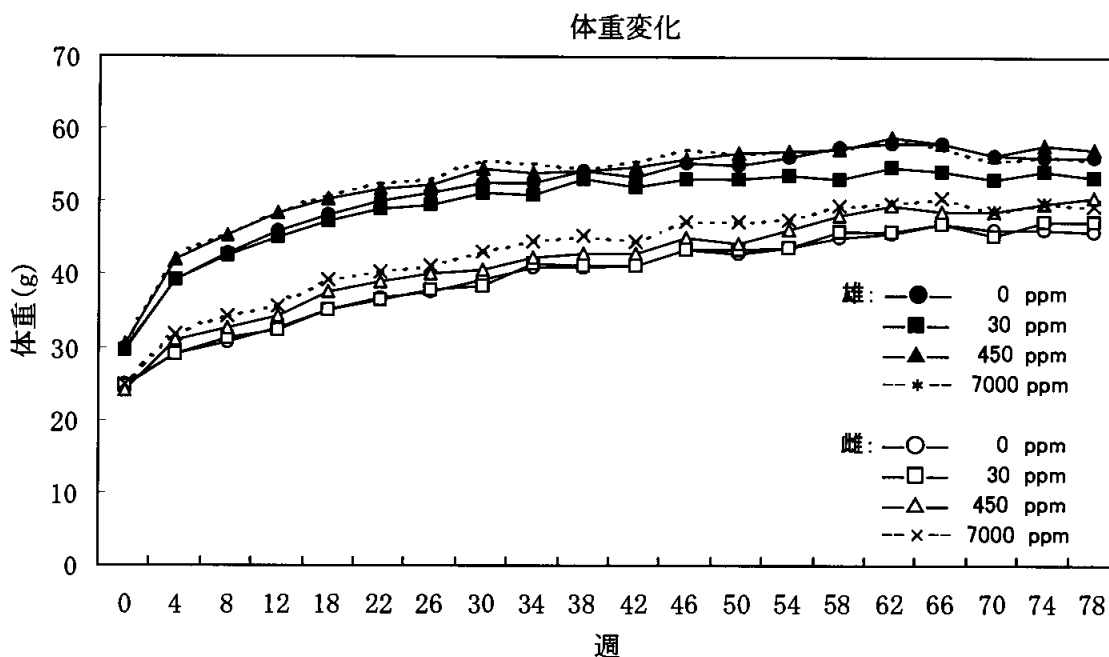
検体投与に関連する症状は観察されず、また、死亡率に検体投与の影響は認められなかった。試験終了時の死亡率を表 1 に示す。

表 1. 死亡率

性別	雄				雌			
	0	30	450	7000	0	30	450	7000
投与量(ppm)								
死亡数	21/51	16/51	12/51	16/51	11/51	12/51	14/51	14/51
死亡率(%)	41	31	24	31	22	24	27	27

体重変化；投与開始から 14 週まで全動物の体重を週 1 回測定した。その後投与終了までは 4 週に 1 回測定した。

体重変化を次図に示す。



450 及び 7000 ppm 群の体重は、雌雄とも投与期間を通して対照群より増加する傾向にあり、投与開始から 4 週間の体重増加量は対照群と比較して有意に高かった。体重増加量を表 2 に示す。

表 2. 体重増加量

性別	雄				雌				
	0	30	450	7000	0	30	450	7000	
投与量 (ppm)	0	30	450	7000	0	30	450	7000	
	9.4	9.9	↑11.8	↑11.9	4.1	4.5	↑6.8	↑7.1	
体重増加量 (g)	投与 0-78 週	26.0	23.8	27.0	25.4	20.9	22.6	26.3	25.2

Behrens-Fisher 法あるいは Dunnett 法により統計解析を実施 ↑↓:p<0.01

摂餌量及び食餌効率； 全動物の摂餌量を投与開始から 14 週間は毎週、その後は 4 週間に 1 回測定した。食餌効率は投与開始から 14 週間まで算出した。

摂餌量に投与による影響は認められなかった。

450 及び 7000 ppm 群の雌における食餌効率は投与 14 週まで対照群と比較してわずかに高かった。雄ならびに 30 ppm 群の雌に影響は認められなかった。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)	30	450	7000	
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.6	53.4	800.0
	雌	4.3	63.3	913.4

血液学的検査； 投与 13、26、52、78 週時に衛星群の生存動物雌雄各 10 例を対象として、後眼窩静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

血色素量、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、血小板数、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球容積 (MCV)、メトヘモグロビン

(METHB)、スルフヘモグロビン、網赤血球数、白血球百分率

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表3に示す。

表3. 血液学的検査

検査項目	検査週	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		30	450	7000	30	450	7000
ヘマトクリット値	13			↓ 93		↓ 95	↓ 91
	26					↓ 90	↓ 90
	52		↓ 92	↓ 89			↓ 88
血色素量	13		↓ 94	↓ 93		↓ 95	↓ 93
	26					↓ 91	
	52		↓ 90	↓ 90		↓ 91	↓ 91
赤血球数	13		↓ 92	↓ 91		↓ 93	↓ 89
	26					↓ 87	↓ 87
	52		↓ 87	↓ 86		↓ 91	↓ 86
	78						↓ 88
網赤血球数	13		↑159	↑205			↑257
	26		↑186	↑357		↑467	↑917
	52			↑471			↑457
	78						↑269
MCH	13						↑104
	26						↑108
	52						↑106
	78			↑105			
MCV	13		↑104				
	52		↑106				
MCHC	26						↑105
	52		↓ 97				
血小板数	78					↑134	
好酸球	13	↓ 63		↓ 63			
単球	13						↑227
	26						↑411
	52			↓ 4			
好中球	78			↓ 84			↑119
リンパ球	78			↑111			↓ 88

Wilcoxon の順位和検定あるいは Dunnett 法により統計解析を実施

↑↓ : P<0.05 ↑↓ : p<0.01 ↑↓ : P<0.001

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したものの

450 及び 7000 ppm 群の雌雄において試験期間を通してヘマトクリット値、血色素量及び赤血球数が低下し、統計学的有意差も認められた。また、7000 ppm 群の雌では平均赤血球血色素量が増加し、投与 26 週時には平均赤血球血色素濃度も増加した。7000 ppm 群の雌雄において網赤血球数が試験期間を通して対照群より増加し、統計学的有意差も認められた。450 ppm 群では投与 13、26 週時の雄ならびに投与 26 週時の雌において網赤血球数が統計学的に有意に増加した。これらの赤血球に関する変化は検体投与に関連したものと考えられる。その他統計学的に有意差の認められた項目

がいくつかあったが、軽度で用量相関性もなく、検査時期の整合性もないことからい
ずれも検体投与の影響ではなく正常な生物学的変動によるものと考えられた。

450 及び 7000 ppm 群の雌雄において試験期間を通して血液封入体(ハインツ小体、
屈折小体、突出小体)が観察された。検査動物数(各 10 例)あたりの血液封入体を有す
る動物数を表 4 に示す。血液封入体の増加は検体投与に関連した変化と考えられた。

表 4. 血液封入体

検査 時期	性別	雄				雌			
		投与量(ppm)				投与量(ppm)			
	検査動物数	0	30	450	7000	0	30	450	7000
13 週	ハインツ小体	0	8↑	10↑	10↑	0	4↑	9↑	10↑
	屈折小体	0	0	0	3	0	0	0	0
	突出小体	0	0	2	8↑	0	0	7↑	10↑
26 週	ハインツ小体	0	0	8↑	7↑	0	0	7↑	6↑
	屈折小体	0	0	10↑	9↑	0	0	10↑	10↑
	突出小体	0	0	10↑	9↑	0	0	10↑	10↑
52 週	ハインツ小体	1	1	10↑	10↑	0	1	10↑	10↑
	屈折小体	0	0	0	0	0	0	0	0
	突出小体	0	0	2	8↑	0	0	5↑	10↑
78 週	ハインツ小体	3	0	8↑	10↑	0	0	8↑	10↑
	屈折小体	0	0	0	0	0	0	0	0
	突出小体	0	0	1	10↑	0	0	6↑	10↑

Fisher の直接確率計算法により統計解析を実施 ↑: P<0.05 ↑↑: p<0.01 ↑↑↑: P<0.001 (申請者実施)

臓器重量; 投与終了時の主群の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比
も算出した。

副腎(両側)、脳、精巣上体(両側)、心臓、腎臓(両側)、肝臓、卵巣(両側)、脾臓、
精巣(両側)、胸腺、甲状腺及び上皮小体、子宮及び子宮頸部

統計学的有意差の認められた項目を表 5 に示す。

表 5. 臓器重量

検査項目		投与量(ppm)					
		雄			雌		
		30	450	7000	30	450	7000
副腎	絶対重量			↓ 75		↓ 86	
	対体重比		↓ 73			↓ 74	
心臓	絶対重量					↑108	↑112
	対体重比						
肝臓	絶対重量					↑114	↑120
	対体重比						↑112
脾臓	絶対重量					↑159	↑241
	対体重比					↑140	↑235

Behrens-Fisher 検定あるいは Dunnett 法により統計解析を実施 ↑↓: P<0.05 ↑↑↓: p<0.01
表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

450 及び 7000 ppm 群の雌において肝臓の絶対重量が対照群に比べて有意に増加し、
7000 ppm 群では対体重比も有意に増加した。450 及び 7000 ppm 群の雌において脾臓
の絶対重量及び対体重比が対照群に比べて有意に増加した。雄では変化は認められな

かったが、これらは検体の影響と考えられた。その他、副腎、心臓の重量に対照群と比較して統計学的に有意差が認められたが、散発的でありその差がわずかであったことから検体投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査； 主群の全ての動物について剖検を行った。

450 及び 7000 ppm 群の雌雄で脾臓の腫脹が対照群に比べて有意に増加し、検体投与の影響であると考えられた。この所見の発生頻度を表 6 に示す。

対照群と比べて統計学的有意差の認められたその他の所見を表 7 に示す。いずれの所見も散発的であり投与に関連したものとは考えられなかった。

表 6. 肉眼病理学的所見

検査時期	組織	性別		雄				雌					
		投与量 (ppm)		0	30	450	7000	0	30	450	7000		
		所見											
死亡・切迫殺	脾臓	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)		
		腫脹		11	7	9	12	5	6	↑14	10		
最終屠殺	脾臓	(評価数)		(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)		
		腫脹		4	9	↑17	↑24	7	7	↑21	↑29		
合計	脾臓	(評価数)		(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)		
		腫脹		15	16	↑26	↑36	12	13	↑35	↑39		

Fisher の直接確率計算法により統計解析を実施 ↑↓ : P<0.05 ↑↓ : P<0.001

表 7. 肉眼病理学的所見(その他)

検査時期	組織	性別		雄				雌					
		投与量 (ppm)		0	30	450	7000	0	30	450	7000		
		所見											
死亡・切迫殺	肝臓	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)		
		腫瘍		0	3	1	↑4	0	0	1	0		
	リンパ節腋窩	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)		
		大型		1	1	↑5	2	0	1	2	2		
皮膚	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)			
	蒼白		3	5	5	↑8	6	4	6	6			
最終屠殺	卵巣	(評価数)		(0)	(0)	(0)	(0)	(40)	(39)	(36)	(37)		
		変化部位		0	0	0	0	0	1	1	↑4		
	精巣	(評価数)		(29)	(35)	(38)	(34)	(0)	(0)	(0)	(0)		
		精細管突起		1	2	2	↑8	0	0	0	0		
	その他	(評価数)		(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)		
		肥満		5	↓0	8	1	4	8	9	↑11		
	皮膚	(評価数)		(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)		
外傷		8	5	↓3	4	0	0	0	0				

Fisher の直接確率計算法により統計解析を実施 ↑↓ : P<0.05

病理組織学的検査； 肉眼病理学的検査を実施した主群の対照群及び最高用量群(7000 ppm 群)の全動物及び試験途中に死亡した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、検鏡した。

副腎(両側)、大動脈(頸部)、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体(両側)、眼(両側)、大腿骨及び骨髄、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓(両側)、外涙腺(両側)、肝臓、肺及び主要気管支、リンパ節(下顎及び腸間膜)、乳腺(尾側部)、食道、卵巣(両側)、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺(両側)、坐骨神経(片側)、精のう、骨格筋(大腿部、片側)、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣(両側)、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、膾、肉眼的異常部位

また、30及び450 ppm群の主群の全動物を対象として、腎臓、肝臓、肺、脾臓、肉眼的異常部位について病理標本を作製し、検鏡した。

[非腫瘍性病変]

対照群と比べて統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を表8に示す。

450及び7000 ppm群の雌雄における脾臓の髄外造血亢進及びヘモジデリン沈着の増加、450及び7000 ppm群の雄における脾臓のうっ血、7000 ppm群における肝臓のクッパー細胞色素沈着、7000 ppm群の雌における腎臓の皮質尿管色素沈着の増加、7000 ppm群の雌における副腎皮髄質セロイド沈着の減少等、検体投与に起因すると考えられる病変が認められた。これらは臓器重量、血液学的検査結果とも関連する所見であった。450 ppm群の雄において肝臓の髄外造血の発生頻度が減少したがこれは偶発的なものと考えられた。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を表9に示す。

対照群と比べて統計学的有意差(Fisherの直接確率計算法)の認められた腫瘍性病変はなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する18カ月間混餌経口発癌性試験における毒性影響として、450及び7000 ppm群で、細胞の代謝回転(ターンオーバー)の増加を示唆する赤血球の変化が観察された。即ち、450及び7000 ppm群の雌雄において赤血球に関する多くの検査項目で投与に関連した変化が認められ、また、病理組織学的検査では脾臓で髄外造血亢進およびヘモジデリン沈着が450及び7000 ppm群の雌雄に認められ、肝臓で7000 ppm群の雌雄にクッパー細胞色素沈着が、450及び7000 ppm群の雌に髄外造血亢進が認められた。その他、450及び7000 ppm群の雌で肝臓および脾臓の重量増加が認められ、脾臓の腫脹が450及び7000 ppm群の雌雄に認められた。これらの変化は30 ppm群では認められず、本試験における無毒性量は30 ppm(雄: 3.6 mg/kg/日、雌: 4.3 mg/kg/日)と判断された。また、発がん性はないものと判断された。

表 8-1. 統計学的有意差のみられた全ての非腫瘍性病変

検査時期	組織	性別 投与量 (ppm)	雄				雌				
			0	30	450	7000	0	30	450	7000	
死亡・切迫殺	唾液腺	(評価数)	(22)	(15)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)	
		リンパ球浸潤	4	0	4	2	4	↓ 0	2	1	
	脾臓	(評価数)	(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)	
		ヘモジデリン沈着	0	0	1	↑ 5	3	1	2	↑ 10	
	腺胃	(評価数)	(22)	(16)	(13)	(16)	(11)	(12)	(14)	(14)	
		腺腔拡張	2	↑ 6	3	3	3	3	3	3	
	膈	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(12)	(15)	(14)	
上皮角化		0	0	0	0	0	↑ 5	4	5		
上皮菲薄		0	0	0	0	4	↓ 0	↓ 0	2		
最終屠殺	副腎	(評価数)	(29)	(5)	(1)	(34)	(40)	(0)	(0)	(37)	
		皮髄質セロイド沈着	0	2	1	0	10	0	0	↓ 2	
	腎臓	(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(35)	(37)	
		皮質尿細管色素沈着	0	2	3	2	1	1	3	↑ 12	
		癒痕	3	6	12	3	2	4	3	↑ 9	
	リンパ節腸間膜	(評価数)	(29)	(14)	(17)	(34)	(38)	(14)	(9)	(36)	
		洞内赤血球貧食	4	4	2	↓ 0	3	4	0	2	
	肝臓	洞内組織球症	5	1	1	↓ 0	1	0	1	0	
		(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)	
		クッパー細胞色素沈着	4	3	12	↑ 21	8	5	7	↑ 22	
	肺	髓外造血亢進	1	1	0	1	1	2	↑ 6	↑ 7	
		(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)	
		肺泡マクロファージ集簇	0	3	2	1	0	1	1	↑ 4	
	脾臓	(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)	
		髓外造血亢進	7	15	↑ 23	↑ 29	17	19	↑ 31	↑ 25	
		ヘモジデリン沈着	0	1	↑ 21	↑ 24	2	4	↑ 25	↑ 31	
		うっ血	1	2	↑ 13	↑ 14	2	0	3	↑ 9	
	全動物	副腎	(評価数)	(51)	(21)	(14)	(51)	(51)	(12)	(15)	(51)
			皮髄質セロイド沈着	0	2	1	0	12	2	1	↓ 2
腎臓		(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	
		皮質尿細管色素沈着	1	3	3	2	2	1	7	↑ 13	
		癒痕	6	7	14	3	2	4	3	↑ 9	
リンパ節腸間膜		(評価数)	(51)	(30)	(30)	(50)	(49)	(26)	(24)	(50)	
		洞内赤血球貧食	7	7	2	↓ 1	3	4	0	3	
肝臓		(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	
		クッパー細胞色素沈着	6	4	14	↑ 25	11	8	10	↑ 29	
		髓外造血亢進	6	4	↓ 0	6	3	4	↑ 10	↑ 10	
脾臓		(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	
		髓外造血亢進	19	25	↑ 32	↑ 41	22	25	↑ 42	↑ 35	
		ヘモジデリン沈着	0	1	↑ 22	↑ 29	5	5	↑ 27	↑ 41	
		うっ血	1	2	↑ 13	↑ 14	2	0	3	↑ 9	

Fisher の直接確率計算法により統計解析を実施 ↑↓ : P<0.05 ↓↓ : p<0.01 ↑↓ : P<0.001 (一部申請者実施)

表 9-1. 認められた全ての腫瘍性病変

検査時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)	所見	0	30	450	7000	0	30	450	7000
死亡・切迫殺	副腎	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		皮質腺腫 (B)		0	0	1	1	0	0	0	0
	心臓	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		血管肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	0
	肝臓	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		肝細胞腺腫 (B)		0	1	0	2	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)		0	2	0	1	0	0	0	0
	肺	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		肺腺腫 (B)		2	2	1	2	2	0	2	1
		肺癌 (M)		1	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		腺表皮癌 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
		癌肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
	膵臓	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(16)	(11)	(12)	(14)	(14)
		島細胞腺腫 (B)		0	0	0	1	0	0	0	1
	下垂体	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(13)
		腺腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	唾液腺	(評価数)		(22)	(15)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		腺腫 (B)		0	1	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(13)
		ろ胞細胞腺腫 (B)		0	0	1	0	0	0	0	0
	子宮	(評価数)		(0)	(0)	(0)	(0)	(11)	(12)	(15)	(14)
		間質ポリープ (B)		0	0	0	0	1	0	0	2
		平滑筋腫 (B)		0	0	0	0	0	1	0	0
		平滑筋肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0
		血管腫 (B)		0	0	0	0	0	0	1	0
	腹部	(評価数)		(3)	(1)	(0)	(1)	(1)	(0)	(1)	(0)
		骨肉腫 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0
	造血器系腫瘍	(評価数)		(22)	(16)	(13)	(17)	(11)	(12)	(15)	(14)
		悪性リンパ腫 (M)		6	4	5	3	1	3	5	5
組織球系細胞肉腫 (M)			3	1	0	0	0	0	2	0	
ハタゲ腺	(評価数)		(1)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	
	腺腫 (B)		1	0	0	1	0	0	0	0	
乳腺	(評価数)		(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	
	癌肉腫 (M)		0	0	0	0	0	0	1	0	
その他	(評価数)		(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	
	癌 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0	
筋肉-骨組織	(評価数)		(3)	(0)	(4)	(3)	(0)	(1)	(1)	(0)	
	骨肉腫 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0	
	肉腫 (M)		0	0	1	0	0	0	0	0	

(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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 9-2. 認められた全ての腫瘍性病変(続き)

検査 時期	組織	性別		雄				雌			
		投与量(ppm)	所見	0	30	450	7000	0	30	450	7000
死 亡 ・ 切 迫 殺	皮膚		(評価数)	(8)	(7)	(6)	(7)	(4)	(5)	(6)	(5)
			繊維肉腫(M)	0	1	0	1	0	0	0	0
			肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	1
			乳頭腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	尾		(評価数)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(2)	(1)
			骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	胸部		(評価数)	(3)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(4)	(0)
			悪性中皮腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

表 9-3. 認められた全ての腫瘍性病変(続き)

検査時期	組織	性別 投与量(ppm)	雄				雌			
			0	30	450	7000	0	30	450	7000
最終屠殺	副腎	(評価数)	(29)	(5)	(1)	(34)	(40)	(0)	(0)	(37)
		皮質腺腫(B)	0	2	0	2	0	0	0	0
	結腸	(評価数)	(29)	(1)	(2)	(34)	(40)	(0)	(0)	(37)
		腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	胆嚢	(評価数)	(29)	(6)	(2)	(33)	(37)	(6)	(4)	(36)
		乳頭腫(B)	0	0	0	2	0	0	0	0
	腎臓	(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)
		皮質腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		尿細管腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)
		肝細胞腺腫(B)	4	7	5	8	0	0	0	1
		肝細胞癌(M)	1	1	3	2	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	1	1	0	0	0
	肺	(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)
		肺腺腫(B)	8	11	10	11	6	8	6	5
		肺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	1
	卵巣	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(40)	(32)	(33)	(37)
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	0	1	0
		黄体腫(B)	0	0	0	0	0	1	1	0
	下垂体	(評価数)	(29)	(0)	(0)	(34)	(39)	(0)	(1)	(36)
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
	胃	(評価数)	(29)	(4)	(2)	(34)	(40)	(1)	(1)	(37)
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	精巣	(評価数)	(29)	(5)	(7)	(34)	(0)	(0)	(0)	(0)
		間細胞腫(B)	2	0	2	2	0	0	0	0
	甲状腺	(評価数)	(27)	(1)	(0)	(34)	(40)	(0)	(0)	(36)
ろ胞細胞腺腫(B)		0	0	0	1	0	0	0	1	
子宮頸部	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(40)	(2)	(0)	(37)	
	間質ポリープ(B)	0	0	0	0	1	1	0	0	
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
子宮	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(40)	(33)	(28)	(37)	
	間質ポリープ(B)	0	0	0	0	2	2	4	0	
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	3	3	1	
	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	
	内膜癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
造血器系腫瘍	(評価数)	(29)	(35)	(38)	(34)	(40)	(39)	(36)	(37)	
	悪性リンパ腫(M)	0	1	1	0	0	2	1	1	
	組織球系細胞肉腫(M)	1	1	0	0	0	1	1	0	
ハタゲ腺	(評価数)	(0)	(1)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	
	腺腫(B)	0	1	1	0	0	0	0	0	

(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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 9-4. 認められた全ての腫瘍性病変(続き)

検査 時期	組織	性別 投与量(ppm) 所見	雄				雌			
			0	30	450	7000	0	30	450	7000
最 終 屠 殺	乳腺 頭側部	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)	(1)	(0)
		癌(M)	0	0	0	0	1	0	1	0
		癌肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	筋肉一 組織	(評価数)	(1)	(1)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
		骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚	(評価数)	(7)	(14)	(10)	(3)	(1)	(0)	(2)	(1)
		乳頭腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	尾	(評価数)	(1)	(1)	(4)	(2)	(1)	(2)	(3)	(0)
		繊維肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0

(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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 9-5. 認められた全ての腫瘍性病変(続き)

検査時期	組織	性別 投与量(ppm)	雄				雌			
			0	30	450	7000	0	30	450	7000
全動物	副腎	(評価数)	(51)	(21)	(14)	(51)	(51)	(12)	(15)	(51)
		皮質腺腫(B)	0	2	1	3	0	0	0	0
	結腸	(評価数)	(51)	(17)	(15)	(50)	(50)	(12)	(14)	(51)
		腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	胆嚢	(評価数)	(46)	(18)	(13)	(43)	(45)	(15)	(16)	(48)
		乳頭腫(B)	0	0	0	2	0	0	0	0
	心臓	(評価数)	(51)	(16)	(13)	(51)	(51)	(12)	(15)	(51)
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	腎臓	(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)
		皮質腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		尿細管腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝臓	(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)
		肝細胞腺腫(B)	4	8	5	10	0	0	0	1
		肝細胞癌(M)	1	3	3	3	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	1	1	0	0	0
	肺	(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)
		肺腺腫(B)	10	13	11	13	8	8	8	6
		肺癌(M)	1	0	0	1	1	0	0	1
	乳腺 尾側部	(評価数)	(51)	(16)	(13)	(51)	(51)	(12)	(15)	(51)
		腺表皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		癌肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	卵巣	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(51)	(44)	(47)	(51)
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	0	1	0
		黄体腫(B)	0	0	0	0	0	1	1	0
	膵臓	(評価数)	(51)	(17)	(17)	(49)	(51)	(15)	(20)	(50)
		島細胞腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	1
	下垂体	(評価数)	(51)	(16)	(13)	(51)	(50)	(12)	(16)	(49)
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	2	0
	唾液腺	(評価数)	(50)	(15)	(13)	(51)	(51)	(13)	(15)	(51)
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	胃	(評価数)	(51)	(20)	(15)	(50)	(51)	(13)	(15)	(51)
扁平上皮乳頭腫(B)		0	0	1	0	0	0	0	0	
精巣	(評価数)	(51)	(21)	(20)	(51)	(0)	(0)	(0)	(0)	
	間細胞腫(B)	2	0	2	2	0	0	0	0	
甲状腺	(評価数)	(49)	(17)	(13)	(51)	(51)	(12)	(15)	(49)	
	ろ胞細胞腺腫(B)	0	0	1	1	0	0	0	1	
子宮 頸部	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(51)	(14)	(15)	(51)	
	間質ポリープ(B)	0	0	0	0	1	1	0	0	
	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	

(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エス・ディー・エス パイオテックにある。

表 9-6. 認められた全ての腫瘍性病変(続き)

