

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 8) 慢性毒性および発がん性

マウスを用いた飼料混入投与による発癌性試験

(資料22)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences(イギリス)

報告書作成年 : 1997年 (GLP対応)

検体純度 :

試験動物 : CD-1系マウス 1群雌雄各68匹(中間屠殺群16匹、最終屠殺群52匹)

約35~42日齢、体重 雄 29.1~30.0g 雌 23.5~23.6g

試験期間 : 78週間 (1994年7月6日~1996年1月23日)

投与方法 : 検体を 0、20、200及び2000ppmの濃度で78週間混餌投与した。

投与量設定根拠 : CD-1系マウス1群雌雄各10匹を用いて 0、200、2000及び7000ppmの投与量で実施した28日間の経口投与試験の結果、2000および7000ppm群に肝臓の重量増加、肝臓の暗色化、小葉中心性肝細胞肥大が認められた。この結果に基づき本試験の投与量を 0、20、200及び2000ppmに設定した。

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 毎日2回観察した。

投与に関連した症状は認められなかった。死亡率は2000ppm群雌が対照群と比較して有意に増加した。試験終了時の各群死亡率を下表に示した。

投与量 (ppm)		0	20	200	2000
死亡率 (%)	雄	25	29	23	19
	雌	15	19	27	37*

統計手法 : Cox の比例ハザードモデルおよびTarone 分割線型傾向検定

\*: P<0.05

体重変化 ; 投与14週間までは毎週、その後は隔週さらに剖検前に測定した。

体重増加量を下表に示す。

性	雄			雌		
	20	200	2000	20	200	2000
0~52週	92	93	↓86	91	87	↓85
0~78週	87	↓87	↓85	97	85	83

統計手法 : Behrens-FisherとDunnnett検定 (Bartlette検定により分散の均一性を検定)

↓↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01、数値は対照群に対する変動率 (%)

0~52週では2000ppm群雌雄、0~78週では200ppm以上の雄で体重増加量が対照群に比較し低く、統計学的に有意差が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

摂餌量；週1回平均摂餌量を算出した。

検体投与による影響は認められなかった。

食餌効率；投与14週間までの週別食餌効率を算出した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；試験期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		20	200	2000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.6	24.3	250.9
	雌	3.1	30.8	305.3

血液学的検査；投与後51週目に中間屠殺群雌雄各10匹について採血し、以下の項目について検査した。

血球容積、ヘモグロビン濃度、赤血球数、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、総白血球数、血小板数および白血球分画—好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、非染色大型細胞、血液塗抹標本中の異常細胞  
さらに、投与後51及び77週目に最終屠殺群の全生存動物から、血液塗抹標本を作成し以下の項目について検査した。

白血球百分比—好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球および塗抹標本中の異常細胞

対照群と比較し有意差の認められた項目を下表に示す。

検査時期	性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	20	200	2000	20	200	2000
51週	血球容積					↓ 95	↓ 90
	ヘモグロビン濃度					↓ 95	↓ 89
	赤血球数			↓ 95			↓ 90
	好中球						↑ 140
	血小板数						↑ 126
77週	好中球			↓ 67			↓ 73
	リンパ球			↑ 136			↑ 127

統計手法：Studentのt検定 ↓↓：p<0.05, ↑↑：p<0.01, ↓↓↓：p<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

(77週目は、白血球百分比及び異常細胞の検査結果)

対照群と比較して、2000ppm群雌では51週目に血球容積、ヘモグロビン濃度及び赤血球数が減少、血小板数の増加が認められた。同群雄では赤血球数の有意な減少が認められた。

投与後77週目の最終屠殺動物から得た血液塗抹標本の検査において雌雄ともに好中球比率は低くリンパ球比率が高かったがこれらの変化は偶発的で投与の関連はない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

と考えられた。

200ppm群では51週時の雌において血球容積、ヘモグロビン濃度が僅かに低下した。

20ppm群では検体投与に関連したと考えられる変化は認められなかった。

血液生化学的検査；投与後53週目に中間屠殺群の雌雄各10匹について、後部眼窩洞から採血し、以下の項目について検査した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、総コレステロール、総トリグリセライド、総蛋白、アルブミン

対照群と比較し有意差の認められた項目を下表に示す。

検査時期	性	雄			雌		
	投与量 (ppm)	20	200	2000	20	200	2000
53週	ALT			↑ 340			
	AST			↑ 155			
	総コレステロール	↓ 130		↑ 140			↑ 164
	アルブミン			↓ 90			↓ 94
	A/G 比			↓ 85			

統計手法：Studentのt検定 ↓↓：p<0.05, ↓↓↓：p<0.01, ↓↓↓↓：p<0.001  
表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

2000ppm群雄にアラニンアミノトランスフェラーゼ活性及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性に有意な増加が認められ、投与に関連した変化と考えられた。2000ppm群雌雄に総コレステロールの増加、アルブミンの減少が認められ、統計学的な有意差が認められた。

20ppm群雄に総コレステロールの増加が認められたが、用量相関性が認められないことから、一過性の変化と考えられた。

尿検査；投与後13、25、51週目及び雄は76週目、雌では77週目に採尿し、以下の項目を検査した。

外観、尿量、ポルホビリノーゲン (PBG)、ビリルビン及びウロビリノーゲン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

対照群と比較し有意差の認められた項目を下表に示す。

検査時期 (週)	性 別 投 与 量 (ppm)	雄			雌		
		20	200	2000	20	200	2000
13	ホルホピリノーゲン 濃度				↓ 84		
25	ホルホピリノーゲン 濃度			↑ 157			↑ 118
	総ホルホピリノーゲン 排泄量			↑ 150			
51	ホルホピリノーゲン 濃度			↑ 146			
	総ホルホピリノーゲン 排泄量			↑ 200			
76/77	ホルホピリノーゲン 濃度			↑ 136			
	総ホルホピリノーゲン 排泄量			↑ 200			

統計手法：Studentのt検定    ↓↓:P<0.05    ↑↑: p<0.01    ↑↑↑: P<0.005  
表中の数値は対照群に対する変動率(%)。

2000ppm 群雄では投与後25,51及び76週目にホルホピリノーゲン濃度及び総排泄量に有意な増加が認められ、投与の影響と考えられた。また、雄は投与後51及び76週目に尿の暗色化が認められた。

2000ppm群雌で投与後25週目にホルホピリノーゲン濃度に有意な増加が認められたが、その他の群では変化はみられず、一過性であり投与による影響はないと考えられた。

臓器重量；投与後52週（中間屠殺時）、78週（最終屠殺時）の全生存動物及び切迫屠殺動物または途中死亡動物を対象として解剖し、以下の臓器の重量を測定した。

副腎、肺(気管支を含む)、脳、脾臓、心臓、腎臓、肝臓、精巣、子宮。

対照群と比較し統計学的有意差の認められた臓器を次頁の表に示す。

投与52週後屠殺動物では、対照群と比較して肝臓重量の有意な増加が、200ppm投与群雌および2000ppm投与群雌雄で認められた。

2000ppm投与群雌では腎臓重量が増加したが、統計学的有意差は腎臓の絶対重量のみに認められた。同群雄では腎臓に影響は認められなかった。

投与78週後屠殺動物では、2000ppm投与群雌雄で肝臓重量の有意な増加が認められ、200ppm投与群雌でも肝臓の対体重比に軽度な増加が認められた。

雌の全投与群で腎臓重量が統計学的に有意に増加した。雄の20ppmおよび2000ppm投与群の腎臓の相対重量に統計学的有意差が認められた。（申請者注：20ppm雌雄に認められた重量の変化は僅かであり、形態学的に関連する変化が認められないこと、また、雄については用量との関連性が認められないことから投与の影響とは考えなかった。）

その他に認められた有意差は個体変動によるもので投与に関連したものとは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査時期	性		雄			雌		
	投与量 (ppm)		20	200	2000	20	200	2000
52週	脳	重量 対体重比			↑ 113			↓ 95
		腎臓	重量 対体重比					↑ 118
	肝臓	重量 対体重比			↑ 160 ↑ 181		↑ 119 ↑ 112	↑ 180 ↑ 173
		肺	重量 対体重比					↓ 82
	脾臓	対体重比	↑ 138		↑ 131			
78週	脳	対体重比	↑ 108		↑ 106			
	心臓	対体重比	↑ 114					
	腎臓	重量 対体重比				↑ 108	↑ 112	↑ 121
		対体重比	↑ 110		↑ 108		↑ 116	↑ 126
	肝臓	重量 対体重比			↑ 202 ↑ 217			↑ 169
		子宮	重量 対体重比					↓ 63
精巣	対体重比		↑ 111					

統計手法: Behren-Fisher/Dunnett test

(Batlette検定により分散の均一性を調べた。)

↑: p<0.05    ↓: p<0.01    表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

肉眼的病理検査; 全生存動物及び死亡/切迫屠殺動物について剖検を行った。

認められた主な肉眼的病理所見を次表に示す。

52週目の中間屠殺では、2000ppm群雄に肝臓の暗色化及び蒼白化域/巣が認められた。

死亡/切迫屠殺動物では投与に関連した肉眼的異常所見は認められなかった。

78週に最終屠殺をした動物では、2000ppm群雄に肝臓の暗色化、蒼白化域/巣、腫瘍及び腸間膜リンパ節大型化の発現頻度が有意に増加した。また、膨満膀胱の発現頻度は2000ppm群雄で減少し、膨満子宮の発現頻度が同群雌で僅かに増加した。

最終屠殺群全動物(52匹)では、2000ppm群雄に肝臓の暗色化、蒼白化域/巣、腫瘍、腸間膜リンパ節の大型化に有意差が認められた。雌では腎臓顆粒状化その他、皮膚蒼白化及び腹部膨満に有意差が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

		性	雄				雌				
		投与群 (ppm)	0	20	200	2000	0	20	200	2000	
中間	検査動物数		16	15	16	14	15	16	15	15	
屠殺群	肝臓	暗色化	0	2	0	4*	0	1	0	0	
		蒼白化域/巣	0	0	0	4*	0	0	0	0	
最終屠殺群	死亡切迫	検査動物数	13	15	12	10	8	10	14	19	
		肝臓	暗色化	0	0	0	4*	0	0	0	2
			蒼白化域/巣	1	3	1	0	0	0	2	0
		腎臓	腫瘤	7	6	1*	4	0	0	0	3
	顆粒状化		1	1	0	0	1	0	1	8	
	屠殺動物	腎臓	蒼白化	1	1	0	0	0	1	3	4
			腸間膜リンパ節大型化	0	0	2	1	1	1	1	5
			腎リンパ節大型化	0	1	4*	2	1	2	1	2
			胸腺リンパ節大型化	4	0*	0	0	1	1	1	3
	78週屠殺動物	検査動物数	39	37	40	42	44	42	38	33	
		肝臓	暗色化	0	0	0	12***	0	0	0	1
			蒼白化域/巣	1	1	3	17***	0	0	0	1
			腫瘤	7	10	9	27***	2	1	0	2
		腎臓	顆粒状化	1	0	0	0	0	2	0	1
			蒼白化	1	0	1	0	0	2	0	1
		腸間膜リンパ節大型化	0	1	1	6*	4	2	2	2	
膀胱		膨満	5	2	4	0*	0	0	0	0	
子宮	膨満					16	21	10	20*		
全動物	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52		
	肝臓	暗色化	0	0	0	16***	0	0	0	3	
		蒼白化域/巣	2	4	4	17***	0	0	2	1	
		腫瘤	14	16	10	31**	2	1	0	5	
	腎臓	顆粒状化	2	1	0	0	1	2	1	9*	
		蒼白化	2	1	1	0	0	3	3	5	
		腸間膜リンパ節大型化	0	1	3	7*	5	3	3	7	
	皮膚	蒼白	3	3	4	6	1	3	5	8*	
全身	腹部膨満	3	1	1	5	0	3	2	8**		

Fisher の直接確率法 \* :P<0.05、\*\* :P<0.01、\*\*\* :P<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

病理組織学的検査；全動物から、以下の組織を採取し固定液に保存した。

副腎、脾臓、大動脈-胸部、脳下垂体、脳、前立腺、盲腸、直腸、結腸、唾液腺-左下顎、十二指腸、坐骨神経-左、精巣上体、精囊、眼および視神経-左、骨格筋-大腿、大腿骨及び骨髄、皮膚、胆嚢、脊髄、心臓、脾臓、回腸、胸骨および骨髄、空腸、胃、腎臓、卵巣、肝臓、胸腺、主気管支を含む肺、上皮小体を含む甲状腺、リンパ節-下顎及び腸間膜、気管、膀胱、乳腺-尾側、頸部を含む子宮、食道、膈

死亡/切迫屠殺動物、中間及び最終屠殺動物の対照群及び2000ppm群の全動物について、上記組織を病理組織学的に検査した。

中間及び最終屠殺動物の20及び200ppm群については全動物の肝臓、腎臓、肺、精巣（最終屠殺動物のみ）、胆のう（最終屠殺動物のみ）について病理組織学的に検査した。

[腫瘍性病変]

認められた腫瘍性病変を表1に示す。

中間屠殺群動物では、投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった。

最終屠殺群動物では、2000ppm群雄に肝細胞腫瘍の増加が認められた。

肝細胞腫瘍が認められた動物数を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	20	200	2000	0	20	200	2000
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
肝細胞腺腫(良性)	10	8	10	31***	0	0	1	2
肝細胞癌(悪性)	3	5	2	7	0	0	0	0
肝細胞腫瘍を有する動物数	13	13	10	33***	0	0	1	2

\*\*\*:  $p < 0.001$  (上片側Fisherの直接確率法)

2000ppm投与群雄では下表に示すとおり複数個の肝細胞腫瘍を有する個体数が増加した。

投与量 (ppm)	雄			
	0	20	200	2000
検査動物数	52	52	52	52
腫瘍1個を有する動物数	12	11	6	14
腫瘍2個を有する動物数	1	2	3	17
腫瘍3個を有する動物数	0	0	1	1
腫瘍4個を有する動物数	0	0	0	1
合計	13	13	10	33

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

その他の臓器に認められた腫瘍の発生頻度は対照群と同様であった。200及び20ppm群では投与による影響は認められなかった。

観察された腫瘍の総括表を以下に示す。

性		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	20	200	2000	0	20	200	2000
検査動物数		52	52	52	52	52	52	52	52
腫瘍数	良性	28	21	24	40	17	13	9	12
	悪性	12	14	11	17	7	10	11	13
腫瘍総数		40	35	35	57	24	23	20	25
担腫瘍動物数	良性	25	20	20	33	67	9	10	13
	悪性	12	13	11	16	16	11	8	11
腫瘍発生動物数		33	28	26	39	20	18	18	22

#### [非腫瘍性病変]

認められた主な非腫瘍性病変を表2に示す。

中間屠殺群動物では2000ppm群雌雄に小葉中心性の肝細胞肥大がみられ、クッパー細胞、小葉中心性毛細胆管に色素沈着の増加が認められた。また、2000ppm群雄では肝細胞色素沈着および精巣の間質マクロファージに色素沈着が認められた。

2000ppm群雌では、いくつかの組織でアミロイド症の発現頻度が対照群に比較して有意に増加した。

最終屠殺時では、2000ppm群雄の肝臓に多中心性肝細胞肥大、斑点状グリコーゲン様/脂肪空胞、単細胞壊死が認められた。同群雌雄でクッパー細胞の色素沈着および大型マクロファージ色素沈着の有意な増加が認められ、同群雌では小葉中心性毛細胆管色素沈着が有意に増加した。また、同群雄で腎臓の皮質尿細管細胞質色素沈着および精巣の間質マクロファージ色素沈着の発現頻度が有意に増加した。これらの所見には検体投与との関連が考えられた。

また、2000ppm群雌雄に胆嚢内にポルフィリン結晶が認められた。

対照群を含む全群雌雄の様々な組織にアミロイドーシスが認められた。一つ以上の組織でアミロイドーシスが認められた動物数は次表の通りであった。2000ppmにおいては対照群に比較してその頻度は同等であったが、重篤度が上昇した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：一つ以上の組織でアミロイドーシスが認められた動物数

性	雄				雌			
	0	20	200	2000	0	20	200	2000
投与量 (ppm)	0	20	200	2000	0	20	200	2000
検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
軽微	4	1	0	0	1	1	2	0
軽度	6	5	7	2	5	2	11	0
中程度	7	2	3	13	12	3	4	4
顕著	1	1	0	6	2	2	1	15
重度	0	0	0	0	0	1	1	1
合計	18	9	10	21	20	9	19	20

200ppm群雌雄および20ppm群雌においてもクッパー細胞の色素沈着の発現頻度が有意に増加した。しかし、これらの所見については肝臓の他の所見との関連性は不明であった。

(申請者注：20ppm群雌に認められたクッパー細胞の色素沈着の増加については下表に示すとおり、試験機関における背景データと比較して頻度および強度の点で同等であり、偶発的な所見と考える。)

表：マウスを用いた78週間発がん性試験の背景データとの比較(所見動物数)

		本試験 (検体20ppm)	背景データ				
			雌				
性別	雌						
コード番号	cdm-		092	094	105	107	108
試験開始年	1994	1993	1994	1996	1997	1998	
検査動物数	52	52	52	52	52	50	
色素沈着 クッパー 細胞	微小	7	3	1	0	3	0
	軽度	2	5	0	0	4	1
	中等度	2	0	0	0	4	0
	合計	11	8	1	0	11	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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

以上の結果、2000ppm群雌雄および200ppm群雄に体重増加抑制、2000ppm群雌雄に赤血球数の減少、200ppm群および2000ppm群雌に血球容積およびヘモグロビン濃度の減少、2000ppm群雄にアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の増加、2000ppm群雌雄に総コレステロールの増加及びアルブミンの減少がみられ、2000ppm群雄では尿ポルホビリノーゲン (PBG) および尿量の増加が認められた。2000ppm群雌雄および200ppm群雌に肝臓および腎臓重量の増加、2000ppm群に肝臓の暗色化及び肝腫瘍が認められ、病理組織学的には52週目では2000ppm群雌雄の肝臓に小葉中心性肝細胞肥大、クッパー細胞及び毛細胆管に色素沈着が認められ、最終屠殺時では2000ppm群雄に多中心性肝細胞肥大、グリコーゲン様/脂肪空胞、単細胞壊死が、2000及び200ppm群雌雄の肝臓クッパー細胞、2000ppm群雌雄の肝マクロファージ、2000ppm群雄の腎尿管及び精巣間質細胞に色素沈着が認められ、また、2000ppm群雌雄の胆嚢内にポルフィリン結晶が認められた。

これらのことから、無毒性量は雌雄とも20ppm(雄 2.6 mg/kg/day、雌 3.1mg/kg/day)と考えられた。

2000ppm群雄に肝腫瘍の増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある

表 1 腫瘍性病変発生率 (1)

臓器/組織	性別 投与量(ppm)	雄				雌				
		0	20	200	2000	0	20	200	2000	
	検査動物数	13	15	12	10	8	10	14	19	
肝臓	肝細胞腺腫 (良性)	3/13	3/15	0/12	3/10	0/8	0/10	0/14	1/19	
	血管腫 (良性)	0/13	2/15	0/12	0/10	0/8	0/10	0/14	0/19	
	肝細胞癌 (悪性)	2/13	1/15	0/12	1/10	0/8	0/10	0/14	0/19	
	血管肉腫 (悪性)	0/13	0/15	0/12	0/10	0/8	0/10	0/14	0/19	
肺	腺腫 (良性)	2/13	3/15	1/12	1/10	0/8	0/10	0/14	0/19	
	肺癌 (悪性)	1/13	0/15	1/12	3/10	0/8	1/10	0/14	0/19	
乳腺	腺癌 (悪性)	0/13	0/15	0/12	0/10	1/8	0/10	1/14	0/19	
脳下垂体	腺腫 (良性)	0/13	0/15	0/12	0/10	1/8	0/10	0/14	0/19	
	下垂体中葉腺腫 (良性)	0/13	0/15	0/12	0/10	1/8	0/10	0/14	0/19	
	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	1/8	0/9	0/13	0/18	
	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	0/8	0/9	0/13	1/18	
子宮	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	1/8	0/10	0/14	1/18	
	平滑筋腫 (良性)	-	-	-	-	1/8	1/10	0/14	0/18	
	血管腫 (良性)	-	-	-	-	1/8	0/10	0/14	0/18	
	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	0/8	0/10	0/14	1/18	
腹部	肉腫 (悪性)	0/2	-	-	-	-	0/1	-	1/1	
腹部脂肪組織	血管腫 (良性)	0/2	-	-	-	-	-	1/1	-	
造血組織	悪性リンパ腫 (悪性)	2/13	1/15	3/12	1/10	1/8	3/10	2/14	4/19	
	組織球性肉腫 (悪性)	1/13	0/15	0/12	1/10	0/8	1/10	0/14	1/19	
	顆粒細胞白血病 (悪性)	0/13	0/15	0/12	0/10	0/8	0/10	0/14	1/19	
ハーパー腺	腺腫 (良性)	-	-	1/1	-	-	-	-	-	
乳腺	腺癌 (悪性)	-	-	-	-	1/1	-	1/2	-	
	腺癌細胞腫 (悪性)	-	-	-	-	0/1	-	1/2	-	
骨格筋	血管肉腫 (悪性)	0/3	1/1	0/4	-	0/1	-	-	-	
皮膚	骨肉腫 (悪性)	1/3	0/1	1/4	-	0/1	-	-	-	
	肉腫 (悪性)	1/3	2/5	0/4	-	-	1/2	0/4	1/2	
	血管腫 (良性)	0/3	0/5	0/4	-	-	0/2	1/4	0/2	
	骨肉腫 (悪性)	0/3	0/5	0/4	-	-	1/2	0/4	0/2	
血管肉腫 (悪性)	0/3	1/5	0/4	-	-	0/2	0/4	0/2		
	検査動物数	39	37	40	42	44	42	38	33	
78 週 屠 殺	副腎皮質	皮質腺腫 (良性)	2/39	-	-	0/42	0/44	-	-	0/33
	脂肪腫 (良性)	0/39	-	-	1/42	0/44	0/1	-	0/33	
	空腸	腺癌 (悪性)	0/38	0/2	0/0	1/42	0/44	-	-	0/33
	腎臓	腎癌 (悪性)	0/39	0/37	1/40	0/42	0/44	0/42	0/38	0/33
		肉腫 (悪性)	0/39	0/37	0/40	0/42	0/44	0/42	1/38	0/33
	肝臓	肝細胞腺腫 (良性)	7/39	5/37	10/40	28***/42	0/44	0/42	1/38	1/33
		血管腫 (良性)	0/39	0/37	1/40	0/42	1/44	0/42	0/38	0/33
		肝胆管癌 (悪性)	1/39	4/37	2/40	6/42	0/44	0/42	0/38	0/33
	肺	血管肉腫 (悪性)	0/39	0/37	0/40	0/42	1/44	0/42	0/38	0/33
		腺腫 (良性)	10/39	8/37	11/40	6/42	3/44	4/42	4/38	5/33
		肺癌 (悪性)	2/39	3/37	2/40	3/42	1/44	1/42	3/38	0/33
	卵巣	乳頭状濾胞腺腫 (良性)	-	-	-	-	1/44	1/24	0/17	0/33
		顆粒膜黄体細胞癌 (悪性)	-	-	-	-	1/44	0/24	0/17	0/33
	脳下垂体	腺腫 (良性)	0/39	-	-	0/42	0/44	1/1	-	0/33
	脾臓	血管腫 (良性)	0/39	0/10	0/9	0/42	0/44	1/9	0/6	0/33
	精巣	間質細胞腫 (良性)	0/39	0/37	0/40	1/42	-	-	-	-
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (良性)	1/39	-	-	0/42	0/44	-	-	0/33
子宮頸部	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	0/43	1/2	0/1	0/33	
	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	1/43	0/2	0/1	0/33	
子宮	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	4/44	1/32	1/30	4/33	
	平滑筋腫 (良性)	-	-	-	-	2/44	1/32	1/30	0/33	
	顆粒細胞腫瘍 (良性)	-	-	-	-	0/44	1/32	0/30	0/33	
	血管腫 (良性)	-	-	-	-	0/44	1/32	0/30	0/33	
	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	0/44	0/32	0/30	1/33	
造血組織	悪性リンパ腫 (悪性)	1/39	1/1	0/1	0/42	0/44	1/2	2/2	1/33	
	組織球性肉腫 (悪性)	0/39	0/1	0/1	0/42	0/44	1/2	0/2	1/33	
	顆粒細胞白血病 (悪性)	0/39	0/1	1/1	1/42	0/44	0/2	0/2	0/33	
ハーパー腺	腺腫 (良性)	2/2	-	-	-	-	-	0/1	-	
骨格筋	骨腫 (良性)	1/1	0/2	0/0	-	-	-	-	-	

