

マウスにおける 78 週間混餌投与発がん性試験

毒性資料 No. 原体-30

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1990 年

検体の純度：

供試動物：CD-1 マウス (Chales River (UK))、6 週齢、1 群雌雄各 50 匹

投与期間：78 週間 (1988 年 10 月～1990 年 4 月)

投与方法：検体を 0、500、2000 及び 7000ppm の濃度で飼料に混入し、78 週にわたって摂食させた。飼料調製は隔週に行った。

用量設定の根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。また少なくとも週 1 回の割合で触診を行った。

試験期間中の死亡率を次表に示した。

表. 累積死亡数及び死亡率

性別	雄				雌			
	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
投与 52 週	1 (2.0)	2 (4.0)	3 (6.0)	3 (6.0)	1 (2.0)	2 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
投与 78 週	5 (10)	10 (20)	10 (20)	10 (20)	7 (14)	10 (20)	7 (14)	13 (26)

(Kaplan-Meier 解析)

累積死亡動物数、( ) 死亡率

検体投与による死亡率への影響は認められなかった。

また検体投与に起因したと思われる外徴や行動の変化は観察されなかった。

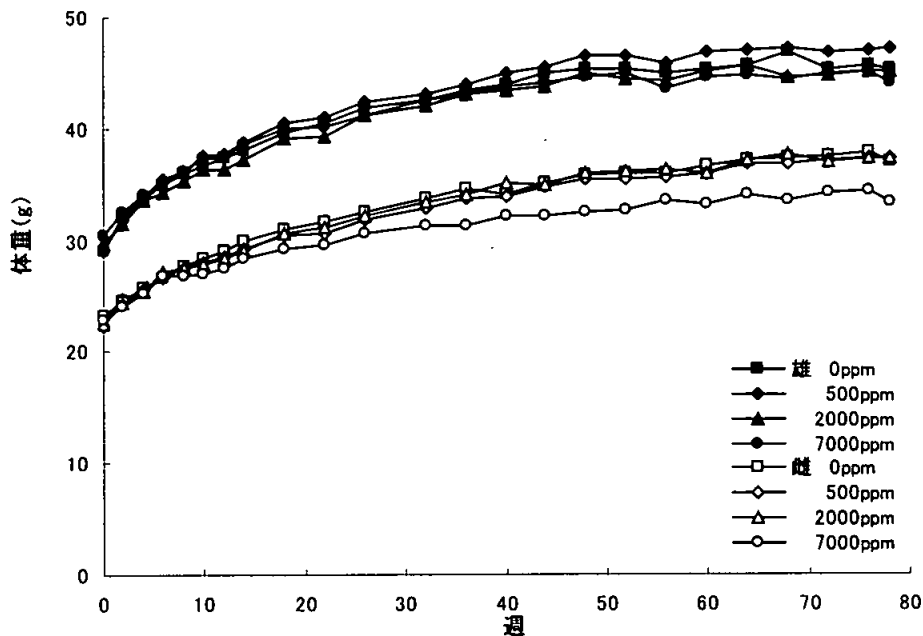
加齢に伴い通常みられる脱毛等の所見が各群で散見されたがいずれも投与に起因したものではなかった。

体重:すべての動物を対象に投与13週までは毎週、その後は4週毎に測定した。  
投与13、26、52、76及び104週時の体重、投与期間中の体重増加量を表に示した。また、体重の推移を図に示した。

表. 体重及び体重増加量

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	500	2000	7000	500	2000	7000
平均体重						
13 週						↓95
52 週						↓91
78 週						↓90
体重増加量						
0 - 78 週	112	95	84	106	106	75

↑↓: P<0.01 (平均体重; ANOVA + Student t検定)  
表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。  
( )は参考値 (有意差なし)