検査時期	組織	性別 投与量(ppm)	雄				雌			
			0	30	450	7000	0	30	450	7000
全動物	子宮	(評価数)	(0)	(0)	(0)	(0)	(51)	(45)	(43)	(51)
		間質ポリープ(B)	0	0	0	0	3	2	4	2
		平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	4	3	1
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	1
		内膜癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	腹部	(評価数)	(3)	(1)	(0)	(2)	(1)	(0)	(3)	(0)
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	造血器系腫瘍	(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)
		悪性リンパ腫(M)	6	5	6	3	1	5	6	6
		組織球系細胞肉腫(M)	4	2	0	0	0	1	3	0
	ハグー腺	(評価数)	(1)	(1)	(1)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
		腺腫(B)	1	1	1	1	0	0	0	0
	乳腺	(評価数)	(0)	(0)	(1)	(0)	(1)	(1)	(2)	(0)
		癌(M)	0	0	0	0	1	0	1	0
		癌肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	1	0
	その他	(評価数)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
		癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	筋肉-組織	(評価数)	(4)	(1)	(4)	(4)	(0)	(1)	(1)	(0)
		骨肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		骨腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚	肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		(評価数)	(15)	(21)	(16)	(10)	(5)	(5)	(8)	(6)
		繊維肉腫(M)	0	1	0	1	0	0	0	0
		肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	1
	尾	乳頭腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	0
		(評価数)	(1)	(1)	(4)	(4)	(1)	(2)	(5)	(1)
繊維肉腫(M)		0	0	0	0	1	0	0	0	
骨肉腫(M)		0	0	0	0	0	1	1	0	
胸部	(評価数)	(3)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(5)	(0)	
	悪性中皮腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	

合計	(評価数)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	(51)	
	腫瘍数	良性	19	26	23	34	16	16	20	13
		悪性	13	13	11	9	6	9	15	10
	腫瘍総数	32	39	34	43	22	25	35	23	
	担腫瘍動物数	良性	17	23	17	24	13	15	18	11
		悪性	13	12	10	9	6	9	14	9
担腫瘍動物数	27	29	25	30	18	22	27	18		

(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エス・ディー・エス バイオテックにある。

(7) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1) 繁殖性に及ぼす影響

(資料 6-1)

ラットを用いた繁殖試験

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

試験動物 : SD系ラット、投与開始時約6週齢、体重:雄154~244g 雌127~182g、一群雌雄各28匹

投与期間 : F₀世代 ; 投与開始からF₁児離乳時までの19週間
F₁世代 ; 離乳時からF₂児離乳時までの19週間

投与方法 : 検体を1000、4000、12000ppmの濃度で含有した飼料を2世代にわたり自由に摂取させた。なお、対照群の動物には検体を含まない基礎飼料のみを同様に投与した。

投与量設定根拠:

方法及び試験項目: 概要を次頁の表にまとめた。

親動物:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び死亡について、試験期間を通して全動物を1日2回観察し、また毎週1回さらに詳細に観察して所見を記録した。

体重; 雄の体重を投与開始日(F₀)または世代の開始日(F₁)とその後は毎週測定した。雌は、交配成立前は雄と同じ頻度で、その後は交配成立後0、6、13及び20日と哺育1、4、7、14及び21日に測定した。体重増加量を雄と交配前の雌について各測定間隔で、また雌について妊娠期間中は交配成立後0日、哺育期間中は哺育1日を基準として算出した。

摂餌量; 摂餌量を雌雄とも交配前は毎週、交配後の雌は妊娠0~5、6~12、13~19日と哺育1~3、4~6、7~13、14~20日の期間について算出した。

食餌効率; 各世代の交配前について週ごとに次の計算式から算出した。

食餌効率 = (週における群平均体重増加量/週における群平均摂餌量) x 100

被験物質摂取量; 被験物質摂取量を両世代について交配前は毎週、妊娠期間中はほぼ毎週、哺育期間中は第1週と第2週に次の計算式から算出した。哺育14~20日については、母動物と児動物の両方が飼料を摂取するため計算しなかった。

被験物質摂取量 = 濃度 x 群平均摂餌量/期間中期の群平均体重

試験の概要

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
F ₀	育成(10)	一般状態と死亡の有無の観察(投与期間中毎日) 体重と摂餌量測定(投与期間中原則として毎週)	一般状態、死亡率 体重、体重増加量、 摂餌量、食餌効率、 検体摂取量
	交配(3) 妊娠(3) 出産 哺育(3)	性周期観察(交配前14日間と交配成立まで) 雌雄1対1で1晩同居交配(兄妹交配を避ける) 翌朝腔栓/腔垢中精子の存在で交尾確認(妊娠0日)	性周期 交尾率 受胎率、繁殖率
	離乳	出産状況の観察(哺育0日) 出産児の生死、性、外表所見、生存(哺育1、4、7、14、21日)の観察、体重測定(哺育1、4、7、14、21日)、死亡児の剖検 同腹児数調整(哺育4日に原則として雌雄各4匹) 外表異常のある間引かれた4日齢児の剖検 哺育21日	出産率、妊娠期間 児の一般状態、死亡、 産児数、生存児出産率、 新生児出産率、哺育率、 体重、体重増加量 剖検所見
F ₁	育成(10)	F ₁ 親動物の選抜(各腹雌雄各1ないし2匹) 選抜されなかったF ₁ 離乳児の剖検、臓器重量測定、 肉眼的異常部位の病理組織学的検査	剖検所見、臓器重量 病理組織学的所見
		F ₀ 親動物の精子検査、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査(精巣の精子形成及び卵巣の卵胞と黄体の質的評価を含む)	精子の数、運動率及び 形態、着床数、着床後 生存率、剖検所見、臓器 重量、病理組織学的所見
		性成熟(雄の包皮分離、雌の腔開口)の観察	性成熟
	交配(3) 妊娠(3) 出産 哺育(3) 離乳	(F ₀ 親動物とF ₁ 児動物に準ずる)	(F ₀ 親動物とF ₁ 児動物に準ずる)
F ₂	育成(2)		

交配及び妊娠の確認； 兄妹交配を避けて、同群内の雌雄を1対1で最長3週間同居させて交配した。同居の翌朝、腔栓と腔垢中の精子の有無を調べ、これらが認められる場合に妊娠が成立したとして、その日を妊娠0日とした。

繁殖に関する指標； 育成、交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時の観察に基づき、以下の指標を調べた。

性成熟； 雄は38日齢から包皮分離が起こるまで毎日観察して、包皮分離の日の体重を記録した。雌は28日齢から腔開口が起こるまで毎日観察して、腔開口の日の体重を記録した。

性周期； 交配前の14日間、すべての雌から腔垢を毎日採取して観察し、規則的なまたは他の型の性周期を示す雌の割合(%)として表した。

交配成立までの期間； 雌について交配開始から交配成立が確認されるまでに経過した日数を記録した。

繁殖能力及び妊性；

交尾率 = (交配成立動物/交配動物) x 100

受胎率 = (妊娠した雌動物または妊娠させた雄動物/交配成立動物) x 100

繁殖率 = (妊娠した雌動物または妊娠させた雄動物/交配動物) x 100

出産率 = (生存児出産雌数/妊娠数) x 100

妊娠期間； 交配成立日を第1日として、児動物が初めて観察された日までの日数として表した。

着床数； 剖検時に、子宮の着床痕の数を記録した。

精子検査； 精巣上体精子の運動性(%運動率、%前進運動率)、数、形態(正常精子、対照群と高用量群のみ)と精巣の均一化抵抗精子細胞数(対照群と高用量群のみ)を調べた。

病理学的検査；

剖検所見； すべてのF₀及びF₁親動物の頭蓋腔、胸腔、腹腔及び骨盤腔ならびにそれらの内臓の表面と断面を肉眼的に詳細に調べ、病理学的所見を記録した。

臓器重量； 最終屠殺時まで生存したF₀及びF₁各親動物の脳、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、精囊・凝固腺、前立腺、卵巣、子宮(頸部を含む)の重量を測定した。臓器重量は、絶対重量と相対重量(剖検直前の体重に対する百分率)で表した。

病理組織学的所見； F₀及びF₁世代とも、対照群と高用量群の全親動物及び試験途中で屠殺または死亡したすべての親動物の以下の組織、さらに低用量群と中間用量群における肉眼的異常部位を病理組織学的に調べた。下垂体(妊性の疑われる動物のみ)、肝臓、胸腺、精巣、精巣上体、精囊・凝固腺、前立腺、卵巣、卵管、子宮・子宮頸、腔、乳腺(同腹児が死亡した雌のみ)、異常部位。なお精巣については、一般的な病理組織学的検査に比べ、生殖細胞の変性/枯渇について細胞の変化の程度に基づいて記録し、影響を受けている精細管の数によって等級分けした。影響を受けている細胞の型または精子形成段階に関するすべての特性を記録した。卵巣についても一般的な病理組織学的検査に比べ、原始卵胞、発育卵胞及び黄体の質的評価を行った。

児動物；

一般状態； すべてのF₁及びF₂児動物について、外観または行動を毎日観察して所見を記録した。

死亡及び同腹児数； 死亡の有無及び生存同腹児数の変化を毎日記録した。

生存率；

着床後生存率 = (総出産児数/総着床痕数) x 100

生存児出産率 = (総生存出産児数/総出産児数) x 100

新生児生存率 = (4日齢生存児数/1日齢生存児数) x 100

哺育率 = (検査日での生存児数/間引き後の4日齢生存児数) x 100

性比； 各群について、雄対雌の比を1日齢で、また1、4(数調整の前と後)及び21日齢の生存児について計算した。

体重； F₁及びF₂全生存児の体重を、1、4(数調整の前と後)、7、14、21日齢時に、また次世代のために選抜されなかった児動物については、28及び35日齢時にそれぞれ個別に測定した。各腹について、雌雄別に平均体重を計算し、それらの値を基に群における平均体重を算出した。

病理学的検査；

剖検所見； 4日齢で間引いたF₁及びF₂児動物は、外表的に肉眼的異常がなければ剖検せず

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

に廃棄した。外表的に肉眼的異常があるものは、剖検して所見を記録した。次世代用に選抜されなかったF₁児動物とすべてのF₂児動物について剖検し、病理学的所見を記録した。死亡児については可能な限り外表と内臓を肉眼的に検査した。

臓器重量； 次世代用に選抜されなかったF₁児動物とすべてのF₂児動物の脳、胸腺、肝臓、脾臓の重量を測定した。さらに1腹当り雌雄各1匹の児動物の副腎、腎臓、精巣、卵巣についても重量を測定した。各腹について、雌雄別に各臓器の平均絶対及び相対重量を計算し、それらの値を基に群における平均臓器重量を算出した。

病理組織学的所見； 剖検時に、肉眼的に異常な部位についてのみ病理組織学的に検査して所見を記録した。

結果： 概要を次表以下の表に示す。

結果：

世代		親：F ₀ /児：F ₁				親：F ₁ /児：F ₂				
投与量 (ppm)		0	1000	4000	12000	0	1000	4000	12000	
動物数	雄	28	28	28	28	28	28	28	28	
	雌	28	28	28	28	28	28	28	28	
親動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった								
動物	死亡数	雄	1	0	0	0	0	0	0	
	雌	0	0	1	0	0	0	0	2	
	体重	雄	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	
	雌	-	有意差なし	有意差なし	哺育1日↑	-	有意差なし	哺育1, 4, 7, 14日↑, 21日↑	妊娠0, 6, 13, 20日, 哺育1, 4, 7, 14, 21日↑	
	体重増加量	雄	-	第1-3週↑, 17週↓	第1週↑, 2週↑, 3週↑, 7週↑, 8週↓	第1, 2週↑, 4, 7週↑, 8週↓	-	第14週↓	有意差なし	第2週↑, 14週↓, 15週↑
	雌	-	第1週↑, 6週↓, 7週↓	第1週↑	第1週↑, 妊娠0-20日↑	-	有意差なし	第1週↑	第1, 2週↑, 妊娠0-20日↑	
	摂餌量	雄	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	
	雌	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	食餌効率 ^a	雄	16.5	17.6	17.1	17.1	22.5	22.9	23.3	
	雌	10.3	10.6	10.4	10.7	14.4	15.1	14.8	15.1	
	検体摂取量 ^b									
	交配前	雄	-	74.2	297.5	894.9	-	97.8	390.2	1182.6
	交配前	雌	-	84.0	336.7	1009.8	-	108.5	432.5	1306.8
	妊娠中	雌	-	79.3	316.1	948.0	-	80.5	316.6	951.3
	哺育中	雌	-	148.1	572.8	1689.6	-	131.6	492.8	1428.0
通期	雌	-	90.7	360.9	1078.9	-	106.0	417.9	1254.3	

^a 第1~10週の平均

^b 各期間の平均(mg/kg/日)

Bartlettの検定後 Behrens-Fisher 検定または Dunnett の検定 ↑↓: 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果 (つづき) :

世代		親 : F ₀ / 児 : F ₁				親 : F ₁ / 児 : F ₂			
投与量 (ppm)		0	1000	4000	12000	0	1000	4000	12000
親動物	臓器重量*								
	脳 雄 絶対 (g)	2.10	2.16	2.11	2.13	2.13	2.19	2.15	2.17
	脳 雄 相対 (%)	0.343	0.340	0.339	0.333	0.343	0.346	0.339	0.338
	脳 雌 絶対 (g)	1.95	1.95	1.97	2.02 ↑	1.91	1.99 ↑	1.98	2.02 ↑
	脳 雌 相対 (%)	0.561	0.555	0.553	0.550	0.569	0.575	0.550	0.547
	胸腺 雄 絶対 (g)	0.281	0.297	0.300	0.303	0.315	0.305	0.339	0.333
	胸腺 雄 相対 (%)	0.0454	0.0468	0.0474	0.0472	0.0504	0.0485	0.0539	0.0520
	胸腺 雌 絶対 (g)	0.207	0.223	0.208	0.241	0.219	0.276 ↑	0.271 ↑	0.266
	胸腺 雌 相対 (%)	0.0589	0.0629	0.0580	0.0655	0.0652	0.0796 ↑	0.0751	0.0719
	肝臓 雄 絶対 (g)	22.8	24.2	23.9	24.3	22.5	23.7	24.7	24.1
	肝臓 雄 相対 (%)	3.70	3.80	3.80	3.78	3.59	3.71	3.86 ↑	3.72
	肝臓 雌 絶対 (g)	21.3	20.6	22.2	22.0	19.9	19.9	20.8	21.1
	肝臓 雌 相対 (%)	6.10	5.85	6.20	5.98	5.91	5.74	5.74	5.69
	脾臓 雄 絶対 (g)	0.824	0.955 ↑	0.972 ↑	1.042 ↑	0.887	1.017 ↑	1.064 ↑	1.079 ↑
	脾臓 雄 相対 (%)	0.1341	0.1503 ↑	0.1546 ↑	0.1626 ↑	0.1419	0.1600 ↑	0.1667 ↑	0.1679 ↑
	脾臓 雌 絶対 (g)	0.610	0.766 ↑	0.768 ↑	0.852 ↑	0.654	0.803 ↑	0.781 ↑	0.896 ↑
	脾臓 雌 相対 (%)	0.1749	0.2169 ↑	0.2142 ↑	0.2313 ↑	0.1945	0.2319 ↑	0.2157 ↑	0.2428 ↑
	腎臓 雄 絶対 (g)	4.08	4.36	4.33	4.47 ↑	4.06	4.32	4.40 ↑	4.44 ↑
	腎臓 雄 相対 (%)	0.666	0.686	0.693	0.698	0.651	0.679	0.691 ↑	0.689 ↑
	腎臓 雌 絶対 (g)	2.83	2.90	2.85	2.87	2.85	2.91	2.90	3.07 ↑
腎臓 雌 相対 (%)	0.813	0.822	0.797	0.781	0.847	0.839	0.805	0.827	
精巣 雄 絶対 (g)	3.89	3.80	3.92	3.80	3.85	4.14 ↑	3.97	4.12	
精巣 雄 相対 (%)	0.636	0.600	0.628	0.593	0.621	0.657	0.625	0.643	
精巣 雌 絶対 (g)	1.347	1.302	1.304	1.296	1.260	1.327 ↑	1.272	1.312	
精巣 雌 相対 (%)	0.2207	0.2049	0.2091	0.2026 ↓	0.2042	0.2100	0.2000	0.2049	
精嚢 雄 絶対 (g)	2.71	2.74	2.67	2.58	2.25	2.44	2.23	2.39	
精嚢 雄 相対 (%)	0.443	0.430	0.430	0.404 ↓	0.363	0.387	0.350	0.373	
剖検所見									
肝臓小葉像	雄	0/27	2/28	3/28	6/28 ↑	0/28	0/28	0/28	0/28
明瞭	雌	0/28	2/28	3/27	1/28	0/28	0/28	0/28	0/26
脾臓腫脹	雄	0/27	4/28	1/28	7/28 ↑	0/28	0/28	0/28	0/28
	雌	0/28	3/28	3/27	5/28	0/28	0/28	0/28	1/26
病理組織学的所見									
小葉中心性	雄	0/27	0/2	0/4	0/28	0/28	0/0	0/2	14/28 ↑
肝細胞肥大	雌	0/28	0/7	0/9	0/28	0/28	0/0	0/1	0/26
小葉周辺性	雄	0/27	0/2	0/4	1/28	0/28	0/0	0/2	0/28
肝細胞脂肪変性	雌	0/28	1/7	1/9	1/28	1/28	0/0	0/1	6/26 ↑
脾臓髓外造血	雄	6/26	1/4	0/1	1/28 ↓	12/28	0/1	0/0	13/27
	雌	2/28	0/4	1/3	0/28	11/28	0/0	0/0	11/26
脾臓へモジデ	雄	5/26	4/4	1/1	28/28 ↑	0/28	0/1	0/0	6/27 ↑
リン沈着症	雌	3/28	3/4	2/3	22/28 ↑	0/28	0/0	0/0	20/26 ↑
子宮広間膜へモジ	雄								
デリン沈着増加	雌	0/28	0/0	0/0	9/28 ↑	9/28	0/4	0/4	13/26

* 平均

病理組織学的所見は Fisher の直接確率計算法、その他 Bartlett の検定後 Behrens-Fisher 検定または Dunnett の検定

↑↓ : 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果 (つづき) :

世代		親 : F ₀ / 児 : F ₁				親 : F ₁ / 児 : F ₂				
投与量 (ppm)		0	1000	4000	12000	0	1000	4000	12000	
親動物	繁殖能力									
	雄	包皮分離(日齢) ^a	-	-	-	45.9	46.7	47.3	47.6	
	交尾率	28/28	28/28	28/28	28/28	28/28	28/28	26/28	28/28	
	受胎率	28/28	28/28	28/28	27/28	28/28	25/28	24/26	27/28	
	繁殖率	28/28	28/28	28/28	27/28	28/28	25/28	24/28	27/28	
	精巣上体精子数 (x10 ⁶ /ml) ^a	2121.3	2192.2	2098.0	2029.6	2111.8	2008.0	1811.6↓	1678.1↓	
	背景データ	1415.4~2387.6 x 10 ⁶ /ml								
	精巣精子細胞数 (x10 ⁶ /g) ^a	118.3	-	-	120.8	95.0	-	-	101.2	
	精子運動率(%) ^a	73.4	73.7	69.2	72.7	82.0	78.1	75.7	81.7	
	精子前進運動率(%) ^a	38.0	38.6	35.4	32.9	36.4	33.5	33.2	35.9	
	正常形態精子(%) ^a	94.6	-	-	94.6	91.4	-	-	96.7	
	雌	膣開口(日齢) ^a	-	-	-	-	33.6	33.1	33.6	33.7
	正常性周期(4~5日)	27/28	28/28	28/28	27/28	28/28	27/28	26/28	25/28	
	交配成立 1~4 までの日数	27/28	28/28	27/28	27/28	28/28	27/28	24/28	23/28	
5~8	0/28	0/28	1/28	0/28	0/28	1/28	1/28	5/28		
9~12	1/28	0/28	0/28	1/28	0/28	0/28	2/28	0/28		
13~16	0/28	0/28	0/28	0/28	0/28	0/28	1/28	0/28		
交尾率	28/28	28/28	28/28	28/28	28/28	28/28	28/28	28/28		
受胎率	28/28	28/28	28/28	27/28	28/28	25/28	25/28	27/28		
繁殖率	28/28	28/28	28/28	27/28	28/28	25/28	25/28	27/28		
出産率	28/28	28/28	28/28	27/27	28/28	25/25	25/25	26/27		
妊娠期間(日)	22	10/28	2/28	7/28	3/27	8/28	3/25	4/25	4/26	
	22.5	9/28	8/28	7/28	11/27	9/28	13/25	10/25	9/26	
	23	9/28	18/28	13/28	13/27	11/28	9/25	11/25	10/26	
	23.5	0/28	0/28	1/28	0/27	0/28	0/25	0/25	3/26	
着床数	15.8	15.6	15.4	15.8	14.4	13.6	13.4	14.1		

* 平均

分散分析後 Student の t 検定または分散分析後 Williams の検定あるいは Kruskal-Wallis 検定後 Shirley の検定 : 精子検査成績 ↓ : 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果 (つづき) :

世代		親 : F ₀ / 児 : F ₁				親 : F ₁ / 児 : F ₂				
投与量 (ppm)		0	1000	4000	12000	0	1000	4000	12000	
児動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	生存 哺育日 1	14.4	13.4	13.0	13.5	13.2	12.4	12.1	13.5	
	同腹 (数調整前) 4	13.5	12.8	12.6	12.3	12.9	12.0	10.8	12.6	
	児数 ^a (数調整後) 4	8.0	7.7	8.0	8.0	8.0	7.9	7.7	8.0	
	7	8.0	7.8	7.9	7.7	8.0	7.8	7.6	7.8	
	14	8.0	7.6	7.8	7.4↓	8.0	7.8	7.6	7.8	
	21	8.0	7.6	7.8	7.2↓	8.0	7.8	7.6	7.7	
	着床後生存率 (%)	92	91	87	92	92	93	92	93	
	生存児出産率 (%)	98	94	98	93	98	97	98	97	
	新生児生存率 (%)	91	92	90	91	98	89	90	86	
	哺育率 哺育日 7 (%)	100	97	99	93	100	99	99	97	
	14 (%)	100	94	97	90	100	99	99	94	
	21 (%)	100	94	97	87	100	99	99	92	
	性比(哺育1日)	0.91	1.07	1.15	1.23	1.01	1.08	0.79	0.99	
	体重	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	雄、哺育7日↓	
	体重増加量	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	臓器重量 ^a									
	脳 雄	絶対 (g)	1.739	1.792↑	1.759	1.782	1.762	1.797	1.769	1.760
		相対 (%)	1.237	1.246	1.277	1.224	1.239	1.194	1.212	1.231
	雌	絶対 (g)	1.670	1.718↑	1.687	1.726↑	1.687	1.722	1.708	1.682
相対 (%)		1.386	1.347	1.408	1.325	1.374	1.351	1.344	1.356	
肝臓 雄	絶対 (g)	8.436	9.258	8.774	9.460↑	8.641	9.604↑	9.494↑	9.266	
	相対 (%)	5.997	6.354↑	6.439↑	6.408↑	6.014	6.306↑	6.474↑	6.389↑	
雌	絶対 (g)	7.577	8.051	7.916	8.712↑	7.620	8.349↑	8.494↑	8.326↑	
	相対 (%)	6.217	6.310	6.562	6.631↑	6.143	6.471↑	6.648↑	6.631↑	
脾臓 雄	絶対 (g)	0.526	0.598↑	0.563	0.617↑	0.524	0.569	0.553	0.581↑	
	相対 (%)	0.370	0.409↑	0.408↑	0.420↑	0.365	0.376	0.378	0.402↑	
雌	絶対 (g)	0.435	0.497↑	0.465	0.520↑	0.418	0.461↑	0.456	0.474↑	
	相対 (%)	0.352	0.389↑	0.381	0.398↑	0.336	0.360	0.358	0.381↑	
剖検所見		検体投与に起因する異常は認められなかった								

^a 腹の平均に基づく平均

分散分析後 Student の t 検定または Kruskal-Wallis 検定後 Shirley の検定あるいは Bartlett の検定後分散分析と Dunnett の検定または Kruskal-Wallis 検定と Wilcoxon 順位和検定 (Bonferroni 補正付き)

↑↓ : P<0.05 ↑ : p<0.01 ↑↑ : P<0.001

親動物の繁殖能力に対する影響；

親動物において、検体投与に関連すると考えられる一般状態の変化及び死亡はなかった。両世代とも、全投与群の雌雄の体重増加量は投与開始後の数週間対照群と比較して増加した。妊娠中の雌の体重増加量はF₀世代において全投与群で、F₁世代において12000 ppm群でやや増加した。1000 ppm群のF₀雄で第17週、F₀雌で第6週と7週、F₁雄で第14週に、4000 ppm群のF₀雄で第8週に、12000 ppm群のF₀雄で第8週、F₁雄で第14週にそれぞれ体重増加量が統計学的に有意に低かったが、一時的な変化であることからいずれも偶発的なものと考えられた。両世代の雌雄の摂餌量と食餌効率には、検体投与に関連する影響はみられなかった。剖検で、脾臓重量の有意な高値が両世代において全投与群でみられ、病理組織学的検査(12000 ppm群で実施)の結果、脾臓のヘモジデリン沈着症が認められた。この変化はラットにおける13週間混餌投与試験及び慢性毒性・発がん性併合試験においても発生しており、赤血球が毒性の第一義的な標的であることが確認されている。脾臓のヘモジデリン沈着は、赤血球の更新が活発であることを示唆している。子宮広間膜のヘモジデリン沈着症が12000 ppm群で両世代の数匹の雌に観察され、F₀雌で統計学的に有意に高い発生率であった。この変化も脾臓での変化に関連していると考えられるが、一方妊娠後の雌で一般的に観察される変化でもあり、12000 ppm群での発生率は偶発的なものかもしれない。肝臓重量も全投与群のF₁雄で高い傾向を示したが、統計学的有意差がみられたのは4000 ppm群における相対重量のみであった。病理組織学的には、12000 ppm群のF₁雄に小葉中心性肝細胞肥大が、F₁雌に小葉周辺性肝細胞脂肪変性がそれぞれ有意に高い頻度で観察された。また、12000 ppm群のF₀雄で脾臓の髓外造血の発生率が統計学的に有意に低かった。これら脾臓と肝臓の組織学的変化に関連して、12000 ppm群のF₀雄で脾臓の腫脹と肝臓の小葉像明瞭の発生率が有意に高かった。腎臓重量も投与群で高い傾向にあり、4000 ppm群のF₁雄で絶対及び相対重量、ならびに12000 ppm群のF₀雄で絶対重量、F₁雄で絶対及び相対重量、F₁雌で絶対重量にそれぞれ有意差がみられた。そのほか脳、胸腺、精巣、精巣上体及び精囊の絶対または相対重量に統計学的に有意な高値または低値がみられたが、散発的で一貫性がないことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