統計手法: Fisherの直接確率計算法 (上片側) \*\*\*: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バイエルクロップサイエンス株式会社にある

表 1 腫瘍性病変発生率 (2)

臓器/組織	性別 投与量 (ppm)	雄				雌				
		0	20	200	2000	0	20	200	2000	
	検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52	
全動物	副腎皮質	皮質腺腫 (良性)	2/51	0/15	0/12	0/52	0/52	0/10	0/14	0/52
	脳	脂肪腫 (良性)	0/52	0/15	0/12	1/52	0/52	0/11	0/14	0/52
	空腸	腺癌 (悪性)	0/48	0/16	0/11	1/49	0/51	0/9	0/13	0/46
		腎癌 (悪性)	0/52	0/52	1/52	0/52	0/52	0/52	0/52	0/52
	腎臓	肉腫 (悪性)	0/52	0/52	0/52	0/52	0/52	0/52	1/52	0/52
		肝臓	肝細胞腺腫 (良性)	10/52	8/52	10/52	31***/52	0/52	0/52	1/52
	肝臓	血管腫 (良性)	0/52	2/52	1/52	0/52	1/52	0/52	0/52	0/52
		肝細胞癌 (悪性)	3/52	5/52	2/52	7/52	0/52	0/52	0/52	0/52
		血管肉腫 (悪性)	0/52	0/52	0/52	0/52	1/52	0/52	0/52	1/52
		肺	腺腫 (良性)	12/52	11/52	12/52	7/52	3/52	4/52	4/52
	肺	肺癌 (悪性)	3/52	3/52	3/52	6/52	1/52	2/52	3/52	0/52
		乳腺	腺癌 (悪性)	0/52	0/15	0/14	0/52	1/52	0/10	1/15
	卵巣	乳頭状濾胞腺腫 (良性)	-	-	-	-	1/52	1/34	0/31	0/51
		顆粒膜炭膜細胞癌 (悪性)	-	-	-	-	1/52	0/34	0/31	0/51
	脳下垂体	腺腫 (良性)	0/52	0/15	0/12	0/52	1/52	1/11	0/14	0/52
		下垂体中葉腺腫 (良性)	0/52	0/15	0/12	0/52	1/52	0/11	0/14	0/52
	脾臓	血管腫 (良性)	0/52	0/25	0/21	0/52	0/52	1/19	0/20	0/52
	精巣	間質細胞腫 (良性)	0/52	0/52	0/52	1/52	-	-	-	-
	甲状腺	濾胞細胞腺腫 (良性)	1/52	0/15	0/12	0/52	0/52	0/10	0/14	0/52
	子宮頸部	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	1/51	1/11	0/14	0/51
平滑筋肉腫 (悪性)		-	-	-	-	1/51	0/11	0/14	1/51	
子宮	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	5/52	1/42	1/44	5/51	
	平滑筋腫 (良性)	-	-	-	-	3/52	2/42	1/44	0/51	
	顆粒細胞腫瘍 (良性)	-	-	-	-	0/52	1/42	0/44	0/51	
	血管腫 (良性)	-	-	-	-	1/52	1/42	0/44	0/51	
腹部	平滑筋肉腫 (悪性)	-	-	-	-	0/52	0/42	0/44	2/51	
	肉腫 (悪性)	0/2	-	-	-	-	0/1	-	1/1	
腹部脂肪組織	血管腫 (良性)	0/2	-	-	-	-	-	1/2	-	
造血組織	悪性リンパ腫 (悪性)	3/52	2/16	3/13	1/52	1/52	4/12	4/16	5/52	
	組織球性肉腫 (悪性)	1/52	0/16	0/13	1/52	0/52	2/12	0/16	1/52	
	顆粒細胞白血病 (悪性)	0/52	0/16	1/13	1/52	0/52	0/12	0/16	1/52	
ハーダー腺	腺腫 (良性)	2/2	-	1/1	-	-	-	0/1	-	
乳腺	腺癌 (悪性)	-	-	-	-	1/1	-	1/3	-	
骨格筋	腺癌細胞腫 (悪性)	-	-	-	-	0/1	-	1/3	-	
	骨腫 (良性)	1/4	0/3	0/4	-	0/1	-	-	-	
	血管肉腫 (悪性)	0/4	1/3	0/4	-	0/1	-	-	-	
皮膚	骨肉腫 (悪性)	1/4	0/3	1/4	-	0/1	-	-	-	
	肉腫 (悪性)	1/5	2/8	0/6	0/5	0/1	1/4	0/5	1/4	
	血管腫 (良性)	0/5	0/8	0/6	0/5	0/1	0/4	1/5	0/4	
	骨肉腫 (悪性)	0/5	0/8	0/6	0/5	0/1	1/4	0/5	0/4	
	血管肉腫 (悪性)	0/5	1/8	0/6	0/5	0/1	0/4	0/5	0/4	

統計手法: Fisherの直接確率計算法 (上片側) \*\*\*: p<0.001

表2 主たる非腫瘍性病変発生率 (1)

試験/組織	性別	雄				雌					
		投与量(npm)	0	20	200	2000	0	20	200	2000	
	原発動物数		16	15	16	14	15	16	15	15	
52週	百膜	アミロイド症	0/16	-	-	0/14	0/15	-	-	5*/15	
	十二指腸	アミロイド症	0/16	-	-	0/14	0/15	-	-	5*/15	
	回腸	アミロイド症	0/16	-	-	0/14	0/15	-	-	6*/15	
	空腸	アミロイド症	0/16	-	-	0/14	0/15	-	-	7**/15	
	肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0/16	0/15	3/16	14***/14	0/15	0/16	0/15	15***/15	
		クーパー細胞色素沈着	0/16	0/15	3/15	14***/14	0/15	0/16	1/15	15***/15	
		小葉中心性肝細胞色素沈着	0/16	0/15	0/16	14***/14	0/15	0/16	0/15	9***/15	
		肝細胞色素沈着	0/16	0/16	0/16	5*/14	0/15	0/16	0/15	0/15	
精巣	間質マクロファージ色素沈着	0/16	0/2	-	10***/14	-	-	-	-		
途中死亡	原発動物数		13	15	12	10	8	10	14	19	
	十二指腸	アミロイド症	1/10	1/15	2/12	2/7	0/8	1/10	4/13	8*/15	
	胆嚢	胆嚢内マクロファージ結晶	0/7	0/12	0/9	1*/6	0/4	0/8	0/11	1/14	
	空腸	アミロイド症	2/10	3/14	2/11	2/7	0/7	1/9	4/13	7*/13	
	腎臓	蛋白質吸収小滴	0/13	0/15	0/12	0/10	3/8	0/10	1/14	0*/19	
		アミロイド症	1/13	1/15	0/12	1/10	0/8	1/10	1/14	10*/19	
	肝臓	クーパー細胞色素沈着	0/13	1/15	2/12	10***/10	0/8	1/10	3/14	17***/19	
		大型マクロファージ色素沈着	0/13	0/15	0/12	0***/10	1/8	1/10	1/14	5/19	
	上皮小体	アミロイド症	0/12	1/11	2/9	0/7	0/6	1/6	1/9	9*/17	
	精巣	間質マクロファージ色素沈着	0/13	0/15	0/12	8***/10	-	-	-	-	
	甲状腺	アミロイド症	0/13	1/15	2/12	1/10	0/8	1/10	1/14	0*/19	
	子宮	アミロイド症	-	-	-	-	0/8	1/10	0/14	10**/18	
	75週	原発動物数		39	37	40	42	44	42	38	33
		副腎	アミロイド症	0/39	-	-	11***/42	3/44	-	-	5/33
脳		脳下垂体拡張による圧迫	0/39	-	-	0/42	0/44	1*/44	-	0/33	
盲腸		アミロイド症	2/39	-	-	17***/42	6/44	0/44	-	8/33	
膵臓		アミロイド症	0/39	-	-	10**/42	1/44	-	-	5/33	
十二指腸		アミロイド症	1/39	-	-	17***/42	9/44	-	-	8/33	
大腸骨		脂肪腫	0/39	-	-	3/42	37/44	-	-	19*/33	
胆嚢		胆嚢内マクロファージ結晶	0/39	0/34	0/40	10**/41	0/43	0/42	0/35	8**/33	
空腸		アミロイド症	4/38	1/2	-	18**/42	10/44	-	-	9/33	
腎臓		慢性間質性腎炎	9/39	3/37	6/40	2*/42	3/44	1/42	6/38	0/33	
		アミロイド症	4/39	2/37	6/40	18**/42	6/44	6/42	12*/38	6/33	
		皮膚尿原色素沈着	0/39	0/37	2/40	9**/42	3/44	3/42	3/38	0/33	
肝臓		多中心性肝細胞肥大	1/39	5/37	4/40	15***/42	0/44	0/42	0/38	0/33	
		肝細胞毒性を伴う急性炎症	6/39	3/37	1/40	0*/42	5/44	4/42	6/38	2/33	
		単細胞壊死	3/39	6/37	5/40	32***/42	0/44	0/42	0/38	3/33	
		クーパー細胞色素沈着	0/39	3/37	18***/40	41***/42	3/44	10*/42	15***/38	32***/33	
		塊状マクロファージ様/脂肪芽球	0/39	0/37	4/40	32***/42	0/44	0/42	0/38	1/33	
		小葉中心性肝細胞脂肪空胞化	4/39	2/37	0/40	0*/42	2/44	1/42	2/38	1/33	
		大型マクロファージ色素沈着	0/39	3/37	1/40	41***/42	4/44	3/42	2/38	22***/33	
脾		脾臓出血	3/39	2/37	5/40	4/42	0/44	7**/42	6**/38	0/33	
上皮小体		アミロイド症	0/36	-	-	7**/35	3/37	-	-	5/29	
胆嚢		小房/管色素沈着	0/39	1*/1	0/1	0/42	-	-	-	-	
脾臓		青腫外出血	5/39	3/10	4*/9	6/42	4/44	5**/9	1/6	7/33	
	白質肥厚	1/39	5***/10	3*/9	4/42	5/44	2/9	2/6	5/33		
胃	アミロイド症	1/39	0/2	0/2	10**/42	4/44	0/44	0/1	6/33		
精巣	間質マクロファージ色素沈着	0/39	0/37	0/40	42***/42	-	-	-	-		
胸腺	位置	5/39	-	-	0*/41	0/44	0/42	0/38	0/33		
甲状腺	アミロイド症	2/39	-	-	17***/42	4/44	-	-	7/33		

統計手法: Fisherの正確確率計算法(両側) \* p<0.05 \*\* p<0.01 \*\*\* p<0.001

表2 主たる非腫瘍性病変発生率 (2)

臓器/組織	性別	雄				雌			
		投与量(ppm)	0	20	200	2000	0	20	200
	換算動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
脳質	アミロイド症	1 / 51	1 / 15	1 / 12	12** / 52	3 / 52	1 / 10	1 / 14	12* / 52
盲腸	アミロイド症	3 / 49	0 / 15	2 / 11	19*** / 51	6 / 52	1 / 9	0 / 12	14* / 48
結腸	アミロイド症	2 / 50	0 / 15	0 / 12	13** / 51	1 / 52	0 / 9	0 / 13	11** / 50
十二指腸	アミロイド症	2 / 49	1 / 16	2 / 12	19*** / 49	9 / 52	1 / 8	4 / 13	16 / 48
胆嚢丸	慢性炎症	0 / 52	1 / 16	2* / 13	3 / 52	-	-	-	-
大腸管	脂肪腫	6 / 52	0 / 15	0 / 12	3 / 52	39 / 52	2 / 10	1 / 14	21*** / 52
胆嚢	胆嚢内ポリアリオン結晶	0 / 46	0 / 46	0 / 49	14*** / 47	0 / 47	0 / 50	0 / 46	12*** / 47
空腸	アミロイド症	6 / 48	4 / 16	2 / 11	20** / 49	10 / 51	1 / 9	4 / 13	16 / 46
腎臓	慢性間質性腎炎	10 / 52	4 / 52	7 / 52	2* / 52	3 / 52	1 / 50	6 / 52	2 / 52
	アミロイド症	5 / 52	3 / 52	6 / 52	19** / 52	5 / 52	7 / 52	13 / 52	16* / 52
	皮質尿細管色素沈着	0 / 52	0 / 52	3 / 52	10** / 52	3 / 52	3 / 52	4 / 52	0 / 52
下腎リンパ節	アミロイド症	1 / 52	1 / 16	0 / 12	3 / 52	2 / 51	0 / 10	0 / 17	12** / 51
肝臓	多中心性肝細胞肥大	2 / 52	5 / 52	4 / 52	20*** / 52	0 / 52	0 / 52	0 / 52	0 / 52
	肝細胞毒性を伴う急性炎症	6 / 52	5 / 52	1 / 52	0* / 52	6 / 52	4 / 52	6 / 52	2 / 52
	単細胞壊死	4 / 52	6 / 52	5 / 52	34*** / 52	0 / 52	0 / 52	0 / 52	3 / 52
	クッパー細胞の炎症	0 / 52	4 / 52	20*** / 52	51*** / 52	3 / 52	11* / 52	18*** / 52	49*** / 52
	褐色状のチータン様/脂肪空胞	0 / 52	0 / 52	4 / 52	34*** / 52	0 / 52	0 / 52	0 / 52	1 / 52
	小葉中心性毛根線管色素沈着	0 / 52	0 / 52	0 / 52	1 / 52	0 / 52	0 / 52	0 / 52	7* / 52
	大型マクロファージ色素沈着	0 / 52	3 / 52	1 / 52	50*** / 52	5 / 52	4 / 52	3 / 52	27*** / 52
	アミロイド症	0 / 52	1 / 52	2 / 52	3 / 52	2 / 52	4 / 52	6 / 52	12** / 52
肺	洞質性肺炎	6 / 52	16* / 52	8 / 52	9 / 52	6 / 52	12 / 52	16 / 52	6 / 52
	肺出血	3 / 52	2 / 52	5 / 52	5 / 52	0 / 52	7* / 52	6* / 52	0 / 52
上皮小体	アミロイド症	0 / 48	1 / 11	2 / 9	7** / 42	3 / 43	1 / 9	1 / 9	14** / 46
前立腺	急性炎症	0 / 51	2* / 15	1 / 13	0 / 52	-	-	-	-
脾臓	アミロイド症	0 / 52	1 / 25	1 / 21	1 / 52	0 / 52	1 / 19	1 / 20	9** / 52
	白質肥厚	1 / 52	5 / 25	1 / 21	4 / 52	6 / 52	2 / 19	3 / 20	5 / 52
胃	アミロイド症	1 / 52	0 / 17	0 / 14	11** / 52	4 / 52	1 / 9	1 / 15	13* / 52
精巣	洞質マクロファージ色素沈着	0 / 52	0 / 52	0 / 52	50*** / 52	-	-	-	-
甲状腺	アミロイド症	3 / 52	1 / 15	2 / 12	15*** / 52	4 / 52	1 / 10	1 / 14	16** / 52
子宮	アミロイド症	-	-	-	-	4 / 52	4 / 42	10 / 44	16** / 52

統計手法: Fisherの正確確率計算法(両側) \*p<0.05 \*\*<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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性・発癌性試験

(資料23)

試験機関 : Huntington Life Sciences  
Limited (イギリス)

報告書作成年 : 1997年 (GLP対応)

検体純度 :

試験動物 : F-344系ラット

毒性試験群 1 群雌雄各20匹、発癌性試験群 1 群雌雄各50匹

毒性試験群については、52週間投与後、生存動物のうち各群雌雄各10匹を屠殺し、残りの動物は13週間の回復試験に供した。

投与開始時35~42日齢 体重 雄 75~106g、雌 68~95g

試験期間 : 24カ月 (1994年3月30日~1996年4月4日)

投与方法 : 検体を 0、20、50、500および10000/5000ppmの濃度で飼料に混入し、24カ月間にわたって摂食させた。最高投与群の10000/5000ppmについては10000ppmの濃度で試験を開始したが、この用量は、最大耐量(MTD)を超えていると判断されたため10週目以降は、5000ppmに変更した。また、発癌性試験の最高用量群については、65週目以降の投与を中止した。

用量設定根拠 ; 一群雌雄各10匹を用いて0、80、200、6000および20000ppmの投与量で実施した13週間亜急性毒性試験(資料21)の結果、200、6000および20000ppmの各投与群において肝臓、甲状腺および血漿中の甲状腺ホルモンに対する影響が認められた。80ppmでは投与に関連した変化が認められなかった。この結果に基づき本試験の投与量を0、20、50、500および10000ppmに設定した。

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 全動物について一般状態及び健康状態を毎日2回観察し、さらに毎週1回、全動物について触診検査を含む詳細な検査した。10000/5000ppm群において雌雄ともに眼の暗色化、ケージの吸収紙の汚染、雄の皮膚におけるチアノーゼが認められた。500ppm以下の投与群では、投与に関連した変化は認められなかった。以下に投与終了時の死亡率(%)を示す。

性 別		雄					雌				
		0	20	50	500	5000/ 10000	0	20	50	500	5000/ 10000
死亡率 (%)	発癌性試験群	48	48	36	54	—	10	22	16	26	—
	毒性試験群	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0
	回復試験群	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0

体重変化 ; 投与開始後14週間は毎週1回、その後は2週間に1回測定し、さらに剖検前にも実施した。10000ppm群の体重増加量は雌雄ともに対照群と比べて著しく低下した。最高用量群の濃度を10000ppmから5000ppmに減らした10週目以降も、雌雄動物の体重増加量の減少が認められた。500ppm群の雌では、

試験期間全体を通じて体重増加量は対照群に比較して統計学的に有意な低下が認められたが、同群の雄においては全試験期間を通じて統計学的な有意差は認められなかった。20ppmおよび50ppm投与群の体重増加量は雌雄とも投与による影響は認められなかった。以下の表に統計学的有意差の認められた週を示す。

性別		雄	雌			
投与量 (ppm)		10000/5000	20	50	500	10000/5000
毒性試験群	0~9 週	↓ 58	↑ 112	↑ 112		↓ 65
	9~52 週	↓ 76			↓ 87	↓ 79
	0~52 週	↓ 66		↑ 109		↓ 72
回復試験群	0~12 週	↓ *				
発癌性試験群	0~9 週	↓ 63				↓ 66
	9~104週				↓ 84	
	0~64 週	↓ 67	↓ 94		↓ 89	↓ 66
	0~104週				↓ 89	

統計手法：Dunnett又はBehrens-Fisher検定(Batlette検定で分散の均一性を調べた)  
 †: p<0.05 ††: p<0.01 表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。  
 \*については対照群の体重増加量が負であったため、変動率は計算を行わなかった。

摂餌量；平均摂餌量を毎週算出した。

10000/5000ppm群の動物における摂餌量は、投与5週以降の雄及び投与4週日以降の雌において対照群と比べて著しく低下し、雄で特に顕著であった。また、雌では回復試験期間中にもほとんど回復が認められなかったが、雄では対照群とほとんど同程度の摂餌量に回復した。500ppm以下の投与群の摂餌量には投与の影響が認められなかった。

食餌効率；投与開始後14週間目まで算出した。

10000/5000ppm群雄では4週目、雌では3週目から顕著な減少が認められた。

検体摂取量；試験期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		20	50	500	10000/5000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.8	2.1	21.5	314.4
	雌	1.0	2.5	25.0	344.2

血液学的検査；毒性試験群については、投与13、26および52週時に全生存動物の眼窩静脈叢から採血し、発癌性試験群については、投与78および104週時に各群



の生存動物のうち雌雄20匹から同様に血液試料を採取した。また、発癌性試験群において投与51、77および103週時に血液学的検査を実施しなかった全生存動物の尾静脈から採血し、血液塗沫標本を作製した。

回復試験群については、回復試験開始後6週および12週時に全生存動物の眼窩静脈叢から採血し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、総白血球数、白血球百分比、血小板数、好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色性細胞、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、プロトロンビン時間

10000/5000ppm投与群では、投与期間中を通じてヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の低値が認められた。これらの変化は、球状赤血球、小赤血球、赤血球大小不同および低血色素性赤血球の増加を伴っていた。また、リンパ球の増加および好中球の散発的な増加、それらにともなう白血球数および血小板数の増加も認められた。雄では、プロトロンビン時間の軽度の減少が認められた。これらの変化は、回復試験期間6および12週時にも認められたが、投与期間中に比べて軽度であった。

500ppm投与群では、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の低値ならびに平均赤血球血色素量、平均赤血球容積および平均赤血球血色素濃度の低値、赤血球形態学的異常の発現頻度の増加が認められたが、回復試験期間中にはいずれの変化も認められなかった。

次頁に統計学的有意差の認められた項目を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液学的検査(1)