雄では各投与群で投与期間を通じて統計学的有意な低体重は認められなかった。しかし、7000ppm群では体重増加量において対照群に比して16%減少を示し、検体投与の影響と考えられた。雌の7000ppm群で投与期間を通じて統計学的有意に低体重を示した。また体重増加量も対照群に比べ25%低く明らかな体重増加抑制がみられた。

摂餌量：全動物を対象に投与13週までは毎週、その後は4週毎に測定した。

雌雄共に投与期間を通じて検体投与による摂餌量への影響は認めなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

投与量 (ppm)		500	2000	7000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	75	302	1070
	雌	97	396	1389

血液学的検査：投与52週及び78週時にすべての生存動物を対象に、血液塗抹標本を作製した。そして対照群と7000ppm群について白血球分画を調べた。

雌雄共に白血球百分比に変動はみられず、検体投与の影響はみられなかった。

臓器重量：投与78週後の剖検時に雌雄各群10匹を対象に、下記臓器の重量を測定した。また最終体重を共変量としてその補正重量を求めた。

肝臓、腎臓、脳、精巣

以下に対照群と比べて統計学的有意差を示した項目を示した。

表. 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		500	2000	7000	500	2000	7000
最終体重							↓ 86
腎臓	実重量						↓ 88

↑ ↓ : P<0.05 (ANOVA + Student t検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

7000ppm群の雌で腎臓実重量の有意な減少がみられた。しかし体重補正重量では統計学的有意な変動がなく、組織学的変化も伴わないことから同群の体重が低かったことによる二次的影響で毒性影響を示唆するものとは考えられなかった。

肉眼的病理検査：試験途中で死亡した動物については死亡発見後速やかに、また生存動物については投与終了時に検査した。

表. 肉眼的病理所見

性別	雄				雌			
	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
脾臓： 肥大	2	3	↑ 8	3	4	10	5	↑ 12

↑ ↓ : P<0.05 (Fisher検定、申請者実施)

雄の2000ppm群と雌の7000ppm群で脾臓肥大所見の頻度が統計学的有意に増加した。ただ雄では用量に依存した増加はみられず、偶発的な所見と考えられた。一方、雌の7000ppm群における増加については検体投与による影響を示唆するものと考えられた。

その他には検体投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は認めなかった。

病理組織学的検査：試験途中で死亡した動物については死亡発見後速やかに、また生存動物は投与終了時に剖検を行った後、以下の組織を固定した。検査は対照群及び7000ppm群の全動物、及び500と2000ppm群における途中死亡または切迫殺した全動物を対象として、すべての組織についてヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し鏡検した(但し、#を付した組織は剖検時に異常のあったもののみを対象)。また肝臓、腎臓及び肺については500と2000ppm群の計画殺動物についても検査対象とした。

肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、副腎、精巣、卵巣(卵管含む)、気管、舌#、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵臓、胆嚢、膀胱、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節#、精巣上体、前立腺、子宮、腔#、精囊#、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、骨(胸骨、肋骨)、骨格筋、大動脈弓、眼球(視神経含む)、顎下腺、乳腺、肉眼的異常部位

#### [非腫瘍性病変]

統計学的有意に頻度の増減がみられた非腫瘍性病変を表Aに示した。

雄では2000及び7000ppm群において、小葉中心性の肝細胞空胞化の頻度が統計学的有意に減少した。

雌の7000ppm群では、脾臓、副腎及び卵巣でアミロイド沈着の頻度が統計学的有意に増加した。一般的にアミロイドーシスは加齢性病変の一つではあるが、対照群に比べて高用量群にのみ高頻度にみられていることから、投与との関連を示唆するものと考えられた。

その他の組織においては、検体投与との関連を示唆する所見は認められなかった。

[腫瘍性病変]

本試験でみられたすべての腫瘍性病変を表B1（全途中死亡動物）、表B2（対照及び7000ppm（肝臓、腎臓及び肺のみ全群）の計画殺動物）及び表B3（全動物（表B1+表B2））に示した。