繁殖への影響に関しては、陰開口と雄の包皮分離の平均到達日齢で評価したF₁動物の性成熟は検体投与によって影響されなかった。雌の大多数が4ないし5日間の正常性周期を示し、交配成立までの期間、交尾率、受胎率、繁殖率及び出産率は検体投与によって影響されなかった。4000及び12000 ppm群のF₁動物の交配成立までの期間における軽度の延長は偶発的なものと考えられた。妊娠期間は、予期された22~23.5日の範囲内であった。着床数にも検体投与の影響はなかった。精子検査の結果、精子の数、運動性または形態に、投与に関連すると考えられる差は何ら認められなかった。4000及び12000 ppm群のF₁雄の精巣上体精子数が統計学的に有意に低かったが、背景対照データ(1415.4~2387.6 x 10⁶/ml)の範囲内にあること、また12000 ppm群で調べた精巣の精子細胞数は減少していないことから、これらの変化は精子産生の低下を示すものではなかった。

児動物に対する影響；

児動物については、出生時の同腹児数に及ぼす検体投与の影響はいずれの世代においてもなかった。出生時および哺育中の生存同腹児数に、12000 ppm群のF₁児で哺育14日と21日に統計学的に有意な低値がみられたが、その差の程度は小さくて検体投与との関連を示すようなものではなかった。児動物の体重に及ぼす検体投与の影響はいずれの世代においてもなかった。剖検所見には検体投与に関連する変化は何ら認められなかったが、両世代とも投与群における脾臓及び肝臓の絶対または相対重量が有意に増加した。1000 ppm群のF₁雌雄と12000 ppm群

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

の F_1 雌の脳の絶対重量に統計学的に有意な高値がみられたが、相対重量には影響がないことから偶発的なものと考えられた。

以上、本剤を 1000、4000 または 12000 ppm の濃度で 2 世代にわたって連続して混餌投与すると、全投与群において検体投与の明らかな反応として体重と脾臓重量が高くなり、12000 ppm で脾臓のヘモジデリン沈着症が認められた。

繁殖能力に関して、本剤の投与は調べた濃度で何ら悪影響を及ぼさなかった。したがって、繁殖能力についての無毒性量は 12000 ppm (雄の F_0 : 894.9 mg/kg/日及び F_1 : 1182.6 mg/kg/日、雌の F_0 : 1078.9 mg/kg/日及び F_1 : 1254.3 mg/kg/日) と考えられた。

親動物および児動物の無毒性量は、低用量の 1000 ppm においても影響が認められる項目があり、求められなかった。

2) 催奇形性

(資料 6-2)

ラットにおける催奇形性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

試験動物 : SD 系妊娠ラット、11~12 週齢、体重 215~259 g、一群各 22 匹

試験期間 : 25 日間

投与方法 : 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、250、500 及び 1000 mg/kg/日の投与用量で、妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間毎日 1 回、10 ml/kg 体重の容量で強制経口投与した(一晚同居交配の翌朝膈垢中の精子または膈栓を確認した場合、その日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群の動物には媒体の 1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠:

試験項目 :

母動物: 一般状態及び死亡について、試験期間を通して毎日観察して所見を記録した。

各動物の体重を妊娠 0、3、6~16、18 及び 20 日に測定し、妊娠 6~16 日について体重増加量を算出した。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、異常組織を保存した。卵巣と子宮を摘出して、卵巣については黄体数を数え、子宮については、着床痕数、死亡吸収胚(早期及び後期)数及び生存胎児数を記録した。

生存胎児: 各生存胎児の体重と胎盤重量を測定し、性を判定して外表異常について検査した。

各腹約半数の胎児の内臓を除去してメチルアルコールで固定した後、Dawson の染色方法の変法に従って骨格をアリザリンレッドで染色し、骨格異常について検査した。各腹の残り約半数の胎児をブアン液で固定した後、Wilson のフリーハンド連続切片法に従って内臓異常について検査した。なお、異常については以下の 2 型に分類した。大異常: 心室中隔欠損のような稀で、またはおそらく致死性のもの。

小異常: 「正常」からのわずかな違いであって、骨格検査(たとえば二分椎体)またはフリーハンド連続切片法による検査(たとえば尿管拡張)で比較的頻繁にみられるもの。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果 : 概要を以下の表に示す。

母動物 ;

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	250	500	1000	
1群当り交配雌動物数	22	22	22	22	
妊娠雌動物数	22	22	19	22	
非妊娠雌動物数	0	0	3	0	
死亡雌動物数	0	0	0	0	
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	
体重増加量 ^a (g)					
妊娠6~16日	64	71↑	74↑	72↑	
摂餌量 ^a (g/動物/日)					
妊娠6~8日	28	30↑	30↑	30↑	
妊娠9~11日	30	31	32↑	31↑	
妊娠12~15日	31	33↑	33↑	32↑	
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
妊娠雌動物数(最終剖検時)	22	22	19	22	
着床所見	黄体数 ^a	16.3	16.4	15.6	15.7
	着床数 ^a	15.0	15.0	14.8	15.2
	着床前胚死亡率(%) ^a	8.4	8.3	4.7	3.5
	着床後胚死亡率(%) ^a	3.3	2.4	3.9	6.0
	早期胚吸収数 ^a	0.50	0.36	0.58	0.91
	後期胚吸収数 ^a	0.00	0.00	0.00	0.00

^a 平均

着床前胚死亡率(%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] x 100

着床後胚死亡率(%) = [(着床数 - 生存胎児数) / 着床数] x 100

一元配置分散分析後 t 検定 : ↑ p < 0.05, ↑ p < 0.01

胎児 ;

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	250	500	1000
生存胎児のある腹数	22	22	19	22
生存胎児数 ^a	14.5	14.6	14.3	14.3
胎児体重 ^b (g)				
雄	3.58	3.69	3.67	3.66
雌	3.39	3.50	3.52	3.44
雄雌合算	3.48	3.61	3.59	3.55
胎盤重量 ^b (g)	0.54	0.55	0.57	0.53
大異常				
検査胎児(腹)数	318(22)	322(22)	271(19)	314(22)
大異常のある胎児(腹)数	2(1)	1(1)	1(1)	1(1)
小眼球症	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
肋骨の不完全骨化、内側への 屈曲、肥厚	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)
後主静脈遺残	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
無尾、鎖肛	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)

^a 平均、^b 腹の平均に基づく平均

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果(つづき) :

胎児(つづき) :

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	250	500	1000
骨格小異常				
検査胎児(腹)数	158(22)	162(22)	135(19)	157(22)
骨格小異常のある胎児(腹)数	41(16)	40(16)	10(6)	41(19)
椎骨、二分/半分骨化/不整形/小型	5(5)	4(4)	2(1)	5(4)
椎骨、椎弓・椎体部分的癒合	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肋骨、内側への屈曲	0(0)	0(0)	2(1)	1(1)
肋骨、中間部肥厚	0(0)	0(0)	2(1)	0(0)
胸骨分節、配列異常	1(1)	3(3)	0(0)	2(2)
胸骨分節、二分/不整形	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
肋軟骨、配列異常	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
上記骨格小異常のある胎児(腹)数	7(7)	7(7)	4(2)	8(6)
肋骨及び椎骨の外形				
頸肋	0(0)	0(0)	0(0)	4(1)
第13肋骨短小	0(0)	0(0)	0(0)	2(2)
肋骨数13/14または14/14	30(12)	19(8)	10(5)	11(6)
胸椎・腰椎数20	0(0)	4(1)	0(0)	0(0)
後肢帯配列異常	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
不完全骨化				
頭蓋中心部	11(6)	11(6)	2(2)	11(5)
椎骨、頸椎	2(2)	3(3)	0(0)	2(2)
椎骨、胸椎/腰椎	8(8)	10(9)	2(2)	5(5)
椎骨、仙椎	17(7)	14(7)	2(2)	18(11)
胸骨分節、第5及び(または)第6	121(22)	110(22)	98(19)	98(21)
胸骨分節、その他	6(5)	8(7)	4(4)	5(5)
胸骨分節不完全骨化合計	121(22)	110(22)	98(19)	99(21)
後肢帯	13(7)	4(3)	1(1)	8(6)
中手骨/中足骨	1(1)	3(2)	0(0)	0(0)
早期骨化				
頸椎椎体(骨化椎体数4以上)	4(3)	2(1)	1(1)	2(2)
内臓小異常				
検査胎児(腹)数	160(22)	160(22)	136(19)	157(22)
内臓小異常のある胎児(腹)数	15(10)	20(13)	18(11)	16(12)
眼、小型	1(1)	0(0)	2(1)	1(1)
甲状腺、小型	1(1)	1(1)	2(1)	0(0)
胸腺、下降不全	2(2)	5(5)	3(3)	1(1)
腕頭動脈、欠損/痕跡的	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
横隔膜、薄くて肝臓の突出を伴う	6(5)	5(5)	3(3)	7(6)
肝臓、過剰葉	0(0)	2(2)	0(0)	0(0)
腎臓、痕跡的/腎乳頭欠損	4(3)	2(2)	4(4)	1(1)
尿管、拡張	2(2)	1(1)	2(2)	1(1)
膀胱、左側臍動脈	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
精巣、位置異常	1(1)	4(4)	3(2)	3(3)
脳/脊髄、出血	0(0)	2(2)	0(0)	1(1)
その他、肝臓内、出血	1(1)	2(2)	0(0)	1(1)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

母動物において、一般状態は対照群と投与群で同様であり、死亡もなかった。母動物の体重及び摂餌量は、全投与群で投与期間を通して対照群を上回り、妊娠 6～16 日の体重増加量と妊娠 6～15 日の摂餌量(250 mg/kg における妊娠 9～11 日の値を除く)は、各投与群とも統計学的に有意に高かった。剖検所見及び着床所見には、検体投与の影響はみられなかった。

胎児に対する影響は、生存数、体重、胎盤重量及び奇形学的検査所見のいずれにも検体投与の影響はみられなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットへ胎児の器官形成期を通して投与したところ、1000 mg/kg の用量まで母動物及び胎児に影響がみられなかったことから、1000 mg/kg 体重/日は母体及び胎児における無毒性量と判断される。また、最高用量の 1000 mg/kg 体重/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと結論される。

(資料 6-3)

ウサギにおける催奇形性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

試験動物 : New Zealand White 系ウサギ、19~27 週齢、体重 2.92~4.44 kg、一群 22 匹

試験期間 : 36 日間

投与方法 : 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、100、300 及び 1000 mg/kg/日の投与用量で、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間毎日 1 回、5 ml/kg 体重の容量で強制経口投与した(自然交配による授精の日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群の動物には媒体の 1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠:

試験項目 :

母動物; 一般状態及び死亡について、試験期間を通して毎日観察して所見を記録した。途中で屠殺した、または死亡した動物は、内臓の詳細な肉眼的検査を行い、異常のある組織を保存した。流産した動物は、屠殺して詳細な肉眼的検査を行い、黄体数と着床数を記録した。可能な場合は、流産胎児も検査した。各動物の体重を毎日測定し、妊娠 0~6、6~8、6~10、6~12、6~14、6~16、6~18、6~20、6~24、6~28 及び 20~28 日について体重増加量を算出した。摂餌量を妊娠 1~5、6~12、13~19、20~23 及び 24~28 日の期間について記録した。

妊娠 29 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、異常組織を保存した。卵巣と子宮を摘出して、卵巣については黄体数を数え、子宮については、着床痕数、死亡吸収胚(早期及び後期)数、死亡胎児数及び生存胎児数を記録した。

生存胎児; 各生存胎児の体重と胎盤重量を測定し、性を判定して外表異常について検査した。

各腹全胎児の頸部、胸腔及び腹腔の臓器を検査した。各腹 3 分の 1 の胎児について、断頭してブアン液で固定した頭部をフリーハンド連続切片法により検査した。各腹全胎児(各腹 3 分の 1 の胎児については頭部なし)をメチルアルコールで固定した後、Dawson のアリザリンレッド染色法の変法に従って骨格を染色し、骨格異常について検査した。なお、異常については以下の 2 型に分類した。

大異常: 心室中隔欠損のような稀で、またはおそらく致死性のもの。

小異常: 「正常」からのわずかな違いであって、骨格検査(たとえば二分椎体)またはフリーハンド連続切片法による検査(たとえば尿管拡張)で比較的頻繁にみられるもの。

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エス・ディー・エス パイオテックにある。

結果 : 概要を以下の表に示す。

母動物；

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	100	300	1000	
1群当り交配雌動物数	22	22	22	22	
妊娠雌動物数	22	19	19	19	
非妊娠雌動物数	0	3	3	3	
流産雌動物数	2	1	0	0	
死亡雌動物数	1(途中屠殺)	1	0	0	
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	
体重増加量 ^a (kg)					
妊娠 20~28日	0.16	0.14	0.15	0.08↓	
摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
妊娠雌動物数(最終剖検時)	19	17	19	19	
全胚吸収の雌動物数	0	0	0	1	
黄体のみ認められた雌動物数	0	0	0	1	
生存胎児を持つ雌動物数	19	17	19	17	
着床所見	黄体数 ^a	12.7	12.1	12.3	11.8
	着床数 ^a	10.8	10.4	11.6	9.6
	着床前胚死亡率(%) ^a	15.3	14.1	6.8	18.4
	着床後胚死亡率(%) ^a	6.8	7.3	8.6	9.1
	早期胚吸収数 ^a	0.5	0.6	0.2	0.2
	後期胚吸収数 ^a	0.2	0.2	0.8	0.7

^a 平均

着床前胚死亡率(%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] x 100

着床後胚死亡率(%) = [(着床数 - 生存胎児数) / 着床数] x 100

分散分析後 William の t 検定 : ↓ p < 0.05

胎児；

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	100	300	1000
生存胎児のある腹数	19	17	19	17
生存胎児数 ^a	10.1	9.6	10.6	8.8
胎児体重 ^b (g)				
雄	40.7	42.1	39.9	41.3
雌	39.7	41.1	38.6	38.3
雄雌合算	40.3	41.7	39.5	40.2
胎盤重量 ^b (g)	5.6	5.7	5.6	6.2
大異常				
検査胎児(腹)数	191(19)	164(17)	201(19)	149(17)
大異常のある胎児(腹)数	2(2)	2(2)	2(2)	0(0)
前頭骨癒合；両側肩甲棘屈曲	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
胸椎・肋骨不整形	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
腰椎側湾	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
腹壁破裂；尾椎不整形	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
左側腎臓形態異常、位置異常				
腹壁と癒合	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
右後肢回転異常、強度	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)

^a 平均、^b 腹の平均に基づく平均

結果(つづき)：

胎児(つづき)：

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	100	300	1000
骨格小異常 検査胎児(腹)数	189(19)	162(17)	199(19)	149(17)
頭蓋、裂/過剰縫合	1(1)	0(0)	0(0)	1(1)
頭蓋、縫合骨	1(1)	2(2)	1(1)	1(1)
頭蓋、斜位縫合	1(1)	0(0)	1(1)	0(0)
頭蓋、舌骨角屈曲	1(1)	0(0)	2(2)	1(1)
椎骨、二分/半分骨化/不整形/小型	3(3)	0(0)	0(0)	1(1)
椎骨、過剰骨化中心	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
肋骨、肥厚	0(0)	3(2)	2(2)	2(2)
肋骨、不連続	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
胸骨分節、余剰	2(2)	10(1)	2(2)	0(0)
胸骨分節、癒合	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
胸骨分節、二分	1(1)	0(0)	3(3)	0(0)
胸骨分節、配列異常	3(3)	0(0)	1(1)	0(0)
胸骨分節、幅広/不整形	3(3)	0(0)	1(1)	0(0)
肋軟骨、不整形	2(1)	0(0)	1(1)	1(1)
剣状軟骨、二分	3(2)	0(0)	0(0)	0(0)
肢骨、肩峰延長	2(1)	1(1)	2(2)	0(0)
上記骨格小異常のある胎児(腹)数	17(12)	15(4)	15(12)	8(6)
肋骨及び椎骨の外形				
頸肋	2(1)	3(2)	1(1)	1(1)
腰肋	2(2)	0(0)	0(0)	0(0)
肋骨数 12/13 または 13/13	137(19)	132(17)	144(19)	83(15)
胸椎・腰椎数 20	23(10)	19(11)	31(11)	11(5)
胸椎・腰椎数 21	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
後肢帯配列異常	4(4)	5(4)	7(6)	4(4)
不完全骨化				
前/後泉門拡張	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
前頭骨未骨化部	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
歯状突起	3(1)	2(2)	2(2)	2(2)
椎体、頸椎	1(1)	2(2)	2(1)	0(0)
椎体、胸椎/腰椎	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
胸骨分節、第5	7(4)	9(6)	19(8)	24(11)
胸骨分節、その他	10(6)	1(1)	6(2)	7(4)
胸骨分節不完全骨化合計	17(10)	10(7)	25(9)	30(12)
第13肋骨	2(2)	0(0)	0(0)	0(0)
未骨化骨端	16(5)	5(4)	6(5)	4(2)
距骨	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
中手骨/中足骨	5(3)	0(0)	3(3)	6(3)
早期骨化				
小さい前泉門	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
肘頭骨化	11(5)	16(5)	9(7)	8(6)
肩鎖骨骨化	0(0)	4(2)	0(0)	0(0)

結果(つづき)：

胎児(つづき)：

投与量(mg/kg/日)	対照(0)	100	300	1000
内臓小異常				
検査胎児(腹)数	189(19)	162(17)	199(19)	149(17)
頭部検査胎児(腹)数	63(19)	54(17)	68(19)	49(17)
内臓小異常のある胎児(腹)数	17(10)	23(11)	13(11)	10(9)
頭部、網膜皺壁	0(0)	2(2)	3(3)	0(0)
胆嚢、出血	14(9)	16(10)	8(6)	9(8)
胆嚢、小型	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)
胆嚢、拡張	0(0)	2(2)	1(1)	0(0)
胃、ガス充満	1(1)	0(0)	1(1)	1(1)
胃、暗調内容物	1(1)	5(1)	0(0)	0(0)
腎臓、位置異常	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)

母動物において、一般状態は対照群と投与群で同様であった。対照群で投与事故のため1匹を妊娠8日に屠殺した。偶発的な死亡が100 mg/kg群で妊娠20日に1例みられた。流産が対照群で2例(妊娠17日及び29日)と100 mg/kg群で1例(妊娠28日)発生した。母動物の体重は、1000 mg/kg群で投与終了後(妊娠20～28日)の体重増加量に統計学的に有意な減少がみられ、検体投与の影響と考えられた。摂餌量には、対照群と各投与群の間で有意な差はみられなかった。剖検所見及び着床所見にも、検体投与の影響はみられなかった。

胎児においては、生存数、体重、胎盤重量及び外表と内臓の奇形学的検査所見に対照群と各投与群の間で有意な差はなく、検体投与の影響はみられなかった。骨格の奇形学的検査所見の中で、第5胸骨分節不完全骨化の発生率が、300及び1000 mg/kg群で統計学的に有意ではないものの増加した。この所見は検体投与に関連すると考えられるが、骨格変異に分類されるものであり、悪影響とは考えられない。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギへ胎児の器官形成期を通して投与したところ、1000 mg/kg群で投与終了後の母動物の平均体重に有意な増加抑制がみられたが、100及び300 mg/kg群ではいずれの指標にも検体投与の影響はみられなかったことから、300 mg/kg 体重/日が母体における無毒性量と判断される。一方胎児においては、300及び1000 mg/kg群で骨格変異に分類される第5胸骨分節不完全骨化の発生率が増加したことを除いて、1000 mg/kgの用量まで検体投与の影響はみられなかったことから、胎児に対して1000 mg/kg 体重/日は無毒性量と判断される。また、最高用量の1000 mg/kg 体重/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと結論される。

〔申請者註〕

- (1) 低用量で流産が1例見られたが、その対照群で2例が見られ、それ以外には見られなかったことから、偶発的であり、検体とは関連がなく、また、試験の成立にも影響するとは考えられなかった。
- (2) 申請者は、300および1000 mg/kg/日での投与に関連した第5胸骨分節不完全骨化の出現数が大きかったことを重く見て、胎児動物(雌雄)での無毒性量を100 mg/kg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エス・ディー・エス バイオテックにある。

(8) 変異原性

1) 遺伝子突然変異原性

(資料 7-1)

細菌を用いた復帰変異試験

試験機関：

報告書作成年：

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* 4 株 (TA1535、TA1537、TA98、TA100 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (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) に溶解し、予備 (用量設定) 試験の結果、5000 µg/プレート の用量で検体の析出が認められたが、いずれの試験菌株に対しても抗菌性が認められないことから 5000 µg/プレートを最高用量とした。

試験濃度は 312.5~5000 µg/プレートの範囲で 5 用量とし、各用量 3 枚のプレートを用いて試験を行い、2 回実施した。

試験結果： 結果を次頁に示した。

用量設定試験及び本試験において、検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート) においても、いずれの菌株で復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた *N*-エチル-*N*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン及び 2-ニトロフルオレンでは S-9 Mix の非存在下で、2-アミノアントラセンでは S-9 Mix の存在下で対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

復帰変異試験成績

第1回目試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	138	13	78	26	12
	検体	0	128	16	74	25	10
		312.5	134	11	68	25	6
		625	125	13	76	27	5
		1250	107	12	80	23	8
		2500	123 #	15 #	68 #	25 #	9 #
		5000	115 #	13 #	62 #	23 #	11 #
	陽性 対照	名称	ENNG ^{a)}	ENNG ^{a)}	ENNG ^{a)}	NF ^{b)}	9 AC ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	3.0	5.0	2.0	1.0	80.0
		コロニー数/plate	648	610	1004	519	多数
+	対照	DMSO	140	16	73	24	12
	検体	0	126	13	72	27	12
		312.5	135	11	68	24	11
		625	119	13	71	24	9
		1250	110	11	79	25	10
		2500	133 #	11 #	65 #	26 #	9 #
		5000	116 #	13 #	70 #	23 #	12 #
	陽性 対照	名称	AA ^{d)}	AA ^{d)}	AA ^{d)}	AA ^{d)}	AA ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0
		コロニー数/plate	752	259	471	516	86

第2回目試験

(表中の数値は3プレートの平均値)

S-9 Mix の有無	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		復帰変異コロニー/プレート				
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-	対照	DMSO	114	15	50	24	9
	検体	0	120	17	57	23	11
		312.5	112	17	51	21	7
		625	110	14	55	24	5
		1250	109	10	53	21	7
		2500	112 #	13 #	47 #	19 #	10 #
		5000	102 #	12 #	53 #	20 #	9 #
	陽性 対照	名称	ENNG ^{a)}	ENNG ^{a)}	ENNG ^{a)}	NF ^{b)}	9 AC ^{c)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	3.0	5.0	2.0	1.0	80.0
		コロニー数/plate	319	126	576	155	多数
+	対照	DMSO	111	14	63	29	13
	検体	0	116	19	68	30	11
		312.5	110	16	68	21	9
		625	109	14	57	27	9
		1250	116	15	64	28	8
		2500	111 #	14 #	51 #	20 #	10 #
		5000	103 #	13 #	65 #	24 #	10 #
	陽性 対照	名称	AA ^{d)}	AA ^{d)}	AA ^{d)}	AA ^{d)}	AA ^{d)}
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0
		コロニー数/plate	628	197	485	195	88

: 検体の析出が認められた

b) : 2-ニトロフルオレン

a) : N-エチル-N-ニトロ-N-ニトログアニジン

c) : 9-アミノアクリジン

d) : 2-アミノアントラセン

2) 染色体異常誘発性

(資料 7-2)

ヒト培養リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：

試験方法： 男性ボランティア(喫煙しない健常者)から静脈採取した血液をヘパリン処理したものの 0.5 ml に、培養培地 9.0 ml 及びフィトヘマグルチン溶液 0.5 ml を加え 37℃で 48 時間培養し、供試細胞(リンパ球)を得た。この細胞を用い、ラット肝由来の代謝活性化系(S-9 Mix)の非存在下及び存在下で、染色体異常誘発性を検定した。検体の処理時間は S-9 Mix の非存在下及び存在下で、それぞれ 24 時間及び 3 時間とした。

検体は DMSO に溶解して用いた。

用量設定のために実施した予備試験(有糸分裂指数検査)の結果より、第一回目の本試験は、S-9 Mix の非存在下及び存在下とも 200、1000 及び 5000 µg/ml としたが、細胞の染色に影響する沈殿が 1000 及び 5000 µg/ml 処理で認められ、5000 µg/ml 処理は検査不能であった。そのため第二回目の本試験を行い、用量は S-9 Mix の非存在下及び存在下ともに 40、200 及び 1000 µg/ml の処理で行い、各用量 3 反復で試験した。検査は、はじめに各培養液から約 1000 個のリンパ球を観察し有糸分裂指数を計数し、その後、各培養液の 100 個の中期分裂像について染色体を観察した。

試験結果： 結果を次頁に示した。

S-9 Mix 存在下の 1000 µg/ml 処理において、有糸分裂指数が溶媒対照の値と比較し 52 %の低下が認められたが、その他の用量及びは S-9 Mix 非存在下の処理は溶媒対照と同等であった。S-9 Mix の有無に関わらず 1000 µg/ml 処理において、細胞の染色に影響して、中期分裂像の細胞の多くは観察できなかった。

ギャップを含めた場合及び除外した場合の染色体異常の発現頻度は、S-9 Mix の非存在下及び存在下の各用量において、溶媒対照の発現頻度と同程度であった。

一方、S-9 Mix 非存在下の陽性対照として用いたクロラムブシルあるいは S-9 Mix 存在下の陽性対照として用いたシクロホスファミドでは、顕著な染色体異常が観察された。

以上の結果から、検体は本試験条件下で、代謝活性化系の有無にかかわらずヒト培養リンパ球において染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