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		20	50	500	10000 /5000	20	50	500	10000 /5000
毒性試験群 13週	ヘマトクリット値			↓ 98	↓ 81			↓ 95	↓ 84
	ヘモグロビン濃度				↓ 81			↓ 97	↓ 81
	赤血球数				↓ 95				
	平均赤血球血色素量		↓ 99	↓ 98	↓ 84				↓ 83
	平均赤血球血色素濃度				↓ 99				↓ 98
	平均赤血球容積		↓ 98	↓ 97	↓ 87			↓ 97	↓ 86
	総白血球数				↑ 114				↑ 149
	好中球								↑ 118
	リンパ球				↑ 127				↑ 153
	血小板数				↑ 118			↑ 131	↑ 137
プロトリン時間						↑ 110	↑ 110		
毒性試験群 26週	ヘマトクリット値	↑ 102	↑ 105		↓ 86		↑ 102		↓ 91
	ヘモグロビン濃度				↓ 83				↓ 90
	平均赤血球血色素量			↓ 98	↓ 82				↓ 86
	平均赤血球血色素濃度	↓ 98	↓ 98	↓ 97	↓ 97		↓ 98	↓ 99	
	平均赤血球容積	↑ 102	↑ 101		↓ 84		↑ 101		↓ 87
	総白血球数				↑ 149				↑ 152
	リンパ球		↑ 110		↑ 156	↑ 119		↑ 119	↑ 177
	血小板数				↑ 164	↑ 107		↑ 106	↑ 117
	プロトリン時間	↑ 105	↑ 106		↓ 94	↑ 104	↑ 108	↑ 105	
	毒性試験群 52週	ヘマトクリット値			↓ 96	↓ 83			
ヘモグロビン濃度				↓ 96	↓ 82				↓ 88
平均赤血球血色素量				↓ 97	↓ 85		↓ 99	↓ 97	↓ 88
平均赤血球血色素濃度		↓ 99		↓ 99	↓ 99		↓ 99	↓ 99	↓ 99
平均赤血球容積				↓ 98	↓ 85			↓ 99	↓ 87
総白血球数				↑ 120	↑ 168	↓ 78			↑ 140
好中球		↑ 139	↑ 135	↑ 143	↑ 204	↓ 56			
リンパ球				↑ 111	↑ 152				↑ 160
血小板数					↑ 147				↑ 122
プロトリン時間					↓ 92				
発癌試験群 78週	ヘモグロビン濃度		↓ 95	↓ 97		↓ 97	↓ 97	↓ 98	
	平均赤血球血色素量		↓ 97	↓ 96		↓ 99	↓ 98	↓ 97	
	平均赤血球血色素濃度		↓ 98			↓ 99	↓ 99		
	平均赤血球容積			↓ 97				↓ 97	
	好中球			↑ 128					
	血小板数							↑ 106	
プロトリン時間	↑ 105	↑ 108	↑ 106			↑ 105			

統計手法: Studentのt検定 ↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01, ↓↓↓: p<0.001  
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液学的検査(2)

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		20	50	500	10000 /5000	20	50	500	10000 /5000
発癌試験群 104週	平均赤血球血色素量			↓ 91					
	好中球	↑ 143							
	血小板数	↑ 124						↑ 116	
	プロトロン時間	↑ 105	↑ 105						
回復試験群 6週	ヘマトクリット値							↑ 105	↓ 95
	ヘモグロビン濃度							↑ 104	↓ 96
	赤血球数	↑ 106						↑ 105	
	平均赤血球血色素量	↓ 96	↓ 98	↓ 98	↓ 92				↓ 93
	平均赤血球容積	↓ 97	↓ 97	↓ 98	↓ 93				↓ 93
	総白血球数	↑ 126			↑ 180				↑ 125
	好中球	↑ 148		↑ 148	↑ 200				
	リンパ球				↑ 164				↑ 132
	血小板数				↑ 151				↑ 124
回復試験群 12週	ヘマトクリット値				↓ 91				↓ 96
	ヘモグロビン濃度				↓ 91				↓ 98
	赤血球数			↓ 96	↓ 91				
	平均赤血球血色素量								↓ 97
	平均赤血球容積								↓ 97
	総白血球数	↑ 128		↑ 140	↑ 166				
	好中球			↑ 175	↑ 200				
	リンパ球				↑ 148				
	血小板数				↑ 135				
	プロトロン時間	↑ 112	↑ 109	↑ 107				↑ 110	↑ 116

統計手法: Studentのt検定 ↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01, ↑↑: p<0.001  
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液生化学的検査:毒性試験群については、投与26および52週時に全生存動物の眼窩静脈叢から採血した。発癌性試験群については、投与78および104週時に各群の生存動物うち雌雄10匹から同様に採血し、以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ活性(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ活性(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性(AST)、クレアチンホスホキナーゼ活性(CPK)、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ活性(GGT)、尿素、クレアチニン、グルコース、総ビリルビン、総コレステロール、総トリグリセライド、総蛋白、蛋白電気泳動画分、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

回復試験群については、開始後5週および11週時に全生存動物から同様に採血し、以下の項目を検査した。

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、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ、総コレステロール、総トリグリセライド、総蛋白、蛋白電気泳動画分

10000/5000ppm投与群では、雄および雌でそれぞれ投与26および52週時に $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼの増加、雌雄で26週時および雌で52週時にアルカリホスファターゼの増加、雄で26週時にアスパラギン酸およびアラニンアミノトランスフェラーゼの増加、雌雄でコレステロールの増加、雄で26週時および52週時および雌で52週時に血漿トリグリセリドの減少、26週時および52週時に尿素的増加、 $\alpha$ -2および $\beta$ グロブリンの増加を伴った総血漿蛋白の増加およびA/G比の減少が認められた。

回復試験期間は、血漿酵素活性に対する影響に関連した変化は認められないか、あるいは軽減した。また、雄ではコレステロール濃度の軽度の増加が認められたが雌では認められなかった。さらに、雌ではトリグリセライドの減少が認められたが雄では認められなかった。また、血漿蛋白濃度の高値およびA/G比の低値は認められなかった。

500ppm投与群では、投与26および52週時に雄でコレステロール濃度の高値が認められた。投与26週時には雄で血漿蛋白濃度に軽度の増加、雌でA/G比の低値が認められた。回復試験期間中にはこれらの変化は認められなかった。投与78週および104週時には血漿尿素濃度の高値が認められた。50および20ppm投与群では、投与に関連した変化は認められなかった。

次頁に統計学的有意差の認められた項目を示した。

血液生化学的検査(1)

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		20	50	500	10000 /5000	20	50	500	10000 /5000
毒性試験群 26週	ALP				↑ 265				↑ 123
	ALT				↑ 527	↓ 70	↓ 68	↓ 46	↓ 50
	AST				↑ 142	↓ 72	↓ 72	↓ 56	↓ 46
	GGT				↑ 10000				↑ 4900
	総ビリルビン				↑ 2050				
	グルコース	↑ 113		↑ 120					↓ 84
	尿素				↑ 117	↓ 87	↓ 90		
	クレアチニン			↓ 92	↓ 95			↓ 91	↓ 86
	総コレステロール			↑ 122	↑ 344				↑ 234
	総トリグリセリド				↓ 54				↑ 147
	総蛋白	↑ 103	↑ 103	↑ 106	↑ 112				↑ 113
	アルブミン					↓ 89		↓ 81	
	α <sub>1</sub> -グロブリン					↑ 130		↑ 120	↑ 140
	α <sub>2</sub> -グロブリン	↑ 117	↑ 117	↑ 120	↑ 180			↑ 115	↑ 133
	β-グロブリン				↑ 118			↑ 127	↑ 133
	γ-グロブリン				↓ 50	↓ 50	↓ 50		↓ 50
	A/G比				↓ 78	↓ 82		↓ 73	↓ 73
	ナトリウム		↑ 101		↑ 101	↓ 99			↑ 101
	カリウム				↑ 112				
	塩素	↑ 101		↓ 98	↓ 97	↓ 98		↓ 98	↓ 97
カルシウム	↑ 103	↑ 103	↑ 103	↑ 107				↑ 107	
無機リン	↑ 105	↑ 114	↑ 109		↑ 113	↑ 119	↑ 119	↑ 131	
毒性試験群 52週	ALP				↑ 138		↓ 78		
	ALT								↓ 51
	AST								↓ 48
	CPK						↓ 57		↓ 67
	GGT				↑ 1900				↑ 2500
	総ビリルビン	↑ 200	↑ 200	↑ 200	↑ 200			↓ 0	↓ 0
	グルコース	↑ 115	↑ 119	↑ 124	↑ 89	↑ 115	↑ 122	↑ 117	
	尿素				↑ 145				↑ 115
	総コレステロール			↑ 120	↑ 212				↑ 164
	総トリグリセリド				↓ 33			↓ 73	↓ 67
	総蛋白				↑ 106				↑ 108
	アルブミン				↓ 79	↑ 120	↑ 117	↑ 117	
	α <sub>1</sub> -グロブリン	↓ 79	↓ 71	↓ 79	↑ 114	↓ 71	↓ 79	↓ 64	
	α <sub>2</sub> -グロブリン	↑ 120	↑ 120	↑ 120	↑ 180				↑ 117
	β-グロブリン		↑ 114	↑ 114	↑ 136				↑ 119
	γ-グロブリン				↓ 50				
	A/G比				↓ 60	↑ 130	↑ 130	↑ 130	
ナトリウム	↑ 101	↑ 101	↑ 101	↑ 101		↑ 102	↑ 102		
カリウム				↑ 104			↑ 103		
無機リン			↑ 104						

統計手法：Studentのt検定  
 ↓：p<0.05, ↑↑：p<0.01, ↑↑↑：p<0.001 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液生化学的検査(2)

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)				投与量 (ppm)			
		20	50	500	10000 /5000	20	50	500	10000 /5000
発癌試験群 78週	ALP					↓ 115			
	ALT			↓ 71				↓ 73	
	AST	↑ 129		↓ 78				↓ 71	
	GGT		↑ 167	↑ 200				↑ 150	
	グルコース					↑ 114	↑ 125		
	尿素							↑ 114	
	総コレステロール					↓ 80	↓ 87	↓ 89	
	総トリグリセライド					↓ 73		↓ 49	
	アルブミン					↓ 95			
	α <sub>1</sub> -グロブリン	↑ 114							
	α <sub>2</sub> -グロブリン							↑ 114	
	β-グロブリン		↑ 120			↑ 114	↑ 114		
	A/G比					↓ 90	↓ 90	↓ 90	
	ナトリウム	↑ 101	↑ 101				↑ 101		
	塩素	↑ 101	↑ 103			↑ 103	↑ 105		
カルシウム	↑ 103					↑ 104			
無機リン			↑ 106	↑ 107		↑ 112			
発癌試験群 104週	CPK						↑ 69		
	GGT			↑ 375					
	グルコース						↑ 117		
	尿素			↑ 170			↑ 121	↑ 115	
	クレアチニン			↑ 186				↓ 92	
	α <sub>2</sub> -グロブリン					↓ 88			
	γ-グロブリン	↓ 67		↓ 67					
	A/G比					↑ 111			
	ナトリウム		↑ 102	↑ 101			↓ 99		
	カリウム						↑ 109		
カルシウム			↑ 109						
無機リン			↑ 126						
回復試験群 6週	ALP			↓ 84					↓ 72
	ALT						↓ 81	↓ 81	↓ 70
	AST					↑ 81	↓ 75	↓ 72	↑ 300
	GGT				↑ 550				
	総コレステロール				↑ 184				
	総トリグリセライド				↑ 172				↓ 54
	総蛋白				↑ 103				↓ 95
	アルブミン	↓ 91		↓ 91	↓ 79		↓ 93		↓ 91
	α <sub>1</sub> -グロブリン	↑ 145		↑ 155	↑ 155		↑ 125		↑ 133
	α <sub>2</sub> -グロブリン			↓ 60	↑ 140	↓ 80	↑ 120		↓ 80
	β-グロブリン	↓ 88		↓ 81					↓ 87
	γ-グロブリン			↑ 150					↓ 80
A/G比	↓ 80			↓ 60		↓ 85			

統計手法：Studentのt検定 ↓：p<0.05, ↑↓：p<0.01, ↑↑↓：p<0.001  
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

血液生化学的検査(3)

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	20	50	500	10000/ 5000	20	50	500
回復試験群 1 2 週	ALP			↓ 83	↓ 80				
	GGT				↑ 300				↑ 150
	総コレステロール				↑ 159				
	総トリグリセリド	↑ 133		↑ 152	↑ 158	↑ 141			
	総蛋白							↓ 93	
	アルブミン			↓ 91	↓ 88			↓ 88	
	α <sub>1</sub> -グロブリン			↑ 120	↑ 130				
	α <sub>2</sub> -グロブリン				↑ 114				
	β-グロブリン	↓ 94		↓ 88				↓ 94	
	A/G比			↓ 90	↓ 70		↓ 92		

統計手法：Studentのt検定 ↓↓：p<0.05, ↓↓：p<0.01, ↓↓：p<0.001  
表中の数値は対照群に対する変動率(%)

尿検査；毒性試験群については、投与13、26および52週時に、発癌性試験群については78および104週時に尿試料を採取し、外観、尿量、pH、比重、ポルホビリノーゲン、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血および沈渣について検査した。また、ポルホビリノーゲンについては10および14週時にも同様に検査した。

回復試験群は、7および12週時に尿試料を採取し、外観、尿量、pH、比重、蛋白およびポルホビリノーゲンについて検査した。なお、回復試験12週時に採取した尿試料は量が少なかったため回復試験13週日に全雌動物から採取した尿試料について再度検査を行った。

10000/5000ppm群雌雄では、投与後10、14、26および52週時にポルホビリノーゲン濃度の増加が認められた。回復試験ではポルホビリノーゲン濃度は対照群と比べ差は認められなかった。

また、投与26週日の雄、52週日の雌雄で蛋白濃度の増加が認められ、回復試験期間においても増加が認められた。

投与26週時には、雄で暗褐色尿、雌で暗黄色尿が認められたが投与52週時には、尿の色調変化は認められなかった。

500ppm投与群では、投与26週時の雄ならびに52週時の雌雄動物で尿中蛋白濃度の高値が認められ、これらの動物は、回復試験期間中でも高値を示した。尿中のポルホビリノーゲン濃度に関しては投与による影響が認められなかった。

(申請者注：蛋白濃度について52週時の雌については統計学的有意差は認められず、変化の程度も僅かであるため偶発的変化と考えた。また、78習字の雄では統計学的に有意な増加が認められ投与の影響と考えた。(次頁下表))

50ppmおよび20ppm投与群では、投与に関連した変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

以下に統計学的有意差の認められた項目を示した。

検査時期	性別 投与量 (ppm)	雄				雌			
		20	50	500	10000/ 5000	20	50	500	10000/ 5000
毒性試験群 10週目	総PBG排泄量				↑16700				↑28800
	PBG濃度				↑12005				↑24638
毒性試験群 14週目	総PBG排泄量				↑4400				↑8700
	PBG濃度				↑4354				↑12760
毒性試験群 26週目	尿量						↑200	↑150	
	比重					↓99	↓98		
	総PBG排泄量				↑6000				
	PBG濃度				↑5771				↑266
毒性試験群 52週目	尿量								↓50
	pH	↓103						↑107	
	比重	↓99					↓98		
	総PBG排泄量				↑2800				
回復試験群 7週目	PBG濃度				↓92				
	尿量								
回復試験群 12週目	pH				↓89				
	比重				↓99				
	総PBG排泄量			↓79		↑132			
発癌試験群 78週目	pH		↓92	↓94				↓89	
	総PBG排泄量				↑200				
発癌試験群 104週目	pH			↓91					
	総PBG排泄量				↑200				
	PBG濃度				↑142				

統計手法：Studentのt検定 ↑↓:P<0.05 ※:P<0.01 ※※:P<0.005

PBGは、ポルホビリノーゲン、表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

尿中蛋白濃度(mg/dl)の平均値

検査時期	性別 投与量(ppm)	雄					雌				
		0	20	50	500	10000/ 5000	0	20	50	500	10000/ 5000
検査時期	毒性試験 26週	128	149	181	**340	**1000	10	10	10	10	**268
	毒性試験 52週	250	265	375	**956	**1000	10	217	28	226	**1000
	回復試験 7週	327	400	478	**856	**1000	149	160	278	394	**560
	回復試験 12週	150	310	*488	**656	**1000	225	156	271	121	643
	発癌試験 78週	466	520	430	*680	-	320	214	296	187	-
	発癌試験 104週	870	990	850	1000	-	890	507	810	830	-

個体別の測定値が≥1000mg/dlの場合、これを1000mg/dlとして群平均を計算した。  
\*:p<0.05, \*\*:p<0.01 (non-parametric Dunnett's test) (申請者実施)



甲状腺ホルモン；投与1、5および13週時に毒性試験群の全生存動物から血液試料を採取し、投与26週および52週時には血液生化学的検査用の血液試料を採取しなかった動物から血液試料を採取し、さらに回復試験群については4、8および12週時に全生存動物から同様に血液試料を採取し以下の項目について検査を行った。

トリヨードチロニン濃度(T<sub>3</sub>)、チロキシン濃度(T<sub>4</sub>)および甲状腺刺激ホルモン(TSH)

10000/5000ppm投与群では、雌雄で投与1週時にT<sub>4</sub>およびT<sub>3</sub>濃度の低値およびTSH濃度の高値が認められた。投与5週時にもTSH濃度の高値が認められ、投与13および26週時にはTSH濃度のきわめて軽度の増加が認められた。投与52週時あるいは回復試験期間中のTSH濃度には、対照群と比較して差が認められなかった。また、投与5週時以降のT<sub>3</sub>およびT<sub>4</sub>濃度には対照群と比較して差が認められなかった。

500ppm投与群では、雄で5週時にTSH濃度の高値が認められた。雌における変化は軽度であり統計学的有意差は認められなかった。

50ppmおよび20ppm投与群では、投与に関連した変化は認められなかった。以下に対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を示した。

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	20	50	500	10000/ 5000	20	50	500
毒性試験群 1週目	T <sub>3</sub>		↑126	↑126	↑121	↓79	↓91	↓88	↓84
	T <sub>4</sub>		↑115	↑113	↑118	↓52			↓68
	TSH					↑458			↑322
毒性試験群 5週目	T <sub>3</sub>		↑123	↑124	↑118		↑126	↑134	↑121
	T <sub>4</sub>		↑120	↑116	↑154			↑164	↑194
	TSH				↑156	↑238			↑231
毒性試験群 13週目	T <sub>3</sub>		↑122	↑133	↑136	↑166	↑118		↑156
	T <sub>4</sub>				↑137				
	TSH		↑141			↑166			↑128
毒性試験群 26週目	T <sub>3</sub>					↑138		↓73	
	T <sub>4</sub>				↑118	↓80			↑134
	TSH					↑131			↑162
毒性試験群 52週目	T <sub>3</sub>		↑129	↑130	↑139	↑153			
	T <sub>4</sub>			↑78			↑149	↑167	↑157
回復試験群 4週目	T <sub>4</sub>				↑121			↓71	
回復試験群 8週目	T <sub>3</sub>		↑133			↑132			
	T <sub>4</sub>				↑139		↑137		↑151
回復試験群 12週目	T <sub>3</sub>			↑123		↑119			
	T <sub>4</sub>		↓77		↓77	↓66		↑200	↑178
	TSH		↓66	↓56		↓83			

統計手法：Studentのt検定    ↓↓:P<0.05    ↓↑:P<0.01    ↑↓:P<0.005

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

眼科学的検査；投与開始前に全動物について、24週間および50週間投与後に毒性試験群の全生存動物を対象として検眼鏡を用いて検査した。投与24週あるいは50週時の検査において検体投与に起因する眼の異常は認められなかった。

臓器重量；投与後52週時、104週時および回復試験13週時の中間屠殺動物または試験終了時の全生存動物を対象として解剖し、以下の臓器の重量を測定した。

脳、下垂体、副腎、心臓、腎臓、肝臓、肺及び気管支、卵巣、脾臓、精巣、胸腺、上皮小体を含む甲状腺及び頸管を含む子宮

10000/5000ppm群の52週時における雌雄では、対照群と比較して、肝、腎および甲状腺重量の高値が認められた。さらに、脾重量の軽度の増加および胸腺重量の軽度の減少も認められた。13週間の回復試験期間後にも雌雄において腎および肝重量の高値、雄において甲状腺および脾重量の軽度の高値が認められたが腎、肝および甲状腺重量には回復の徴候が認められた。

500ppm群の投与52週時および104週時において雌雄動物で肝重量の増加が認められ、雄のみで腎および甲状腺重量の増加が認められた。

13週間の回復試験期間後には雄のみで腎重量の軽度の増加が認められたが投与52週時に比べ対照群との差は減少した。104週間の発癌性試験群においても雌雄で肝重量の増加、雄で腎および甲状腺重量の増加が、認められた。50ppm以下の投与群では投与に関連した変化は認められなかった。

以下に対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を示した。

臓器重量(1)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		20	50	500	10000/5000	20	50	500	10000/5000
毒性試験群 52週	脳	対体重比			↓ 95	↑ 133				↑ 121
	下垂体	重量			↑ 125					
	副腎	重量						↑ 114		
		対体重比				↑ 141				↑ 133
	心臓	対体重比				↑ 126				↑ 127
	腎臓	重量			↑ 116	↑ 126				↑ 116
		対体重比			↑ 110	↑ 175				↑ 142
	肝臓	重量			↑ 131	↑ 143			↑ 123	↑ 177
		対体重比			↑ 123	↑ 198			↑ 127	↑ 216
	肺	重量				↓ 81				↓ 91
		対体重比			↓ 90	↑ 111				↑ 111
脾臓	対体重比				↑ 154				↑ 127	
精巣	対体重比				↑ 138					
胸腺	重量				↓ 63					
甲状腺	重量			↑ 156	↑ 150					
	対体重比			↑ 147	↑ 206				↑ 154	

統計手法：Behrens-FisherまたはDunnettの検定(Bartlettの検定で分散の均一性を評価)  
 ↓：p<0.05 ↑：p<0.01 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

臓器重量(2)

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		20	50	500	10000/ 5000	20	50	500	10000/ 5000
発癌試験群 104週	脳	対体重比		↓ 96			↓ 105		↑ 106	
	心臓	対体重比							↑ 107	
	腎臓	重量			↑ 120					↑ 111
		対体重比			↑ 127					
	肝臓	重量			↑ 121					↑ 110
		対体重比								
	肺	重量							↓ 91	
卵巣	対体重比						↓ 30 ↓ 32			
甲状腺	重量			↑ 136						
回復試験群 13週	脳	対体重比				↑ 125				↑ 120
	下垂体	重量				↓ 55	↓ 80			↓ 130
		対体重比				↓ 67	↓ 76			↓ 161
	副腎	対体重比					↓ 79			
	心臓	対体重比				↑ 118				
	腎臓	重量					↑ 120			↑ 120
		対体重比			↑ 105		↑ 151			
	肝臓	対体重比				↑ 137				↑ 118
	肺	対体重比				↑ 118				
	脾臓	重量					↑ 132			
		対体重比					↑ 167			↑ 120
精巣	重量					↓ 80				
胸腺	重量					↓ 67				
子宮	対体重比								↑ 147	
甲状腺	対体重比					↑ 136				

統計手法：Behrens-FisherまたはDunnetの検定(Bartlettの検定で分散の均一性を評価)  
 ↓ : p<0.05   ↑ : p<0.01   表中の数値は対照群に対する変動率 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

肉眼的病理検査；屠殺動物および死亡動物について剖検を行った。

10000/5000ppm 投与群において、52週間投与後の肉眼的病理検査では、雄に腎、肝、精巣ならびに腸間膜、下顎および脾リンパ節の暗色化、肝の暗色化、腫大ならびに表面粗造が認められ、雌では、腎、肝および腸間膜リンパ節の暗色化ならびに肝の腫大が認められた。