表B3（全動物）にみられるように、雌雄共に各腫瘍の出現頻度の有意な増加は認められなかった。計画殺動物のみの統計解析で雌の2000ppm群で組織球肉腫の頻度が統計学的有意に増加した。しかし用量に依存した変動はみられず、検体投与には関連しない偶発的な変動と判断した。

本試験でみられた腫瘍数と担腫瘍動物数を次表に示した。

表にみられるように腫瘍数や担腫瘍動物数の増加は雌雄共に認められず、検体の催腫瘍性を示唆する知見は認めなかった。

表. 腫瘍数と担腫瘍動物数

性別		雄				雌			
		0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
投与群 (ppm)		0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
検査動物数		50	50 <sup>#</sup>	50 <sup>#</sup>	50	50	50 <sup>#</sup>	50 <sup>#</sup>	50
腫瘍数	良性	16	18	23	21	8	3	10	6
	悪性	9	7	5	11	10	10	12	9
腫瘍総数		25	25	28	32	18	13	22	15
担腫瘍動物数	良性	16	15	19	19	8	3	10	6
	悪性	9	7	4	11	9	10	11	9
	両性	3	0	0	3	2	0	1	0
担腫瘍動物数		22	22	23	27	15	13	20	15

（対照群と1000ppm群の担腫瘍動物数についてFisher検定、申請者実施）

#: 計画殺動物については肝臓、腎臓、肺及び肉眼的異常部位のみの検査結果を対象。

以上、検体のマウスに対する78週間混餌投与による発がん試験において、2000ppm以上で雄に小葉中心性の肝細胞空胞化の頻度の減少がみられ、7000ppmで雌雄共に体重増加抑制、また雌では剖検で脾臓の肥大、病理組織学的検査で副腎、卵巣、脾臓等でアミロイドーシスの頻度の増加がみられた。本試験における無毒性量は雄が500ppm（75mg/kg/日）、雌が2000ppm（396mg/kg/日）であった。催腫瘍性を示唆する所見は認められなかった。

表A. 主な非腫瘍性病変

(対照群、7000ppm群の全動物、500、2000ppm群は途中死亡動物のみ対象 (但し肝臓は全動物を対象として検査。))

性 別	雄				雌			
	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
肝臓：検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
空胞化(小葉中心性)	21	16	↓7	↓8	7	4	6	2
脾臓：検査数	50	11	14	50	50	15	10	50
アミロイド沈着	1	1	5	2	1	2	1	▲11
副腎(左)：検査数	48	10	11	48	50	9	7	50
アミロイド沈着	1	1	3	2	1	0	0	▲13
副腎(右)：検査数	41	8	8	43	50	10	7	50
アミロイド沈着	1	1	1	2	1	0	0	▲12
卵巣(左)：検査数	/				50	41	40	50
アミロイド沈着					1	1	0	↑9
卵巣(右)：検査数	/				49	40	41	49
アミロイド沈着					1	0	0	↑9

↑ : P<0.05、▲↓ : P<0.01

(Fisher 検定、肝臓を除き対照群と 7000ppm 群間についてのみ実施)

表B1. 腫瘍性病変（途中死亡動物）

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
途中死亡	肝臓：検査数	5	10	10	10	7	10	7	13
	肝細胞腺腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
	肝細胞癌 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0
	肺：検査数	5	10	10	10	7	10	7	13
	腺腫 (B)	0	1	1	0	1	0	0	0
	腺癌 (M)	2	0	1	1	1	0	0	0
	精巣：検査数	5	10	10	10				
	間質細胞腫 (B)	0	0	1	0				
	子宮：検査数					7	10	7	13
	平滑筋腫 (B)					0	0	1	0
	乳腺：検査数	5	10	10	10	7	10	7	13
	癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	皮膚：検査数	5	10	10	10	7	10	7	13
	基底細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	0	
その他：検査数	5	10	10	10	7	10	7	13	
悪性リンパ腫 (M)	0	3	0	3	2	2	1	2	
組織球肉腫 (M)	0	1	0	0	1	2	0	2	
肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
骨肉腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍 (Fisher検定、申請者実施)