染色体異常試験結果

薬物	S-9 Mixの有無	処理濃度(μg/ml)	観察細胞数	倍数性細胞		染色体構造異常細胞の出現数と出現頻度(%)										判定
				出現数及び出現頻度(%)	判定	ギャップ		染色体分体型		染色体型		その他		合計		
						gap	Ctb	Cte	csb	cse	o	TA	TAG			
陰性対照(DMSO)		-	300	0 (0.0)	-	7 (2.3)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.7)	3 (1.0)	10 (3.3)	-
						5 (1.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.7)	2 (0.7)	7 (2.3)	-		
						2 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.7)		-	
						2 (0.7)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	3 (1.0)			
陽性対照 Chlram		2	300	3 (1.0)	-	32 (10.7)	77 (25.7)	15 (5.0)	6 (2.0)	0 (0.0)	32 (10.7)	108 (36.0)	124 (41.3)	+		
陰性対照(DMSO)		-	300	3 (1.0)	-	4 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.0)	2 (0.0)	6 (0.7)	-	
						3 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.0)	-		
						3 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	4 (1.3)	-			
						3 (1.0)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.0)	7 (2.3)				-
陽性対照 Cyclop		6	300	1 (0.3)	-	27 (9.0)	62 (20.7)	28 (9.3)	1 (0.3)	0 (0.0)	19 (6.3)	84 (28.0)	100 (33.3)	+		

検体処理時間：S-9 Mix(-)の場合は24時間、S-9 Mix(+)の場合は3時間(処理後の培養時間は21時間)

備考：ギャップ(gap)には染色体分体型と染色体型の両方を含める。TAGにはギャップを含む総異常細胞数、TAにはギャップを除いた総異常細胞数、()内に頻度%を表示する。
ctb；染色体切断、cte；染色体交換、csb；染色体切断、cse；染色体交換、o；断片化(細粉化は除く)

DMSO；ジメチルスルホキシド、Chloram；クロラムブシル、Cyclo；シクロホスファミド

***：TA及びTAGについて統計処理を実施し、対照群と比較して有意差のあるもの(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エス・ディー・エス パイオテックにある。

(資料 7-3)

マウスにおける *in vivo* 染色体異常試験(小核試験)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

試験動物 : ICR系雌雄マウス、5週齢、体重22~24 g、一群雌雄各5匹の計10匹

試験方法 : 検体は1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、1250、2500及び5000 mg/kgの用量で単回経口投与した。投与後24、48及び72時間に全てのマウスから大腿骨を摘出して、牛胎児血清を用いて骨髓細胞を採取し、常法により骨髓標本を作製した。観察は1000個の多染性赤血球数について小核を有する多染性赤血球数を計数し、染色体異常誘発性を検定した。また、骨髓細胞の増殖抑制の指標として、1000個の全赤血球(多染性赤血球数+正染性赤血球)を観察し多染性赤血球数の割合を求めた。

予備試験において、最大耐量を確認する目的で500~6000 mg/kgの範囲で5用量を単回経口投与し、投与後72時間動物を観察した。その結果、軽度の症状変化が認められたことから、本試験の最高用量は5000 mg/kgとし、以下2で除した2500及び1250 mg/kgの用量を設定し、骨髓採取時期は投与後24、48及び72時間とした。陽性対照としてマイトマイシンC(12 mg/kg)を投与し、投与後24時間に骨髓標本を作製した。

試験結果 : 結果を次頁に示した。

各検体投与群のすべての観察時間において、小核を有する多染性赤血球の群平均出現頻度は0.04~0.13%であり、溶媒対照群との間に有意な差は認められなかった。2500 mg/kg投与群の投与後48時間における、多染性赤血球と正染性赤血球の割合(p/n)が0.756であり、溶媒対照群の1.286との間に有意な差が認められた。なお、一般状態の異常は、5000 mg/kg投与群のみに軽度の立毛及び円背位が認められた。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンCでは、投与後24時間の観察で小核を有する多染性赤血球が有意に増加した。

以上の結果、検体投与による小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、軽度の症状変化が認められる5000 mg/kgにおいても溶媒対照群と同程度であることから、本試験条件下で、検体はマウス赤芽球に対する染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

小核試験成績

用量 (mg/kg)	投与後 時間 (hr)	性別	例数	p/n ^a		mnp (%) ^b		
				平均±標準偏差	最小値-最大値	総数 ^c	平均±標準偏差	最小値-最大値
溶媒 対照 ^d	24	♂	5	1.082±0.654	0.495-1.892	3	0.06±0.09	0.0-0.2
		♀	5	0.678±0.282	0.429-1.148	3	0.06±0.13	0.0-0.3
		♂+♀	10	0.880±0.521	0.429-1.892	6	0.06±0.11	0.0-0.3
1250		♂	5	1.118±0.364	0.805-1.748	3	0.06±0.05	0.0-0.1
		♀	5	0.844±0.151	0.651-1.018	8	0.16±0.13	0.0-0.3
		♂+♀	10	0.981±0.300	0.651-1.748	11	0.11±0.11	0.0-0.3
2500		♂	5	1.308±0.690	0.713-2.419	7	0.14±0.17	0.0-0.4
		♀	5	0.920±0.336	0.568-1.442	0	0.00±0.00	0.0-0.0
		♂+♀	10	1.114±0.551	0.568-2.419	7	0.07±0.13	0.0-0.4
5000	♂	5	1.301±0.415	0.876-1.971	3	0.06±0.05	0.0-0.1	
	♀	5	0.813±0.429	0.439-1.459	4	0.08±0.04	0.0-0.1	
	♂+♀	10	1.057±0.474	0.439-1.971	7	0.07±0.05	0.0-0.1	
陽性 対照 ^e	♂	5	0.517±0.144	0.307-0.662	301	6.02±1.24	5.2-8.2	
	♀	5	0.408±0.265	0.090-0.807	217	4.34±2.16	1.7-6.6	
	♂+♀	10	0.462*±0.209	0.090-0.807	518	5.18**±1.88	1.7-8.2	
溶媒 対照 ^d	48	♂	5	1.736±0.820	0.892-2.748	7	0.14±0.13	0.0-0.3
		♀	5	0.836±0.318	0.555-1.217	3	0.06±0.09	0.0-0.2
		♂+♀	10	1.286±0.754	0.555-2.748	10	0.10±0.12	0.0-0.3
1250		♂	5	1.093±0.459	0.606-1.661	4	0.08±0.13	0.0-0.3
		♀	5	0.901±0.429	0.494-1.410	6	0.12±0.22	0.0-0.5
		♂+♀	10	0.997±0.431	0.494-1.661	10	0.10±0.17	0.0-0.5
2500		♂	5	0.700±0.192	0.472-0.994	7	0.14±0.13	0.0-0.3
		♀	5	0.811±0.267	0.443-1.125	1	0.02±0.04	0.0-0.1
		♂+♀	10	0.756*±0.227	0.443-1.125	8	0.08±0.11	0.0-0.3
5000	♂	5	1.143±0.401	0.695-1.598	5	0.10±0.14	0.0-0.3	
	♀	5	0.947±0.512	0.514-1.745	8	0.16±0.11	0.0-0.3	
	♂+♀	10	1.045±0.446	0.514-1.745	13	0.13±0.13	0.0-0.3	
溶媒 対照 ^d	72	♂	5	1.623±0.416	1.100-2.142	9	0.18±0.16	0.0-0.4
		♀	5	0.928±0.206	0.699-1.253	0	0.00±0.00	0.0-0.0
		♂+♀	10	1.276±0.479	0.699-2.142	9	0.09±0.14	0.0-0.4
1250		♂	5	1.331±0.840	0.431-2.215	1	0.02±0.04	0.0-0.1
		♀	5	0.962±0.407	0.504-1.432	7	0.14±0.09	0.0-0.3
		♂+♀	10	1.147±0.652	0.431-2.215	8	0.08±0.09	0.0-0.3
2500		♂	5	1.654±0.561	0.909-2.252	3	0.06±0.09	0.0-0.2
		♀	5	1.268±0.515	0.833-1.951	1	0.02±0.04	0.0-0.1
		♂+♀	10	1.461±0.547	0.833-2.252	4	0.04±0.07	0.0-0.2
5000	♂	5	0.963±0.519	0.479-1.837	8	0.16±0.19	0.0-0.5	
	♀	5	1.046±0.583	0.283-1.679	3	0.06±0.05	0.0-0.1	
	♂+♀	10	1.004±0.522	0.283-1.837	11	0.11±0.14	0.0-0.5	

^a : p/n=多染性赤血球数/正染性赤血球数

^b : mnp=小核を有する多染性赤血球数/多染性赤血球数×100

^c : 観察された小核を有する多染性赤血球数の群内総数

^d : 1%メチルセルロース水溶液

^e : マイトマイシンC (12 mg/kg)

* : Kruskal-Wallis の検定で溶媒対照群と有意差あり (P<0.05)

*, ** : Wilcoxon の順位和検定で溶媒対照群と有意差あり (それぞれ 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エス・ディー・エス バイオテックにある。

(9) 生体の機能に及ぼす影響

(資料 8-1)

1) Irwin 法を用いた一般状態観察

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : ICR 系雄マウス、約 6 週齢、体重: 22~26 g、一群 4 匹合計 16 匹

方 法 : 投与前一晩絶食させたマウスに 0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0、500、1000 及び 2000 mg/kg(投与液量 10 ml/kg)で経口投与した。投与後 30、90、150、300 分及び 24 時間に、一般状態を詳細に観察した。また、投与後 7 日目まで、毎日死亡率及び肉眼的中毒症状を観察した。投与後 7 日目にマウスを頸椎脱臼により屠殺した。

結 果 : いずれの用量においてもマウスに対して、一般状態の変化及び生理学的変化を誘発しなかった。また、7 日間の観察期間中に死亡は認められなかった。

(資料 8-2)

2) ヘキソバルピタール睡眠に及ぼす影響

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : ICR系マウス、約6週齢、体重:18~24 g、一群雌雄各5匹

方法 : 投与前一晚絶食させたマウスに0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を0、500、1000及び2000 mg/kg(投与液量10 ml/kg)で経口投与し、45分後にヘキソバルピタールNa塩(100 mg/kg)を腹腔内投与した。正向反射の喪失及び回復により睡眠継続時間を記録した。正向反射の回復時にマウスを頸椎脱臼により屠殺した。

結果 :

群	用量(mg/kg)	平均睡眠時間(分±標準偏差)		
		雄	雌	雌雄合算
1 溶媒対照	—	77.7±22.0	50.8±10.6	64.3±21.6
2 検体	500	96.7±15.7	53.2±9.3	74.9±26.0
3 検体	1000	83.8±10.7	60.7±7.9	72.2±15.1
4 検体	2000	83.4±5.7	70.2*±14.8	76.8±12.7
5 陽性対照	15	173.9**±6.58	130.9**±21.8	152.4**±27.3

*、** : 溶媒対照と統計学的有意差あり、それぞれ p<0.05、** : P<0.01

溶媒対照 : 0.5%カルボキシメチルセルロース

陽性対照 : 塩酸クロルプロマジン

雄はすべての検体投与群において、溶媒対照群と比較して有意な変化は認められなかった。雌は2000 mg/kg投与群において、有意な睡眠時間の延長が認められたが、500及び1000 mg/kg投与群で有意な差は認められなかった。雌雄合算した比較は、いずれの検体投与群においても有意差は認められなかった。一方、陽性対照群は雌雄とも有意な睡眠時間の延長が認められた。

(資料 8-3)

3) 循環器および呼吸器系に及ぼす影響

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : 雌ビーグル犬、約 10~15 ヲ月齡、体重 8.8~10.4 kg、合計 4 匹

方 法 : 約 16 時間絶食させた動物をチオペンタールナトリウム麻酔下で、麻酔維持のために α -クロラロース/ペントバルビタールナトリウム混合液(1 % α -クロラロース 20ml+Sagatal(60 mg/ml) 1 ml)を用いて試験を行った。検体は 0.5 %カルボキシメチルセルロースに懸濁し、0 及び 2000 mg/kg の用量で十二指腸へ投与した。血圧、心拍数、左心室収縮期血圧、心電図、大腿動脈血流量、大腿動脈抵抗、呼吸数及び呼吸量について、投与後 4 時間まで連続的に記録した。

結 果 : 血圧、心拍数、左心室収縮期血圧、心電図、大腿動脈血流量、大腿動脈抵抗、呼吸数及び呼吸量のいずれの検査項目においても、検体投与に関連した変動は認められなかった。

(資料 8-4)

4) 自律神経系に対する影響

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : 雄ネコ、約 15~28 ヶ月、体重: 4.2~5.2 kg、合計 4 匹

方 法 : 約 16 時間絶食させた動物に約 0.8 ml/kg のプロポフォル(10 mg/kg)の静脈内投与で麻酔した。麻酔維持は少量のプロポフォルの静脈内投与またはイソフルランの吸入にて行った。さらに、長期の麻酔維持には α -クロラロースの静脈内投与を用いた。検体は 0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、0 及び 2000 mg/kg の用量で十二指腸内に投与した。

大腿動脈にカニューレを挿入し、血圧及び心拍数を測定した。

適当な長さの綿糸で瞬膜の外側周縁部を等張ひずみゲージに接続した。上頸部交感神経節前神経幹の下に双極電極を取り付けた。Grass 刺激剤隔離ユニットを接続した Grass S88 刺激装置を用い、2.5 分ごとに 10 秒間(50 Hz、パルス幅 1 ms)神経を刺激し、瞬膜を 4 回収縮させた。

両側の頸動脈を頸の基部まで露出させ、電極および神経をできるだけ妨害しないようにクランプで閉塞できるように準備した。クランプによる固定は、血圧が増加して安定状態に達するまで、または最高 30 秒間のいずれか短い時間にわたって行った。

ノルアドレナリン(1 μ g/kg)を橈側皮静脈に静脈内投与し、0.9 %生理食塩水約 1 ml で洗い入れた。

瞬膜の電氣的刺激、両側頸動脈の閉塞およびノルアドレナリンの静脈内投与の 3 つの手順を 20 分間で行い、この手順を繰り返した。

結 果 : 血圧、心拍数、神経節前刺激瞬膜の反応、両側頸動脈閉塞およびノルアドレナリンの静脈内投与に対する血圧および心拍数の反応のいずれの検査項目においても、検体投与に関連した変動は認められなかった。

(資料 8-5)

5) 小腸輸送能に及ぼす影響(炭末輸送能試験)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : ICR 系雄マウス、約 4 週齢、体重: 19~24 g、一群 10 匹合計 50 匹

方 法 : 投与前一晚絶食させたマウスに検体を 0.5 %カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し 0、500、1000 及び 2000 mg/kg(投与液量 10 ml/kg)で経口投与し、また、陽性対照物質として硫酸モルヒネ 10 mg/kg を経口投与した。投与 45 分後に蒸留水を用いた炭末の 5 %懸濁液 0.25 ml を経口投与した。炭末投与 30 分後、頸椎脱臼によりマウスを屠殺し全消化管を摘出した。炭末が幽門括約筋から盲腸間までの移動距離を測定し、全小腸に対する移動率を算出した。

結 果 : 500、1000 及び 2000 mg/kg の投与群すべてにおいて、溶媒投与群に比べて小腸における炭末移動距離に有意な影響は認められなかった。

一方、硫酸モルヒネの 10 mg/kg において、顕著で統計学的に有意な小腸輸送能の低下を示した。

(資料 8-6)

6) 胃液分泌に及ぼす影響(幽門結紮法)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : Wistar 系雄ラット、約 7 週齢、体重: 138~180 g、一群 10 匹合計 50 匹

方 法 : 投与前一晚絶食させた動物をイソフルラン麻酔下で幽門結紮を行い、検体を 0.5 % カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し 0、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で、また、陽性対照物質としてオメプラゾールを 10 mg/kg の用量で十二指腸内投与を行った。投与 4 時間後に動物を頸椎脱臼により屠殺し、食道を縛り胃を摘出し、胃液容量を測定し、胃液の H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 及び Cl^- 濃度を測定した。また、胃の腺胃部粘膜の状態を検査した。

結 果 : 胃液量、胃液の H^+ 、 Na^+ 、 K^+ 及び Cl^- 濃度、腺胃部粘膜いずれの検査項目においても、検体投与に関連した変動は認められなかった。

一方、オメプラゾールの 10 mg/kg において、胃液の H^+ 濃度が有意差は認められな
いが減少 (49 %) したが、胃液の K^+ 濃度は有意に増加した。腺胃部粘膜の傷害に対し
ては影響しなかった。

(資料 8-7)

7) 協調運動に及ぼす影響(回転棒試験)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : ICR 系雌マウス、約 4 週齢、体重: 17~22 g、一群 10 匹合計 50 匹

方 法 : マウスは予め回転棒での歩行訓練を投与前 2 日間受けさせた。投与前一晚絶食させたマウスに 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0、500、1000 及び 2000 mg/kg、陽性対照物質としてメフェネシンの 400 mg/kg を経口投与した(投与液量 10 ml/kg)。投与後 45 分に、各マウスを回転棒に乗せて連続 3 回の実験を行い、最長の歩行遂行時間を用いて、群平均を算出した。

結 果 : いずれの検体投与群においても歩行遂行時間は対照群と同等であり、協調運動に影響は認められなかった。

一方、陽性対照のメフェネシンは歩行遂行時間を顕著に、かつ統計学的に有意な短縮が認められた。

(資料 8-8)

8) 尿及び電解質排泄に及ぼす影響

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : SD系雄ラット、約6週齢、体重:202~250 g、一群8匹合計40匹

方 法 : 投与前一夜絶食および投与前2時間絶水したラットに、0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁した検体500、1000及び2000 mg/kg、陽性対照物質としてフルセミド20 mg/kgを経口投与した(投与液量25 ml/kg)。その後24時間尿を採取し1、2、3、4、5及び24時間の時点の尿量を記録した。5時間の時点の尿サンプルについて、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- および総蛋白含量の分析を行った。

結 果 : 検体の2000 mg/kg投与群において、投与後0~2時間の尿量が統計学的に有意な減少を示したが、その他の項目に変動は認められなかった。500及び1000 mg/kg投与群は、尿量または尿中電解質および蛋白の排泄に有意な影響は認められなかった。

フルセミドの20 mg/kg投与群において、投与後24時間の測定期間中の尿量に顕著で、統計学的に有意な増加が認められた。この尿量の増加は、顕著で統計学的に有意な尿中電解質排泄の増加を伴っていた。

(資料 8-9)

9) 溶血作用の評価(*in vitro* 試験)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試血液 : 3 人の健康な志願者から採取した血液

方 法 : 採取した血液を遠心分離し上清を廃棄した後、生理食塩水 (0.9 % NaCl) で再懸濁し、この操作を 3 回繰り返すことで赤血球を洗浄した。最終的に赤血球の 3 % 懸濁液を製し試験に供した。生理食塩水を用いて検体液を調製し、赤血球懸濁液と最終濃度 0.1、0.3 及び 1.0 mg/ml となるように、また、陽性対照として蒸留水を用いて混合した。混合したものを 37℃ で 4 時間インキュベーションし、遠心分離後分光光度計を用いて吸光度を 540 nm で測定し、溶血率を算出した。

結 果 : 最高濃度の 1.0 mg/ml は対照群 (生理食塩水) と比較し、非常に弱い溶血作用が認められた。0.1 及び 0.3 mg/ml の濃度では、ヒト赤血球に及ぼす溶血作用は認められなかった。一方、陽性対照 (蒸留水) は強い溶血作用を示した。

(資料 8-10)

10) 血液凝固に及ぼす影響

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度:

供試動物 : Wistar 系雄ラット、約 6~7 週齢、体重: 155~197 g、一群 12 匹合計 60 匹

方 法 : 投与前一晚絶食させたラットに 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させた検体を 0、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で、また、ワルファリンナトリウム (1 日目は 0.5、2-4 日目は 0.25 mg/kg) を、それぞれ 10 ml/kg の一定容量に調整して経口投与した。投与 60 分後、各群 12 匹から尾静脈穿刺により採血し、Dale 及び Laidlaw の方法にしたがって全血凝固時間(WBCT)を測定した。

さらに、イソフルラン浅麻酔下で心臓穿刺により採血した血液試料を 3.2%クエン酸ナトリウムと混合し、Quick, A. J. の方法でプロトロンビン時間(PT)、及び Proctor, R. R. 及び Rapaport, S. I. の方法で活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結 果 : いずれの検体投与群においても WBCT、PT 及び APTT は対照群と同等であり、血液凝固系に影響は認められなかった。

一方、陽性対照のワルファリンナトリウムは測定した凝固パラメータに顕著で、統計学的に有意な増加が認められた。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
Irwin (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♂4匹	—	2000	全用量で一般状態に対する影響は認められなかった。
ヘキソバルビ タール睡眠 (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♂♀各5匹	2000	1000	雌の2000 mg/kgで睡眠時間の延長が認められた。その他の雌の用量及び雄の全用量で影響は認められなかった。また、2000 mg/kgの雌雄合算値では、対照群と同等であった。
循環器/呼吸器 (ビーグル犬)	十二指腸内 (0.5 %CMC)	0 2000	♀4匹	—	2000	血圧、心拍数、左心室収縮期血圧、心電図、大腿動脈血流量、大腿動脈抵抗、呼吸数、呼気量に、投与に関連した影響は認められなかった。
自律神経系 (ネコ)	十二指腸内 (0.5 %CMC)	0 2000	♂4匹	—	2000	神経節前刺激瞬膜の反応、両側頸動脈閉塞及びノルアドレナリンの静脈内投与に対する血圧及び心拍数の反応に、投与に関連した影響は認められなかった。
炭末輸送 (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♂10匹	—	2000	全用量で小腸における炭末移動距離に影響は認められなかった。
胃液分泌 (ラット)	十二指腸内 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♂10匹	—	2000	胃液量、胃液のH ⁺ 、Na ⁺ 、K ⁺ 及びCl ⁻ 濃度、腺胃部粘膜の損傷に、投与に関連した影響は認められなかった。
協調運動 (マウス)	経口 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♀10匹	—	2000	全用量で歩行遂行時間に対する影響は認められなかった。
尿/電解質排泄 (ラット)	経口 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♂8匹	2000	1000	2000 mg/kgにおいて、0~2時間の尿量が有意に減少したが、その他の項目に変動は認められなかった。他の用量で尿量または尿中電解質および蛋白の排泄に影響は認められなかった。
溶血作用 (ヒト血液)	<i>in vitro</i>	0 0.1 0.3 1.0 mg/ml	3人	1.0 mg/ml	0.3 mg/ml	1.0 mg/mlにおいて、非常に弱い溶血作用が認められた。他の濃度では血球に対して影響しなかった。
血液凝固 (ラット)	経口 (0.5 %CMC)	0 500 1000 2000	♂12匹	—	2000	全用量でトロンボプラスチン時間、プロトピニン時間、全血凝固時間に影響は認められなかった。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総合考察

(株)エス・ディー・エス バイオテック

農薬の主たる暴露経路である経口(あるいはそれに準ずる十二指腸内投与)により、本検体の「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」を実施し、また、血球への直接作用に関して溶血を指標に *in vitro* 試験を実施した。

その結果、詳細な状態観察、循環器・呼吸器系、自律神経系、炭末輸送、胃液分泌、協調運動及び血液凝固への影響は、最高用量 2000 mg/kg の経口あるいは十二指腸内投与において、なんら異常は認められなかった。ヘキソバルビタール睡眠に及ぼす影響試験において、2000 mg/kg 投与群の雌マウスに有意な睡眠時間の延長が認められ、また、尿及び電解質の排泄に及ぼす影響試験において、2000 mg/kg 投与群で投与後 2 時間までの尿量が有意に減少した。しかし、ヘキソバルビタール睡眠における雌雄合算の平均睡眠時間では有意差が認められず、また、尿量は 2 時間以降の検査時期で対照群と同等となり、その他の項目に変動は認められなかった。血球への直接作用に関する試験において、最終濃度 1.0 mg/ml でわずかに溶血が認められた。

2000 mg/kg 投与群で認められたヘキソバルビタール睡眠の延長及び尿量の減少はわずかであり、1000 mg/kg 投与群では認められなかった。また、血球の溶血作用は 1.0 mg/ml においてのみ認められたが、ラットを用いた代謝試験で 1000 mg/kg の単回経口投与における検体の血中濃度(総放射活性)は $2\mu\text{g/g}$ 以下であり、溶血作用を示す濃度よりはるかに低かった。

一連の生体機能に及ぼす影響に関する試験の結果及び既に実施された急性毒性試験の結果は、本検体による急性中毒の可能性は少ないことを示していた。これらより本検体を含む製剤が散布作業に伴って暴露された場合あるいは誤って摂取された場合、本検体によって急性中毒が発現する可能性は低いものと考ええる。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2. 製剤

(1) 急性毒性

(資料 1-4)

ラットにおける急性経口毒性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 8.5 %乳剤

組成: ノバルロン 8.5 %

有機溶剤、界面活性剤 等 91.5 %

試験動物 : SD系ラット、8~12週齢、体重: 雄 200~219 g 雌 207~229 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を原液のまま経口投与した(投与容量 0.45 ml/100 g)。動物は投与前に一夜絶食させた。

試験項目 : 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに >5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	投与後 1 分から発現 投与後 5 日目に回復
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	5000

主な中毒症状としては、雌雄に関係なく立毛、円背位、あひる歩行、嗜眠、呼吸数減少及び鮮黄色尿が観察されたが、いずれも投与後 5 日目には回復した。体重推移及び剖検において検体の影響は認められなかった。

(資料 1-5)

ラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 8.5 %乳剤

組成; ノバルロン 8.5 %
有機溶剤、界面活性剤 等 91.5 %

試験動物 : SD 系ラット、8~12 週齢、体重: 雄 278~294 g 雌 233~274 g、一群雌雄各 5 匹

試験期間 : 14 日間観察

方 法 : 検体を原液のまま刈毛した背部皮膚(面積は体表の約 10 %)に均一に塗布し、処理部位(約 5 cm×5 cm)を多孔ガーゼで覆い、包帯で固定した後、不浸透性の耐水包帯で閉塞貼付した。24 時間後にガーゼを除去し温水で洗浄を行い、吸取紙で乾かした後、観察を行った。

試験項目 : 皮膚反応を含む中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は 0、7 及び 14 日目(投与当日を 0 日目として)に測定した。試験終了時に全動物について処理部位を含む肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄ともに >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	投与後 3 日目から発現 投与後 6 日目に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	2000