13週間の回復試験期間後にはこれらの変化の発現頻度にかかなりの減少が認められたが雌雄いずれの動物にも腎の暗色化が依然として認められ、数匹の雄では肝の腫大、表面粗造、精巣の暗色化あるいは腸間膜および胸腺リンパ節の暗色化が認められた。また軽度の顆粒腎発現頻度の増加および精巣腫瘍発現頻度の低下が認められた。

500ppm 投与群において、104週間投与後に屠殺した雄数匹に顆粒腎および嚢胞腎が認められた。52週間投与後に屠殺した雄2匹では肝の腫大が認められた。

13週間の回復試験期間後の雄1匹でも同様な変化が認められた。

50及び20ppm 投与群では投与に関連した変化は認められなかった。

次の表に対照群と比較して統計学的有意差の認められた所見を示した。

肉眼的病理検査

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		20	50	500	10000/5000	20	50	500	10000/5000
毒性試験群 52週目	腎	暗色化				↓ 9/10				↓ 8/10
	腸間膜リンパ節	暗色化				↓ 6/10				
	肝	暗色化 腫大 表面粗造				↓ 10/10 ↓ 6/10 ↓ 8/10				↑ 7/10
回復試験群 13週目	腎	表面顆粒状化				↑ 4/9				
	精巣	腫瘍				↓ 0/9				
途中屠殺及び死亡動物	眼	混濁				↑ 5/27				
	腎	表面顆粒状化				↑ 18/27				
	肝	表面粗造						↓ 4/8	↓ 2/13	
	脾	腫大						↓ 0/8		
	皮膚	白色化	↑ 11/24	↑ 8/18						
発癌試験群 104週目	脳	腫大変形						↓ 6/39		
	腎	表面顆粒状化嚢胞形成				↑ 12/23 ↑ 5/23				
	下垂体	腫瘍				↓ 4/23				

統計手法：Fisher の直接確率法    ↓: P < 0.05    ↓↓: P < 0.01    ↓↓↓: P < 0.001  
表中の数値は検査動物数当たりの発現頻度で表示した。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施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成し、検鏡した。

副腎、脾、大動脈-胸部、下垂体、脳、前立腺、盲腸、直腸、結腸、唾液腺-左下顎、十二指腸、坐骨神経-左、精巣上体、精囊、眼および視神経-左、骨格筋-大腿、大腿骨および脊髄、皮膚、心臓、脊髄、回腸、脾、空腸、胸骨および骨髄、腎、胃、肝、精巣、肺および気管支主幹、胸腺、リンパ節-下顎、上皮小体を含む甲状腺、腸間膜、気管、乳腺-尾側、膀胱、食道、頸管を含む子宮、卵巣、膈

#### [非腫瘍性病変]

認められた主な非腫瘍性病変を表1に示した。

10000/5000ppm投与群において、52週間投与後の雌雄で腎の皮質尿細管上皮細胞に褐色色素沈着の発現頻度の増加、雄で慢性進行腎症の強さの増加が認められ、雌では慢性進行性腎症の発現頻度の増加が認められた。これらの変化は有意差はなかったが13週間の回復試験期間終了後にも認められた。

雌雄動物の肝臓でクッパー細胞および肝細胞の色素沈着、門脈域加齢性変化、小葉中心性肝細胞肥大が52週時に認められた。さらに、雄ではジヌソイドの鬱血が認められた。13週間の回復試験期間終了後では雄にクッパー細胞色素沈着および小葉中心性肝細胞肥大、雌雄に門脈域加齢性変化、マクロファージ色素沈着が認められた。52週間投与後あるいは13週間の回復試験期間後の雌雄で胸骨および大腿の骨髄に褐色色素沈着が認められた。52週間投与後では雌雄動物のリンパ節および雄の精巣でマクロファージの色素沈着が認められた。これらの変化は13週間の回復試験期間後にも認められた。52週間投与後の雌雄動物の甲状腺では有意差はないが濾胞上皮細胞過形成が認められ、雌では濾胞上皮細胞肥大が認められた。これらの甲状腺における変化は13週間の回復試験期間後にも認められた。

500ppm 投与群において52週間投与後の雌雄動物および104週間投与後の雌で腎の皮質尿細管上皮に褐色色素の沈着が認められた。52週間または104週間投与後の雄においては、慢性進行性腎症の症状の増加が認められた。

52週間または104週間投与後の雌雄動物の肝で門脈域加齢性変化および肝細胞色素沈着が認められた。さらに52週間投与後の雄では小葉中心性肝細胞肥大およびジヌソイドの鬱血が認められた。13週間の回復試験期間後には雌雄に肝細胞色素沈着が認められた。

50ppm 投与群において52週間投与後に屠殺した動物で雌雄とも腎の皮質尿細管上皮に褐色色素沈着が認められた。雄では肝の門脈域加齢性変化およびジヌソイド鬱血が高頻度で認められた。13週間の回復試験期間後にはこれらの変化は認められなかった。また、雌雄数匹で肝細胞の色素沈着が認められた。

20ppm投与群では投与に関連した変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[腫瘍性病変]

認められた主な腫瘍性病変を表2に示した。

投与に関連すると考えられる腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果から、ラットに検体を混餌投与した結果、10000/5000ppm投与群では、造血系、腎、甲状腺、ヘム合成および肝代謝に顕著な影響が認められた。

500ppm投与群においても軽度であるが同様の変化が認められ、この濃度は最大耐量(MTD)に近いと考えられた。

10000/5000および500ppm投与群で認められた変化は、52週間投与後に13週間の回復期間をおくと部分的に回復することが確認された。

50ppm投与群では、腎および肝に軽度の病理組織学的変化が認められたが、52週間投与後に13週間の回復期間をおくと完全に回復することが確認された。

20ppm投与群では、投与に関連した変化は認められなかった。

したがって、無毒性量は、20ppm(雄 0.8mg/kg/day、雌 1.0mg/kg/day)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バイエルクロップサイエンス株式会社にある

表2 主たる腫瘍性病変発生率(1)

	性別	投与量(ppm)	雄				雌			
			0	20	50	500	0	20	50	500
途中死亡	副腎髓質	検査動物数	24	24	18	27	5	11	8	13
		褐色細胞腫 (良性)	4 / 24	2 / 24	1 / 18	5 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	1 / 13
	脳	橋突起膠細胞腫 (悪性)	0 / 24	0 / 24	0 / 18	0 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	1 / 13
	回腸	癌 (悪性)	0 / 22	0 / 22	1 / 18	0 / 27	0 / 5	0 / 10	0 / 7	0 / 11
	肝臓	肝細胞癌腫 (良性)	0 / 24	0 / 24	1 / 18	0 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 13
	乳腺	線維上皮腫瘍 (良性)	0 / 24	0 / 24	1 / 18	1 / 27	1 / 5	1 / 11	0 / 8	1 / 13
		腺癌 (悪性)	0 / 24	0 / 24	0 / 18	0 / 27	0 / 5	0 / 11	1 / 8	0 / 13
	脾臓	島細胞癌腫 (良性)	2 / 24	0 / 24	1 / 18	1 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 12
		島細胞癌 (悪性)	0 / 24	0 / 24	1 / 18	0 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 12
	脳下垂体	腺腫 (良性)	8 / 24	5 / 24	5 / 18	9 / 27	1 / 5	1 / 11	5 / 8	4 / 12
		癌 (悪性)	1 / 24	0 / 24	0 / 18	0 / 27	1 / 5	1 / 11	0 / 8	0 / 12
	胸部脊髄中枢	星状膠細胞腫 (悪性)	0 / 24	1 / 24	0 / 18	0 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 13
	精巣	間質細胞腫 (良性)	22 / 24	22 / 23	17 / 18	26 / 27	-	-	-	-
	甲状腺	濾胞腺腫 (良性)	0 / 24	0 / 23	0 / 18	2 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 13
		濾胞癌 (悪性)	0 / 24	0 / 23	0 / 18	1 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 13
	子宮	乳頭状濾胞腺腫 (良性)	5 / 24	4 / 23	1 / 18	5 / 27	0 / 5	2 / 11	1 / 8	0 / 13
		基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	1 / 5	2 / 11	0 / 8	2 / 13
	腹部	中皮腫 (悪性)	-	2 / 2	3 / 3	1 / 1	-	0 / 1	0 / 1	-
		肉腫 (悪性)	-	0 / 2	0 / 3	0 / 1	-	0 / 1	1 / 1	-
	陰核腺	腺腫 (良性)	-	-	-	-	-	0 / 1	-	1 / 2
		癌 (悪性)	-	-	-	-	-	1 / 1	-	1 / 2
	造血組織	巨大顆粒リンパ球白血病 (悪性)	14 / 24	15 / 24	7 / 18	10 / 27	4 / 5	6 / 11	0 / 8	5 / 13
		悪性リンパ腫 (悪性)	0 / 24	0 / 24	0 / 18	1 / 27	0 / 5	0 / 11	0 / 8	0 / 13
	乳腺	線維上皮腫瘍 (良性)	2 / 3	0 / 3	-	0 / 1	1 / 1	1 / 2	2 / 2	1 / 2
	その他	由来不明癌 (悪性)	1 / 1	-	-	-	-	-	-	-
	骨格筋	骨肉腫 (悪性)	-	1 / 3	-	1 / 1	-	-	0 / 1	-
	包皮腺	腺腫 (良性)	-	1 / 1	-	0 / 1	-	-	-	-
	皮膚	基底細胞腫 (良性)	0 / 9	0 / 8	0 / 6	2 / 15	0 / 1	-	-	0 / 3
		線維腫 (良性)	5 / 9	0 / 8	0 / 6	3 / 15	0 / 1	-	-	0 / 3
		角化棘細胞腫 (良性)	0 / 9	0 / 8	1 / 6	0 / 15	0 / 1	-	-	0 / 3
		乳頭腫 (良性)	1 / 9	0 / 8	0 / 6	0 / 15	0 / 1	-	-	0 / 3
		毛嚢性皮膚腫瘍 (良性)	0 / 9	0 / 8	0 / 6	1 / 15	0 / 1	-	-	0 / 3
		肉腫 (悪性)	0 / 9	2 / 8	1 / 6	1 / 15	0 / 1	-	-	2 / 3
		外耳道皮脂腺癌 (悪性)	0 / 9	0 / 8	0 / 6	1 / 15	0 / 1	-	-	0 / 3
尾		乳頭腫 (良性)	0 / 1	0 / 1	1 / 1	-	-	-	-	
		検査動物数	26	26	32	23	45	39	42	37
104週屠殺		副腎皮質	皮質腺腫 (良性)	0 / 26	-	0 / 1	0 / 23	1 / 45	0 / 1	0 / 1
	褐色細胞腫 (良性)		2 / 26	-	1 / 1	6 / 23	1 / 45	1* / 1	0 / 1	1 / 37
	脳	褐色細胞腫 (悪性)	0 / 26	-	0 / 1	0 / 23	0 / 45	0 / 1	1* / 1	0 / 37
	空腸	橋突起膠細胞腫 (悪性)	0 / 26	0 / 2	0 / 3	0 / 23	1 / 45	0 / 6	0 / 2	0 / 37
		癌 (悪性)	1 / 26	0 / 1	-	0 / 23	0 / 45	-	-	0 / 37
	肝臓	肝細胞癌腫 (良性)	0 / 26	1 / 26	1 / 32	0 / 23	0 / 45	0 / 39	0 / 42	0 / 37
	脾	腺腫 (良性)	0 / 26	1 / 26	0 / 32	1 / 23	0 / 45	0 / 39	1 / 42	1 / 37
		線維上皮腫瘍 (良性)	0 / 26	0 / 1	0 / 2	0 / 23	5 / 45	1 / 4	4* / 9	6 / 37
	卵巣	セルトリ細胞腫 (良性)	-	-	-	-	0 / 45	0 / 7	0 / 3	1 / 37
	脾臓	島細胞癌腫 (良性)	0 / 26	1 / 2	0 / 1	0 / 23	1 / 45	-	-	0 / 37
		島細胞癌 (悪性)	0 / 26	1 / 2	0 / 1	1 / 23	1 / 45	-	-	0 / 37
	脳下垂体	腺腫 (良性)	10 / 26	7* / 8	8* / 10	5 / 22	18 / 42	18*** / 20	16** / 20	13 / 37
		血管肉腫 (悪性)	0 / 26	1 / 18	0 / 16	0 / 23	0 / 45	-	0 / 1	0 / 37
	精巣	間質細胞腫 (良性)	25 / 26	25 / 26	29 / 29	23 / 23	-	-	-	-
	甲状腺	濾胞腺腫 (良性)	1 / 26	0 / 2	-	0 / 23	0 / 45	0 / 3	0 / 1	0 / 37
		濾胞癌 (悪性)	0 / 26	0 / 2	-	1 / 23	0 / 45	0 / 3	0 / 1	0 / 37
		乳頭状濾胞腺腫 (良性)	6 / 26	1 / 2	-	8 / 23	4 / 45	1 / 3	1 / 1	2 / 37
		濾胞癌細胞癌 (悪性)	1 / 26	0 / 2	-	0 / 23	1 / 45	2** / 3	0 / 1	0 / 37
	子宮頸部	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	1 / 45	0 / 4	1 / 3	0 / 37
		腺癌 (悪性)	-	-	-	-	9 / 45	4 / 15	11** / 18	4 / 37
	子宮	腺癌 (悪性)	-	-	-	-	1 / 45	0 / 15	0 / 18	1 / 37
		腺腫 (良性)	-	-	-	-	0 / 1	-	-	1 / 1
	脚部	血管腫 (良性)	1 / 1	0 / 1	-	0 / 1	-	-	-	-
		扁平上皮癌 (悪性)	0 / 1	1 / 1	-	-	-	-	-	-
	造血組織	巨大顆粒リンパ球白血病 (悪性)	4 / 26	7*** / 8	6*** / 6	5 / 23	2 / 45	-	1 / 1	0 / 37
		細胞線性肉腫 (悪性)	0 / 26	1 / 8	0 / 6	0 / 23	0 / 45	-	0 / 1	0 / 37
	乳腺	線維上皮腫瘍 (良性)	0 / 3	-	0 / 1	0 / 1	4 / 5	4 / 9	2 / 8	1 / 4
		腺癌 (悪性)	0 / 3	-	0 / 1	0 / 1	0 / 5	1 / 9	0 / 8	0 / 4
	皮膚	検査動物数	26	26	32	23	45	39	42	37
		基底細胞腫 (良性)	1 / 9	0 / 13	0 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	1 / 4
		線維腫 (良性)	0 / 9	3 / 13	3 / 13	1 / 7	1 / 2	0 / 4	1 / 3	0 / 4
		角化棘細胞腫 (良性)	2 / 9	4 / 13	0 / 13	3 / 7	0 / 2	1 / 4	0 / 3	0 / 4
		脂肪腫 (良性)	0 / 9	1 / 13	0 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	1 / 3	0 / 4
		乳頭腫 (良性)	0 / 9	0 / 13	1 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	0 / 4
皮膚腺腫 (良性)		0 / 9	1 / 13	1 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	0 / 4	
毛嚢性皮膚腫瘍 (良性)		0 / 9	0 / 13	0 / 13	1 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	0 / 4	
基底細胞癌 (悪性)		0 / 9	0 / 13	1 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	0 / 4	
脂肪肉腫 (悪性)		0 / 9	0 / 13	0 / 13	1 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	0 / 4	
肉腫 (悪性)		2 / 9	0 / 13	0 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	2 / 4	
扁平上皮癌 (悪性)		0 / 9	1 / 13	0 / 13	0 / 7	0 / 2	0 / 4	0 / 3	0 / 4	
尾		乳頭腫 (良性)	2 / 2	0 / 2	1 / 1	1 / 1	-	-	-	-

統計手法: Fisherの直接確率計算法(片側) \* p<0.05 \*\*<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バイエルクロップサイエンス株式会社にある

表2 主たる腫瘍性病変発生率(2)

	性別	雄				雌				
		投与量(ppm)	0	20	50	500	0	20	50	500
		検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	副腎皮質	皮質腫瘍 (良性)	0 / 50	0 / 24	0 / 19	0 / 50	1 / 50	0 / 12	0 / 9	1 / 50
		褐色細胞腫 (良性)	6 / 50	2 / 24	2 / 19	11 / 50	1 / 50	1 / 12	0 / 9	2 / 50
	副腎髄質	褐色細胞腫 (悪性)	0 / 50	0 / 24	0 / 19	0 / 50	0 / 50	0 / 12	1 / 9	0 / 50
		稀突起膠細胞腫 (悪性)	0 / 50	0 / 26	0 / 21	0 / 50	1 / 50	0 / 17	0 / 10	1 / 50
	腎	癌 (悪性)	0 / 48	0 / 22	1 / 18	0 / 50	0 / 50	0 / 10	0 / 8	0 / 48
		癌 (悪性)	1 / 49	0 / 23	0 / 18	0 / 48	0 / 50	0 / 11	0 / 7	0 / 49
	肝臓	肝細胞腫瘍 (良性)	0 / 50	1 / 50	2 / 50	0 / 50	0 / 50	0 / 50	0 / 50	0 / 49
		腺腫 (良性)	0 / 50	1 / 50	0 / 50	1 / 50	0 / 50	0 / 50	1 / 50	1 / 50
	乳腺	線維上皮腫瘍 (良性)	0 / 50	0 / 25	1 / 20	1 / 50	6 / 50	2 / 15	4 / 17	7 / 50
		腺癌 (悪性)	0 / 50	0 / 25	0 / 20	0 / 50	0 / 50	0 / 15	1 / 17	0 / 50
	脾臓	セルトリ細胞腫瘍 (良性)	-	-	-	-	0 / 50	0 / 18	0 / 11	1 / 49
		高細胞腺腫 (良性)	2 / 50	1 / 26	1 / 19	1 / 50	1 / 50	0 / 11	0 / 8	0 / 49
	脳下垂体	腺細胞癌 (悪性)	0 / 50	1 / 26	1 / 19	1 / 50	1 / 50	0 / 11	0 / 8	0 / 49
		腺腫 (良性)	18 / 50	12 / 32	13 / 28	11 / 49	19 / 47	19 / 31	21 / 28	17 / 48
	胸部脊髄中核	癌 (悪性)	1 / 50	0 / 32	0 / 28	0 / 49	1 / 47	1 / 31	0 / 28	0 / 48
		星状膠細胞腫 (悪性)	0 / 50	1 / 24	0 / 18	0 / 50	0 / 50	0 / 11	0 / 8	0 / 49
	脾臓	血管肉腫 (悪性)	0 / 50	1 / 42	0 / 34	0 / 50	0 / 50	0 / 11	0 / 9	0 / 49
		間質細胞腫瘍 (良性)	47 / 50	47 / 50	46 / 47	49 / 50	-	-	-	-
	甲状腺	濾胞腺腫 (良性)	1 / 50	0 / 25	0 / 18	2 / 50	0 / 50	0 / 14	0 / 9	0 / 50
		濾胞癌 (悪性)	0 / 50	0 / 25	0 / 18	2 / 50	0 / 50	0 / 14	0 / 9	0 / 50
乳頭状濾胞腺腫 (良性)		11 / 50	5 / 25	1 / 18	8 / 50	4 / 50	3 / 14	2 / 9	2 / 50	
分泌細胞腺腫 (悪性)		1 / 50	0 / 25	0 / 18	0 / 50	1 / 50	2 / 14	0 / 9	0 / 50	
子宮頸部	基質ポリープ (良性)	-	-	-	-	1 / 50	0 / 15	1 / 11	0 / 50	
	癌 (悪性)	-	-	-	-	10 / 50	6 / 25	11 / 26	6 / 50	
胆臓	腺癌 (悪性)	-	-	-	-	1 / 50	0 / 26	0 / 26	1 / 50	
	中皮腫 (悪性)	0 / 1	2 / 2	3 / 3	1 / 1	-	0 / 1	0 / 1	-	
陰核腺	肉腫 (悪性)	0 / 1	0 / 2	0 / 3	0 / 1	-	0 / 1	1 / 1	-	
	癌 (悪性)	-	-	-	-	0 / 1	1 / 1	-	1 / 3	
脚部	血管腫 (良性)	1 / 1	0 / 1	0 / 1	0 / 1	-	-	-	-	
	扁平上皮癌 (悪性)	0 / 1	1 / 1	0 / 1	0 / 1	-	-	-	-	
造血組織	巨大顆粒リンパ球白血病 (悪性)	18 / 50	22 / 32	13 / 24	15 / 50	6 / 50	6 / 11	1 / 9	5 / 50	
	悪性リンパ腫 (悪性)	0 / 50	0 / 32	0 / 24	1 / 50	0 / 50	0 / 11	0 / 9	0 / 50	
	組織球性肉腫 (悪性)	0 / 50	1 / 32	0 / 24	0 / 50	0 / 50	0 / 11	0 / 9	0 / 50	
乳腺	線維上皮腫瘍 (良性)	2 / 6	0 / 3	0 / 1	0 / 2	5 / 6	5 / 11	4 / 10	2 / 6	
	癌 (悪性)	0 / 6	0 / 3	0 / 1	0 / 2	0 / 6	1 / 11	0 / 10	0 / 6	
その他	由来不明癌 (悪性)	1 / 1	-	-	-	-	-	-	-	
骨格筋	骨肉腫 (悪性)	-	1 / 3	-	1 / 1	-	-	0 / 1	-	
包皮腺	腺癌 (悪性)	0 / 3	1 / 2	0 / 1	0 / 2	-	-	-	-	
皮膚	基底細胞腫 (良性)	1 / 18	0 / 21	0 / 19	2 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	1 / 7	
	線維腫 (良性)	5 / 18	3 / 21	3 / 19	4 / 22	1 / 3	0 / 4	1 / 3	0 / 7	
	角化棘細胞腫 (良性)	2 / 18	4 / 21	1 / 19	3 / 22	0 / 3	1 / 4	0 / 3	0 / 7	
	脂肪腫 (良性)	0 / 18	1 / 21	0 / 19	0 / 22	0 / 3	0 / 4	1 / 3	0 / 7	
	乳腺腫 (良性)	1 / 18	0 / 21	1 / 19	0 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	皮膚腺腫 (良性)	0 / 18	1 / 21	1 / 19	0 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	毛嚢性皮膚腫瘍 (良性)	0 / 18	0 / 21	0 / 19	2 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	基底細胞癌 (悪性)	0 / 18	0 / 21	1 / 19	0 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	脂肪肉腫 (悪性)	0 / 18	0 / 21	0 / 19	1 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	肉腫 (悪性)	2 / 18	2 / 21	1 / 19	1 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	1 / 7	
	扁平上皮癌 (悪性)	0 / 18	1 / 21	0 / 19	0 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	外耳道皮膚腺癌 (悪性)	0 / 18	0 / 21	0 / 19	1 / 22	0 / 3	0 / 4	0 / 3	0 / 7	
	尾	乳頭癌 (良性)	2 / 3	0 / 3	2 / 2	-	-	-	-	0 / 1
		良性腫瘍数	99	79	74	98	49	37	46	42
		悪性腫瘍数	24	33	20	24	11	11	4	12
		腫瘍総数	123	112	94	122	60	48	50	54
	拒良性腫瘍動物数	50	50	48	49	35	29	35	28	
	拒悪性腫瘍動物数	24	32	18	22	9	11	4	12	
	拒腫瘍動物数	50	50	48	50	38	36	38	36	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## ビーグル犬を用いた52週間経口投与慢性毒性試験