表B2. 腫瘍性病変 (計画殺動物)

(肝臓、腎臓、肺及び肉眼的異常部位以外は対照群、1000ppm群のみ対象)

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
計画殺動物	肝臓：検査数	45	40	40	40	43	40	43	37
	肝細胞腺腫 (B)	8	8	8	11	0	0	0	0
	血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	1	0
	肝細胞癌 (M)	2	1	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓：検査数	45	40	40	40	43	40	43	37
	腎皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓：検査数	45	1	4	40	43	8	15	36
	血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺：検査数	45	40	40	40	43	40	43	37
	腺腫 (B)	7	8	12	6	5	1	7	5
	腺癌 (M)	2	1	1	3	1	2	1	2
	精巣：検査数	45	2	1	40				
	間質細胞腺腫 (B)	0	0	0	3				
	卵巣：検査数					43	31	34	37
	黄体腫 (B)					0	0	1	1
	子宮：検査数					43	31	30	37
	平滑筋腫 (B)					2	1	0	0
	平滑筋肉腫 (M)					1	1	1	0
	子宮内膜癌 (M)					0	0	1	0
	乳腺：検査数	45	0	0	40	43	0	0	37
	腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	皮膚：検査数	45	3	3	40	43	0	0	37
	扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	その他：検査数	45	40	40	40	43	40	43	37
	悪性リンパ腫 (M)	1	1	0	0	2	0	0	1
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	2	↑5	2
	肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
骨肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

↑ ↓：P<0.05 (Fisher検定、申請者実施)



表B3. 腫瘍性病変（全動物）

（対照群、7000ppm群の全動物、500、2000ppm群の途中死亡動物を対象。但し肝臓、腎臓、肺及び肉眼的異常部位は全動物を対象）

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
全動物	肝臓：検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞腺腫 (B)	9	8	8	12	0	0	0	0
	血管腫 (B)	0	0	1	0	0	0	1	0
	肝細胞癌 (M)	2	1	1	1	0	0	0	0
	血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓：検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	皮質/腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	脾臓：検査数	50	11	14	50	50	18	22	49
	血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺：検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫 (B)	7	9	13	6	6	1	7	5
	腺癌 (M)	4	1	2	4	2	2	1	2
	精巣：検査数	50	12	11	50				
	間質細胞腫 (B)	0	0	1	3				
	卵巢：検査数					50	41	41	50
	黄体腫 (B)					0	0	1	1
	子宮：検査数					50	41	37	50
	平滑筋腫 (B)					2	1	1	0
	平滑筋肉腫 (M)					1	1	1	0
	子宮内膜癌 (M)					0	0	1	0
乳腺：検査数	50	10	10	50	50	10	7	50	
腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
皮膚：検査数	50	13	13	50	50	10	7	50	
扁平上皮乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
基底細胞癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	1	0	

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍  
 (Fisher 検定、肝臓、腎臓及び肺を除き対照群と 7000ppm 群間についてのみ実施)

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

表B3. 腫瘍性病変（全動物） -続き-

（対照群、7000ppm群の全動物、500、2000ppm群の途中死亡動物を対象。但し肝臓、腎臓、肺及び肉眼的異常部位は全動物を対象）

検査時期	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	500	2000	7000	0	500	2000	7000
全動物	その他：検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	悪性リンパ腫 (M)	1	4	0	3	4	2	1	3
	組織球肉腫 (M)	0	1	0	0	1	4	5	4
	肉腫 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	骨肉腫 (M)	0	0	1	0	1	1	0	0
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

(Fisher 検定、肝臓、腎臓及び肺を除き対照群と 7000ppm 群間についてのみ実施)

マウスにおける 104 週混餌投与発がん性試験

毒性資料 No. 原体-31

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体の純度：

供試動物：CD-1 系マウス (Chales River (UK))、6 週齢、  
体重：雄 22~32g、雌 18~25g、1 群雌雄各 52 匹

投与期間：雄 102 週間、雌 104 週間 (1984 年 12 月~1986 年 12 月)