一般状態及び剖検において検体の影響は認められなかったが、体重増加抑制が一部の個体に認められた。処理部位の皮膚に、雌の 1 例で投与後 3~5 日目に一過性の軽度な刺激性変化が認められた。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚刺激性

(資料 2-5)

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 8.5 %乳剤

組成; ノバルロン

8.5 %

有機溶剤、界面活性剤 等

91.5 %

試験動物 : ニュージーランド白色種ウサギ、11~14 週齢、体重 2.3~3.2 kg、一群 6 匹

試験期間 : 13 日間観察

方法 : 検体の 0.5 ml を刈毛した動物の背部皮膚に適用し、ガーゼ (25×25 mm) で覆い、閉塞貼付した。貼付時間は 4 時間とし、貼付終了後に皮膚に残った検体を温水で洗い流した。

観察項目 : 貼付終了後 1 時間、24 時間、48 時間、72 時間及び 13 日までの毎日、処理部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目	最高 評点	投 与 後 時 間							
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日
紅斑・痂皮	4	0.0	1.8	1.3	1.5	1.5	0.7	0.8	0.3
浮腫	4	0.0	1.0	1.0	0.5	0.3	0.3	0.0	0.0
合計	8	0.0	2.8	2.3	2.0	1.8	1.0	0.8	0.3

項目	最高 評点	投 与 後 時 間						
		8 日	9 日	10 日	11 日	12 日	13 日	
紅斑・痂皮	4	0.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
合計	8	0.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	

表の点数: 1 時間~5 日は 6 匹の平均点。6~7 日は 4 匹の平均点。8 日は 3 匹の平均点。
9~13 日は 2 匹の平均点。

貼付後 24 時間にごく軽度の浮腫を伴う明瞭な紅斑が全例に認められた。全例とも皮膚反応は徐々に回復し、5~10 日目に消失した。

以上の結果から、本 8.5 %乳剤はウサギの皮膚に対して、中等度の刺激性があるものと考えられた。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 眼刺激性

(資料 2-2)

ウサギを用いた眼刺激性試験

試験機関：

報告書作成年：

検体の純度：8.5 %乳剤

組成；ノバルロン 8.5 %
有機溶剤、界面活性剤 等 91.5 %

試験動物：ニュージーランド白色種ウサギ、非洗眼群 3 匹

試験期間：18 日間観察

方法：検体の 0.1 ml を片側の目に投与し、洗眼しなかった。

観察項目：投与後 1 時間、1 日、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、8 日、9 日、10 日、11 日、12 日、13 日、14 日、15 日、16 日、17 日及び 18 日まで、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、OECD405 に従って採点した。刺激性の分類は EEC Directive 93/21/EEC によって行った。角膜混濁についてはフルオレセインを点眼して観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

群	項目	最高 評点	投与後時間						
			1時間	1日	2日	3日	4日	5日	
非洗眼群 3匹平均	角膜	4	1.00(2)	1.33(2)	2.00(2)	1.67(2)	1.67(2)	1.67(2)	
	虹彩	2	0.00(0)	0.33(1)	1.00(1)	1.00(1)	1.00(1)	1.00(1)	
	結膜	発赤	3	1.33(2)	2.00(2)	2.00(2)	2.00(2)	1.00(1)	1.00(1)
		浮腫	4	1.67(2)	2.67(3)	2.67(3)	2.00(2)	1.00(1)	1.00(1)
	合計		4.00	6.33	7.67	6.67	4.67	4.67	

項目	最高 評点	投与後時間					
		6日	7日	8日	9日	10日	11日
角膜	4	1.67(2)	1.67(2)	1.67(2)	1.00(1)	1.00(1)	1.00(1)
虹彩	2	0.67(1)	0.67(1)	0.67(1)	0.67(1)	0.33(1)	0.33(1)
結膜	発赤	3	0.67(1)	0.67(1)	0.67(1)	0.67(1)	0.67(1)
	浮腫	4	0.67(1)	0.67(1)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
合計		3.67	3.67	3.00	2.33	2.00	2.00

項目	最高 評点	投与後時間					
		12日	13日	14日	15日*	16日	17-18日
角膜	4	0.67(1)	0.67(1)	0.33(1)	1.00(1)	0.00(0)	0.00(0)
虹彩	2	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
結膜	発赤	3	0.33(1)	0.33(1)	0.33(1)	1.00(1)	0.00(0)
	浮腫	4	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
合計		1.00	1.00	0.67	2.00	0.00	0.00

()内は観察された変化の最大評点

*：15日以降は1匹の観察

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

全例に角膜の混濁、虹彩の充血及び結膜の発赤／浮腫が認められた。角膜の変化は投与後 12～16 日に、虹彩の変化は投与後 6～12 日に、結膜の変化は投与後 12～16 日にそれぞれ消失した。

以上の結果から、本 8.5 %乳剤はウサギの眼粘膜に対して、重度の刺激性があるものと考えられた。

(資料 2-3)

ウサギを用いた眼刺激性試験(製剤の 100 倍希釈液)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 8.5 %乳剤

組成; ノバルロン 8.5 %
有機溶剤、界面活性剤 等 91.5 %

試験動物 : ニュージーランド白色種雄ウサギ、非洗眼群 3 匹

試験期間 : 72 時間観察

方 法 : 検体を蒸留水で 100 倍に希釈した液 0.1 ml を片側の目に投与し、洗眼を行わなかった。

観察項目 : 投与後 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、OECD405、EEC Directive 92/69/EEC 及び EPA OPPTS 870.2400 に従って採点した。刺激性の分類は EEC Directive 93/21/EEC によって行った。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

群	項 目		最高 評点	投 与 後 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 3 匹平均	角 膜	混濁程度	4	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
		混濁面積	4	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
	虹 彩		2	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
	結 膜	発 赤	3	0.67(1)	0.33(1)	0.00(0)	0.00(0)
		浮 腫	4	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)	0.00(0)
	合計				0.76	0.33	0.00

()内は観察された変化の最大評点

全例とも角膜及び虹彩の刺激性変化は認められなかった。

2 例において、結膜の観察で投与後 1 時間で発赤(最大評点が 1)が認められ、1 例は投与後 24 時間に回復し、他の 1 例は投与後 2 日に回復した。

以上の結果から、本 8.5 %乳剤の希釈液(100 倍)はウサギの眼粘膜に対して、刺激性はないものと考えられた。

(3) 皮膚感作性

(資料 3-2)

モルモットを用いた皮膚感作性試験(Maximization 法)

試験機関:

報告書作成年:

検体の純度: 8.5 %乳剤

組成; ノバルロン	8.5 %
有機溶剤、界面活性剤 等	91.5 %

試験動物 : ハートレー系雄白色モルモット、約 4~7 週齢、体重 268~424 g、一群 20 匹(陽性対照群 10 匹)

試験期間 : 24 日間観察

方 法 : Maximization 法

投与量設定根拠;

感 作; 皮内感作は、検体処理群において刈毛した肩甲骨上の皮膚へ、注射用水とフロイント完全アジュバントとの等量混合エマルジョン、0.5 %検体(溶媒として注射用水)溶液及び 0.5 %検体(溶媒として、フロイント完全アジュバント:注射用水の 50:50 の混合液)溶液の 3 種類各々 0.1 ml を 2 ヶ所ずつ計 6 ヶ所に皮内投与した(皮内感作 0 日目)。陽性対照群は、陽性物質として 10 % ヘキシルシンナムアルデヒド(HCA)Alembicol D 溶液を用いて同様な方法により処理した。また、各非感作群は、各溶媒を用いて同様な方法により処理した。

経皮感作は、検体処理群において皮内感作 1 週間後に皮内感作部位を剃毛し、その部位に検体原液 0.4 ml をパッチ(20×40 mm)に塗布したものを 48 時間閉塞貼付することにより行った。陽性対照群は HCA 原液を用いて同様な方法により処理した。また、各非感作群は、各溶媒を用いて同様な方法により処理した。

惹 起; 検体処理群及び検体非感作群において、経皮感作 2 週間後に予め左側胴部を刈毛・剃毛した動物に、30 %及び 15 %検体水溶液各々 0.2 ml をパッチ(20×20 mm)に塗布したものを左側胴部へ 24 時間閉塞貼付することにより行った。陽性対照群及び陽性対照非感作群においては HCA 原液を用いて同様な方法により処理した。

試験項目 : 惹起 24 及び 48 時間後に処理部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応の評価は Maximization 法により行った。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

一般状態は試験期間中毎日観察した。体重は0及び24日目(皮内感作を0日目として)に測定した。

結果 : 各観察時間において皮膚反応が認められた動物数等を下表に示す。

群	感作濃度	惹起濃度	供試動物数	皮膚反応が認められた動物数										感作陽性率 (%)*	
				24時間					48時間					24hr	48hr
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計		
				0	1-2	3	4		0	1-2	3	4			
検体処理	皮内 0.5 %	15 %	20	15	5	0	0	5/20	19	1	0	0	1/20	25	5
	経皮 100 %	30 %	20	8	9	2	1	12/20	9	8	2	1	11/20	60	55
陽性対照	皮内 0 %	15 %	20	19	1	0	0	1/20	20	0	0	0	0/20	5	0
	経皮 0 %	30 %	20	19	1	0	0	1/20	20	0	0	0	0/20	5	0
陽性対照	皮内 10 %	50 %	9	0	9	0	0	9/9	6	2	1	0	3/9	100	33
	経皮 100 %	100 %	9	0	6	2	1	9/9	2	5	1	1	7/9	100	78
陽性対照	皮内 0 %	50 %	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
	経皮 0 %	100 %	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0

*感作陽性率(%)=皮膚反応が認められた動物数/供試動物数×100
陽性対照感作群の1例が経皮感作後に死亡

検体処理群において、20例中12例で皮膚反応(評点1~4)が認められた。一方、陽性対照群において、紅斑及び浮腫(評点1~4)が全例に認められた。

一般状態及び体重推移において、検体の影響は認められなかった。

以上の結果から、本8.5%乳剤はモルモットに対して、弱い皮膚感作性があるものと考えられた。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
A-1	ラットにおける代謝	ラット SD系	<p>標識部位： クロフェニル環標識体(Aラベル体)及び ジフルオロフェニル環標識体(Bラベル体)</p> <p>試験項目：排泄バランス 試験方法： 低用量単回経口； 2 mg/kg(A, Bラベル体) 高用量単回経口； 1000mg/kg(Aラベル体) 反復経口；14日間 2 mg/kg(Aラベル体) 尿、糞、ケージ洗液； 最終投与後 24、48、72、 96、120、144、168 時間 に採取 組織試料採取； 最終投与後 168 時間</p>	<p>Aラベルの低用量群と反復投与群では、尿への排泄(ケージ洗液を含む)は0-168時間で投与量の5.1-9.4%、糞への排泄は0-168時間で投与量の85.9-95.3%、体内残留率(168時間、消化管および内容物を除く)は1.0-4.3%であった。</p> <p>Aラベルの高用量群では尿への排泄は0-168時間で投与量の0.6%(雌雄)、糞への排泄は0-168時間で投与量の93.8-95.4%、体内残留率(168時間)は0.1%(雌雄)であった。高用量では尿への排泄および体内残留率が低用量の約10%であった。</p> <p>Bラベルの低用量群では、尿への排泄は0-168時間で投与量の19.9%、17.5%、糞への排泄は0-168時間で投与量の76.0%、79.3%、体内残留率(168時間)は0.7%、0.9%であった。尿への排泄量はAラベル低用量に比べ、3倍以上多かった。</p> <p>以上、主要排泄経路は糞であった。高用量では尿に排泄される割合が低下した。BラベルではAラベルと比較して尿への排泄量が多く、排泄速度も速かった。これは親化合物開裂後のdifluorophenyl部位とchlorophenyl部位との代謝運命の差によるものと推察された。</p>		179
			<p>試験項目：胆汁排泄 試験方法： 低用量単回経口； 2 mg/kg(A, Bラベル体) 高用量単回経口； 1000mg/kg(Aラベル体) 胆汁； 投与後3、6、12、24、48 時間に採取 尿、糞、ケージ洗液； 最終投与後 24、48 時間 に採取 カーカス等試料採取； 最終投与後 168 時間</p>	<p>Aラベル低用量群では48時間までの排泄が、尿中(ケージ洗液を含む)に投与量の1.3、1.4%、胆汁中に<1%、糞中に75.9、68.6%、カーカス中に14.3、27.4%であった。</p> <p>Aラベル高用量群では48時間までの排泄が、尿中に0.1、0.0%、胆汁中に0.1%、糞中に72.3、95.4%、カーカス中に25.3、2.51%であった。</p> <p>Bラベル低用量群では48時間までの排泄が、尿中に4.7%、胆汁中に<1%、糞中に75.1、89.6%、カーカス中に13.0、6.7%であった。</p> <p>カーカス中での高濃度の放射能は消化管に残留した糞様物質による(追加ラットにて確認)。</p> <p>尿中、胆汁中の放射能は非カニユレーションラットでの尿中放射能(0-48時間)の約1/2に低下した。</p>		
			<p>試験項目：血中キチイクス 試験方法： 低用量単回経口；</p>	<p>血液中濃度： Aラベル低用量単回投与； Tmax 5-8時間、(雌雄)</p>		

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
			2 mg/kg (A, B ラベル) 単回経口 ; 高用量単回経口 ; 1000mg/kg (A ラベル) 単回経口 ; 反復経口 ; 14 日間 2 mg/kg (A ラベル) 単回経口 ; 血液 ; 最終投与後 0, 0.5, 1, 2, 5, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168 時間に採取	Cmax 0.03 $\mu\text{g eq/g}$ (雄雌) AUC ₁₆₈ 1.08 (雄), 1.98 (雌) $\mu\text{g eq h/g}$ 高用量単回投与 ; Tmax 2 (雄), 5 (雌) 時間、 Cmax 1.96 (雄), 1.58 (雌) $\mu\text{g eq/g}$ AUC ₁₆₈ 26.8 (雄), 8.31 (雌) $\mu\text{g eq h/g}$ 反復投与 ; Tmax 5-8 (雄), 2-8 (雌) 時間 Cmax 0.08 (雄), 0.10 (雌) $\mu\text{g eq/g}$ AUC ₁₆₈ 9.52 (雄), 11.26 (雌) $\mu\text{g eq h/g}$ B ラベル低用量単回投与 ; Tmax 8 時間 (雄雌) Cmax 0.04 (雄), 0.05 (雌) $\mu\text{g eq/g}$ AUC ₁₆₈ 0.85 (雄), 0.88 (雌) $\mu\text{g eq h/g}$ なお高用量の血漿中 AUC ₁₆₈ 値は低用量の値の 90 倍 (用量比は 500 倍) の増加を示した。 また低用量単回投与と反復投与の血液および血漿の AUC ₁₆₈ 値の比較により血液細胞への蓄積が示された。		
			試験項目 : 組織分布 試験方法 : 低用量単回経口 ; 2 mg/kg (A, B ラベル) 単回経口 ; 高用量単回経口 ; 1000mg/kg (A ラベル) 単回経口 ; 反復経口 ; 14 日間 2 mg/kg (A ラベル) 単回経口 ; 各組織 ; 最終投与後 3, 5, 6.5, 8, 16, 24, 72, 時間のいずれか 2 時点と 168 時間の計 3 時点に採取	組織濃度は脂肪中で最も高く、次いで肝臓、腎臓、脾臓およびリンパ節で高濃度であった。低、高用量で用量が 500 倍増加した時組織濃度は約 50-90 倍増加した。反復投与の組織中濃度は低用量単回投与の 3 から 5 倍高かった。反復投与での脂肪中放射能減衰の半減期は雄で 52 時間、雌で 56 時間であった。B ラベル投与での肝臓および腎臓中の濃度は A ラベル低用量単回投与での 1/3-1/4 (168 時間) であった。		
			試験項目 : オートラジオグラフィ 試験方法 : 低用量単回経口 ; 2 mg/kg (A, B ラベル) 単回経口 ; 全身試料 ; 投与後 6.5, 24, 96, 168 時間に採取	A ラベル低用量群および B ラベル低用量群とも雄の最初の採取時点での結果は、組織中濃度の定量結果と一致していた。その後 168 時間後での放射能活性は雌雄とも低かった。		
			試験項目 : 代謝 試験方法 : 尿 ; 排泄ラテックス試験 - 低用量単回経口 2 mg/kg (A, B ラベル) 単回経口 - 反復経口 14 日間 2 mg/kg (A ラベル) 単回経口 ; ; 血中キチクス試験 - 高用量単回経口 1000 mg/kg (A ラベル) 単回経口	尿では未変化の親化合物は痕跡程度であった。A ラベル投与では尿に数個の代謝物が含まれており、低用量では投与量の % があるいはそれ以下、高用量では % があるいはそれ以下であった。反復投与では 1 個の未同定の代謝物が投与量の % で検出され、投与量の約 % が本化合物の chlorophenyl aniline 誘導体である代謝物 D (275-309 I) と同定された。B		

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
			糞；排泄バランス試験 -低用量単回経口 2 mg/kg(A, Bラベル体) -高用量単回経口 1000mg/kg(Aラベル体) -反復経口 14日間 2 mg/kg(Aラベル体) 胆汁；胆汁排泄試験- -低用量単回経口 2 mg/kg(A, Bラベル体) 脂肪；排泄バランス試験 -低用量単回経口 2 mg/kg(A, Bラベル体) -高用量単回経口 1000mg/kg(Aラベル体) -反復経口 14日間 2 mg/kg(Aラベル体) 肝、腎；組織分布試験 -低用量単回経口 2 mg/kg(A, Bラベル体) -高用量単回経口 1000mg/kg(Aラベル体) -反復経口 14日間 2 mg/kg(Aラベル体)	ラベル投与では尿の主要代謝物は代謝物 A [(275-158 I)]であった。 糞には顕著な代謝物は検出されず、大部分は未変化の親化合物であった。 胆汁中では未変化の親化合物および chlorophenyl aniline 誘導体の代謝物 D (275-309 I) がそれぞれ投与量の %、 %であった。 脂肪では未変化の親化合物が主要成分であった。 肝臓と腎臓では、主要成分は未変化の親化合物であった。さらに代謝物の 1 つが代謝物 D(275-309 I) と特徴付けされた。		

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
P-1	キャベツにおける代謝	キャベツ 品種 : Stone-head	<p>標識部位 : クロロフェニル環標識体 (A ラベル体)、及び、 ジフルオロフェニル環標識体 (B ラベル体)</p> <p>試験項目 : 分布・移行 及び代謝</p> <p>試験方法 : 施用 ; 施用液は製剤用乳 化剤を添加、懸濁して調 製、施用量は 50 g ai/ha/ 処理、収穫前 6 週間区で は収穫前 8、6 週間に、 また、収穫前 2 週間区で は収穫前 5、2 週間に各 区 2 回散布した。 試料採取 ; 両区とも 2 回 の各散布終了後 2-4 時間 に、また、収穫前 6 週間 区では収穫前 4、2 週間 に、収穫前 2 週間区では 収穫前 1 週間に、および、 両区とも収穫時に葉を 採取した。</p>	<p>放射性残留物のレベルは 2 回目の処 理後で 0.535-1.085 ppm、収穫時では 0.234-0.448 ppm であった。 アセトニトリルによる表面洗浄液 の放射能比は 1 回目処理後で放射性総 残留物 (TRR) の 94.8-97.7 % であった が、収穫時では 81.9-90.0 % と減少し た。外葉および内葉から抽出された放 射性物質の比率は 1 回目処理後で TRR の 2.2-5.1 % であったが、収穫時では 8.0-15.3 % と増加した。このことから 本化合物は葉に吸収されたとした。外 葉および内葉の抽出物中での放射性 物質の大部分はその後の有機溶媒で 抽出された。残りの水溶性残留物は TRR の 1.0 % (≤ 0.005 ppm) 以下であ った。またキャベツ中の抽出不能放射性 残留物のレベルは TRR の 2.8 % (≤ 0.009 ppm) 以下であった。 表面洗浄液および抽出物の放射性物 質は 95.6-99.9 % が未変化の親化合物 であり、そのレベルは 1 回目処理時の 0.484-0.834 ppm から収穫時 0.225- 0.447 ppm に減少した。</p>		212
P-2	ジャガイモにおける代謝	ジャガイモ 品種 : Maris Peer	<p>標識部位 : クロロフェニル環標識体 (A ラベル体)、及び、 ジフルオロフェニル環標識体 (B ラベル体)</p> <p>試験項目 : 分布・移行 及び代謝</p> <p>試験方法 : 施用 ; 施用液は製剤用乳 化剤を添加、懸濁して調 製、施用量は 100g ai/ha/処理、収穫前 43、 29 日に各 1 回散布した。 試料採取 ; 2 回の各散布 終了後 2-4 時間に、また、 収穫前 22、10 日および収 穫時に葉および塊茎を 採取した。</p>	<p>放射性残留物のレベルは、葉中 では、第 2 回処理後で 4.81-6.96 ppm、 収穫前 10 日で 0.79-2.17 ppm、収穫時 では葉が枯れており 5.89-9.87 ppm で あった。塊茎では、収穫前 10 日およ び収穫時で極めて低い放射性残留物 レベル (< 0.01 ppm) であった。 アセトニトリル葉表面洗浄液の放 射能比は、第 1 回目処理後で放射性総 残留物 (TRR) の 93.8-95.9 % であ ったが、収穫時では TRR の 80.5-83.3 % に 減少した。葉から抽出された放射性物 質の比率は第 1 回目処理後で TRR の 3.9-6.0 % であったが、収穫時では TRR の 15.5-18.7 % に増加した。従って本 化合物は葉に吸収されたとした。葉の 抽出物中の放射性物質の大部分は有 機溶媒可溶抽出物であった。残存水性 残留物は TRR の 0.6 % (≤ 0.049 ppm) 以 下であった。葉中の抽出不能放射性残 留物のレベルは TRR の 1.2 % (≤ 0.119 ppm) 以下であった。 葉表面洗浄液および有機溶媒可溶 抽出物中の未変化の親化合物の比率 は 96.4-99.6 % であり、そのレベルは 第 1 回目処理後 1.522-2.152 ppm から、 収穫前 10 日 0.772-2.093 ppm と減少 したが、収穫時には葉が枯れたことに</p>		223

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
				より 5.707-9.573 ppm と増加した。		
P-3	りんごにおける代謝	りんご 品種： ゴーンテン デリシヤス	<p>標識部位： クロフェニル環標識体(Aラベル体)、及び、 ジフルオロフェニル環標識体(Bラベル体)</p> <p>試験項目：分布・移行及び代謝</p> <p>試験方法： 施用；施用液は製剤用乳化剤を添加、懸濁して調製、施用量は2.5 mg ai/処理/樹、2回処理区では収穫前110、90日に、3回処理区では収穫前110、90、60日に各1回散布した。 試料採取；両区とも2または3回の各散布終了後約2時間に、また、収穫前60、30日または30日のみ、および収穫時に果実および葉を採取した。また一部袋かけをして防護試料を得た。</p>	<p>処理直後の果実中の残留量は0.1-0.2 ppmであったが、収穫時では3回処理(最終処理後60日)で0.03-0.04 ppmに減少した。同様に処理直後の葉中の残留量は2-9 ppmであったが、最終収穫時では3回処理で0.9-2.9 ppmに減少した。</p> <p>果実表面洗浄液中の放射能比は最終処理直後で放射性総残留物(TRR)の70-95%であったが収穫時には47-57%に減少した。抽出物は最終処理直後で5-29%検出されたが収穫時には41-50%に増加した。抽出可能放射能の大部分は皮で回収されたことから本化合物は果肉には極低レベルが認められ、皮に徐々に移行すると考えられた。抽出不能放射能は収穫時で3-5%であった。</p> <p>葉表面洗浄液中の放射能比は、最終処理直後で85-98%、収穫時で72-82%であった。抽出物は逆に最終処理直後で2-15%、収穫時で18-26%であった。抽出不能放射能は放射性総残留物の3%以下であった。</p> <p>防護試料の果実では顕著な放射能は検出されなかった。また葉には僅かに0.04-0.05 ppmが検出された。</p> <p>表面洗浄液および抽出物での主要成分は未変化の親化合物であり、果実でTRRの88.9%以上および葉で92.6%以上であった。</p>		231
S-1	土壌中における代謝	Arrow 土壌(砂壤土)	<p>標識部位： クロフェニル環標識体(Aラベル体)、及び、 ジフルオロフェニル環標識体(Bラベル体)</p> <p>試験項目：好気条件下の代謝動態</p> <p>試験方法： 施用；アセトニトリル/水(15/85, v/v)に溶解し、0.13 ppm、5.0 ppm(乾土重当たり)で土壌表面に1回処理し土壌と混和した。 試料採取；処理直後、処理後1、3、7、14、30、59、90、120 および181日インキュベーション後に試料の土壌を採取した。 試験温度；20℃</p>	<p>DT₅₀およびDT₉₀値はそれぞれ9.9日および181日以上であった。</p> <p>[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンは施用後30日で25.4%ARまで分解した。一方、抽出残渣が14日以降10%ARを超えたがいずれの時期にもフミンがその65%以上を占めていた。主要代謝物は代謝物C [(275-352 I)]であり、7日後に%AR、120日後に%ARとなった。本代謝物のDT₅₀値は23.7日であった。また、代謝物D [(275-309 I)]が約%ARあった。これらは二酸化炭素へと無機化されると考えられた。</p> <p>[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンは施用後14日で62.9%ARに減少した。抽出残渣は10%ARを超えなかった。主要代謝物は二酸化炭素で、最大で26.5%ARを示した。他に代謝物A</p>		242