(資料26)

試験機関：Huntington Life Sciences  
(イギリス)

報告書作成年：1996年 (GLP対応)

検体純度：

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各5匹、

投与開始時約27～31日齢、体重10.2～11.4kg

試験期間：52週間投与(1994年12月15日～1995年12月19日)

投与方法：検体を飼料に混入し、0、1、3および10mg/kg(体重)/日の用量で52週間にわたって摂食させた。(具体的には、検体を0、約29ppm、約86ppm及び約290ppm含有する飼料を調製し、毎日400g与えた。設定用量を維持するため、最初の4週間は毎週、以後1ヵ月毎に飼料中の検体濃度を調整した。)

投与量設定根拠：本試験開始前に、ビーグル犬1群雌雄各5匹を用いて、0、1、5、および50mg(体重)/kg/日の用量による慢性毒性試験(予備試験1)を開始したところ、50mg/kg群で著しい体重及び摂餌量の低下が認められた。このため、第3週終了後にこの群への検体投与を取りやめ、この試験は投与開始8週後に中止した。引き続き、20および30mg/kg(体重)/日の用量により、それぞれ6週または4週間投与の予備試験(予備試験2)を実施した結果、いずれの投与群においても、体重増加量、摂餌量、赤血球容積、ヘモグロビン濃度及びアルカリフォスファターゼ、GOT、GPT等に影響が認められ、52週間の投与に際しては20mg/kg/dayより低い量が適当と考えられた。また、肝臓にポルフィリンの沈着が認められた。これら結果に基づき本試験の投与量を0、1、3および10mg/kg/日とした。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率：全動物について、一般状態及び生死を一定の間隔で観察した。

投与期間中の死亡例はなく、検体投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

体重変化：各動物の体重は、馴致期間、投与中週1回および屠殺前に測定した。

体重増加量には、検体投与による影響は認められなかった。表1に投与開始時および終了時の各群平均体重を示す。

表1

投与量(mg/kg/日)	0		1		3		10	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与開始時体重(kg)	11.1	10.9	11.3	10.3	11.3	10.2	11.4	10.8
投与終了時体重(kg)	11.5	12.3	13.2	12.7	13.1	11.6	12.8	12.3

摂餌量：1週間毎の摂餌量を個体別に測定した。

各投与群の摂餌量は、いずれも対照群と大きな差はなく、検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量：摂餌量から算出した各週毎の各群平均検体摂取量は、すべて設定値の±10

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

%以内であった。表2に全投与期間を通じた各群の平均検体摂取量を示した。

表2. 平均検体摂取量

投与量 (mg/kg/日)		1	3	10
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.00	3.02	10.01
	雌	1.01	3.01	10.01

獣医学的検査：投与開始前、投与13、25、38および51週時に各動物について下記の項目についての獣医学的検査を実施した。

歯および歯肉、粘膜および皮膚、両耳、両眼、表在性リンパ節、  
腹部(触診検査を含む)、外部生殖器および乳腺、  
胸郭(心および肺の聴診検査を含む)  
歩行および姿勢(四肢の触診検査を含む)  
一般行動および外見

検体投与に関連したと考えられる変化はみられなかった。

眼科学的検査：投与開始前、投与13、25および51週時に各動物について下記の項目について検査した。

眼瞼および隣接構造、結膜、角膜および強膜、前眼房および虹彩、眼底  
投与群の動物の検査で検体投与による眼科学的变化は認められなかった。

血液学的検査：投与開始前、投与4、13、25および51週時に各動物の頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、総白血球数、血小板数、  
好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色球、血液塗沫標本、  
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、  
プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)

検体3および10mg/kg投与群の雌雄動物において、対照群と比較して投与13週以降、統計学的有意差を伴った活性化部分トロンボプラスチン時間の低下が認められた。

また、10mg/kg群の雄において、投与期間中、リンパ球数の増加がみられ、統計学的有意差が認められたが、同群雄のリンパ球数には、すでに投与開始前から、統計学的有意差はないが軽度な増加がみられていることから、投与期間中の増加については投与に起因する変化ではないと考えられた。

他の検査項目については、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。統計学的有意差の認められた項目について表3に示す。

表 3. 血液学的検査

検査時期	性 別 投 与 量 (mg/kg/day)	雄			雌		
		1	3	10	1	3	10
投与前	リンパ球			(129)			↑ 128
	血小板数	↑ 126					
	トロンボプラスチン時間	↓ 76					
4週時	ヘモグロビン濃度					↓ 92	↓ 92
	リンパ球			↑ 151			↑ 127
	プロトロンビン時間				↑ 108		
13週時	ヘマトクリット値	↓ 89			↓ 91	↓ 91	↓ 89
	ヘモグロビン濃度				↓ 93		↓ 91
	リンパ球			↑ 149			
	好酸球			↑ 200			
	トロンボプラスチン時間		↓ 75	↓ 66		↓ 75	↓ 73
25週時	ヘマトクリット値						↓ 91
	ヘモグロビン濃度						↓ 91
	平均赤血球容積						↓ 96
	平均赤血球血色素濃度			↑ 102			
	リンパ球			↑ 159			
	トロンボプラスチン時間	↓ 86	↓ 81	↓ 77			↓ 85
51週時	平均赤血球血色素濃度	↓ 98					
	リンパ球			↑ 162			
	プロトロンビン時間			↑ 111			
	トロンボプラスチン時間		↓ 81	↓ 83		↓ 80	↓ 83

統計手法：Studentのt検定    ↓↓：p<0.05, ↑↑：p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率（%）

（ ）に示した数値には、対照群との比較で統計学的有意差はみられない。

血液生化学的検査：投与開始前、投与4、13、25および51週時の血液学的検査用血液の採血と同時に、各動物の頸静脈からヘパリン処理採血管に血液を採取し、血漿を分離して以下の項目について検査した。

アルカリホスファターゼ (ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT)、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、総トリグリセリド、総蛋白、電気泳動画分、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン

表4に統計学的有意差の認められた項目を示す。

10mg/kg群および3mg/kg群の雌雄動物にアルカリホスファターゼ活性およびアラニンアミノトランスフェラーゼ活性の顕著な上昇がみられ、また、10mg/kg群の雌雄動物にはγ-グルタミルトランスフェラーゼ活性、血漿コレステロール濃度の低下およびトリグリセリド濃度の上昇が認められた。

さらに、10mg/kg群の雌動物には、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の上昇が認められた。

その他の項目についても統計学的有意差が散見されたが、それらの変化には投

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

与量との関連性がみられず、一時的な変化であることから、偶発的な変化で、投与に起因するものではないと考えられた。

表4. 血液生化学的検査

検査時期	性別	雄			雌		
		投与量(mg/kg/day)			投与量(mg/kg/day)		
		1	3	10	1	3	10
投与前	ALT		↓ 73				
	総ビリルビン濃度	↓ 0	↓ 0	↓ 0			
	尿素濃度			↓ 79			
	ナトリウム濃度	↑ 101				↓ 97	
	塩素濃度	↑ 104					
4週	ALP			↑ 390			↑ 274
	ALT			↑ 739			↑ 990
	AST			↑ 152			↑ 188
	GGT			↑ 133			
	総トリグリセリド濃度			↑ 158			↑ 174
	総蛋白濃度	↓ 92					
	アルブミン濃度						↓ 93
	グロブリン濃度(α1)				↑ 150		
	A/G比	↑ 109					↓ 85
	ナトリウム濃度					↓ 99	
13週	ALP			↑ 530			↑ 409
	ALT		↑ 206	↑ 428		↑ 390	↑ 674
	GGT			↑ 250			↑ 250
	総ビリルビン		↓ 50				↑ 175
	グルコース濃度				↓ 95		↓ 93
	クレアチニン濃度				↓ 92		↓ 87
	総コレステロール濃度			↓ 67			
	総トリグリセリド濃度	↓ 70					
	総蛋白濃度	↓ 93		↓ 89			
	アルブミン濃度	↓ 89		↓ 81			
	グロブリン濃度(α1)	↓ 67	↓ 67	↓ 67			
	グロブリン濃度(α2)			↓ 88			
	A/G比			↓ 80			
	ナトリウム濃度					↓ 99	
	塩素濃度				↓ 97	↓ 97	
カルシウム濃度			↓ 94				

(第25週以降のデータは次ページへ続く。)

統計手法: Studentのt検定 ↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01, ↓↓↓: p<0.001  
表中の数値は対照群に対する変動率(%)

表 4. 血液生化学的検査(続き)

検査時期	性 別	雄			雌		
	投 与 量(mg/kg/day)	1	3	10	1	3	10
25週	A L P			↑ 465			↑ 467
	A L T		↑ 246	↑ 384		↑ 493	↑ 723
	A S T						↑ 142
	C P K				↑ 161		
	G G T			↑ 175			↑ 233
	グルコース濃度					↓ 93	↓ 93
	クレアチニン濃度	↓ 89	↓ 91	↓ 91	↓ 95	↓ 92	↓ 89
	総コレステロール濃度			↓ 67			
	総蛋白濃度	↓ 92		↓ 89			
	アルブミン濃度			↓ 88			
	グロブリン濃度(α1)	↓ 67	↓ 67	↓ 67			
	グロブリン濃度(γ)		↓ 80				
	Δ/G 比						↓ 91
	ナトリウム濃度						↓ 99
	塩素濃度					↓ 98	
51週	A L P			↑ 441			↑ 431
	A L T		↑ 239	↑ 403		↑ 393	↑ 807
	G G T			↑ 200			↑ 267
	総ビリルビン				↑ 200	↑ 200	↑ 200
	クレアチニン濃度						↓ 87
	総コレステロール濃度			↓ 67			
	総蛋白濃度	↓ 93					
	アルブミン濃度	↓ 85		↓ 85			
	グロブリン濃度(α1)					↑ 150	

統計手法: Studentのt検定 ↓: p<0.05, ↑: p<0.01, ↑↓: p<0.001  
 表中の数値は対照群に対する変動率(%)

尿 検 査: 投与開始前、投与 2、6、12、24および50週時に全動物から尿試料を採取し、以下の項目について検査した。

外観、尿量、pH、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、ポルホビリノーゲン、沈渣

10mg/kg群の動物では、投与期間を通じて総ポルホビリノーゲン排出量およびポルホビリノーゲン濃度の上昇が認められた。

検体投与に起因すると考えられる他の変化は認められなかった。

表 5 に統計学的有意差の認められた項目を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 5. 尿検査

検査時期	性 別	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)			投与量 (mg/kg/day)		
		1	3	10	1	3	10
2 週	ホルホルリナーゲン濃度			↑ 167			
	総ホルホルリナーゲン量		↑ 170	↑ 189	↓ 47		
6 週	pH			↑ 112			
12週	総ホルホルリナーゲン量			↑ 182			
24週	pH			↑ 113			
	ホルホルリナーゲン濃度			↑ 212			↑ 137
50週	pH			↑ 121			
	ホルホルリナーゲン濃度			↑ 227			
	総ホルホルリナーゲン量			↑ 192			

統計手法：Studentのt検定 ↑:P<0.05 ↓↓:P<0.01 ↑↓:P<0.001

表中の数値は対照群に対する変動率(%)を示す。

臓器重量：投与終了時に全動物を麻酔下で放血させ、以下の臓器を摘出して重量を測定し、対体重比を算出した。

副腎、下垂体、脳、前立腺および尿道、精巣上部、脾臓、心臓、精巣、腎臓、胸腺、肝臓、甲状腺および上皮小体、肺、子宮および子宮頸管、卵巣

10mg/kg群の雌雄動物に肝重量の増加がみられたが、統計学的有意差は雄の肝絶対重量のみに認められた。1 mg/kg群および3 mg/kg群の雄動物に、肝絶対重量が軽度な増加を示したが、対体重比には影響がみられなかったことから、これは投与に関連した変化とは考えられなかった。

全投与群の雄動物に胸腺重量(絶対重量および対体重比)の統計学的に有意な増加が認められたが、これについては、背景対照データと比較すると本試験における対照群雄動物の胸腺重量が、やや低かったことによるものであり、これらの有意差は偶発的で、投与に関連した変化ではないと考えられた。

表 6 に統計学的有意差を伴った変化を示す。

表 6. 臓器重量

検査時期	性 別	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)			投与量 (mg/kg/day)		
		1	3	10	1	3	10
5 2 週	肝 臓 重 量			↑ 130			
	肺 重 量	↑ 112		↑ 119			
	精 巣 重 量		↑ 141				
	胸 腺 重 量	↑ 202	↑ 198	↑ 221			
	対体重比	↑ 177	↑ 180	↑ 198			

統計手法：Behren-Fisher又はDunnet検定 (Batlette検定の検定により分散の均一性を調べた。↑: p<0.05 ↓↓: p<0.01

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

肉眼的病理検査：全動物を対象として、外表および開口部、頸部および付随組織、頭蓋腔、胸腔、腹腔および骨盤腔、内臓、臓器組織の外表および切断面を検査した。検体投与と関連があると考えられる以下の所見が観察された。

10mg/kg群動物雄3匹および雌動物4匹の胆嚢中に異常な内容物が認められた。この内容物は、雄動物1匹および雌動物3匹においては暗色の粘性物質であった。他の雄動物2匹では暗色の膿様物質であった。残りの雌動物では、胆嚢内容物が暗色であった。

10mg/kg群の雌雄全動物および3mg/kg群全雄動物および雌動物5匹中3匹に肝臓の暗色化が認められた。

10mg/kg群雄動物4匹および雌動物3匹また、3mg/kg群雄動物1匹および雌動物2匹に脾臓リンパ節の暗色化が認められた。

表7に統計学的有意差の認められた項目を示す。

表7. 肉眼的病理検査

検査 時期	性 別		雄			雌		
	投与量 (mg/kg/day)		1	3	10	1	3	10
52週	胆 嚢	異常内容物						4/5*
	肝 臓	暗 色 化		5/5**	5/5**			5/5**
	脾 臓	暗 色 化			4/5*			

統計手法：Fisher の直接確率法 \* :P<0.05 \*\* :P<0.01

数値は検査動物数当たりの発現頻度で表した。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施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成し、検鏡した。

副腎、食道、大動脈、卵巣および輸卵管、脳、脾、盲腸、下垂体、結腸、前立腺および尿道の一部、十二指腸、直腸、精巣上部、大腿骨、骨格筋(大腿)、胆嚢、皮膚、心、脊髄、回腸、脾、空腸、胸骨、腎、胃、肝、精巣、肺、胸腺、リンパ節、甲状腺および上皮小体、下顎、気管、腸間膜、膀胱、子宮および子宮頸管、乳腺(尾側、頭側)、膈

検体投与に関連したと考えられる病変は、肝臓、胆嚢および脾臓リンパ節に認められた。それらの所見を表8に示す。

10mg/kg群では、雄動物2匹および雌動物1匹の胆嚢内に石灰沈着が認められ、他の雌動物1匹の胆嚢内にはポルフィリンを示唆する偏光物質が認められた。また、3mg/kg群および10mg/kg群では、全動物に毛細胆管内のクッパー細胞の色素沈着および小葉中心性の色素沈着が認められ、さらに、マクロファージの色素沈着が高頻度で認められた。10mg/kg群の動物では、マクロファージの色素沈着を伴った小葉間線維症が高頻度で認められた。これらの変化を伴った褐色色素沈着の大部分は、偏光顕微鏡を用いた観察により、ポルフィリンであることが示唆された。対照群を含む全動物の小葉中心性の肝細胞にリポフスチンが観察されたが、これをグ



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

レド分けすると、「顕著」に分類される所見を得た動物数は10mg/kg群に多くみられ(雄5匹、雌4匹)、次いで3mg/kg群にもみられた(雄1匹、雌2匹)。

肝臓および胆嚢の病変の他、脾臓リンパ節に色素沈着したマクロファージが、10mg/kg群雄動物4匹、雌2匹および3mg/kg群雄1匹に認められ、主要な褐色色素は赤色複屈折を示したことからポルフィリンであることが窺われた。

表8. 肝臓および脾臓リンパ節の病理組織学的検査所見

臓器	性 別		雄				雌					
	投与量 (mg/kg/day)	検査動物数	0	1	3	10	0	1	3	10		
肝臓	クッパー細胞色素沈着		0	0	5**	5**	0	0	5**	5**		
	小葉中心性毛細胆管色素沈着		0	0	5**	5**	0	0	5**	5**		
	クッパー細胞非偏光褐色色素沈着		1	2	0	0	4	3	0	0		
	マクロファージの大型色素沈着を伴う小葉間線維症		0	0	0	5**	0	0	0	3		
	マクロファージ色素貪食		0	0	3	5**	0	0	5**	4*		
	小葉中心性肝細胞 リポフスチン沈着		合 計	5	5	5	5	5	5	5	5	
			軽 微	0	4	1	0	0	0	0	0	0
			軽 度	5	1	0	0	4	3	1	0	0
			中 等 度	0	0	3	0	1	2	2	1	1
			顕 著	0	0	1	5	0	0	2	4	
出血		0	0	0	0	0	0	1	0			
胆嚢	リンパ濾胞過形成		4	4	5	2	3	1	3	2		
	胆嚢内ポルフィリン結晶		0	0	0	0	0	0	0	1		
	胆嚢内石灰沈着		0	0	0	2	0	0	0	1		
脾臓 リン パ節	マクロファージ色素沈着		0	0	1	4	0	0	0	2		
	赤血球貪食		0	0	0	3	0	0	1	0		
	うっ血		0	0	0	1	0	0	0	0		

統計手法: Fisher の直接確率法 \*: $P < 0.05$  \*\*: $P < 0.01$

以上の結果から、ビーグル犬に検体を1、3および10mg/kg/dayの用量で52週間混餌投与により、3および10mg/kg/day投与群に肝ポルフィリン代謝への影響が認められ、これらの変化と間接的に関連のあると考えられるいくつかの変化が認められた。1mg/kg/day投与群動物の肝臓には特異的な組織学的変化は認められず、その他のいずれの検査項目についても検体投与による影響が認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は1mg/kg/dayであると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 9) 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

ラットにおける2世代繁殖試験

(資料27)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences  
(イギリス)

報告書作成年 : 1996年 (GLP対応)

検体純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley系ラット(Crl:CD) 1群雄雌各30匹

試験開始時週齢 約6週齢 体重 雄 129~180g、雌 110~174g

投与期間 : F<sub>0</sub> ; 投与開始(6週齢)から交配前まで71日間、交配期間および同腹児の離乳後屠殺まで

F<sub>1</sub> ; 投与開始(離乳時)から10週間、交配期間およびF<sub>2</sub>同腹児の離乳後屠殺まで

(1995年4月24日~1996年1月12日)

投与方法 : 検体を0, 20, 50, および150ppmの濃度になるように混餌投与した。

用量設定根拠 : 2回の予備試験の結果に基づいて本試験の投与量を決定した。

第1回目の予備試験(予備試験1)において1群6匹の雌ラットを用い、検体を0, 50, 2000, 5000ppmの用量で交配前8日間から交配、妊娠期間を通じ、授乳21日まで混餌投与した結果、5000ppm群では体重および摂餌量の減少、一般状態の悪化により、投与開始2週後(交配第1週)までに全動物が切迫屠殺された。また、2000ppm群では4匹が妊娠したものの、生産児は分娩されなかった。50ppm群では1匹に全同腹児の吸収が認められ、本試験の用量は設定できなかった。

したがって、再度予備試験(予備試験2)を実施した。1群雌雄各8匹のラットを用い、検体を0, 20, 60, 200および600ppmの用量で、雌雄同居開始前2週間から、雌は授乳21日目まで、雄は8週間混餌投与した結果、600ppm群では妊娠後期に全同腹児の吸収あるいは胎児の死亡が認められた。また、200ppm群では児動物生存率の減少が認められた。これらの結果から、本試験の最高用量を150ppmに設定し、以下、中間用量および低用量をそれぞれ50ppm、20ppmとした。

体重測定 : 雄動物は毎週1回屠殺まで、雌動物は交尾が確認されるまで毎週1回、妊娠0, 6, 13, および20日目、授乳1, 4, 7, 11, 14, 21および25日目に測定した。

摂餌量 : 各世代について、交配開始前の摂餌量を週1回測定した。

繁殖方法 : 雌雄1 : 1で同居させた。交尾は毎朝臍栓の形成および膣垢中の精子の有無により確認し、交尾が確認された日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標 :

各群の雌雄について以下の指標を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

$$\begin{aligned} \text{交尾率} &= \frac{\text{交尾動物数}}{\text{交配動物数}} \times 100 \\ \text{受胎率(♀)} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数(雌)}} \times 100 \\ \text{授胎率(♂)} &= \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配動物数(雄)}} \times 100 \\ \text{出産率} &= \frac{\text{生存児を出産した雌動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100 \\ \text{着床後生存率} &= \frac{\text{授乳1日目の産児総数}}{\text{子宮内着床部位数}} \times 100 \\ \text{生存産児率} &= \frac{\text{授乳1日目の生存児数}}{\text{授乳1日目の総児数}} \times 100 \\ \text{生育率} &= \frac{\text{授乳4日目の生存児数}}{\text{授乳1日目の生存児数}} \times 100 \\ \text{授乳率} &= \frac{\text{授乳4日目以降の検査日の生存児数}}{\text{授乳4日目の調整後の生存児数}} \times 100 \end{aligned}$$

肉眼的病理検査、臓器重量および病理組織学的検査：

頭蓋腔、胸腔、腹腔、骨盤腔および内臓を詳細に検査した。臓器および組織の外表と切断面を検査した。全雌動物については子宮内の着床数を記録した。また精巣上体、肝、卵巣、前立腺、精嚢、精巣、頸管を含む子宮の臓器重量を測定した。病理組織学的検査を上記組織と臍、場合によっては乳腺、下垂体について実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