投与方法：検体を 0 (対照)、10、100 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間にわたって摂食させた。飼料調製は毎週行った。なお雄では生存率が 30% を切った 102 週の時点で生存動物に対する計画殺を実施した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。また詳細な観察を投与 4 週までは毎日、その後は少なくとも週 1 回の割合で行った。

試験期間中の死亡率を次表に示した。

表. 死亡率

性別	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
投与 52 週	6 (11.5)	5 (9.6)	5 (9.6)	7 (13.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (3.8)	2 (3.8)
投与 78 週	18 (34.6)	16 (30.8)	14 (26.9)	22 (42.3)	2 (3.8)	4 (7.7)	6 (11.5)	6 (11.5)
投与最終週	34 (65.4)	32 (62.5)	31 (59.6)	38 (73.1)	15 (28.8)	21 (40.4)	18 (34.6)	20 (38.5)

(Fisher 検定、申請者実施)

累積死亡動物数、( )死亡率

最終週：雄 102 週、雌 104 週

検体投与による死亡率への影響は認められなかった。

また検体投与に起因したと思われる外徴や行動の変化は観察されなかった。四肢の腫れや痂皮、潰瘍及び立毛等が対照群を含む各試験群で散見されたがいずれも加齢に伴って通常みられる所見であり、投与に関連したものとは思われなかった。

体 重：すべての動物を対象に投与期間を通じて毎週測定した。

体重の推移を図に、また投与0～52週、52～78週、78～最終週（雄 102週、雌 104週）及び投与期間中の体重増加量を表に示した。

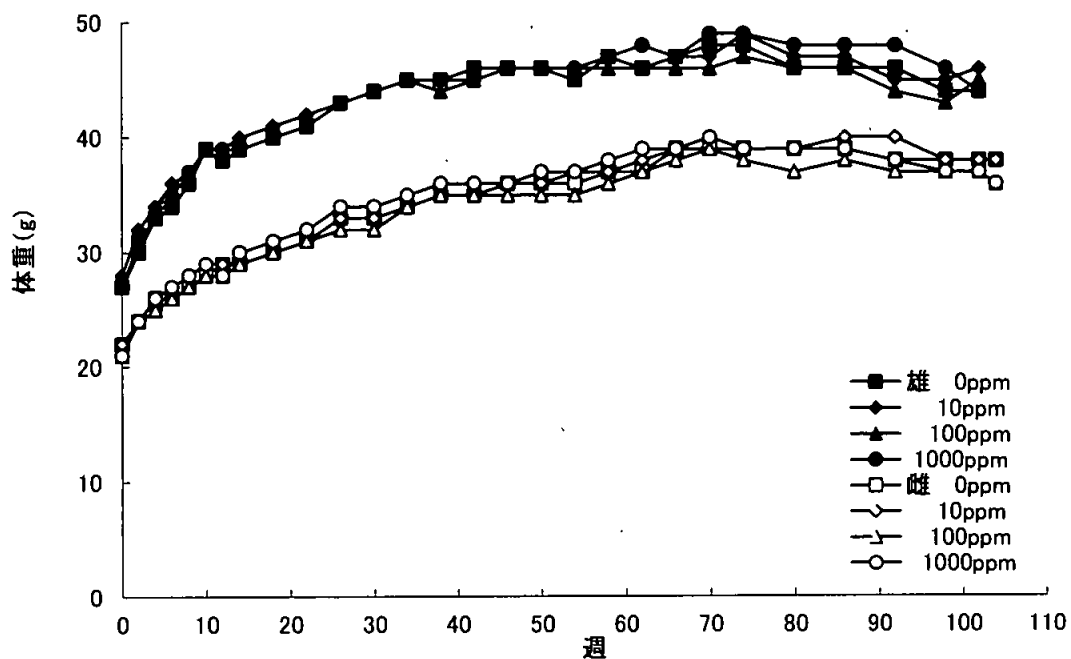


表. 体重増加量 (g)