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
				[(275-158 I)]が同定された。		
S-2	土壌中における代謝	Evesham3 土壌 (粘土土壌) Wick 土壌 (砂壌土) Malham 土壌 (シルト質堆積土)	標識部位： クロロフェニル環標識体 (A ラベル体) 試験項目：好気条件下の代謝動態 試験方法： 施用；アセトニトリル/水 (15/85 v/v) に溶解し、0.13 ppm (乾土重当たり) で土壌表面に1回処理し土壌と混和した。 試料採取；処理直後、処理後 1、3、7、14、30、59、90 および 120 日インキュベーション後に2試料の土壌を採取した。	20℃での DT ₅₀ は 5-12 日であった。分解はその後減速して続き、59 日で 80% 以上分解した。90% 消失時間は 120 日より大きかった。 10℃での DT ₅₀ は 20 日であり、20℃で認められた期間の約 2 倍であった。 主要代謝物は代謝物 C { (275-352 I)} と特徴づけられた。 この代謝物は 20℃で7日後に %AR のピークに達した。この代謝物の DT ₅₀ 値は 20℃で 46-64 日であり、10℃では 110 日であった。 他にマイナーな分解物が検出されたが、10%AR を超える分解物は検出されなかった。このうちの1つは代謝物 D [(275-309 I)] と特徴づけられた。		255
PC-7	加水分解試験	緩衝液 (pH 5、7、9)	標識部位： クロロフェニル環標識体 (A ラベル体)、及び、ジフルオロフェニル環標識体 (B ラベル体) 試験項目：加水分解速度および代謝 試験方法： 標識体を緩衝液 (pH 5、7、9) に添加し、一定温度 (25、50、70℃) で暗所に 0-30 日間保持した。	pH9 においてのみ十分な分解がみられ、25、50、70℃における推定半減期はそれぞれ 101、1.2、0.09 日であり、20℃における外挿推定半減期は 217 日であった。 薄層クロマトグラフィー分析の結果 8 個の分解物が認められた。このうち、代謝物 A [(275-158 I)]、代謝物 B [(275-157 I)]、代謝物 C { (275-352 I)}、代謝物 D [(275-309 I)] の 4 つがコクロマトグラフィーで確認された。		268
PC-8-1	水中光分解試験	蒸留水 自然水	試験項目：水中光分解速度 試験方法： 試験水はノバルロン 1.99 μg/1 溶液 (アセトニトリル 0.2% 中) とし、温度約 25℃ でキセノンランプの光を照射し、照射直前、照射後 1、2、3、4、7 日に試料を採取した。また、遮光区を設けた。	ノバルロンの残存率は7日後で蒸留水 56.4%、自然水 76.5% であり、半減期はそれぞれ 7.5 日および 15.1 日 (東京春期太陽光換算：蒸留水 4.4 日、自然水 8.8 日) と推定された。 遮光区のノバルロン残存率は7日後で蒸留水 102.4%、自然水 93.2% であったことから、ノバルロンの主な分解は光によると考えられた。 また、分解生成物の確認は本条件ではできなかった。		273
PC-8-2	水中光分解試験	滅菌緩衝液 (pH 5)	標識部位： クロロフェニル環標識体 (A ラベル体)、及び、ジフルオロフェニル環標識体 (B ラベル体)	半減期 (DT ₅₀) は、太陽光換算日数で 139 日であった。 生成物の一部はクロロフェニル及びジフルオロフェニル環の両方を含有了が、その他はクロロフェニル環		277

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
			<p>試験項目：水中光分解速度及び生成物</p> <p>試験方法： 試験水はノバルロン 1.5 μg/l 溶液 (アセトニトリル<math>1\%</math>中)とし、温度 25℃でキセノンランプの光を照射し、試料添加直後、1、2、3、5、10、15 日に試料を採取した。また、暗所対照区を設けた。</p>	<p>又はジフルオロフェニル環のいずれか一方のみを含有する開裂した生成物で、これら生成物の多くは、処理放射能量の %以下であったが、1つは最高で %を示し、代謝物 B ()と同一とされた。</p> <p>また、極めて少量の揮発性放射能が生成した(処理量の 2.6%、太陽光換算日数で 67 日間暴露後)。</p>		
PC-8-3	水中光分解試験	自然水	<p>標識部位： クロロフェニル環標識体 (A ラベル体)、及び、 ジフルオロフェニル環標識体 (B ラベル体)</p> <p>試験項目：水中光分解速度及び生成物</p> <p>試験方法： 試験水はノバルロン 1.5 μg/l 滅菌自然水溶液 (アセトニトリル<math>0.2\%</math>中)とし、温度 25℃でキセノンランプの光を照射し、試料添加直後、1、2、3、4、5、7 日に試料を採取した。また、暗所対照区を設けた。</p>	<p>半減期 (DT_{50}) は 31.3 日 (東京春期太陽光換算) であった。</p> <p>多数の少量光分解物が生成した。1 種類はクロロフェニル環及びジフルオロフェニル環の両方を含有しており、他の少量分解物は、クロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれか一方のみの含有であった。照射試料において、これらの分解物の濃度は一般に低かった (回収された放射能の %以下)。回収された放射能の最大 %を占めていたジフルオロフェニル環のみを含有する分解物は代謝物 B ()と同一とされた。ノバルロンは暗所対照容器中でも分解 (加水分解) し、7 日目では、回収放射能の 73 %を占めていた。</p>		285
PC-6	土壌吸着試験	砂丘未熟土 (砂土) 灰色低地土 (軽埴土) 淡色黒ぼろ土 (壤土) 灰色低地土 (軽埴土)	<p>試験項目：土壌に関する土壌吸着係数</p> <p>試験方法： 土壌:水層 (1:25) にノバルロン溶液 1.5 μl を加えて 0.003 mg/l の濃度とし、25℃、100 rpm で 16 時間振とう後遠心分離して上澄を試料とする。</p>	<p>ノバルロンの水溶解度が小さいため、予備試験において、すべての土壌試験系水層からノバルロンを検出・測定することができなかった。</p>		293
PC-10	生物濃縮性	ブルーギル	<p>試験項目： 生物濃縮性</p> <p>試験方法： ^{14}C 標識体を水に添加、連続流水式で 35 日間暴露。 低濃度区 0.05 μg/L 高濃度区 0.5 μg/L</p>	<p>低濃度区の平均濃縮係数 BCF_{ss}; 14216 倍、BCF_k; 17518 倍 高濃度区の平均濃縮係数 BCF_{ss}; 14645 倍、BCF_k; 16408 倍 全魚体中に蓄積された放射能は排泄期間 (42 日) 中に急速に消失し、排泄 42 日までに取込期間終了時点で全魚体中に存在していた蓄積放射能の 90 % (低濃度区) および 92 % (高濃度区) が消失した。</p>		295

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

<代謝物一覧表>

記号	名称	由来	化学名	構造式
P	ハルロン	親化合物	<p>1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア</p> <p><1-[3-chloro-4-(1,1,2-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea></p>	
A	275-158 I			
B	275-157 I			
C	275-352 I			
D	275-309 I			

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

<未同定代謝物一覧表>

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

<未同定代謝物一覧表>

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

標識化合物の合成法 (標識部位は*あるいは#の片方)

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

1. ^{14}C 標識ノバルロンを用いたラット体内における代謝試験

(資料 A-1)

試験機関：

報告書作成年

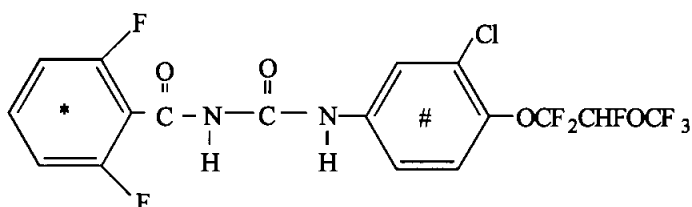
供試標識化合物：

供試化合物名；

クロロフェニール- ^{14}C (U) 標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニール- ^{14}C (U) 標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位；



#：[Chlorophenyl- ^{14}C (U)]ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニール環を ^{14}C でユニフォーム標識)

*：[Difluorophenyl- ^{14}C (U)]ノバルロンの標識部位(B ラベル；ジフルオロフェニール環を ^{14}C でユニフォーム標識)

	クロロフェニール- ^{14}C (U) 標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニール- ^{14}C (U) 標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

供試動物：Sprague-Dawley CD系ラット，1群雌雄各4または5匹

各試験項目に使用したラットの週齢と体重を表1に示す。

表1 ラット週齢および体重

試験項目		ラット週齢 (入荷時)	ラット体重(g) (入荷時)	ラット体重(g) (投与時)
単回投与 Aラベル Bラベル	排泄バランス 血液/血漿キネティクス 組織分布 全身オートラジオグラ フィー	約5 - 7	約180 - 200	約200 - 270
14日反復投与 Aラベル	排泄バランス 血液/血漿キネティクス 組織分布	約5 - 7	約160 - 180	約190 - 300
単回投与 Aラベル Bラベル	胆汁排泄	約7 - 9	約230 - 250	約210 - 280

飼育環境；入手後から屠殺時まで飼料および水を自由に摂取させ，下記環境に飼育した。

馴化期間；6日以上

温度；19℃から25℃

湿度；40%から70%

照明；12時間の明暗サイクル

ケージ；試験項目ごとに下記の飼育ケージおよび飼育状態で飼育した。

馴化期間；網床型ステンレス製ケージで群飼育

排泄バランス試験および胆汁排泄試験；ガラス製代謝ケージで，投与直後から屠殺まで個体別に飼育

キネティクス試験，組織分布試験および全身オートラジオグラフィ；網床型ステンレス製ケージで群飼育

方法：

1) 投与用量

用量； 2 mg/kg および 1000 mg/kg

用量設定根拠；ラットの慢性毒性試験の無毒性量(25ppm：雄 1.1mg/kg、雌 1.4mg/kg)を参考に低用量を2mg/kgとし、高用量は最大量 1000mg/kgとした。

投与方法：

単回経口強制投与；2 mg/kg および 1000 mg/kg

14日間反復投与；2 mg/kg

投与液の調製：

[¹⁴C]ノバルロンを非放射性ノバルロン()で放射能希釈し，1% (w/v) メチルセルローズ水溶液に均一に懸濁して投与液とした。

投与液の放射化学的純度はAラベルで %，Bラベルで %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エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 試験群；試験群の構成を表 2 に示す。

表 2 試験群の構成

試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与 回数	群数	群構成	採取試料および 採取時点(時間)	屠殺時間 (時間)
排泄/バ ランス	A ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4	尿, 糞, ケージ洗液; 最終投与後 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 組織; 最終投与後 168	168
		1000	単回	1	♂4, ♀4		
		2	14 日 反復	1	♂4, ♀4		
	B ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4		
胆汁排泄	A ラベル	2	単回	1	♂5*, ♀4	胆汁; 最終投与後 3, 6, 12, 24, 48 尿, 糞, ケージ洗液; 最 最終投与後 24, 48 カーカス, 皮膚; 最終投 与後 48	48
		1000	単回	1	♂4, ♀4		
	B ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4		
血液/血漿 キネティ クス	A ラベル	2	単回	3	♂4, ♀4	血液; 最終投与後 0, 0.5, 1, 2, 5, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168 尿; 最終投与後 168 1000 mg/kg の 1 群のみ	168
		1000	単回	3	♂4, ♀4		
		2	14 日 反復	3	♂4, ♀4		
	B ラベル	2	単回	3	♂4, ♀4		
組織分布	A ラベル	2	単回	3	♂4, ♀4	最終投与後 6.5, 24, 168**	6.5, 24, 168**
		1000	単回	3	♂4, ♀4	最終投与後 3, 24, 168**	3, 24, 168**
		2	14 日 反復	3	♂4, ♀4	最終投与後 5, 72, 168**	5, 72, 168**
	B ラベル	2	単回	3	♂4, ♀4	最終投与後 8, 16, 168**	8, 16, 168**
全身オー トラジ オ グラフィ ー	A ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4	ラット; 最終投与後 6.5, 24, 96, 168	6.5, 24, 96, 168
	B ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4		

*追加に 1 匹追加。

**排泄/バランス試験の動物を使用。

3) 吸収・排泄

3-1) 排泄バランス試験

採取試料および採取時点：表 2

尿・糞・ケージ洗液；全ての試験群で投与(最終投与)後, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 時間で採取

組織；全ての試験群で投与(最終投与)後 168 時間で採取

採取方法：代謝ケージで個体別飼育して各試料をプールし, 採取した。

尿・糞；代謝ケージで個体別飼育にて採取

ケージ洗液；144 時間までの採取時点では尿・糞採取後ケージを蒸留水で洗浄し 洗液を採取した。168 時間ではアセトニトリルで洗浄し, 洗液を採取した。

3-2) 胆汁排泄試験

採取試料および採取時点：表 2

胆汁；投与(最終投与)後, 3, 6, 12, 24, 48 時間で採取

尿・糞・ケージ洗液；全ての試験群で投与(最終投与)後, 24, 48 時間で採取

カーカス・皮膚；全ての試験群で投与(最終投与)後 48 時間で採取

採取方法：胆管カニューレションラットを代謝ケージで個体別飼育して各試料をプールし, 採取した。

胆汁；カニューレから採取。消失胆汁の補充としてタウロコール酸ナトリウム/塩化ナトリウム溶液を十二指腸または胃(追加動物のみ)に輸液した。

尿・糞；代謝ケージで個体別飼育にて採取

ケージ洗液；24 時間の採取時点では尿・糞採取後ケージを蒸留水で洗浄し 洗液を採取した。48 時間ではアセトニトリルで洗浄し, 洗液を採取した。

3-3) 血液/血漿キネティクス試験

採取試料および採取時点：表 2

血液；投与(最終投与)後, 0, 0.5, 1, 2, 5, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 168 時間で採取

採取時点の詳細；

試験群 1；0, 2, 24, 96 時間

試験群 2；0.5, 5, 48, 120 時間

試験群 3；1, 8, 72, 168 時間

採取方法：網床型ステンレスケージで群飼育し, 尾静脈から血液約 0.5 mL を採取した。

調査項目： C_{max} , T_{max} および薬物濃度曲線下面積(AUC)

4) 分布

4-1) 組織分布

採取時点：表 2

採取試料：下記組織および臓器を採取した。

副腎	心臓	カーカス
骨(大腿)	腎臓	皮膚
骨髄(大腿)	肝臓	脾臓
脳	肺	胸骨

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

精巣上体(副睾丸)	リンパ節	顎下腺
眼	筋(骨格筋)	精巣(雄)
脂肪(腎臓周囲, 皮下および腸間膜)	卵巣(雌)	胸腺
消化管と内容物	膵臓	甲状腺と上皮小体
		子宮(雌)

採取方法：試験群 3 群のうち、2 群は組織分布試験用動物として網床型ステンレスケージで群飼育し、他の一群は排泄バランス試験の動物を使用した為、ガラス製代謝ケージで飼育した。屠殺後、解剖して採取。

4-2) 全身オートラジオグラフィー

採取時点：表 2； 6.5, 24, 96, 168 時間

採取試料：ラット個体を採取した。

採取方法：網床型ステンレスケージで群飼育し、各時点で二酸化炭素で窒息死させて採取した。

5) 分析法

各試料の放射能は下記の方法で測定した。

5-1) 尿・ケージ洗液および胆汁

- ・試料の一部を直接液体シンチレーション計数法(LSC)で測定した。

5-2) 糞

- ・水で均一化し、均一化物を自動燃焼装置で酸化燃焼した後 LSC で測定した。
- ・一部糞試料(初期時点)はアセトニトリルで抽出し、抽出液と残渣に分けた後、抽出液は直接 LSC で測定、また残渣は自動燃焼装置で酸化燃焼した後 LSC で測定した。

5-3) 組織

- ・骨、カーカス、皮膚および血液以外の組織および臓器は全量を直接または水で均一化し、その一部を組織溶解剤で可溶化したのち、LSC 測定した。
- ・骨は乾燥後、砕粉し、蟻酸で脱カルシウム化後、LSC 測定した。
- ・カーカスは水で均一化後、組織溶解剤または水酸化ナトリウムメタノール溶液/水混液で可溶化したのち、LSC 測定した。
- ・皮膚は水酸化ナトリウムメタノール溶液/水混液で可溶化したのち、LSC 測定した。
- ・血液は組織溶解剤で可溶化したのち、LSC 測定した。また別に遠心分離して血漿を採取し、血漿試料は直接 LSC 測定した。

5-4) 全身オートラジオグラフィー

- ・ラット動物を凍結後、頭尾方向の切片標本を作成、X線フィルムに露出後、現像し、オートラジオグラフを調製した。視覚調査により放射能測定した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

6) 代謝

6-1) 尿

6-1-1) 試料採取

採取試料および採取時間を表 3 に示す。

表 3 尿採取試料

試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与 回数	群数	群構成	採取時間
排泄バランス	A ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4	0 - 168 時間
血液/血漿キネティクス	A ラベル	1000	単回	1	♂4, ♀4	0 - 168 時間
排泄バランス	A ラベル	2	14 日 反復	1	♂4, ♀4	1 日後
						5 日後
						10 日後
						最終投与後 0 - 5 日
排泄バランス	B ラベル	2	単回	1	♂3, ♀4	0 - 168 時間
					♂1	0 - 168 時間

6-1-2) 分析方法

6-1-2-1) A ラベル試験の試料

・尿を直接放射能フロー検出器付き HPLC で分析した。放射能は HPLC 溶出液を分画し、LSC で測定した。

6-1-2-2) B ラベル試験の試料

- ・尿を pH2 に調整後、放射能フロー検出器付き HPLC で分析した。
- ・pH5 に調整後、 β -グルクロニダーゼで酵素加水分解後、HPLC で分析した。
- ・放射能は HPLC クロマトグラムを直接検出・定量した。

6-2) 糞

6-2-1) 糞試料採取

採取試料および採取時間を表 4 に示す。

表 4 糞採取試料

試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与 回数	群数	群構成 (匹数)	採取時間 (時間)
排泄バランス	A ラベル	2	単回	1	♂4	0-24, 24-48, 48-72 72-96, 96-120
					♀4	0-24, 24-48, 48-72 72-96, 144-163
	A ラベル	1000	単回	1	♂4 ♀4	0-24, 24-48, 48-72 72-96
	A ラベル	2	14 日 反復	1	♂4, ♀4	初回投与後 24
						5 回目投与後 24
						10 回目投与後 24
						14 回目投与後 0-48 14 回目投与後 48-168
B ラベル	2	単回	1	♂3, ♀4	0 - 168	
				♂1	0 - 168	

6-2-2) 分析法

6-2-2-1) A ラベル単回投与試験

5%以上の放射エネルギーの糞採取試料は、試料をアセトニトリルで抽出し、抽出液を合わせ、濃縮した。濃縮抽出液を酢酸エチルとジクロロメタンで分配再抽出した。抽出液を濃縮し、HPLC および/または TLC で分析した。1-5%の放射エネルギーの糞はプール試料を合わせアセトニトリルで抽出し濃縮した。濃縮抽出液を酢酸エチルで分配再抽出後、同様に HPLC 分析した。

6-2-2-2) A ラベル反復投与試験および B ラベル単回投与試験

アセトニトリルで抽出し、濃縮抽出液を HPLC および/または TLC で分析した。

6-3) 胆汁

6-3-1) 採取試料および時点

表 5 に示す。

表 5 胆汁採取試料

試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与 回数	群数	群構成	採取時点 (時間)
胆汁排泄	A ラベル	2	単回	1	♂5*, ♀4	0-48
	B ラベル	2	単回	1	♂4, ♀4	

6-3-2) 分析法

試料を直接 HPLC および/または TLC で分析した。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

6-4) 脂肪

6-4-1) 採取試料および時点

表 6 に示す。

表 6 脂肪採取試料

試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与 回数	性別	採取時点 (時間)
排泄パ ランス	A ラベル	2	単回	♂, ♀	168 時間後の屠殺時
		1000	単回		
		2	14 日反復		
	B ラベル	2	単回		

6-4-2) 分析法

採取試料の一部を合わせ、アセトニトリルで抽出し、抽出液をヘキサンで液々分配した。アセトニトリルの濃縮液を HPLC および/または TLC で分析した。

6-5) 肝臓および腎臓

6-5-1) 採取試料および時点

表 7 に示す。

表 7 肝臓および腎臓採取試料

試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与 回数	性別	採取時点 (時間)
組織分布	A ラベル	2	単回	♂, ♀	投与後 24 時間での屠殺時
		1000	単回		最終投与後 72 時間での屠殺時
		2	14 日反復		
	B ラベル	2	単回		投与後 16 時間での屠殺時

6-5-2) 分析方法

採取試料の一部を合わせ、アセトニトリルで抽出し、アセトニトリルの濃縮液を HPLC で分析した。さらに肝臓試料では抽出残渣を酸性にした後、アセトニトリルで抽出し、アセトニトリルの濃縮液を HPLC で分析した。

6-6) 代謝物の特徴付け/同定

HPLC および TLC による合成代謝物標品とのコクロマトグラフィーで特徴付け/同定した。

結果：

1) 吸収・排泄

① 血中濃度推移

血中濃度推移の結果を表 8 および図 1-2 に示す。

血液中濃度は、A ラベル低用量単回投与で 5-8 時間に、高用量単回投与では 2(雄), 5(雌)時間に、低用量反復投与では 2-8 時間に最高濃度(C_{max})に達した。B ラベル低用量単回投与では 8 時間に最高濃度(C_{max})に達した。その後単回投与での放射能活性は 168 時間には全ての試料で検出されなかったが、反復投与では全ての時間で検出された。

血漿中濃度は、A ラベル低用量単回投与で 5-8 時間に、高用量単回投与では 2-5 時間に、低用量反復投与では 2-8 時間に最高濃度(C_{max})に達した。B ラベル低用量単回投与では 8 時間に最高濃度(C_{max})に達した。その後単回投与での放射能活性は 96 時間以降の全ての試料で検出されなかったが、反復投与雄では全ての時間でまた雌では 120 時間まで検出された。

血液での薬物濃度時間曲線下面積(AUC_{168})は、雄雌ラットにおいて A ラベル低用量単回投与で 1.08, 1.98, 高用量単回投与で 26.8, 8.3, 低用量反復投与で 9.5, 11.3 $\mu\text{g equiv. h/g}$ であった。また B ラベル単回投与では 0.85, 0.88 $\mu\text{g equiv. h/g}$ であった。血漿での AUC_{168} は A ラベル低用量単回投与で 0.80, 0.58, 高用量単回投与で 70.0, 51.4, 低用量反復投与で 3.7, 2.8 $\mu\text{g equiv. h/g}$ であった。また B ラベル単回投与では 0.81, 0.92 $\mu\text{g equiv. h/g}$ であった。

以上のことから、高用量投与では投与量の低吸収が血液/血漿キネティクスデータにより確認された。高および低用量を投与されたラットの血漿キネティクスデータの比較では、用量レベルの 500 倍増加で、 AUC_{168} 値は 90 倍の増加を示した。14 日間反復投与では血漿の AUC_{168} 値が単回投与より 5 倍増加していることに見られるように、多少の放射能蓄積があった。血液および血漿の AUC_{168} 値の比較により、低用量で単回あるいは反復投与後の血液細胞への蓄積が示された。

表 8-1 血液中濃度 ($\mu\text{g eq/g}$) の推移

標識体 用量	Aラベル						Bラベル	
	2 mg/kg 単回投与		1000 mg/kg 単回投与		2 mg/kg 反復投与		2 mg/kg 単回投与	
達成濃度 (mg/kg)	2.14	2.15	1029	1027	1.90	1.91	2.01	2.01
達成濃度 (kBq/kg)	2219	2224	11096	11084	1848	1854	2138	2141
投与後時間 (hr)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
0	nd	nd	nd	nd	0.07	0.10	nd	nd
0.5	nd	nd	0.60	0.88	0.07	0.07	nd	nd
1	nd	nd	1.03	1.35	0.08	0.09	0.00	0.02
2	0.02	0.01	1.96	1.06	0.07	0.10	0.02	0.03
5	0.03	0.03	1.89	1.58	0.08	0.09	0.04	0.04
8	0.03	0.03	1.70	nd	0.08	0.10	0.04	0.05
24	0.02	0.03	nd	0.48	0.07	0.10	0.01	0.01
48	0.01	0.02	nd	nd	0.06	0.07	nd	nd
72	nd	0.01	0.73	nd	0.06	0.07	nd	0.00
96	nd	0.01	nd	0.43	0.05	0.07	nd	nd
120	0.00	nd	nd	nd	0.05	0.05	nd	nd
168	nd	nd	nd	nd	0.04	0.04	nd	nd
AUC	1.08	1.98	26.8	8.31	9.52	11.26	0.85	0.88
C_{\max}	0.03	0.03	1.96	1.58	0.08	0.10	0.04	0.05
T_{\max}	5-8	5-8	2	5	5-8	2-8	8	8
$T_{1/2}$	25	47	29	31	173	120	8	7

nd: バックグラウンド範囲内 AUC: $\mu\text{g eq h/g}$ C_{\max} : $\mu\text{g eq/g}$
 T_{\max} : hr $T_{1/2}$: hr (申請者による計算)

表 8-2 血漿中濃度 ($\mu\text{g eq/g}$) の推移

標識体 用量	Aラベル						Bラベル	
	2 mg/kg 単回投与		1000 mg/kg 単回投与		2 mg/kg 反復投与		2 mg/kg 単回投与	
達成濃度 (mg/kg)	2.14	2.15	1029	1027	1.90	1.91	2.01	2.01
達成濃度 (kBq/kg)	2219	2224	11096	11084	1848	1854	2138	2141
投与後時間 (hr)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
0	nd	nd	nd	nd	0.03	0.03	nd	nd
0.5	nd	nd	1.07	1.67	0.03	0.02	nd	nd
1	nd	0.00	2.01	1.74	0.04	0.03	0.00	0.01
2	0.02	0.02	3.01	1.86	0.04	0.04	0.02	0.03
5	0.04	0.03	2.81	1.86	0.05	0.03	0.04	0.04
8	0.04	0.03	2.64	1.54	0.05	0.03	0.04	0.05
24	0.02	0.01	1.42	1.27	0.03	0.03	0.01	0.01
48	nd	nd	nd	nd	0.03	0.02	nd	nd
72	nd	nd	1.22	nd	0.02	0.02	nd	0.00
96	nd	nd	nd	0.61	0.01	0.01	nd	nd
120	nd	nd	nd	nd	0.01	0.01	nd	nd
168	nd	nd	nd	nd	0.01	nd	nd	nd
AUC	0.80	0.58	69.97	51.43	3.73	2.78	0.81	0.92
C_{\max}	0.04	0.03	3.01	1.86	0.05	0.04	0.04	0.05
T_{\max}	5-8	5-8	2	2-5	5-8	2	8	8
$T_{1/2}$	16	10	20	40	65	62	8	7

nd: バックグラウンド範囲内 AUC: $\mu\text{g eq h/g}$ C_{\max} : $\mu\text{g eq/g}$
 T_{\max} : hr $T_{1/2}$: hr (申請者による計算)