作業手順

世代	期間	手順	測定項目
F <sub>0</sub>	投与71日間 (生後6週より始め)  交配前期間  交配 最大3週間  妊娠  F <sub>1</sub> 出産(授乳1日)  授乳期間(25日間)  離乳(授乳25日目)  F <sub>0</sub> 動物の解剖	1群の♀各30匹   雌雄1:1で同居 膣栓および膣垢中の精子で確認(妊娠0日)   出産児の観察   授乳4日目に同腹児数を雌雄4匹に選択  継代用に各群雌雄30匹を選択	一般状況、生死、摂餌量 体重  膣垢検査(発情周期確認)  体重  体重、交尾後20日目から分娩状況を観察  産児数(生存および死亡) 生存児の体重、性別判定、各産児の観察  一般状態、死亡率、同腹児数および性比の観察、体重  選択されなかった同腹児は肉眼的病理検査  残りの児動物は約4週齢で屠殺し肉眼的病理検査  肉眼病理検査、臓器重量、病理組織学的検査
F <sub>1</sub>	投与10週間 (離乳時より開始) 交配前期間 交配(3週間) 妊娠 F <sub>2</sub> 出産 授乳期間(25日間) 離乳(授乳25日目)  F <sub>1</sub> 動物の解剖	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)  (F <sub>0</sub> 世代に準ずる) (F <sub>0</sub> 世代に準ずる) (F <sub>0</sub> 世代に準ずる) (F <sub>1</sub> 世代に準ずる) (F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)  (F <sub>0</sub> 世代に準ずる) (F <sub>0</sub> 世代に準ずる) (F <sub>0</sub> 世代に準ずる) (F <sub>1</sub> 世代に準ずる) (F <sub>1</sub> 世代に準ずる) (F <sub>1</sub> 世代に準ずる) F <sub>2</sub> 離乳児は離乳後約25~30日齢で屠殺した。  肉眼病理検査、臓器重量、病理組織学的検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果：

《 F<sub>0</sub>世代 》

一般状態および死亡率；150ppm群の雄1匹が投与開始後8週時に死亡した。対照群では雄1匹が投与開始後12週時に死亡した。いずれの動物も死亡前にまったく変化が認められず、剖検でも死因を確認することができなかった。  
体 重；雄動物の体重増加量には投与の影響が認められなかった。雌動物においても生育期間、妊娠期間および授乳期間の体重増加量には投与の影響が認められなかった。

摂餌量および飼料効率；投与による影響は認められなかった。

交尾率、受(授)胎率および発情周期；検体投与の影響は認められなかった。

妊娠期間および出産率；妊娠期間および出産率に投与による影響はなかった。

同腹児観察所見(F<sub>1</sub>)

一般状態；投与の影響は認められなかった。

同腹児数および産児生存率；着床数、平均同腹児数および児動物の生存率は全群でほぼ同等であった。

性 比；投与による影響は認められなかった。

児動物の体重；投与の影響が認められなかった。

児動物の発育；耳介展開、毛生、切歯崩出および眼瞼開裂に、投与の影響認められなかった。

最終検査

F<sub>1</sub>児動物およびF<sub>0</sub>親動物の肉眼的病理検査；検体投与の影響を示唆する変化は認められなかった。母動物によって共食いされたと思われる数匹の児動物についても投与との影響は認められなかった。

F<sub>0</sub>親動物の臓器重量；生殖器官および肝の絶対重量および体重比において投与に関連した影響は認められなかった。

病理組織学的検査；F<sub>0</sub>世代動物の病理組織学的検査で投与に関連した変化は認められなかった。

《 F<sub>1</sub>世代 》

一般状態および死亡率；投与の影響は認められず、死亡例は認められなかった。

体 重；投与の影響が認められなかった。

摂餌量および飼料効率；群間で差が認められなかった。

交尾率、受(授)胎率および発情周期；投与の影響が認められなかった。

妊娠期間および出産率；妊娠期間はほとんどの動物で22~23.5日の正常範囲にあったが、対照群、20ppm群および150ppm群の各1匹については、妊娠期間が24日であった。この所見は散発的であり対照群でも認められたことから投与との関連はないものと思われる。

150ppm群の雌2匹では児動物の出産が認められず、剖検時の着床痕から全胎児の吸収が認められた。その結果、出産率が対照群および以下に示す歴史的背景データと比較しても低かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与量 (ppm)	0	20	50	150	背景データ(4試験)		
出産率 (%)	100	100	100	93	最高値 100	最低値 100	平均 100
	23/23	25/25	27/27	26/28			

このことは受胎および/または着床に対する影響を示唆していた。しかし、予備試験では、200ppmまたはそれ以上の用量でも対照群と同等の着床数が認められ、その後、児動物の生存率の減少が認められている。また、予備試験では2000ppmを投与しても受胎および着床に悪影響が認められていない。したがって、この吸収は投与との関連はないものと考えられた。

#### 同腹児観察所見 (F<sub>2</sub>)

一般状態；投与の影響は認められなかった。

同腹児数と産児生存率；平均同腹児数は全群ではほぼ同等であり、同腹児の生存率に投与の影響はなかったものと思われる。

着床後の生存率および生存産児率は対照群と同等であったが、授乳4日目までの生存率は150ppm群で妊娠動物が1匹死亡したためわずかに低かった。

性比；投与との関連は認められなかった。

児動物の体重；対照群と比較して有意差は認められなかった。

児動物の発育；投与による影響は認められなかった。

#### 最終検査

F<sub>2</sub>児動物およびF<sub>1</sub>親動物の肉眼的病理検査；剖検で投与の影響は認められなかった。

F<sub>1</sub>親動物の臓器重量；F<sub>0</sub>世代動物の50ppm群に精巣上体重量の増加およびF<sub>1</sub>世代150ppm群に子宮重量の減少が認められた。子宮重量の減少については、最終屠殺時に対照群において前発情期にある雌動物数が多かったため、同群の平均子宮重量が高くなり、150ppm群の平均値との間に有意差が生じたと考えられる。したがって、これらは投与に関連した変化ではないと考えられた。

病理組織学的検査；F<sub>1</sub>世代動物の肝および生殖器官に、投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤をCD系ラットに2世代にわたって混餌投与した場合、F<sub>0</sub>およびF<sub>1</sub>世代親動物に対する毒性は認められず、F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>世代の生殖能、児動物の生存率、生育および発育にも影響が認められなかった。したがって、本剤の無毒性量は150ppm (F<sub>0</sub>雄 11.9mg/kg/day、雌 13.0mg/kg/day、F<sub>1</sub>雄 13.2mg/kg/day、雌 14.3mg/kg/day) であると判断された。

(申請者注：F<sub>1</sub>世代150ppm群2匹の母動物に認められた全胚吸収は、背景データの発生率の範囲を超えており、投与の影響を否定出来ないことを考慮して、申請者は無毒性量を50ppm (F<sub>0</sub>雄 4.0mg/kg/day、雌 4.3mg/kg/day、F<sub>1</sub>雄 4.4mg/kg/day、雌 4.8mg/kg/day) と考えた。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

世 代		親 F <sub>0</sub> 児 F <sub>1</sub>				親 F <sub>1</sub> 児 F <sub>2</sub>			
投 与 量 (ppm)		0	20	50	150	0	20	50	150
供試動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30
生育中の 摂餌量(g) (1→10週)	雄	2005	2051	1996	2029	2059	2017	2041	2071
	雌	1496	1528	1506	1510	1539	1518	1506	1539
生育中の平均検体 摂取量(mg/kg) (1→10週)	雄	—	1.6	4.0	11.9	—	1.7	4.4	13.2
	雌	—	1.8	4.3	13.0	—	1.9	4.8	14.3
死亡数	雄	1	0	0	1	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0
体重増加量 (育成期間)	雄 0→10週	383	395	380	394	461	445	463	469
	雌 0→10週	169	186*	182	180	224	232	219	227
交尾率(%)	雄	97	97	100	100	100	97	100	100
	雌	97	97	100	100	100	97	100	100
受胎率(%) (♀)		90 26/29	90 26/29	100 30/30	100 30/30	77 23/30	86 25/29	90 27/30	93 28/30
授胎率(%) (♂)		90 26/29	90 26/29	100 30/30	100 29/29	77 23/30	86 25/29	90 27/30	93 28/30
出産率(%)		100 26/26	100 26/26	100 30/30	100 30/30	100 23/23	100 25/25	100 27/27	93 26/28
妊娠期間(%)	22 日	15	4	3	10	17	16	26	19
	22.5日	42	42	50	30	17	24	37	23
	23 日	31	35	43	50	48	52	26	50
	23.5日	12	19	3	10	13	4	11	4
	24 日	0	0	0	0	4	4	0	4

\* P < 0.05 (Bartlett Test)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

世 代		親 F <sub>0</sub> 児 F <sub>1</sub>				親 F <sub>1</sub> 児 F <sub>2</sub>				
投与量 (ppm)		0	20	50	150	0	20	50	150	
児 動 物	着床後生存率 (%)	92	91	94	92	90	90	94	91	
	生存産児率 (%)	99	100	100	100	98	99	99	97	
	生育率(4日目) (%)	98	98	98	98	96	98	98	92	
	授乳率 %	7日	100	100	100	98	97	99	99	99
		14日	99	100	100	96	96	98	98	98
		21日	99	100	100	96	96	98	97	98
		25日	99	100	100	96	96	98	97	98
	同腹児数	総同腹児数	14.6	14.0	15.3	14.6	13.4	14.1	14.4	13.9
		生存児数(1日)	14.5	14.0	15.3	14.5	13.2	14.0	14.3	13.5
		生存児数(4日)	14.3	13.7	15.1	14.3	13.3	13.7	14.1	13.0
		生存児数(4日調整後)	8.0	7.9	8.0	8.0	7.8	7.9	7.7	7.9
		生存児数 7日	8.0	7.9	8.0	7.9	7.5	7.8	7.6	7.8
		生存児数14日	7.9	7.8	8.0	7.7	7.5	7.7	7.6	7.8
		生存児数21日	7.9	7.8	8.0	7.7	7.5	7.7	7.5	7.8
		生存児数25日	7.9	7.8	8.0	7.7	7.5	7.7	7.5	7.8
性比	総産児1日	1:0.93	1:0.99	1:0.92	1:0.96	1:0.97	1:1.11	1:0.91	1:1.22	
	生存児4日	1:0.91	1:0.98	1:0.93	1:0.94	1:0.97	1:1.13	1:0.92	1:1.16	
	生存児4日調整後	1:0.98	1:0.93	1:1.00	1:1.00	1:0.99	1:1.03	1:0.98	1:0.97	
	生存児25日	1:0.98	1:0.92	1:1.00	1:0.99	1:0.95	1:1.03	1:0.96	1:0.98	
産児体重 (g)	生後1日	雄	6.8	6.8	6.7	6.7	6.9	6.8	6.8	6.6
		雌	6.4	6.5	6.3	6.3	6.5	6.5	6.4	6.2
	生後4日 (調整前)	雄	9.8	9.9	9.3	9.4	9.7	9.7	9.6	9.8
		雌	9.1	9.4	8.8	9.0	9.0	9.2	9.0	9.3
	生後14日	雄	35.2	35.0	33.8	33.9	34.3	34.3	34.7	34.2
		雌	33.7	34.3	32.8	32.6	32.8	33.1	32.6	33.1
	生後25日	雄	85.1	84.6	82.9	83.3	82.6	84.2	83.8	83.0
		雌	79.4	80.1	78.1	78.1	77.7	79.0	78.3	78.6
産児の発育		投与に関連した変化なし				投与に関連した変化なし				
産児の肉眼的病理検査		投与に関連した変化なし				投与に関連した変化なし				



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

世代		親 F <sub>0</sub>				親 F <sub>1</sub>						
投与量 (ppm)		0	20	50	150	0	20	50	150			
肉眼的病理検査		投与に関連した変化なし				投与に関連した変化なし						
母動物	絶対臓器重量 (g)	精巣上体	雄	1.419	1.430	1.457	1.520	1.511	1.541	1.479	1.505	
		子宮+頸管	雌	0.64	0.61	0.64	0.62	0.76	0.65	0.68	0.59 *	
		肝臓	雄	24.1	25.9	22.5	25.2	25.0	25.8	26.8	25.7	
			雌	15.7	16.5	16.2	15.7	16.0	15.6	15.5	16.4	
		前立腺	雄	0.820	0.827	0.885	0.883	0.811	0.826	0.825	0.832	
		精囊腺	雄	2.46	2.48	2.34	2.40	2.35	2.49	2.45	2.52	
		精巣	雄	3.70	3.70	3.65	3.70	4.01	4.01	3.92	3.80	
		卵巢	雌	0.136	0.126	0.132	0.130	0.134	0.130	0.130	0.135	
		相対臓器重量 (%)	精巣上体	雄	0.2209	0.2163	0.2376 *	0.2366	0.2219	0.2285	0.2163	0.2211
			子宮+頸管	雌	0.173	0.163	0.172	0.170	0.203	0.173	0.184	0.160
肝臓	雄		3.71	3.89	3.63	3.85	3.60	3.77	3.84	3.74		
	雌		4.19	4.32	4.33	4.30	4.16	4.07	4.18	4.42		
前立腺	雄		0.1264	0.1247	0.1450	0.1370	0.1193	0.1227	0.1197	0.1231		
精囊腺	雄		0.385	0.374	0.382	0.373	0.345	0.371	0.355	0.370		
精巣	雄		0.575	0.560	0.595	0.575	0.591	0.592	0.574	0.559		
卵巢	雌	0.0367	0.0333	0.0355	0.0357	0.0350	0.0340	0.0353	0.0364			
病理組織学的検査		投与に関連した変化なし				投与に関連した変化なし						

\* P<0.05 (Bartlett Test, Behren's - Fisher's Test)

## ラットにおける催奇形性試験

(資料28)

試験機関 : Rhone-Poulenc Agrochimie

Sophia Antipolis (フランス)

報告書作成年 : 1996年 [G.L.P.対応]

### 検体純度 :

供試動物 : CD系未経産雌ラット (Sprague-Dawley CR1:CD(SD)BR系)

1群雌25匹 + 3匹 (衛星群) 開始時週齢 ; 13週齢

開始時体重 251~339g

試験期間 : 実験開始日から帝王切開終了までの期間25日間 (1995年6月5日~6月29日)

試験方法 : 検体を0、20、80、320mg/kg/日の投与量で0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、10ml/kgの用量で妊娠6日目から15日目まで毎日強制経口投与した (授精日を妊娠0日とした)。対照群には同じ量の溶媒のみを投与した。妊娠20日目に屠殺し子宮内容物を検査した。

各衛星群の動物には、各試験群とも同様に検体を投与し、計画屠殺日まで一般状態、体重、摂餌量および妊娠状態を記録し、妊娠15日目に一夜尿を採取後、妊娠16日目に屠殺した。

用量設定根拠 ; 同試験機関において実施した予備試験の結果に基づき本試験の投与用量を設定した。まず一群10匹の同系ラットを用い、検体を0、50、100、500、1000mg/kgの用量で妊娠6日から15日まで毎日1回経口投与した。その結果、50mg/kgおよび100mg/kg群においては影響が認められなかったが、500mg/kgおよび1000mg/kg群において、母動物に対し体重増加量の減少および肝重量の増加、胎児に対して骨化遅滞、胎児体重の減少等の影響が認められた。また、一群25匹のラットを用い、検体を0、20、100、500mg/kgの用量で同様に投与した結果、100、500mg/kgの用量において上記と同様な母動物に対する毒性および胎児に対する毒性が認められた。したがって、本試験の用量を0、20、80および320mg/kg/dayとした。

交配方法 ; 雌動物は1対1で同系統の雄動物と同居させ、毎朝各雌の膣垢を採取し精子の有無を確認した。精子が認められた日を妊娠0日とした。

### 検査項目及び方法 :

母動物 ; 一般状態は毎日観察した。体重は妊娠0日、6~16日において毎日および20日に測定した。妊娠1~6日目の総摂餌量、妊娠6~15日の一日当たりの摂餌量および妊娠15~20日の総摂餌量を記録した。妊娠20日目に屠殺し、一般状態を観察したのち、卵巣を含む生殖器官を摘出し、以下の項目について記録した。

a) 妊娠子宮重量

b) 各卵巣の黄体数

- c) 各子宮角における着床数
- d) 子宮角における吸収胚数
- e) 各子宮角における生児、死児の数と分布

その他にすべての主要な臓器、組織および体腔の検査を含む剖検を行った後、病理標本を作成した。腎および肝は重量を測定し、病理組織学的検査に供した。脳は重量を測定後廃棄した。

胎児；全生存胎児の性別を判定して体重と胎盤の重量を測定した。外表を観察した後、各同腹児の生存胎児の半数は骨格標本を作成し、骨格検査を行った。残りの胎児はブアン固定して内蔵検査を行った。胎児の変化は以下のように定義した。

- 1) 奇形（発現頻度の低い非可逆的变化）
- 2) 異常（比較的一般に認められる発育の変化）
- 3) 変異（可逆的な発育の遅滞）

## 結 果：

### 母動物の観察

死亡率；80mg/kg群で、妊娠雌動物1匹が妊娠9日目に死亡した。剖検の結果、この死亡例が投与に関連したものであることを示す変化は認められなかった。

一般状態；対照群と比較して、投与群に一般状態の変化は認められなかった。

妊娠率；妊娠が認められなかった雌動物は衛星群を含めて合計5匹で、対照群の衛星群で1匹、80mg/kg試験群で1匹および320mg/kg試験群で3匹であった。320mg/kgの雌1匹では1個の着床痕が認められたが、その他の動物はすべて妊娠し、生存胎児が認められた。妊娠率は88～100%の範囲にあった。

体 重；320mg/kg群において、投与終了後の全期間（妊娠16～20日目）体重増加量に統計学的有意差を伴わない軽度の抑制が認められた。対照群と比較すると11.1%低下したことから、この抑制は生物学的に意味ある変化であると考えられた。絶対体重、補正体重および妊娠子宮重量には、群間差が認められなかった。

摂餌量；いずれの投与群でも、対照群と比較して摂餌量に対する影響は認められなかった。

ポルフィリンの分析；妊娠15日目に衛星群の妊娠動物から採取した尿について、360nmの紫外線照射下で検査した結果、ポルフィリンは検出されなかった。

母動物の剖検所見；認められた変化は、胎盤の癒着のみであった。この変化は、対照群で3匹、80および20mg/kg群でそれぞれ2匹に認められた。この変化の発現頻度および分布は偶発的なものであり、投与に関連した変化ではなかった。

臓器重量；絶対臓器重量および脳重比のいずれにおいても、投与に関連した変化は認められなかった。

肉眼病理検査；投与群では、肝小葉および肝の蒼白化が20mg/kg群で2匹、80mg/kg群で2匹および320mg/kg群で3匹認められた。しかし、この所見に関連した病理組織学的変化は認められなかった。その他に認められた変化は、いずれも偶発的な変化であった。

病理組織学的検査；投与に起因した病理組織学的変化は認められなかった。特に、肉眼的検査で認められた肝臓の病変を裏づける所見は認められなかった。

#### 胎児の観察

同腹児データ；黄体数、早期および後期吸収胚数の平均に、群間差は認められなかった。320mg/kg群で死亡胎児1匹が認められたが、生存胎児数は各群でほぼ同等であった。320mg/kg群の雌1匹では1個の着床痕が認められた。平均胎児体重および胎盤重量は、雌雄とも高用量群で低く、有意差が認められた。20mg/kg群では雌雄とも胎児体重の有意な増加が認められたが、以下に示したとおり、本試験実施機関の歴史的背景データ(1992-1995年)の範囲内にあり、投与に関連した変化とは考えられなかった。また、いずれの用量においても性比に投与の影響は認められなかった。

投与群 (mg/kg/day)		0(対照)	20	背景データ(13試験)		
				最低値平均	最高値平均	全平均
胎児体重 (g)	雄	3.67	3.74*	3.44	3.83	3.65
	雌	3.48	3.55**	3.24	3.66	3.45

統計手法：Dunnettか又はMann-whitney Test \*：P<0.05 \*\*：P<0.01

外表検査；対照群および20mg/kg群の胎児各1匹に片側性小眼球症が認められた。80mg/kg群では、矮小児2匹(体重2.7g以下)、舌突出を伴う無脳症が認められた。このうち1匹では無眼瞼症および片側性内反足が認められた。発現頻度は、以下に示した歴史的背景データ(1992-1995年)の範囲内にあったことから、これらの奇形は自然発生的な変化であり、投与に関連した変化ではないと考えられた。その他に320mg/kg群では、矮小児および胎児の蒼白化が高頻度で認められた。

投与群 (mg/kg/day)	0(対照)	20	80	320	背景データ (13試験の平均値)	
					出現胎児数	検査胎児数
検査胎児数	370(25)	378(25)	352(23)	323(21)	出現胎児数	検査胎児数
小眼球症(片側性)	1(1)	1(1)	0	0	1(1)	370(25)
無脳症	0	0	2(2)	0	3(1)	386(23)
矮小児	3(3)	3(3)	3(3)	67(9)	-	-
胎児の蒼白化	1(1)	1(1)	4(3)	52(4)	-	-

( )内は腹数を示す。 -：背景データなし。

内臓検査；対照群の胎児の外表検査で認められた小眼球症は、内臓検査で脳の側脳室および第3脳室の中等度の拡大が確認された。対照群および投与群で異所性の腎臓が認められ、対照群の1匹および20mg/kg群の2匹で腎臓の肥大が認められた。対照群および投与群で、一般的に可逆性の発育遅延と考えられる腎盂および尿管の軽度から中程度の拡大、蛇行尿管および胸腺肥大等の変異がほぼ同じ程度の頻度で認められた。本試験で認められた奇形、異常および変異は、いずれも自然発生的な変化であり、投与に関連した変化ではないと考えられた。

骨格検査；本試験で認められた骨格の奇形は、80mg/kg群の外表検査で認められた無脳症胎児に関連した奇形のみであった。異常の発現数は320mg/kgで門歯欠損および第1～第4胸骨分節非対称が高頻度で認められたことを除き、全群に無作為に分布していた。高用量群では、頭蓋骨、恥骨、前肢および後肢の末節骨の不完全骨化の胎児あたりおよび腹あたり発現頻度の増加が認められた。高用量群の雌動物における異常および変異の発現頻度の増加は骨化遅滞を反映したものであり、特に矮小児に関連していた。

以上の結果から、本剤の320mg/kg群では、投与終了後の期間を通して母体重増加の軽度の抑制が認められた。320mg/kg群では胎児体重の減少および骨格変異(化骨の遅滞)の発現頻度の増加が認められた。その他には320mg/kg群までの用量で、胚-胎児の生存率に対する影響および胎児の奇形は認められなかった。

したがって、本剤の母動物および発育に対する無毒性量は、80mg/kg/日であると判断される。

結 果 :

投与量(mg/kg/day)		0(対照)	20	80	320	
1群当りの動物数		25	25	25	25	
母動物	死亡数	0	0	1	0	
	不妊	(黄体有り)	0	0	0	1
		(黄体無し)	0	0	1	2
	生存胎児が存在した妊娠動物	25	25	23	21	
	吸収胚のみがみられた妊娠動物	0	0	0	1	
	妊娠率(%)	100	100	96	88	
	妊娠子宮重量(g)	83.60	85.96	88.08	79.00	
	体重増加量(g)	0-6日(投与前)	39.68	38.08	40.39	40.04
		6-16日(投与期間)	53.08	53.60	54.60	52.81
		16-20日(投与終了時から最終日)	65.76	68.68	66.60	58.45
着床所見	検査動物数	25	25	23	22	
	黄体数	17.9	18.0	18.1	17.9	
	着床数	15.3	16.2	16.4	15.5	
	生存胎児数	雄	7.12	7.36	7.39	7.13
		雌	7.68	7.76	7.91	7.54
		計	14.8	15.1	15.3	14.6
	吸収胚	早期吸収胚	0.5	1.0	1.0	0.8
		後期吸収胚	0.0	0.1	0.0	0.0
		計	0.5	1.2	1.1	0.8
		着床前死亡率(%)	15.6	10.7	8.8	14.6
着床後死亡率(%)		3.5	6.6	6.7	9.8	
剖検所見 胎盤の癒合	3	2	2	0		
肉眼病理検査	検査動物数	25	25	25	25	
	肝臓					
	隆起小葉	0	2	2	3	
	蒼白化 白色部位	0 1	2 1	2 1	3 0	