性別	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000
0 - 52 週	18	19	18	19	14	15	15	16
52 - 78 週	1	2	2	2	3	3	3	3
78 - 最終週	-4	-4	-5	-6	-2	-2	-3	-4
0 - 最終週	16	18	16	16	16	16	15	16

(Williams 検定)

数値は体重増加量 (g)、最終週：雄 102週、雌104週

図及び表にみられるように、検体投与による体重への影響は雌雄共に 1000ppm でも認められなかった。

摂餌量及び食餌効率：すべての動物を対象に毎週測定し、1日1匹当たりの摂餌量を算出した。また26週までの食餌効率を算出した。

雌雄共に摂餌量及び食餌効率に統計学的有意（Williams検定）な変動はみられず、検体投与の影響は認められなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	100	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.1	11.0	110
	雌	1.2	12.0	117

血液学的検査：投与最終時に1群雌雄各10匹の生存動物を対象に、眼窩静脈叢から採血し下記項目について測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、メトヘモグロビン濃度、網状赤血球数、白血球数、白血球百分比、血小板数、赤血球形態

次表に対照群と比べて統計学的有意差を示した項目を示した。

表. 血液学的検査結果

性別	雄			雌		
	10	100	1000	10	100	1000
投与量 (ppm)	10	100	1000	10	100	1000
MCHC						↓97
リンパ球数					↑188	↑153

↑↓：P<0.05 (Williams 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。  
リンパ球数は白血球数と白血球百分比との結果から算出

雌の1000ppm群でMCHCの減少、100ppm以上の群でリンパ球数の増加が統計学的有意にみられた。しかしMCHCについては変動幅が小さいこと、またリンパ球については変動が用量に依存していないこと、また両所見共、他に関連した所見がみられないことからいずれも毒性学的意義を有したものとは思われなかった。

臓器重量：投与終了後の剖検時にすべての動物を対象に、下記臓器の重量を測定した。また、最終体重を共変量として補正重量も求めた。

肝臓、腎臓、脾臓、脳、心臓、副腎、精巣/卵巣

以下に対照群と比べて統計学的有意差を示した項目を示した。

表. 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		10	100	1000	10	100	1000
心臓	補正重量						↑112
腎臓	補正重量			↑111			↑109

↑↓: P<0.05 (Williams 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

1000ppm群の雌雄で腎臓、雌で心臓補正重量の統計学的有意な増加が観察された。しかし、剖検や病理組織学的検査で関連するような所見は全く認められず、毒性学的意義を示唆するものとは思われなかった。その他の臓器重量についても検体投与の影響はみられなかった。

肉眼的病理検査：途中死亡動物及び切迫殺動物については速やかに、また生存動物については投与終了時に剖検した。

認められた主な肉眼的所見を表に示した。

表. 主な肉眼的病理検査所見 [途中死亡・切迫殺動物]

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数		34	32	31	38	15	21	18	21
肝臓:	組織塊	9	6	6	8	3	3	1	7
	肥大	5	3	2	3	1	1	3	4
脾臓:	肥大	16	↓7	13	14	10	9	5	10
膀胱:	肥厚	0	0	↑4	0	0	0	0	0

↑↓: P<0.05 (Fisher検定、申請者実施)

表. 主な肉眼的病理検査所見 [計画殺動物]

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数		18	20	21	14	37	31	33	32
腎臓:	褪色	1	1	1	1	1	↑7	1	4
子宮:	肥厚					15	9	13	↓6
	嚢胞状					14	10	12	↓5
卵巣:	嚢胞					20	12	14	↓9

↑↓: P<0.05 (Fisher検定、申請者実施)