図 1 血液中濃度推移

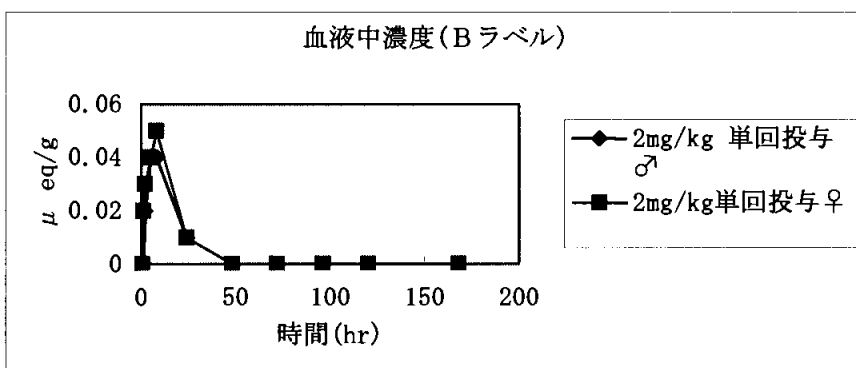
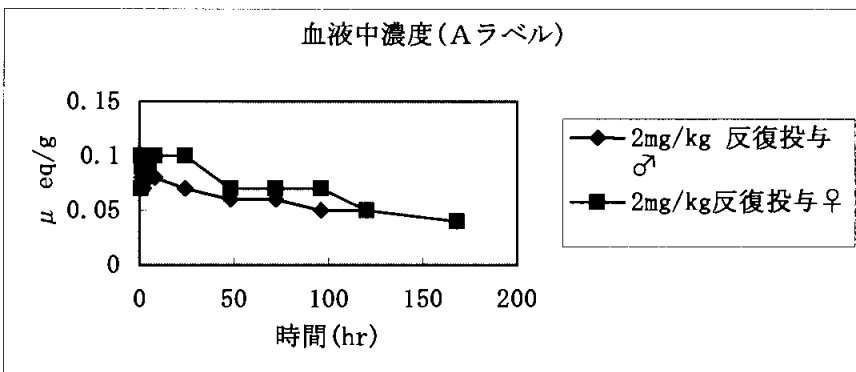
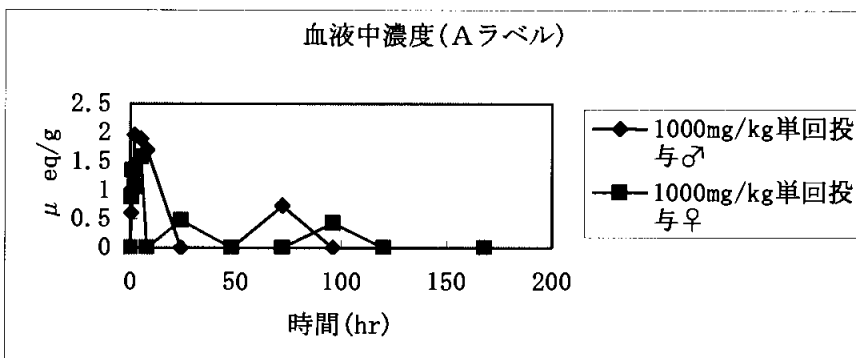
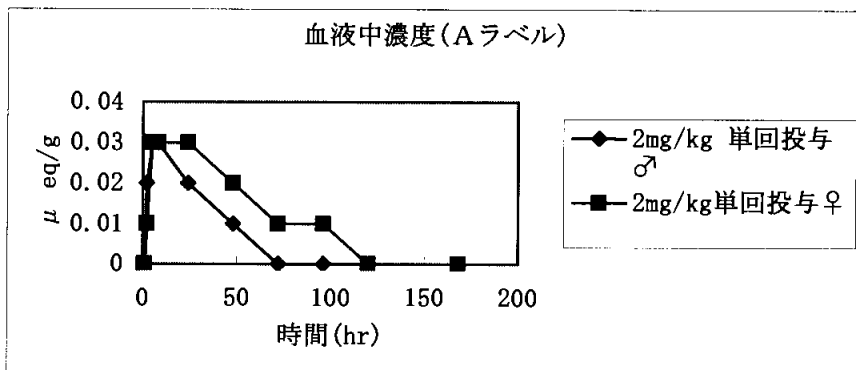
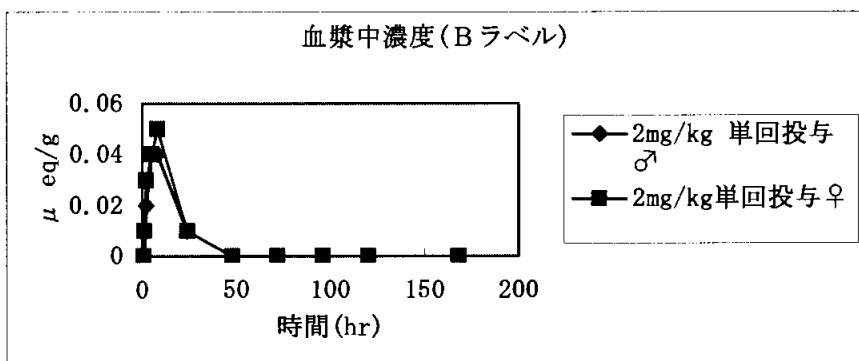
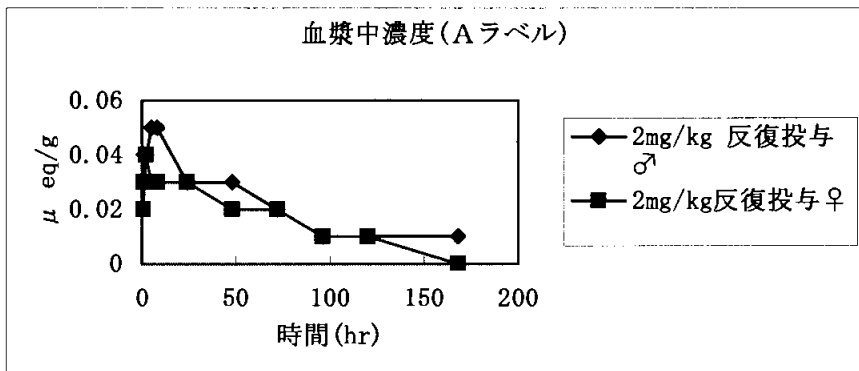
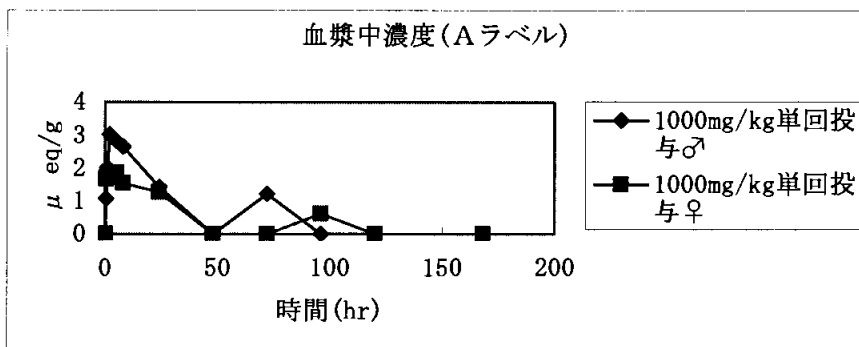
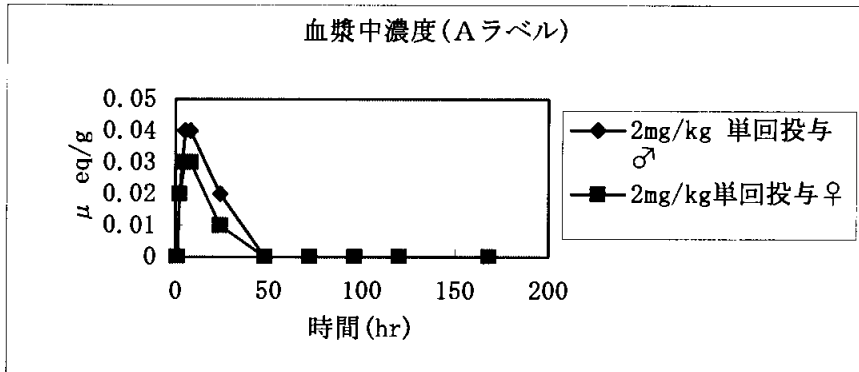


図2 血漿中濃度推移



② 排泄

結果を表 9-1, 9-2 および 9-3 に示す。

すべての非カニューレションラットに投与された¹⁴Cはほぼ定量的に回収され 94.4-102 %であった。

A ラベルの低用量単回投与群と反復投与群では排泄パターンに大きな差はなく、ケージ洗液を含む尿への排泄は 0-168 時間で投与量の 5.1-9.4 %であり、糞への排泄は 0-168 時間で投与量の 85.9-95.3 %であった。糞への排泄の大部分は 0-48 時間でみられ、投与量の 81.8-90.3 %であった。また 168 時間後の体内残留率(消化管および内容物を除く)は 1.0-4.3 %であった。A ラベルの高用量群ではケージ洗液を含む尿への排泄は 0-168 時間で投与量の 0.6 % (雌雄)であり、糞への排泄は 0-168 時間で投与量の 93.8-95.4 %であった。糞への排泄の大部分は 0-48 時間でみられ、投与量の 83.7-90.2 %であった。また 168 時間後の体内残留率は 0.1 %, 0.1 %であった。低用量群と比較すると、尿への排泄および体内残留率に顕著な差がみられ、低用量の約 10 %であった。

B ラベルの低用量単回投与群では、ケージ洗液を含む尿への排泄は 0-168 時間で投与量の 19.9 %, 17.5 %であり、糞への排泄は 0-168 時間で投与量の 76.0 %, 79.3 %であった。糞への排泄の大部分は 0-48 時間でみられ、投与量の 68.1 %, 72.5 %であった。また 168 時間後の体内残留率は 0.7 %, 0.9 %であった。尿への排泄量は A ラベル低用量に比べ、3 倍以上多かった。

以上のことから、経口投与後の放射能の主要排泄経路は糞への排泄であった。尿への排泄は低用量群と高用量群間であるいは標識部位間で、大きな差がみられた。高用量では尿に排泄される割合が低下した。また B ラベルでは A ラベルと比較すると、その排泄される量および速度はかなり多くまた速かった。これはノバルロン開裂後の difluorophenyl 部位と chlorophenyl 部位との代謝運命の差によるものと推察された。

なお、吸収率については胆汁排泄試験から推定するところであるが、胆汁排泄試験では尿への排泄量が少なく、胆汁排泄試験から吸収率を計算するのは不相当と考え、本排泄試験の尿+ケージ洗液および組織での結果から、吸収率は低用量で約 20%AD と推定した。

表 9-1 168 時間後における排泄バランス (投与量に対する%)

標識体	A ラベル						B ラベル	
	2 mg/kg (単回投与)		1000 mg/kg (単回投与)		2 mg/kg (反復投与)		2 mg/kg (単回投与)	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿+ケージ洗液	5.1	5.1	0.6	0.6	6.4	9.4	19.9	17.5
糞	94.3	95.3	93.8	95.4	90.2	85.9	76.0	79.3
GIT	0.1	0.2	<0.1	<0.1	0.3	0.5	0.1	0.1
組織	1.0	1.4	0.1	0.1	3.1	4.3	0.7	0.9

GIT 消化管とその内容物

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 9-2 排泄バランス (投与量に対する%)

標識体 用量	Aラベル						Bラベル		
	2 mg/kg 単回投与		1000 mg/kg 単回投与		2 mg/kg 反復投与		2 mg/kg 単回投与		
達成濃度 (mg/kg/day)	2.04	2.05	1042.42	1052	1.90	1.89	1.98	1.91	
達成濃度 (kBq/kg/day)	2113	2130	2214	2233	1850	1840	1975	1900	
投与後時間 (hr)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
尿	0 - 24	1.40	1.24	0.20	0.18	1.60	2.19	4.88	5.07
	24 - 48	1.16	0.99	0.11	0.08	1.17	1.79	4.35	3.83
	48 - 72	0.89	0.82	0.09	0.08	0.92	1.36	4.06	2.78
	72 - 96	0.60	0.60	0.06	0.05	0.71	1.13	2.70	1.89
	96 - 120	0.34	0.42	0.05	0.04	0.56	0.82	1.15	1.08
	120 - 144	0.23	0.31	0.03	0.03	0.44	0.66	0.61	0.63
	144 - 168	0.14	0.23	0.02	0.02	0.34	0.55	0.28	0.41
計	4.75	4.62	0.56	0.49	5.73	8.49	18.0	15.7	
糞	0 - 24	80.9	74.2	64.3	72.7	83.4	75.2	56.0	52.8
	24 - 48	9.42	13.6	19.4	17.5	3.03	6.61	12.1	19.7
	48 - 72	1.92	4.86	8.48	4.22	1.08	1.34	3.71	5.57
	72 - 96	1.04	1.51	1.34	0.75	0.97	0.92	3.34	0.72
	96 - 120	0.56	0.37	0.13	0.12	0.70	0.66	0.50	0.30
	120 - 144	0.31	0.37	0.06	0.04	0.55	0.65	0.24	0.14
	144 - 168	0.21	0.36	0.02	0.03	0.50	0.52	0.10	0.09
計	94.3	95.3	93.8	95.4	90.2	85.9	76.0	79.3	
ケージ洗液	0 - 24	0.12	0.11	0.01	0.01	0.14	0.25	0.56	0.42
	24 - 48	0.08	0.13	0.01	0.01	0.13	0.16	0.41	0.72
	48 - 72	0.07	0.11	nd	0.01	0.09	0.13	0.42	0.27
	72 - 96	0.04	0.06	0.00	0.02	0.09	0.10	0.23	0.15
	96 - 120	0.02	0.03	0.01	nd	0.07	0.10	0.19	0.10
	120 - 144	0.01	0.03	nd	0.01	0.04	0.07	0.03	0.02
	144 - 168	0.03	0.01	0.01	nd	0.07	0.06	0.08	0.10
計	0.37	0.46	0.03	0.06	0.63	0.86	1.92	1.79	
組織	1.10	1.56	0.07	0.12	3.44	4.78	0.70	1.03	
総計	101	102	94.4	95.9	100	100	96.7	97.8	

nd: バックグラウンド範囲内 投与量の0.005%以下の値は0.00%として表示

表 9-3 累積投与放射能排泄率 (投与量に対する%)

標識体 用量	Aラベル						Bラベル		
	2 mg/kg 単回投与		1000 mg/kg 単回投与		2 mg/kg 反復投与		2 mg/kg 単回投与		
達成濃度 (mg/kg/day)	2.04	2.05	1042.42	1052	1.90	1.89	1.98	1.91	
達成濃度 (kBq/kg/day)	2113	2130	2214	2233	1850	1840	1975	1900	
投与後時間 (hr)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
尿+ケージ	0 - 168	5.12	5.08	0.59	0.55	6.36	9.35	19.92	17.49
洗液	0 - 48	2.76	2.47	0.33	0.28	3.04	4.39	10.20	10.04
糞	0 - 48	90.32	87.8	83.7	90.2	86.43	81.81	68.1	72.5

③ 胆汁排泄

結果を表 10-1 および 10-2 に示す。

カニュレーションラットに投与された¹⁴C はほぼ定量的に尿，ケージ洗液，胆汁，皮膚およびカーカスから回収され 92.3-102 %であった。

A ラベル低用量群では 48 時間で排泄された放射能(投与量に対する%)はケージ洗液を含む尿中に 1.3, 1.4 %, 胆汁中<1 %, 糞中に 75.9, 68.6 %およびカーカス中に 14.3, 27.4 %であった。

A ラベル高用量群では 48 時間で排泄された放射能はケージ洗液を含む尿中に 0.1, 0.0 %, 胆汁中に 0.1 %, 糞中に 72.3, 95.4 %およびカーカス中に 25.3, 2.51 %であった。

B ラベル低用量群では 48 時間で排泄された放射能はケージ洗液を含む尿中に 4.7 %, 胆汁中<1 %, 糞中に 75.1, 89.6 %およびカーカス中に 13.0, 6.7 %であった。

カーカス中での高濃度の放射能回収率は，消化管に残留した未吸収の糞様物質の残存による可能性が高かった(A ラベル低用量で追加雄ラットに投与して確認)。

以上のことから，尿および胆汁中に排泄された放射能の回収率は非カニュレーションラットでの尿の回収率(0-48 時間)の約 1/2 に低下した。また非カニュレーションラットでの結果と同様に高用量群では低用量群より極めて低い回収であり，低い吸収率を示した。さらに A ラベルと B ラベルを比較すると B ラベルでの尿および胆汁中での排泄量は A ラベルでの量の 2.3 倍から 2.5 倍であった。

表 10-1 48 時間後における胆汁排泄(投与量に対する%)

標識体	A ラベル				B ラベル	
	2 mg/kg		1000 mg/kg		2 mg/kg	
用量	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿+ケージ洗液	1.3	1.4	0.1	<0.1	4.7	4.7
胆汁	0.9	0.9	0.1	0.1	0.4	1.0
糞	75.9	68.6	72.3	95.4	75.1	89.6
カーカス，消化管 および内容物を含む	14.3	27.4	25.3	2.5	13.0	6.7

表10-2 胆汁排泄(投与量にたいする%)

標識体 用量	Aラベル				Bラベル	
	2 mg/kg 単回投与		1000 mg/kg 単回投与		2 mg/kg 単回投与	
達成濃度(mg/kg/day)	2.03	2.09	995	1052	1.96	1.83
達成濃度(kBq/kg/day)	1827	1879	1900	2128	1870	1748
投与後時間(hr)	♂	♀	♂	♀	♂	♀
尿						
0 - 24	0.38	0.26	0.02	0.02	1.49	2.49
24 - 48	0.66	0.19	0.01	0.01	1.27	1.49
計	1.04	0.45	0.03	0.03	2.76	3.99
糞						
0 - 24	39.2	59.3	68.3	87.3	54.8	76.4
24 - 48	36.7	12.5	5.40	6.76	20.3	13.1
計	75.9	68.6	72.3	95.4	75.1	89.6
ケージ洗液						
0 - 24	0.07	0.82	0.02	nd	1.69	0.48
24 - 48	0.17	0.10	nd	nd	0.27	0.23
計	0.24	0.92	0.02	0	1.96	0.71
胆汁						
0 - 3	0.02	0.02	0.01	0.01	0.04	0.06
3 - 6	0.08	0.06	0.01	0.01	0.04	0.10
6 - 12	0.16	0.13	0.02	0.01	0.09	0.20
12 - 24	0.22	0.27	0.02	0.02	0.12	0.27
24 - 48	0.43	0.45	0.02	0.03	0.15	0.34
計	0.92	0.93	0.08	0.08	0.44	0.97
皮膚	0.48	0.45	nd	nd	0.94	0.88
カーカス	13.8	27.0	25.3	2.51	12.1	5.78
計	14.3	27.4	25.3	2.51	13.0	6.66
総計	92.3	98.3	97.7	98.1	93.3	102

nd: バックグラウンド範囲内 投与量の0.005%以下の値は0.00%として表示

2) 組織分布

結果を表 11-1 から表 11-4 および図 3 に示した。下表に投与 168 時間後に採取したラット組織の主要な組織についてまとめた。脂肪中の濃度は 3 試料の分析値(腸間膜, 腎周辺および皮下)の平均として計算した。またすべての試験群において雌ラット組織中における放射能濃度は雄ラット組織中における放射能濃度よりも僅かに高い傾向があつた。

168 時間での組織中放射能濃度(μg eq/g 組織)

標識体 用量	Aラベル				Bラベル			
	2 mg/kg (単回投与)		1000 mg/kg (単回投与)		2 mg/kg (反復投与)		2 mg/kg (単回投与)	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓	0.08	0.10	4.8	4.8	0.23	0.29	0.03	0.03
腎臓	0.05	0.06	2.5	2.8	0.14	0.16	0.01	0.02
脾臓	0.03	0.04	1.7	3.6	0.12	0.14	0.02	0.03
副腎	0.05	0.13	1.2	8.1	0.24	0.38	0.05	0.05
リンパ節	0.05	0.07	4.3	6.6	0.24	0.22	0.04	0.07
脂肪	0.13	0.24	11	23	0.47	0.67	0.10	0.19
全血	<0.01	0.01	nd	nd	0.03	0.05	nd	nd
血漿	nd	nd	nd	nd	nd	<0.01	nd	nd

nd 検出せず,

A ラベル低用量単回投与では投与後 6.5, 24, 168 時間で組織分布調査を実施した。A ラベル高用量単回投与では投与後 3, 24, 168 時間で組織分布調査を実施した。

低用量または高用量投与後の動物において、高用量投与後の脂肪中の放射能濃度は低用量動物の濃度の 80 倍から 100 倍多かった(用量での 500 倍増加と比較して)。高用量投与後の肝臓、腎臓、膵臓、副腎およびリンパ節の濃度は約 50 から 90 倍に増加していた。

A ラベル低用量反復投与では最終投与後、5, 72, 168 時間で組織分布調査を実施した。組織中の放射能の蓄積は A ラベル低用量 14 日間反復投与した動物の組織中放射能濃度のデータから明らかであった。最終投与後の脂肪中濃度は単回投与した動物の濃度の約 3 倍であった。肝臓、腎臓、膵臓、副腎およびリンパ節の濃度は約 3 から 4 倍に増加していた。組織中放射能濃度は時間の経過とともに減少し、72 時間後で約 1/2, 168 時間後では約 10% となった。脂肪中の放射能濃度は単回投与後および反復最終投与後に同速度で減少した。

この結果から求めた脂肪中放射能の半減期は雄で 52 時間、雌で 56 時間であった。

B ラベル低用量単回投与では投与後 8, 16, 168 時間で組織分布調査を実施した。

肝臓および腎臓中の放射能濃度は A ラベル単回投与後の動物でみられた濃度のそれぞれ約 1/3 と 1/4 であった。脂肪、膵臓、副腎およびリンパ節での濃度は A ラベル投与後のラットでの濃度とほぼ同じであった。

全身オートラジオグラフィーでは、A ラベル低用量群および B ラベル低用量群とも雄の最初の採取時点での結果は、組織中濃度の定量結果と一致していた。その後 168 時間後での放射能活性は雌雄とも低かった。

以上のことから、組織濃度は脂肪中で最も高く、次いで肝臓、腎臓、膵臓およびリンパ節で高濃度であった。低用量と高用量での組織濃度を比較すると、用量が 500 倍増加すると組織濃度は約 50 倍から 90 倍増加した。また低用量単回投与と反復投与を比較すると、反復投与での組織中濃度は 3 倍から 5 倍高かった。反復投与での脂肪中放射能減衰の半減期は雄で 52 時間、雌で 56 時間であった。肝臓および腎臓中の濃度は標識体間で差があり、B ラベル投与での組織濃度は、A ラベル投与と比較して 3-4 倍低かった。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-1-1 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン2mg/kg単回投与後の組織中の放射能濃度(μg eq/g組織)

標識体	Aラベル 2mg/kg単回投与						
	採取時間	6.5	24	168	6.5	24	168
達成濃度(mg/kg)	2.21	2.09	2.04	2.16	2.24	2.05	
達成濃度(kBq/kg)	2281	2163	2113	2226	2312	2130	
採取試料		♂			♀		
肝臓	0.52	0.36	0.08	0.48	0.24	0.10	
腎臓	0.20	0.13	0.05	0.21	0.14	0.06	
脾臓	0.08	0.04	0.00	0.10	0.04	0.01	
膵臓	0.27	0.17	0.03	0.28	0.22	0.04	
肺	0.16	0.10	0.02	0.19	0.09	0.03	
脳	0.07	0.03	nd	0.07	0.02	0.00	
心臓	0.12	0.06	0.01	0.15	0.06	0.03	
胸腺	0.10	0.05	nd	0.13	0.06	0.01	
顎下腺	0.16	0.11	nd	0.20	0.12	nd	
精巣上体(雄)	0.17	0.25	0.06	—	—	—	
精巣(雄)	0.05	0.03	0.01	—	—	—	
子宮(雌)	—	—	—	0.13	0.13	0.02	
卵巣(雌)	—	—	—	0.31	0.29	0.09	
副腎	0.62	0.46	0.05	0.67	0.46	0.13	
眼	0.03	0.02	0.00	0.04	0.02	0.00	
リンパ節(腸間膜)	0.25	0.46	0.05	0.52	0.50	0.07	
甲状腺	0.22	0.11	nd	0.27	0.16	0.01	
骨髄	0.08	0.02	nd	0.06	nd	nd	
骨(大腿)	0.14	nd	0.11	nd	nd	0.02	
胸骨	0.15	0.09	0.01	0.19	0.10	0.02	
筋	0.07	0.04	0.00	0.08	0.03	0.00	
脂肪(腸間膜)	0.63	0.98	0.12	0.97	1.15	0.22	
脂肪(腎臓周囲)	0.43	0.89	0.17	0.63	0.90	0.32	
脂肪(皮下)	0.40	0.67	0.11	0.49	0.65	0.19	
皮膚	0.13	0.12	0.02	0.15	0.12	0.03	
カーカス	0.11	0.09	0.02	0.12	0.09	0.02	
消化管(+内容物)	25.9	3.23	0.02	26.7	1.72	0.03	
血液	0.03	0.02	0.00	0.03	0.02	0.01	
血漿	0.04	0.02	nd	0.03	0.01	nd	

nd: バックグラウンド範囲内

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-1-2 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン2mg/kg単回投与後の組織内分布(投与量に対する%)