統計手法 : Dunnett か又は Mann-Whitney Test 着床所見は生存胎仔を含む  
\* P<0.05 \*\* P<0.01

投与群 (mg/kg/day)		0(対照)	20	80	320		
胎	胎児体重(g)	雄	3.67	3.74*	3.72	3.31**	
		雌	3.48	3.55**	3.50	3.06**	
	胎盤重量(g)	雄	0.68	0.68	0.67	0.62**	
		雌	0.65	0.65	0.64	0.61**	
外	検査胎児数 ( )内は腹数		370(25)	378(25)	352(23)	323(21)	
	性比(雄/雌)		178/192	184/194	170/182	166/157	
児	検	矮小児	変異	3(3)	3(3)	3(3)	67(9)
		蒼白	変異	1(1)	1(1)	4(3)	52(4)
		小眼球症(片側性)	奇形	1(1)	1(1)	0	0
		多発奇形	奇形	0	0	2(2)	0
内	検査胎児数 ( )内は腹数		180(25)	183(25)	170(23)	157(21)	
	臓	胸腺肥大(片・両側性)	変異	11(7)	14(11)	5(3)	9(5)
尿管拡張(片・両側性)		変異	26(14)	8(7)	6(5)	1(1)	
蛇行尿管(片・両側性)		変異	33(17)	34(17)	17(12)	14(8)	
腎盂拡張(片・両側性)		変異	11(8)	3(3)	3(3)	0	
腎肥大(片側性)		異常	1(1)	2(2)	0	0	
異所性腎(片側性)		異常	2(2)	7(5)	4(4)	8(4)	
小脳症(片側性、確認)		奇形	1(1)	0	0	0	
側脳室・第3脳室の拡張		異常	1(1)	0	0	0	
胎	検査胎児数 ( )内は腹数		190(25)	195(25)	182(23)	166(21)	
	骨	頭部					
鼻骨不完全骨化(両側性)		変異	1(1)	1(1)	0	13(5)	
前頭骨不完全骨化(両側性)		変異	0	1(1)	0	9(3)	
頭頂骨不完全骨化(片・両側性)		変異	1(1)	2(2)	1(1)	12(4)	
頭頂骨異形(片側性)		異常	1(1)	0	0	1(1)	
頭頂間骨不完全骨化・2分割		変異	0	4(3)	1(1)	11(4)	
頭頂間骨異形(片側性)		異常	0	2(2)	1(1)	0	
小泉門不完全骨化		変異	0	2(2)	0	2(2)	
小泉門異形		異常	2(2)	1(1)	4(1)	6(3)	
無脳症		奇形	0	0	2(2)	0	
鼻骨部分癒合、上顎骨癒合・短縮、外後頭骨・環椎癒合(片側性)		奇形	0	0	1(1)	0	
舌骨不完全骨化・分割		変異	6(5)	14(9)	11(9)	15(4)	
舌骨未骨化		異常	7(4)	10(8)	8(7)	5(5)	
上・下・上下の切歯欠損		異常	0	1(1)	2(2)	19(5)	

統計手法: Dunnett か又は Mann-Whitney Test \* P<0.05 \*\* P<0.01  
 外検、内臓検査および骨格検査で提示した数字は影響を受けた胎仔数を、( )内はその腹数を示す。

投与量 (mg/kg/day)		0(対照)	20	80	320
胎	検査胎児数 ( )内は腹数	190(25)	195(25)	182(23)	166(21)
	骨格検査				
児	胸骨分節と肋骨				
	第1-4胸骨分節不完全骨化・2分割	異常 11(6)	14(8)	11(8)	10(6)
	第3・4番胸骨分節不整列	異常 2(2)	1(1)	0	7(5)
	第3・4番胸骨分節不整列・2分割	異常 0	0	1(1)	1(1)
	第1-4胸骨分節未骨化	異常 3(3)	3(3)	3(3)	2(2)
	第5胸骨分節不完全骨化・2分割・未骨化	変異 140(25)	149(24)	141(23)	140(21)
	第6胸骨分節不完全骨化・未骨化	変異 134(25)	150(25)	150(22)	123(20)
	第13番短縮肋骨(片・両側性)	変異 2(2)	0	2(1)	2(2)
	第14番胸椎過剰骨化点(片・両側性)	変異 1(1)	12(6)	2(2)	2(2)
	第14番短縮肋骨(片側性)	変異 2(1)	3(2)	4(3)	1(1)
	第14番短縮肋骨(両側性)	変異 0	6(4)	4(2)	0
	第14番肋骨(片側短宿)	変異 0	1(1)	0	1(1)
	仙椎前椎骨数27	変異 1(1)	3(1)	0	1(1)
	第11番肋骨波状化(片側性)	異常 0	0	1(1)	0
	椎骨と肢帯				
	1以上の頸椎弓不完全骨化(片・両側性)	異常 2(2)	1(1)	1(1)	1(1)
	第1胸椎未骨化	異常 3(3)	6(4)	3(2)	7(6)
	第1胸椎不完全骨化	変異 1(1)	11(5)	2(2)	15(10)
	1以上の亜鈴型胸椎(第1を除く)	変異 6(5)	11(4)	3(1)	7(4)
	1個以上の亜鈴型胸椎・分割(第1を除く)	変異 7(7)	5(4)	0	7(6)
	第1腰椎体分割	変異 1(1)	0	0	0
	恥骨不完全骨化(片・両側性)	変異 1(1)	6(5)	7(4)	12(7)
	恥骨未骨化(片・両側性)	異常 1(1)	1(1)	0	0
	坐骨不完全骨化(片側性)	変異 0	0	0	1(1)
	第2仙椎弓不完全骨化(両側性)	変異 0	0	0	1(1)
	5以下の尾椎	異常 1(1)	4(4)	3(3)	5(5)
	1以上の前肢・後肢指末節骨未骨化(片・両側性)	変異 6(5)	9(4)	5(4)	20(8)
1以上の中指骨・中足骨未骨化(片・両側性)	変異 0	2(2)	2(2)	10(4)	
1以上の中指骨・中足骨不完全骨化(片・両側性)	変異 0	0	0	7(3)	

数字は 影響を受けた胎児数を、( )内はその腹数を示す。



## ウサギにおける催奇形性試験

(資料29)

試験機関 : Rhone-Poulenc Agrochimie  
Sophia (フランス)

報告書作成年 : 1996年 [GLP対応]

検体純度 :

供試動物 : ニュージーランドホワイト系ウサギ 1群雌20匹+3匹(衛星群)

試験開始時週齢 ; 14~20週齢

試験開始時体重 ; 2.35~3.77kg

試験期間 : 受精日より帝王切開終了までの期間40日間(1995年9月11日~10月20日)

試験方法 : 検体を0、10、80、200mg/kgの投与量になるよう0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、4ml/kgの容量で妊娠の6日目から19日目まで毎日強制経口投与した。人工授精の約1時間前に各雌に黄体形成ホルモンを静注し、授精能が確実な同系雄の精液により人工授精した。人工授精日を妊娠0日とした。

各衛星群の動物には、各試験群とも同様に検体を投与し、計画屠殺日まで一般状態、体重、摂餌量および妊娠状態を記録し、妊娠19日目に一夜尿を採取後、妊娠20日目に屠殺した。

用量設定根拠 ; 用量設定試験の結果に基づき本試験の投与用量を決定した。用量設定試験では、一群6匹の同系ウサギを用い、検体を0、50、100、250及び500mg/kgの用量(容量2ml/kg)で妊娠の6日から18日まで毎日強制経口投与した。その結果、500mg/kgおよび250mg/kg群で母動物に対して体重増加量の減少および流産等の影響が認められた。したがって、本試験は高用量を250mg/kgと設定し、以下、中用量、および低用量をそれぞれ80mg/kg、10mg/kgとした。

検査項目及び方法 :

母動物 ; 摂餌量及び一般状態は毎日観察した。体重は妊娠0日、6~20、24および29日に分けて測定した。妊娠29日目に屠殺した。一般状態を観察したのち、卵巣を含む生殖器官を摘出し、以下の項目について記録した。

- a) 妊娠子宮重量
- b) 各卵巣の黄体数
- c) 各子宮角における着床数。
- d) 子宮角における吸収胚数および分布
- e) 各子宮角における生児、死児の数および分布
- f) 個体別生存胎児重量および胎盤重量

胎児 ; 各胎児の外表異常の観察したのち、全胎児を屠殺し、内臓、及び脳の異常を検査した。その後に骨格を染色し、骨格異常の有無を検査した。胎児の変化は以下のように定義した。

- 1) 奇形 (発現頻度の低い非可逆的変化)
- 2) 異常 (比較的一般に認められる発育の変化)
- 3) 変異 (可逆的な発育の遅滞)

結 果 :

死亡率 ; 各群とも死亡例は認められなかった。

流 産 ; 200mg/kg群の雌 1 匹は妊娠22日に流産した。

一般状態 ; 妊娠 0 日および妊娠 1 日目に对照群を含む各投与群の多くの雌動物のケージトレイに赤色汚染が認められた。また妊娠期間最後の 3 日間にわたり、10mg/kg群の 1 匹および200mg/kg群の 1 匹に赤色汚染が認められた。さらに200mg/kg群の 7 匹では妊娠12~24日に赤色尿の排泄が認められた。

妊娠率 ; 对照群の 2 匹、低、中および高用量群の各 3 匹の計11匹は妊娠 2 9 日目の帝王切開時に妊娠が認められなかった。その他の動物では妊娠が認められ、妊娠率は85~90%の範囲にあった。

体 重 ; 80mg/kg群および200mg/kg群において、投与開始直後(妊娠 6 ~ 8 日)に体重増加の抑制が認められ、特に、200mg/kg群については統計学的有意差がみられた。

摂餌量 ; 80および200mg/kg群では、妊娠14~20日に軽度な摂餌量の低下が認められた。

ポルフィリンの分析 ; 妊娠19日目に衛星群の妊娠動物から採取した尿について、350nmの紫外線照射下で検査した結果、ポルフィリンは検出されなかった。

母動物の剖検所見 ; 对照群および10mg/kg群の各1匹で胎盤癒合が認められ、对照群を含む全群の多くで蛋白光を発する羊水が認められた。これらの変化は偶発的であり投与に関連する物ではなかった。

同腹児データ ; 各投与群の黄体数、着床数、同腹児数、生存胎児数、早期吸収胚数、後期吸収胚数の群平均および腹当たり平均は对照群と同等であった。着床痕のみが認められた動物は、对照群で 1 匹、200mg/kg群で 1 匹、10mg/kg群で 3 匹、80mg/kg群で 2 匹であった。性比にも、对照群と各投与群の間で差は認められなかった。

胎児の外表検査 ; 全群で矮小児が認められた。对照群の胎児 1 匹に、片側性小眼球症、舌突出、潜在性二分脊椎(骨格検査ではなし)、脚および足底の多発性奇形が認められた。10mg/kg群の矮小児 1 匹で両側性眼球突出が認められた。80mg/kg群の胎児 2 匹で両側性眼球突出が認められた。そのうちの 1 匹で短鼻、別の 1 匹で前脚の片側性異常彎曲を伴った腹部腫脹が認められた。しかし、これらの所見は骨格検査では確認できなかった。80mg/kg群の胎児 1 匹には後脚指骨 2 本の両側性合指が認められた。

胎児の内臓検査 ; 内臓検査では、对照群の胎児 1 匹で胆嚢形成不全、小眼球および片側性甲状腺欠失が認められた。10mg/kg群の胎児 1 匹で大動脈弓および上方大動脈の拡張を伴った肺動脈口狭窄症が認められ、矮小児 1 匹に副肺葉欠失を伴う部分的横隔膜ヘルニアが認められた。80mg/kg群の胎児 2 匹では腹腔に体液が存在し、全肺葉形成不全および心肥大が認められた。また、胎児 1 匹で腎および尿管の片側性欠失、他の 1 匹で右側大動脈に関連する房室中間欠損が認められた。200mg/kg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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

の胎児 1 匹で側脳室の中等度の拡張を伴った小脳症が認められ、他の胎児 1 匹に三腔心を伴った肺動脈口狭窄症(心室は 2 室あり、房室は 1 つだけ)が認められた。他の 1 匹では房室中隔欠損が認められた。

骨格検査；対照群の矮小児 1 匹の骨格検査で、指節骨および中手骨の不完全化骨、腰椎レベルでの脊柱分断、頭頂間骨と頭頂骨の部分的癒合が認められた。10mg/kg群の矮小児 1 匹で胸骨分節癒合が、他の胎児 1 匹で肋骨の癒合および胸椎体と胸椎弓が認められた。また胸椎体と胸椎弓の未化骨も認められた。80mg/kg群の胎児 1 匹に胸骨分節癒合が、矮小児 1 匹で胸骨奇形が認められた。200mg/kg群の胎児 1 匹では胸骨分節未化骨が、他の胎児 2 匹には環椎の未化骨が認められた。骨格異常および骨格変異を有する胎児は対照群を含む各投与群で同じ発現頻度であった。

考 察：上記の奇形の発現頻度は対照群と比較して軽度の増加が認められたが、統計学的有意差および用量相関性は認められなかったことから投与に関連した変化とは考えられなかった。

以上の結果から、本剤の80mg/kgおよび200mg/kg投与群では、母体重増加の軽度の減少が認められ、これらの用量で母体毒性が認められた。胎児パラメーターには、対照群と比較して投与群に生物学的意義のある変化または統計学的有意差は認められなかった。

したがって、母動物における無毒性量は10mg/kg/dayであると考えられる。

申請者注) 上記結果より胎児においては無毒性作用量200mg/kg/dayであると考えられた。

結果：

投与量(mg/kg/day)		0(対照)	10	80	200		
1群当りの動物数		20	20	20	20		
母 動 物	死亡数	0	0	0	0		
	不妊	2	3	3	3		
	流産	0	0	0	1		
	着床のみが確認された動物数	1	3	2	1		
	生存胎児が存在した妊娠動物	17	14	15	15		
	妊娠率(%)	90	85	85	85		
	妊娠子宮重量(g)	430.9	419.8	443.9	451.7		
	体重増加量 (kg)	妊娠6-8日 (投与初期)	0.027	0.032	0.005	0.001*	
		妊娠6-20日 (投与期間)	0.230	0.243	0.194	0.121	
		妊娠20-29日 (投与終了時 から最終日)	0.200	0.185	0.238	0.257	
	摂餌量 (g)	妊娠 6- 8日	174.52	169.58	155.91	167.61	
		妊娠 8-11日	166.44	168.64	160.62	164.21	
		妊娠11-14日	147.24	153.37	143.09	141.60	
		妊娠14-17日	138.37	144.08	113.76	110.08	
		妊娠17-20日	148.37	152.52	121.74	112.45	
妊娠20-29日		136.17	140.16	137.28	136.14		
着 床 所 見	検査母動物数		18	17	17	16	
	黄体数		10.2	9.8	9.8	10.8	
	着床数		8.5	7.7	8.4	9.1	
	生存胎児数		7.9	6.8	7.5	7.9	
	吸収胚	早期吸収胚		0.3	0.2	0.2	0.3
		後期吸収胚		0.1	0.1	0.1	0.4
		計		0.5	0.4	0.4	0.7
		着床前死亡率 (%)		16.8	20.3	16.1	15.1
		着床後死亡率 (%)		14.1	23.1	17.0	13.7

統計手法：Dunnett か又は Mann-Whitney Test

\* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

投与量 (mg/kg/day)			0(対照)	10	80	200
胎児体重 (g)	雄		35.49	34.35	35.29	35.26
	雌		34.12	34.92	34.03	35.35
胎盤重量 (g)	雄		6.47	6.46	6.62	6.32
	雌		6.07	6.28	6.49	6.32
検査胎児数 ( )内は腹数			143(17)	116(14)	129(15)	127(15)
性比 (% 雄胎児)			44	47	50	53
外 検	蒼白	変異	0	0	1(1)	0
	矮小児	変異	21(7)	19(6)	9(4)	17(5)
	頭部血腫	異常	0	0	0	1(1)
	眼球突出(両側性)	奇形	0	1(1)	2(2)	0
	短鼻	異常	0	0	2(2)	0
	前脚異常湾曲(片側性)	異常	0	0	1(1)	0
	合指症(両側性)	奇形	0	0	1(1)	0
	腹部腫脹	異常	0	0	2(2)	1(1)
	多発奇形	奇形	1(1)	0	0	0
	胎 内 臓 検 査	小脳症	奇形	0	0	0
側脳室拡張		異常	0	0	0	2(2)
胸腺肥大(片・両側性)		変異	8(3)	13(8)	12(8)	13(7)
胸腺形成不全(両側性)		変異	0	0	1(1)	0
無名動脈欠損		変異	37(13)	16(8)	21(11)	21(12)
無名動脈短縮		変異	1(1)	2(2)	1(1)	3(2)
巨心症		奇形	0	0	2(2)	0
右心室低形成		異常	0	0	1(1)	0
左右心室肥大		異常	0	0	0	1(1)
右心房肥大		異常	2(2)	0	0	1(1)
心嚢拡張		異常	1(1)	0	3(2)	3(3)
三腔心		奇形	0	0	0	1(1)
房室上部中間欠損		奇形	0	0	1(1)	1(1)
右心室からの動脈起始異常		奇形	0	0	1(1)	0
上行大動脈弓拡張		異常	0	1(1)	0	2(2)
肺動脈口狭窄症		奇形	0	1(1)	0	1(1)
肺動脈口拡張		異常	0	0	0	1(1)
全肺葉形成不全		異常	0	0	1(1)	0
肺葉外部異常色(緑色)		変異	0	1(1)	0	0
右・左・両方の肺葉 形成不全		異常	0	1(1)	2(2)	0
副肺葉欠損		奇形	0	1(1)	0	0
部分的横隔膜ヘルニア		奇形	0	1(1)	0	0
多発胆嚢		変異	1(1)	0	0	1(1)
胆嚢肥大		異常	1(1)	0	2(1)	0
胆嚢形成不全		異常	1(1)	0	0	0
副腔中の体液		異常	0	0	2(2)	0
異所性の腎臓(片側性)		異常	0	0	0	1(1)
腎と尿管欠損(片側性)		奇形	0	0	1(1)	0
多発奇形		奇形	1(1)	0	0	0

統計手法: Dunnett か又は Mann-Whitney Test \* P<0.05 \*\* P<0.01  
 外検および内臓検査で提示した数字は影響を受けた胎児数を、( )内はその腹数を示す。

投与量 (mg/kg)		0(対照)	10	80	200
骨格検査	頭部				
	鼻骨非相称骨化	異常	0	1(1)	0
胎児	鼻骨部分的癒合	異常	1(1)	6(3)	5(4)
	頭頂骨孔(片側性)	異常	0	0	1(1)
胎児	頭頂間骨不完全骨化	異常	0	0	1(1)
	頭頂間骨と頭頂骨の部分的癒合(片・両側)	異常	3(2)	2(2)	0
胎児	頭蓋骨非相称骨化	異常	1(1)	0	0
	大泉門拡張	異常	0	3(1)	4(3)
胎児	骨縫合	異常	11(9)	6(5)	4(4)
	舌骨体不完全骨化	変異	8(5)	19(9)	6(5)
胎児	舌骨体未骨化	異常	3(3)	1(1)	0
	舌骨角湾曲(片・両側)	異常	2(2)	4(3)	1(1)
胎児	舌骨角不完全骨化(両側)	変異	0	0	1(1)
	胸骨分節と肋骨				
胎児	第1-4胸骨分節不完全骨化・2分割・不整列	異常	2(2)	3(3)	1(1)
	第1-4胸骨分節未骨化	奇形	0	0	0
胎児	第5/6胸骨分節不完全骨化・2分割・不整列	変異	56(15)	40(13)	40(13)
	第5/6胸骨分節未骨化	異常	32(11)	21(7)	9(5)
胎児	第6胸骨分節過形成	変異	0	0	1(1)
	胸骨：過剰骨化点	異常	0	2(1)	0
胎児	胸骨分節融合(4分節以下)	奇形	0	1(1)	1(1)
	胸骨奇形	奇形	0	0	1(1)
胎児	第13肋骨(片側性・片側が短い)	変異	21(13)	18(9)	14(11)
	第13肋骨(両側性・片側が短い・両方)	変異	72(15)	58(13)	66(14)
胎児	遊走性の第13肋骨(片・両側)	変異	18(11)	12(8)	15(9)
	椎骨と肢帯				
胎児	6つ以下の亜鈴型胸椎	異常	2(2)	2(2)	0
	6つ以下の胸椎2分割	異常	1(1)	0	0
胎児	3つ以下の腰椎半体	異常	1(1)	1(1)	0
	環椎の不完全骨化	異常	11(6)	16(4)	6(3)
胎児	環椎の未骨化	奇形	0	0	0
	多重胸椎奇形	奇形	0	1(1)	0
胎児	肩峰湾曲(片・両側)	変異	0	6(5)	1(1)
	上腕骨頭部未骨化(片・両側)	変異	70(12)	64(11)	54(12)
胎児	滑車未骨化(片・両側)	変異	27(8)	32(7)	22(7)
	大腿骨下端未骨化(片・両側)	変異	47(10)	53(9)	38(11)
胎児	脛骨上部未骨化(片・両側)	変異	98(14)	92(12)	78(13)
	第2仙椎上の下肢体挿入点(片・両側)	変異	86(17)	69(13)	64(15)
胎児	下肢体挿入点未骨化(片側)	異常	0	1(1)	1(1)
	距骨未骨化(両側)	異常	5(3)	1(1)	1(1)
胎児	踵骨不完全骨化(両側)	異常	1(1)	0	0
	腰椎のレベルで脊柱分断	奇形	1(1)	0	0
胎児	恥骨不完全骨化(両側)	異常	7(4)	4(3)	4(4)
	恥骨未骨化(両側)	奇形	1(1)	0	0
胎児	尾先端2分割	異常	0	0	1(1)
	尾先端不整列	異常	0	1(1)	1(1)
胎児	15以下の尾椎	変異	2(2)	4(2)	1(1)
	前肢の第1基節骨未骨化(片・両側)	異常	2(2)	0	1(1)
胎児	2個以上前足の間指節骨未骨化(片側・両側)(親指を除く)	異常	2(2)	0	2(2)
	第一中手骨未骨化(片・両側)	変異	21(8)	17(6)	11(9)
胎児	第一中手骨不完全骨化(片・両側)	変異	14(6)	12(4)	1(1)

数字は影響を受けた胎児数を、( )内はその腹数を示す。

## 10) 変異原性

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料30)