標識体	Aラベル 2mg/kg単回投与						
	採取時間	6.5	24	168	6.5	24	168
達成濃度(mg/kg)		2.21	2.09	2.04	2.16	2.24	2.05
達成濃度(kBq/kg)		2281	2163	2113	2226	2312	2130
採取試料		♂			♀		
肝臓	1.01	0.81	0.19	0.87	0.48	0.22	
腎臓	0.08	0.06	0.02	0.08	0.06	0.03	
脾臓	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	
膵臓	0.04	0.03	0.00	0.05	0.04	0.01	
肺	0.04	0.03	0.01	0.05	0.02	0.01	
脳	0.02	0.01	nd	0.02	0.01	0.00	
心臓	0.03	0.01	0.00	0.03	0.01	0.01	
胸腺	0.01	0.01	nd	0.02	0.01	0.00	
顎下腺	0.01	0.01	nd	0.02	0.01	nd	
精巣上体(雄)	0.01	0.02	0.01	—	—	—	
精巣(雄)	0.02	0.02	0.01	—	—	—	
子宮(雌)	—	—	—	0.02	0.01	0.00	
卵巣(雌)	—	—	—	0.01	0.01	0.00	
副腎	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	
眼	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
リンパ節(腸間膜)	0.01	0.02	0.00	0.02	0.02	0.00	
甲状腺	0.00	0.00	nd	0.00	0.00	0.00	
骨髄	0.00	0.00	nd	0.00	nd	nd	
骨(大腿)	0.00	nd	0.01	nd	nd	0.00	
胸骨	0.01	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00	
筋	0.02	0.01	0.00	0.03	0.01	0.00	
脂肪(腸間膜)	0.15	0.23	0.04	0.24	0.34	0.05	
脂肪(腎臓周囲)	0.07	0.24	0.03	0.14	0.19	0.07	
脂肪(皮下)	0.11	0.28	0.05	0.16	0.28	0.07	
皮膚	1.15	1.16	0.18	1.33	0.93	0.28	
カーカス	2.54	2.34	0.44	2.84	2.24	0.62	
消化管(+内容物)	90.7	16.0	0.11	88.5	6.54	0.18	
計	96.0	21.3	1.10	94.5	11.2	1.56	

nd: バックグラウンド範囲内

投与量の0.005%未満の値は0.00%として表示

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-2-1 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン1000mg/kg単回投与後の組織中の放射能濃度(μg eq/g組織)

標識体	Aラベル 1000mg/kg単回投与					
	3	24	168	3	24	168
採取時間	3	24	168	3	24	168
達成濃度(mg/kg)	1040	1035	1042	1027	1048	1052
達成濃度(kBq/kg)	2242	2231	2214	2215	2260	2233
採取試料	♂			♀		
肝臓	23.6	41.8	4.76	22.0	26.8	4.82
腎臓	18.6	5.23	2.49	25.8	4.88	2.75
脾臓	13.2	nd	nd	24.8	nd	nd
膵臓	13.8	6.55	1.74	21.1	9.76	3.60
肺	11.1	4.57	0.76	8.96	4.53	0.99
脳	0.83	nd	nd	2.42	nd	nd
心臓	6.46	0.64	nd	6.95	nd	0.88
胸腺	2.18	nd	nd	1.46	nd	nd
顎下腺	5.80	2.65	nd	6.47	nd	1.27
精巣上体(雄)	4.28	10.0	5.4	—	—	—
精巣(雄)	nd	nd	nd	—	—	—
子宮(雌)	—	—	—	0.94	nd	nd
卵巣(雌)	—	—	—	9.44	11.5	7.17
副腎	20.3	17.1	1.21	20.9	21.2	8.13
眼	1.12	nd	nd	3.39	0.29	nd
リンパ節(腸間膜)	11.4	12.3	4.28	14.1	10.8	6.58
甲状腺	nd	nd	nd	5.48	nd	nd
骨髄	nd	nd	nd	nd	nd	nd
骨(大腿)	nd	nd	nd	nd	nd	nd
胸骨	1.11	1.14	0.13	1.46	1.18	0.51
筋	nd	1.63	nd	1.64	1.63	nd
脂肪(腸間膜)	14.4	28.2	9.92	19.7	40.2	21.4
脂肪(腎臓周囲)	11.1	33.8	13.3	11.1	35.3	28.4
脂肪(皮下)	7.77	26.8	10.7	7.83	22.1	18.1
皮膚	3.73	4.33	0.79	3.06	4.20	2.63
カーカス	0.69	2.83	nd	0.92	1.98	nd
消化管(+内容物)	11732	162	1.51	12036	198	1.63
血液	nd	nd	nd	nd	nd	nd
血漿	1.86	nd	nd	nd	nd	nd

nd: バックグラウンド範囲内

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-2-2 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン1000mg/kg単回投与後の組織内分布(投与量に対する%)

標識体	Aラベル 1000mg/kg単回投与						
	採取時間	3	24	168	3	24	168
達成濃度(mg/kg)		1040	1035	1042	1027	1048	1052
達成濃度(kBq/kg)		2242	2231	2214	2215	2260	2233
採取試料		♂			♀		
肝臓	0.10	0.20	0.02	0.09	0.11	0.02	
腎臓	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	
脾臓	0.00	nd	nd	0.01	nd	nd	
膵臓	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	
肺	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
脳	0.00	nd	nd	0.00	nd	nd	
心臓	0.00	0.00	nd	0.00	nd	0.00	
胸腺	0.00	nd	nd	0.00	nd	nd	
顎下腺	0.00	0.00	nd	0.00	nd	0.00	
精巣上体(雄)	0.00	0.00	0.00	—	—	—	
精巣(雄)	nd	nd	nd	—	—	—	
子宮(雌)	—	—	—	0.00	nd	nd	
卵巣(雌)	—	—	—	0.00	0.00	0.00	
副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
眼	0.00	nd	nd	0.00	0.00	nd	
リンパ節(腸間膜)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
甲状腺	nd	nd	nd	0.00	nd	nd	
骨髄	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
骨(大腿)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	
胸骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
筋	nd	0.00	nd	0.00	0.00	nd	
脂肪(腸間膜)	0.01	0.01	0.00	0.01	0.02	0.01	
脂肪(腎臓周囲)	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	
脂肪(皮下)	0.00	0.02	0.01	0.00	0.02	0.01	
皮膚	0.07	0.08	0.01	0.05	0.07	0.04	
カーカス	0.04	0.14	nd	0.05	0.10	nd	
消化管(+内容物)	95.2	1.57	0.02	85.6	1.60	0.02	
計	95.4	2.05	0.07	85.9	1.95	0.12	

nd: バックグラウンド範囲内

投与量の0.005%未満の値は0.00%として表示

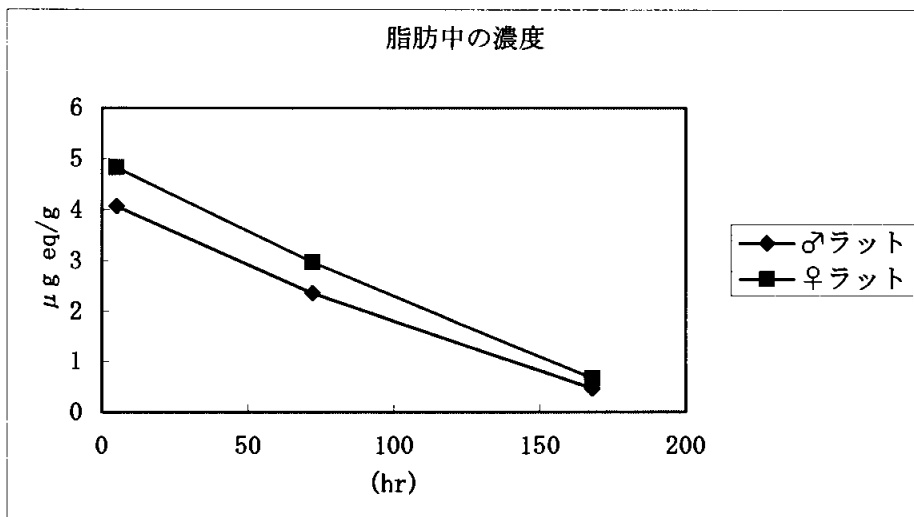
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-3-1 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン2mg/kg反復投与後の組織中の放射能濃度(μg eq/g組織)

標識体	Aラベル 2mg/kg反復投与						
	採取時間		5		72		168
達成濃度(mg/kg/day)	2.03	2.02	1.90	2.03	2.03	1.89	
達成濃度(kBq/kg/day)	1968	1966	1850	1976	1968	1840	
採取試料	♂			♀			
肝臓	1.68	0.91	0.23	1.66	0.91	0.29	
腎臓	0.84	0.44	0.14	0.84	0.48	0.16	
脾臓	0.30	0.13	0.04	0.30	0.20	0.04	
膵臓	1.42	0.75	0.12	1.44	0.97	0.14	
肺	0.69	0.27	0.08	0.59	0.36	0.13	
脳	0.22	0.07	0.02	0.26	0.10	0.03	
心臓	0.41	0.18	0.06	0.47	0.22	0.11	
胸腺	0.38	0.18	0.04	0.50	0.31	0.06	
顎下腺	0.55	0.32	0.04	0.64	0.46	0.07	
精巣上体(雄)	1.00	0.60	0.18	—	—	—	
精巣(雄)	0.24	0.15	0.03	—	—	—	
子宮(雌)	—	—	—	0.68	1.70	0.12	
卵巣(雌)	—	—	—	1.75	1.21	0.34	
副腎	1.61	0.82	0.24	2.10	1.05	0.38	
眼	0.11	0.04	0.01	0.12	0.06	0.02	
リンパ節(腸間膜)	1.96	1.07	0.24	2.04	1.30	0.22	
甲状腺	0.67	0.27	0.07	0.75	1.42	0.12	
骨髄	0.25	0.11	0.01	0.28	0.22	0.01	
骨(大腿)	0.06	0.02	nd	0.04	0.02	nd	
胸骨	0.46	0.17	0.04	0.53	0.32	0.10	
筋	0.22	0.09	0.02	0.20	0.44	0.03	
脂肪(腸間膜)	4.63	1.98	0.41	4.97	3.09	0.70	
脂肪(腎臓周囲)	4.71	3.39	0.65	5.78	3.84	0.84	
脂肪(皮下)	2.86	1.70	0.36	3.74	1.99	0.47	
皮膚	0.45	0.27	0.05	0.57	0.42	0.10	
カーカス	0.50	0.25	0.06	0.52	0.39	0.09	
消化管(+内容物)	34.8	0.45	0.07	32.4	0.70	0.10	
血液	0.10	0.07	0.03	0.13	0.10	0.05	
血漿	0.07	0.03	nd	0.06	0.03	0.00	
脂肪平均値	4.07	2.36	0.47	4.83	2.97	0.67	

nd: バックグラウンド範囲内

図3 Aラベル低用量反復投与後の脂肪中濃度の推移(μg eq/g)



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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-3-2 [Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン2mg/kg反復投与後の組織内分布(投与量に対する%)

標識体	Aラベル 2mg/kg反復投与						
	採取時間	5	72	168	5	72	168
達成濃度(mg/kg/day)		2.03	2.02	1.90	2.03	2.03	1.89
達成濃度(kBq/kg/day)		1968	1966	1850	1976	1968	1840
採取試料		♂			♀		
肝臓		0.27	0.15	0.05	0.25	0.14	0.06
腎臓		0.03	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01
脾臓		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
膵臓		0.02	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00
肺		0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
脳		0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
心臓		0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
胸腺		0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
顎下腺		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精巣上体(雄)		0.00	0.01	0.00	—	—	—
精巣(雄)		0.01	0.01	0.00	—	—	—
子宮(雌)		—	—	—	0.01	0.01	0.00
卵巣(雌)		—	—	—	0.00	0.00	0.00
副腎		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
眼		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
リンパ節(腸間膜)		0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
甲状腺		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨髄		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨(大腿)		0.00	0.00	nd	0.00	0.00	nd
胸骨		0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
筋		0.01	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00
脂肪(腸間膜)		0.11	0.03	0.01	0.11	0.07	0.02
脂肪(腎臓周囲)		0.08	0.07	0.01	0.15	0.09	0.02
脂肪(皮下)		0.08	0.05	0.01	0.10	0.04	0.01
皮膚		0.37	0.22	0.05	0.41	0.30	0.08
カーカス		1.10	0.57	0.17	1.10	0.85	0.21
消化管(+内容物)		9.52	0.13	0.03	9.10	0.21	0.04
計		11.6	1.28	0.35	11.3	1.79	0.44

nd: バックグラウンド範囲内

投与量の0.005%未満の値は0.00%として表示

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表11-4-1 [Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン2mg/kg単回投与後の組織中の放射能濃度
($\mu\text{g eq/g}$ 組織)

標識体	Bラベル 2mg/kg単回投与						
	採取時間	8	16	168	8	16	168
達成濃度 (mg/kg)		1.98	1.99	1.98	1.98	1.93	1.91
達成濃度 (kBq/kg)		2021	2030	1975	2017	1969	1900
採取試料		♂			♀		
肝臓	0.33	0.11	0.03	0.29	0.10	0.03	
腎臓	0.25	0.09	0.01	0.24	0.09	0.02	
脾臓	0.12	0.04	nd	0.12	0.06	nd	
膵臓	0.35	0.14	0.02	0.29	0.17	0.03	
肺	0.21	0.08	0.00	0.20	0.07	0.01	
脳	0.10	0.04	nd	0.10	0.03	0.00	
心臓	0.15	0.05	0.00	0.16	0.06	0.01	
胸腺	0.12	0.05	nd	0.13	0.07	0.02	
顎下腺	0.21	0.09	0.00	0.18	0.10	0.02	
精巣上体(雄)	0.26	0.21	0.09	—	—	—	
精巣(雄)	0.09	0.04	0.00	—	—	—	
子宮(雌)	—	—	—	0.14	0.09	0.05	
卵巣(雌)	—	—	—	0.31	0.19	0.08	
副腎	0.61	0.38	0.05	0.63	0.29	0.05	
眼	0.07	0.03	0.00	0.07	0.03	0.00	
リンパ節(腸間膜)	0.43	0.28	0.04	0.53	0.35	0.07	
甲状腺	0.31	0.23	nd	0.28	0.17	nd	
骨髄	0.13	0.03	nd	0.14	0.02	nd	
骨(大腿)	0.01	nd	nd	nd	nd	nd	
胸骨	0.20	0.09	0.01	0.20	0.11	0.02	
筋	0.13	0.10	0.00	0.14	0.04	0.01	
脂肪(腸間膜)	0.90	0.68	0.08	0.95	0.75	0.18	
脂肪(腎臓周囲)	0.89	0.79	0.10	0.73	0.70	0.19	
脂肪(皮下)	0.70	0.62	0.12	0.52	0.56	0.19	
皮膚	0.25	0.13	0.02	0.24	0.16	0.02	
カーカス	0.15	0.10	0.01	0.14	0.11	0.02	
消化管(+内容物)	18.7	1.70	0.01	19.9	1.43	0.02	
血液	0.05	0.02	nd	0.06	0.02	nd	
血漿	0.05	0.02	nd	0.06	0.02	nd	

nd: バックグラウンド範囲内

表11-4-2 [Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン2mg/kg単回投与後の組織内分布
(投与量に対する%)

標識体	Bラベル 2mg/kg単回投与					
	8	16	168	8	16	168
採取時間	8	16	168	8	16	168
達成濃度(mg/kg)	1.98	1.99	1.98	1.98	1.93	1.91
達成濃度(kBq/kg)	2021	2030	1975	2017	1969	1900
採取試料	♂			♀		
肝臓	0.66	0.29	0.07	0.54	0.24	0.07
腎臓	0.11	0.05	0.01	0.10	0.05	0.01
脾臓	0.02	0.01	nd	0.01	0.01	nd
膵臓	0.07	0.03	0	0.07	0.04	0.01
肺	0.05	0.03	0.00	0.06	0.02	0.00
脳	0.04	0.01	nd	0.04	0.01	0.00
心臓	0.04	0.01	0.00	0.03	0.01	0.00
胸腺	0.02	0.01	nd	0.02	0.01	0.00
顎下腺	0.02	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00
精巣上体(雄)	0.02	0.02	0.01	—	—	—
精巣(雄)	0.04	0.02	0.00	—	—	—
子宮(雌)	—	—	—	0.01	0.01	0.01
卵巣(雌)	—	—	—	0.01	0.01	0.00
副腎	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
眼	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
リンパ節(腸間膜)	0.02	0.01	0.00	0.03	0.02	0.00
甲状腺	0.00	0.00	nd	0.00	0.00	nd
骨髄	0.00	0.00	nd	0.00	0.00	nd
骨(大腿)	0.00	nd	nd	nd	nd	nd
胸骨	0.03	0.01	0.00	0.04	0.02	0.00
筋	0.05	0.04	0.00	0.07	0.02	0.00
脂肪(腸間膜)	0.19	0.17	0.02	0.21	0.27	0.04
脂肪(腎臓周囲)	0.14	0.14	0.01	0.18	0.23	0.03
脂肪(皮下)	0.23	0.27	0.02	0.14	0.23	0.04
皮膚	2.45	1.39	0.18	2.33	1.58	0.20
カーカス	3.61	2.58	0.33	3.74	3.11	0.52
消化管(+内容物)	75.3	9.68	0.05	74.4	6.06	0.10
計	83.1	14.8	0.70	82.0	11.94	1.03

nd: バックグラウンド範囲内

投与量の0.005%未満の値は0.00%として表示

投与量の0.005%未満の値は0.00%として表示

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

3) 代謝

尿，糞，胆汁，脂肪，肝臓および腎臓中の放射能成分について調査した。その結果下表の代謝物等が同定または特徴付けされた。

試料	同定代謝物等
尿	ノバルロン，代謝物 D(275-309 I)，代謝物 A(275-158 I)，代謝物 C(275-352 I)，代謝物 B(275-157 I)
糞	ノバルロン，代謝物 D(275-309 I)，代謝物 C(275-352 I)
胆汁	ノバルロン，代謝物 D(275-309 I)，代謝物 A(275-158 I)，代謝物 C(275-352 I)，代謝物 B(275-157 I)
脂肪	ノバルロン
肝臓	ノバルロン，代謝物 D(275-309 I)，代謝物 C(275-352 I)
腎臓	ノバルロン，代謝物 D(275-309 I)，代謝物 A(275-158 I)，代謝物 C(275-352 I)，代謝物 B(275-157 I)

① 尿中代謝物

・A ラベル投与後の尿中代謝物を HPLC でノバルロンを含む少なくとも の放射性成分を分離した。主な成分を表 12-1 に投与量の%として示した。

表 12-1 A ラベル投与後の尿中主要放射能成分 (投与量の%)

用量	単回 2 mg/kg		単回 1000 mg/kg		反復(14日間)2 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
性						

低用量投与後の尿(投与量の 4.8%，4.6%)では，検出された成分は投与量の %以下であり，ノバルロンは 0.1%以下であった。高用量投与後の尿(投与量 0.56%，0.49%)では，すべての成分は投与量の %以下であり，ノバルロンは 0.1%以下であった。低用量反復最終投与後の尿(投与量の 5.7%と 8.5%)では雌雄とも同じ成分が検出された。検出された成分は投与量の %以下であり，ノバルロンは 0.3%以下であった。

12 成分が未同定であり，1 成分 がクロマトグラフィーにより代謝物 D(275-309 I)であった。

表 12-2 B ラベル投与後の尿中主要放射能成分 (投与量の%)

用量	2 mg/kg					
性	雄			雌		
処理	無処理	対照	酵素	無処理	対照	酵素

nd: 検出せず

尿放射能 (投与量の 18.0% - 15.7%) のうち大部分の放射能は成分 FPU-3 (投与量の %) であり [代謝物 A (275-158 I)] であると特徴付けた。成分が同定できなかった。

② 糞中代謝物

表 13-1 A ラベル標識体での糞中放射能成分分布 (%投与量)

用量	2 mg/kg				1000 mg/kg				反復 (14 日間) 2 mg/kg			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
採取期間	0-48h	48h-	0-48h	48h-	0-48h	48h-	0-48h	48h-	0-48h	48-168h	0-48h	48-168h

nd: 検出せず

代謝物パターンは A ラベル投与後の雄および雌のラット糞抽出物で同じであった。ノバルロンの量は単回投与で投与量の約 87-90% であり、反復投与では投与量の約 73-77% であった。未知代謝物が 48 時間以降の試料で検出されたが、量は少なかった。他は投与量の 1.2% 以下であった。B ラベル投与後の糞抽出物では ノバルロンのみが成分として認められた (投与量の 77-80%)。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 13-2 A ラベル標識体での糞中放射能成分分布(%クロマトグラム)

標識体	A ラベル									
用量	14日間反復 投与									
性	♂					♀				
採取時点	1日	5日	10日	0-48h	48-168h	1日	5日	10日	0-48h	48-168h

RT：保持時間（分）

nd：この保持時間にピークは検出されず。

表 13-3 B ラベル標識体での糞中放射能成分分布(%クロマトグラム、%投与量)

標識体	B ラベル					
用量	2mg/kg 単回投与					
性	♂1			♀		
採取時間	0-168h					
%処理用量	54.62		80.16		77.44	
成分	%クロマトグラム	%投与量	%クロマトグラム	%投与量	%クロマトグラム	%投与量

その他：放射能活性はあるがピークとして分離不能なもの。

③ 胆汁中代謝物

結果を表 14-1 および 14-2 に示す。A ラベル投与後の胆汁中では、11 の成分が検出された。胆汁中のノバルロン P および [代謝物 D (275-309 I)] はそれぞれ投与量の %と %であった。その他の成分は投与量の %から %であった。B ラベル投与後の胆汁中では、ノバルロン を含む 15 成分が検出されたが、その量は少なかった。

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エス・ディー・エス パイオテックにある。

表 14-1 A ラベル標識体での胆汁中放射能成分分布(%クロマトグラム、%投与量)

標識体	Aラベル			
	2mg/kg		単回投与	
性	♂			♀
採取時間	0-48h			
%処理用量	0.92		0.93	
成分	%クロマトグラム	%投与量	%クロマトグラム	%投与量

RT：保持時間（分）

nd：この保持時間にピークは検出されず。

表 14-2 B ラベル標識体での胆汁中放射能成分分布(%クロマトグラム、%投与量)

標識体	Bラベル			
	2mg/kg		単回投与	
性	♂			♀
採取時間	0-48h			
%処理用量	0.44		0.97	
成分	%クロマトグラム	%投与量	%クロマトグラム	%投与量

RT：保持時間（分）

nd：この保持時間にピークは検出されず。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

④ 脂肪

結果を表 15 に示す。A ラベル低用量単回と反復投与および高用量単回投与では、脂肪中組織放射能の 74-92 %が抽出された。3 代謝物が検出され、ノバルロンが最も顕著であった(組織放射能の約 36-80%)。B ラベル低用量単回投与では、脂肪放射能の約 97%が抽出された。抽出物の 3 代謝物のうち、ノバルロンのみが顕著であった(雄で組織放射能の 83.6 %，雌で組織放射能 88.3 %)。

表 15 脂肪中放射能成分分布(%組織)

標識体 用量	Aラベル				Bラベル			
	2 mg/kg 単回投与		1000 mg/kg 単回投与		2 mg/kg 反復投与		2 mg/kg 単回投与	
屠殺時点	168h		168h		168h		168h	
性	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀

⑤ 肝臓

結果を表 16 に示す。雄および雌ラットの肝臓中組織放射能の抽出率は A ラベル低用量単回投与では、78, 70 %，高用量単回投与では、95 %，91 %，低用量反復投与では、60, 50 %であった。また B ラベル低用量単回投与では、93, 91 %であった。各試験群で 4 から 8 成分が検出され、ノバルロンが主要成分であった(組織放射能の 10.8-76.4 %)。次いで組織放射能の % から %で検出された成分 CPL-5 は [代謝物 D(275-309 I)]であった。この成分は A ラベルの試験群でのみ、検出され、高用量での量は痕跡程度であった(%)。その他の成分は同定できなかった。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 16 肝臓中放射能成分分布(%組織)

標識体 用量	A ラベル				B ラベル			
	2mg/kg 単回投与		1000mg/kg 単回投与		2mg/kg 反復投与		2mg/kg 単回投与	
屠殺時点	24h		24h		72h		16h	
性	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀

RT : 保持時間 (分)

nd : この保持時間にピークは検出されず。

⑥ 腎臓

結果を表 17 に示す。雄および雌ラットの腎臓中組織放射能の抽出率は A ラベル低用量単回投与では、81, 80 %, 低用量反復投与では、63, 59 %であった。また B ラベル低用量単回投与では、93, 91 %であった。各試験群で 8 から 10 成分が検出され、ノバルロンが主要成分であった(組織放射能の 38.4-52.7 %)。次いで組織放射能の %から %で検出された成分 CPK-7 は [代謝物 D((275-309 I)) であった。この成分は A ラベルの試験群でのみ、検出された。その他の成分は同定できなかった。また低用量単回投与での雌で組織放射能の %検出された成分は他の動物群では、多くなかった。

表 17 腎臓中放射能成分分布(%組織)

標識体 用量	A ラベル				B ラベル	
	2mg/kg 単回投与		2mg/kg 反復投与		2mg/kg 単回投与	
屠殺時点	24h		72h		16h	
性	♂	♀	♂	♀	♂	♀

RT：保持時間（分）

nd：この保持時間にピークは検出されず。

以上のことから、糞には顕著な代謝物は検出されず、糞放射能の大部分は未変化のノバルロンであった。尿および胆汁での放射性成分で未変化のノバルロンは痕跡程度であった。A ラベル投与では、尿に数個の代謝物が含まれており、低用量では投与量の %かあるいはそれ以下であった。また高用量では投与量の 0.1 %かあるいはそれ以下であった。反復投与では 1 個の未同定の代謝物が投与量の %で検出された。投与量の約 %がノバルロンの chlorophenyl aniline 誘導体である代謝物 D(275-309 I) と同定した。B ラベル体を投与したラット尿での主要代謝物は [代謝物 A (275-158 I) であった。未変化のノバルロンは脂肪抽出物の主要成分であった。肝臓と腎臓では、主要成分は未変化のノバルロンであった。さらに、より少量の成分が数個検出された。肝臓の代謝物の 1 つは代謝物 D(275-309 I) と特徴付けした。

4) 代謝分解経路およびまとめ

代謝分解経路を図 4 に示す。

ラットへのノバルロンの経口投与では主要排泄経路は糞であり、投与量の 76-95 %が糞に排泄された。投与量の 20 %が吸収された。吸収された投与量比は、高用量を投与した時はかなり減少した。吸収された放射能は消化管(+内容物)を除けば、脂肪に最も高濃度に分布した。尿および胆汁中では広く代謝され、代謝物が主要成分であった。代謝は chlorophenyl と difluorophenyl 部位での分子開裂を含んでいた(図 4)。

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エス・ディー・エス バイオテックにある。

図4 想定代謝分解経路