試験機関 : Rhone-Poulenc Secteru Agro  
Sophia Antipolis (フランス)  
報告書作成年 : 1993年 [G L P 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* のTA98, TA100, TA1535, TA1537 およびTA1538株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下においてAmesらの方法を用いて検体の変異原性を調べた。検体を溶解させるためにDMSOを用いた。試験は10, 25, 50, 100および250  $\mu$ g/プレートの濃度で3反復、2回実施した。

用量設定試験 ; TA100株を用い、検体を1~5000  $\mu$ g/プレートの範囲で処理した結果、250  $\mu$ g/プレートおよびそれ以上の検体濃度では、プレート上に沈殿の生成が認められた。2500および5000  $\mu$ g/プレートでは、一部のプレートで沈殿により復帰変異コロニー数の計数が妨害された。細胞毒性はいずれの濃度でも認められなかった。これらの結果から、本試験の検体濃度は、10, 25, 50, 100および250  $\mu$ g/プレートが適当であると判断した。

試験結果 : 結果を次表に示す。2回の試験において、250  $\mu$ g/プレートの濃度においては、すべてのプレートで、100  $\mu$ g/プレートの濃度においては一部のプレートで沈殿の生成が認められた。検体はS-9 Mixの存在の有無にかかわらず、最高濃度を含むいずれの濃度でも、用いた菌株に復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照物質を処理したプレートでは明らかな復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下において、検体は代謝活性化の有無にかかわらず変異原性を示さないと判断された。

1回目試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538	
対照(DMSO)	0	—	128	15	38	12	14	
検体	10	—	104	20	36	13	12	
	25	—	120	20	33	8	16	
	50	—	132	21	34	8	18	
	100	—	139	20 p	37 p	7 p	13	
	250	—	117 p	17 p	37 p	10 p	14 p	
対照(DMSO)	0	+	121	23	46	16	21	
検体	10	+	126	15	47	16	22	
	25	+	131	21	41	14	19	
	50	+	133	15	36	16	20	
	100	+	136	13	36 p	13	22 p	
	250	+	145 p	17 p	37 p	15 p	22 p	
陽 性 対 照	NaN <sub>3</sub>	2	—	853	588	—	—	—
	AAC	50	—	—	—	—	401	—
	2NF	50	—	—	—	409	—	415
	AAN	5	+	1932	305	2311	253	1742

注) NaN<sub>3</sub> : Sodium azide      AAN : 2-aminoanthracene  
AAC : 9-aminoacridine      — : 試験未実施  
2NF : 2-nitrofluorene      p : 沈殿の生成を示す。



2回目試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	TA1538	
対照(DMSO)	0	—	128	23	36	16	15	
検体	10	—	126	28	34	17	20	
	25	—	125	23	34	11	20	
	50	—	122	19	27	10	13	
	100	—	128 p	20 p	35 p	11 p	18	
	250	—	128 p	17 p	31 p	7 p	8 p	
対照(DMSO)	0	+	121	19	39	18	22	
検体	10	+	112	17	41	18	28	
	25	+	115	17	41	18	20	
	50	+	116	16	38	21	22	
	100	+	113	16 p	43 p	17 p	27	
	250	+	130 p	15 p	45 p	17 p	24 p	
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	2	—	770	502	—	—	—
	AAC	50	—	—	—	—	293	—
	2NF	50	—	—	—	356	—	372
	AAN	5	+	2575	344	2240	274	2026

注) NaN<sub>3</sub> : Sodium azide      AAN : 2-aminoanthracene  
AAC : 9-aminoacridine      — : 試験未実施  
2NF : 2-nitrofluorene      p : 沈殿の生成を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

マウスリンパ腫L5178Y細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異原性試験

(資料31)

試験機関 : Hazleton Europe(イギリス)

報告書作成年 : 1994年(G L P 対応)

検体純度 :

試験方法 : マウスリンパ腫L5178Y細胞を用いラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下において細胞のチミジンキナーゼ(TK)遺伝子座に対する検体の変異原性を調べた。予備毒性試験として培養細胞に対する細胞毒性用量を求めるためにS-9 Mixの存在下および非存在下において6.25から200  $\mu$ g/ml(溶解限度)まで(6段階、倍々の濃度系列)の被検物質に細胞を処理後、細胞を洗浄しマイクロタイタープレートに播種して細胞毒性試験を行った。本試験は2連制とし2回実施した。検体をDMSOに溶解し、試験濃度は試験1において12.5~200  $\mu$ g/mlとした。試験2において12.5~100  $\mu$ g/mlとした。S-9 Mixの存在下および非存在下で3時間細胞を処理後、細胞を洗浄した。その後細胞は一部をマイクロタイタープレートに播種しコロニー形成率(PE)を求め生存率を算出した。残りに培養液を加えインキュベートし、2日間の発現時間後、上記のように細胞の一部を播種しPE(生存細胞)を求めた。残りにTFT(5-trifluoro-thymidine)溶液を加えマイクロタイタープレートに播種してインキュベーション後、PE(変異細胞)を求め突然変異率を算出した。

陽性対照として 4-nitroquinoline 1-oxide(NQ, S-9 Mix非存在下)、benzo(a)pyrene(BP, S-9 Mix存在下)を用いた。

生存率および突然変異率は次の計算式で求めた。

$$\text{生存率(\%)} = [\text{PE(検体)} / \text{PE(溶媒対照)}] \times 100$$

$$\text{突然変異率} = [\text{PE(変異細胞)} / \text{PE(生存細胞)}] \times 100$$

用量設定試験 ; 毒性試験を実施し、本試験に使用する濃度を確立した。

S-9 Mixの有無	無		有	
	生存ウェル数*	生存率(%)	生存ウェル数*	生存率(%)
0	19	100	24	100
6.25	21	118.5	22	83.9
12.5	16	76.9	20	70.8
25	25	168.7	23	91.5
50	22	129.1	24	100
100	19	100	19	65.0
200	21	118.5	0	0

\* : 32個のウェル中で生存細胞が存在するウェルの数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

S-9 Mixの有無にかかわらず、200  $\mu$ g/mlの濃度で沈殿が認められ、3時間のインキュベーション後に、50および100  $\mu$ g/mlの濃度でも沈殿が生じた。S-9 Mixの非存在下ではいずれの濃度においても毒性が認められなかった。S-9 Mixの存在下では200  $\mu$ g/mlの濃度で完全な細胞毒性を示したが、その他の濃度ではほとんど毒性が認められなかった。したがって試験1では最高濃度を200  $\mu$ g/mlとした。試験2では過剰な沈殿の生成を考慮して最高濃度を100  $\mu$ g/mlとした。

本試験：試験1および2で得られた生存率および突然変異率のデータを下記の表にまとめた。

### 試験1

S 9 M i x の有無		無		有	
処 理	処理量 ( $\mu$ g/ml)	生存率 (%)	突然変異率 (/10 <sup>6</sup> Cell)	生存率 (%)	突然変異率 (/10 <sup>6</sup> Cell)
対 照 (DMSO)	0	100.0	197.00	100.0	203.44
検 体	12.5	103.7	223.09	76.3	213.24
	25	82.6	214.52	80.2	317.83 $\uparrow$
	50	83.7	246.84	72.6	284.04 $\uparrow$
	100	64.7	189.57	62.4	248.50
	200	102.9	—	91.1	—
直線性			ns		ns
陽 性	NQQ	0.05	74.7	805.69	—
		0.1	53.9	1219.79	—
対 照	BP	2	—	—	62.4
		3	—	—	52.0

$\uparrow \downarrow$  :  $p < 0.05$  [突然変異率、Dunnett、一方向]  
 ns : 有意差なしを示す [直線性、 $\chi^2$ 検定、一方向]  
 NQQ : 4-nitroquinoline 1-oxide BP : benzo(a)pyrene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

### 試験 2

S 9 M i x の有無		無		有	
処 理	処理量 ( $\mu$ g/ml)	生存率 (%)	突然変異率 (/10 <sup>6</sup> Cell)	生存率 (%)	突然変異率 (/10 <sup>6</sup> Cell)
対 照 (DMSO)	0	100.0	181.86	100.0	200.06
検 体	12.5	100.7	172.47	95.7	200.32
	25	99.3	175.32	100.3	178.22
	50	82.8	174.93	85.7	212.38
	100	72.2	161.90	78.8	237.52
直線性		ns		ns	
陽 性	NQQ	0.05	42.5	1141.96	—
		0.1	47.9	1410.58	—
対 照	BP	2	—	—	87.0
		3	—	—	70.0

\* :  $p < 0.05$  [突然変異率、Dunnett、一方向]。  
 ns : 有意差なしを示す [直線性、 $\chi^2$ 検定、一方向]。  
 NQQ : 4-nitroquinoline 1-oxide BP : benzo(a)pyrene

試験 1 において100および200  $\mu$ g/mlでは検体溶液添加後に沈殿の生成が認められ、50  $\mu$ g/mlでもインキュベーション後に沈殿の生成が認められた。200  $\mu$ g/mlは本試験に適切な濃度であるとは考えられなかったので生存率および突然変異率は100  $\mu$ g/ml以下の4濃度で行われた。生存率に関して試験 1 でTFT耐性試験に用いた最高濃度(100  $\mu$ g/ml)で生存率はわずかに低下しS-9 Mixの存在、非存在下でそれぞれ64.7%および62.4%であった。試験 2 ではそれぞれ72.2%および78.8%であった。突然変異に関してはS-9 Mixの非存在下では、試験 1 および試験 2 のどの濃度においても突然変異率に有意な増加を示さなかった(Dunnett、一方向)。また濃度の増加に伴う直線的増加傾向(直線性)も認められなかった( $\chi^2$ 検定、一方向)。S-9 Mixの存在下では試験 1 において25および50  $\mu$ g/mlで突然変異率にわずかであるが有意な増加が認められた。しかしさらに高濃度である100  $\mu$ g/mlでは有意な増加は認められなかった。また用量相関性も認められなかった。試験 2 ではどの濃度でもS-9 Mixの存在の有無にかかわらず突然変異率に有意な増加は認められなかった。また用量相関性に関して有意差は認められなかった。

以上の結果より、試験 1 で25および50  $\mu$ g/mlで認められた突然変異率の有意な増加は、試験 2 では得られていないことから、偶発的なものであると思われる。突然変異率の有意な増加に再現性がなく、また有意な用量相関性も得られないことから、本剤に変異原性は認められないと結論された。

マウスを用いた小核試験

(資料32)

試験機関 : Hazleton Europe (イギリス)

報告書作成年 : 1994年 [G L P 対応]

検体純度 :

試験動物 : CD-1系マウス

試験方法 : 検体を0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し、500、1000、2000mg/kgの用量で0時および24時間後の2回マウスに強制経口投与した。試験1において2回投与後24時間および48時間で各群雌雄各5匹を屠殺した。試験2では2回投与後48時間で各群雄各7匹を屠殺した。陽性対照のシクロホスファミド(CPA)投与群のマウスは試験1および2とも、投与後24時間で屠殺した。大腿骨を摘出して骨髓細胞の塗抹標本作製した。塗抹標本はギムザ<sup>®</sup>を用いて染色し、小核を有する多染性赤血球頻度を調べた。さらに、多染性赤血球/成熟赤血球の割合も求めた。

用量設定根拠 : 本試験と同種同系統の動物を用い、1群雌雄各3匹とし、検体を357、549.3、845、1300及び2000mg/kgの用量で上記のように2回強制経口投与した。いずれの用量においても死亡例または一般状態の変化は認められなかったことから、本試験における最高用量は2000mg/kgが適当であると考えられた。

結 果 : 次表に結果を示す。

試験1および2のいずれの検体投与群でも対照群と比べPCE/NCE比の変化は認められなかった。しかし試験1において投与後48時間で屠殺した雄動物で1000mg/kg群 ( $P \leq 0.01$ ) および2000mg/kg群 ( $P \leq 0.05$ ) で小核を有する多染性赤血球の有意な増加が確認された。試験2においては試験1で得られた有意差のデータの再現性を確かめるために雄だけで動物数を多くして同じ実験を行った。結果はどの用量においても小核を有する多染性赤血球数の有意な増加は認められなかった。このことから試験1で得られた小核を有する多染性赤血球数の有意な増加には再現性が認められなかった。陽性対照群では試験1および2において小核を有する多染性赤血球数の有意な ( $p \leq 0.001$ ) 増加がみられた。

試験 1

処 理	投与量 mg/kg	処理時間 (hr)	性	動物数 (匹)	MNPCE <sup>a)</sup>	P/M <sup>b)</sup>
対 照 (0.5% メチルセルロース)	0	24	♂	5	0.52	0.95
			♀	5	0.39	0.92
		48	♂	5	0.35	0.89
			♀	5	0.60	0.90
検 体	500	24	♂	5	0.30	1.02
			♀	5	0.60	1.00
	48	♂	5	0.60	0.79	
		♀	5	0.50	0.91	
	1000	24	♂	5	0.50	0.93
			♀	5	0.49	0.89
	48	♂	5	1.39 **	0.87	
		♀	5	0.70	0.83	
2000	24	♂	5	0.80	1.01	
		♀	5	0.79	0.88	
48	♂	5	1.00 *	0.87		
	♀	5	1.00	0.92		
陽性対照 シクロスポリミド <sup>c)</sup>	30	24	♂	5	32.31 ***	0.98
			♀	5	27.88 ***	0.96

注) a : 多染性赤血球1000個あたりの小核を有する多染性赤血球数

b : 多染性赤血球/成熟赤血球比

\*, \*\*, \*\*\*: それぞれ  $p \leq 0.05$ ,  $0.01$ ,  $0.001$  ( $\chi^2$ 検定)

試験 2

処 理	投与量 mg/kg	処理時間 (hr)	性	動物数 (匹)	MNPCE <sup>a)</sup>	P/M <sup>b)</sup>
対 照 (0.5% メチルセルローズ)	0	48	♂	7	0.57	0.90
検 体	500	48	♂	7	0.21	0.85
	1000	48	♂	7	0.50	0.91
	2000	48	♂	7	0.42	0.92
陽性対照 シクロスファミド <sup>c)</sup>	30	24	♂	4	24.68 ***	0.92

注) a : 多染性赤血球1000個あたりの小核を有する多染性赤血球数

b : 多染性赤血球/成熟赤血球比

\*, \*\*, \*\*\*: それぞれ $p \leq 0.05$ ,  $0.01$ ,  $0.001$  ( $\chi^2$ 検定)

以上の結果から、2回の独立した試験において、本剤は2000mg/kg(2回投与)までの用量でマウスに経口投与したとき、骨髄の多染性赤血球に再現性のある小核を誘発しなかった。したがって、本剤の小核誘発性は陰性であると結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

細菌を用いたDNA修復試験

(資料33)

試験機関 : 安評センター  
報告書作成年 : 1998年 [GLP対応]

検体純度 :

方 法 : 枯草菌の組換え修復機構保持株 (H17, Rec+) と欠損株 (M45, Rec-) を用い、代謝活性化及び非活性化によってDNA損傷の誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。本試験では11500  $\mu$ g/ディスク (直接法) および5750  $\mu$ g/ディスク (代謝活性化法) を最高用量とし、以下それぞれ6用量 (公比2) を設定した。

用量設定試験 ; 11500  $\mu$ g/ディスク (直接法) および5750  $\mu$ g/ディスク (代謝活性化法) を最高用量とし、以下それぞれ6用量 (公比2.5) を設定した。M45, H17株に対する生育阻害作用は観察されなかったため、最高用量を上記濃度とした。

結 果 : 本剤の試験菌株に対する生育阻害作用は直接法ならびに代謝活性化法において生育阻害作用は認められなかった。一方、陽性対照物質のマイトマイシンCおよびTrp-P-1処理では、両試験菌株の間で明らかな生育阻止の差が生じた。また陰性対照のカナマイシンでは両菌株の生育阻止帯の直径は同程度であった。

以上の結果から、本剤の枯草菌に対するDNA損傷誘発性は陰性であると判断される。

検 体	濃 度 ( $\mu$ g /disk)	S 9 分画 (-)			S 9 分画 (+)		
		阻止帯 (mm)		差 (mm)	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		M45	H17		M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
オキシアルキル	180	NT	NT	NT	0.0	0.0	0.0
	369	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	719	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	1438	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2875	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	5750	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	11500	0.0	0.0	0.0	NT	NT	NT
陰性対照 (カナマイシン)	0.3	8.1	7.4	0.7	NT	NT	NT
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.02	8.3	0.0	8.3	NT	NT	NT
陽性対照 (Trp-P-1)	20	NT	NT	NT	15.8	0.0	15.8

NT: 試験実施せず



## DNA損傷誘発性

マウス初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成 (UDS) 試験

(資料 35)

試験機関 : Covance Laboratories Ltd

報告書作成年 : 2001年 [GLP対応]

検体の純度 :

方法 : マウス初代培養肝細胞を用いて不定期DNA合成誘発能をオートラジオグラフィ測定法により検索した。検体は1%メチルセルロース+0.1%Tween 80に懸濁した。用量設定試験の結果に基づき、雄CD-1マウスに800および2000 mg/kgの用量で単回経口投与した。投与2・4時間後および12-14時間後にマウスを屠殺して肝細胞を分離した。各採取時間、各用量あたり3匹のマウスを用いた。陽性対照として2-4時間群はジメチルニトロソアミンを、12-14時間群はfast garnet-GBCを単回経口投与した。投与容量はいずれも20 mL/kgとした。屠殺後、肝臓をコラゲナーゼで灌流し、肝細胞を分離した。肝細胞の生存率をトリパンブルー染色により測定した。6-wellのマルチプレートに入れた25mm径のプラスチックカバースリップ上に約 $4.5 \times 10^5$ 個の細胞を播種した。

細胞附着後培地を取り除き、 $^3\text{H}$ -チミジンを最終濃度 $10 \mu\text{Ci/mL}$ で含むWilliam's E 不完全培地(WE-I)に交換し、4時間処理した。処理終了後、培地を $0.25 \text{ M}$ チミジンを含むWE-I交換し、さらに一晚培養した。カバースリップを取り出し、スライドグラスに乗せた後、現像、定着、染色し、オートラジオグラフィにより $^3\text{H}$ -チミジンの取り込みを測定した。1群につき100個の細胞を観察した。各細胞について自動画像解析装置(ARTEK)を用いて、核グレイン数および細胞質グレイン数(核に隣接した部分で3個の核に相当する広さに観察されるグレイン数)を計数した。これらの値から平均核グレイン数、平均細胞質グレイン数、平均正味核グレイン数(NNG)、修復細胞(正味核グレイン数が5個以上)の割合を算出した。

次の点について用量相関性が認められた場合、検体を陽性と判定した: 平均正味核グレイン数(NNG)が少なくとも1用量で0を超える; 修復細胞(NNG $\geq$ 5)の割合が20%以上である。NNG数および修復細胞(NNG $\geq$ 5)の割合が同時に実施した陰性対照群より高い。検体処理群のNNG数および修復細胞の割合が陰性対照値の範囲内である場合は陰性であると判定した。

結果：以下の表に示した。

薬 剤	用量 (mg/kg)	肝細胞 採取時間 (時間)	NNG数 平均±標準偏差	修復細胞(%) NNG≥5	修復細胞中の グレイン数 平均±標準偏差
溶媒対照 (1%MC+0.1%Tween80)	0	2-4	-3.8± 1.9	2.3± 1.5	16.1± 16.8
オキサジアルギル	800	2-4	-3.6± 0.5	1.0± 0.0	6.8± 1.7
	2000	2-4	-4.7± 2.0	0.3± 0.6	10.0 <sup>a)</sup>
DMN	10	2-4	42.8± 7.2	94.3± 3.1	45.3± 7.4
溶媒対照 (1%MC+0.1%Tween80)	0	12-14	-1.7± 0.6	1.0± 1.7	5.5 <sup>a)</sup>
オキサジアルギル	800	12-14	-2.3± 1.1	0.3± 0.6	7.7 <sup>a)</sup>
	2000	12-14	-2.5± 1.0	0.7± 0.6	5.7± 0.9
FG-GBC	10	12-14	30.4± 10.4	100.0± 0.0	30.4± 10.4

NNG = 正味核グレイン数

FG-GBC = Fast garnet GBC

DMN = ジメチルニトロソアミン

<sup>a)</sup> 1例のみに観察

UDS試験の結果、検体はいずれの用量においても、また、いずれの細胞採取時間においても平均核グレイン数の上昇を誘発しなかった。陰性対照群のUDSは予想される範囲内にあり、陽性対照物質では平均正味核グレイン数および修復細胞の割合が明らかに増加し、本試験が有効であることが示された。

以上の結果より、本試験条件下では、本検体はマウス初代培養肝細胞を用いた不定期DNA合成試験において陰性であると結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## 1 1) 生体の機能に及ぼす影響

### 一般薬理試験

(資料34)

試験機関：(株)帝人バイオ・ラボラトリーズ

報告書作成年：1998年

検体純度：

#### 1) 中枢神経系に対する作用

##### a. 自発行動への影響

試験動物：ICR系マウス 5週齢 体重雄 23.3～27.2g 一群各5匹

方法：検体をコーン油に懸濁し、0, 300, 1000および3000mg/kgの割合で16時間絶食させたマウスに経口投与し、Irwinの多元観察法に準じて観察し、投与5, 15, 30分, 1, 3および6時間後の症状および行動を記録した。

結果：いずれの投与群においても特異な徴候および行動は認められなかった。

##### b. 自発運動量への影響

試験動物：ICR系マウス 5週齢 体重雄 21.3～28.3g 一群各10匹

方法：検体をコーン油に懸濁し、300, 1000および3000mg/kgの割合で16時間絶食させたマウスに経口投与し、回転カゴを回す性質の変化を調べた。投与直後から20分間隔で200分まで累積回転数を測定し、20分毎の回転数を算出した。

結果：いずれの投与群においても対照群と同様の推移を示し、差はみられなかった。

#### 2) 呼吸・循環器系に対する作用

試験動物：日本白色種ウサギ 13週齢 体重雄 2.68～2.75kg 1用量各5例

方法：検体をPEG400に溶解し0, 0.5, 1.5および5mg/kgの(用量10ml/kg)の割合でpentobarbital麻酔下、一方の大腿静脈に挿入したカニューレより投与した。投与後呼吸、脈拍、血圧、心拍数および心電図を測定した。

結果：0.5mg/kg静脈内投与では、いずれのパラメーターにおいても対照群とほぼ同様の推移を示し差はなかった。1.5mg/kg投与では、投与直後に一過性の呼吸数増加(29.4%)を示したが、5分後には投与前のレベルに回復した。これは被検物質が血液中で析出したことにより肺循環へ物理的影響を与えたものと思われた。5mg/kg静脈内投与では、投与直後に顕著な呼吸数の増加(173.8%)および一過性の血圧上昇(収縮期 12.5%, 拡張期 9.7%)を示し、投与直後から5分後までの呼吸数と投与直後の収縮期血圧については有意差が認められた。さらに2例で心電図のT波の平坦化が見られたが、投与30分後には回復した。これらも同様に物理的影響に起因すると思われる。心拍数については対照群と差はなかった。これらの結果から、本剤は呼吸・循環系に対する薬理作用を殆ど示さないと考えられた。