途中死亡あるいは切迫殺動物に対する剖検では1000ppm群の雌で肝臓の組織塊や肥大の頻度がやや増加傾向にあったが、その頻度は統計学的有意な差は認められない程度であった。一方、計画殺動物に対する剖検では1000ppm群の雌で子宮の肥厚や嚢胞化、卵巣嚢胞の頻度が統計学的有意に減少した。その他にみられた変動についてはいずれも検体投与との関連はないと考えられた。

申請者注：死亡・切迫屠殺動物での肝所見は統計学的有意差のない軽度の増加であり、計画殺動物での子宮及び卵巣の所見は、軽度の低下であること、そしていずれの所見も組織学的検査で毒性影響を示唆する変化がないことから、同様に毒性影響とは思われなかった。

病理組織学的検査：途中死亡・切迫殺動物及び計画殺動物について、剖検後、以下の組織を固定し定法に従いヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した。なお、肝臓についてはオイルレッド-O染色、腎臓についてはPAS染色も実施した。

肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、副腎、精巣、卵巣(卵管含む)、気管、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵臓、膀胱、リンパ節、前立腺、子宮、皮膚、脊髄(頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、大腿骨、胸骨、骨格筋、大動脈弓、眼球(視神経含む)、唾液腺、乳腺、肉眼的異常部位

鏡検は切迫殺及び途中死亡については全動物を対象に行った。計画殺については対照群と1000ppm群の動物を対象とし、10及び100ppm群の計画殺動物については肉眼的所見のあった組織と、雄の肝臓についてのみ鏡検した。

#### [非腫瘍性病変]

主要な非腫瘍性病変を表A-1～A-3に示した。

雄では脾臓の髓外造血、精嚢の拡張、皮膚の潰瘍や炎症が、雌では同じく脾臓の髓外造血、子宮内膜腺拡張、卵巣の血性嚢胞及び卵胞性嚢胞等が、対照群を含む全試験群で比較的高頻度で認められたが、いずれの変化も自然発生あるいは加齢性の変化と考えられ、検体投与に起因しないものと思われた。その他の組織においても検体投与に起因したと思われる異常所見は認められなかった。

申請者注：Fisher検定による統計解析から、全動物と計画殺動物の結果において、雌の1000ppm群で卵巣の卵胞性嚢胞の減少、卵巣嚢拡張の増加が統計学的有意に認められた。同一組織における所見の変動であり、関連が示唆されること

から、両所見を合計して統計解析を行ったところ、対照群と1000ppm群との間に有意な差はみられなかった。よって両所見の増減は毒性影響を示唆するものとは考えられなかった。

[腫瘍性病変]

本試験でみられたすべての腫瘍性病変を表B-1～B-3に示した。

1000ppmの雄で肝腫瘍、雌でリンパ肉腫の発生数が対照群に比して多かったことから両所見について詳細に腫瘍分析(Peto法)を行ったところ、いずれも統計学的有意な結果は得られなかった。

両所見の発生数と背景対照範囲を併せて以下の表に示した。

表. 肝細胞腫瘍の発生数 (全動物、雄)

投与量(ppm)	0	10	100	1000	背景対照範囲 (%)
供試動物数	52	52	52	52	
腺腫 (%)	8 (15.4)	11 (21.2)	9 (17.3)	15 (28.8)	
癌 (%)	4 (7.7)	3 (5.8)	7 (13.5)	2 (3.8)	

(Peto法)

表. 全リンパ肉腫の発生数 (全動物、雌)

投与量(ppm)	0	10	100	1000	背景対照範囲 (%)
供試動物数	52	52	51	52	
リンパ肉腫 (%)	4 (7.7)	11 (21.2)	7 (13.7)	11 (21.2)	

(Peto法)

背景対照データとの比較において、雄1000ppm群の肝腺腫の頻度が上限をやや上回っていたが、肝癌についてはむしろ頻度は低かった。またリンパ肉腫についてはいずれの群も背景範囲内にあり、対照群での頻度が低かったことが窺われた。

これら統計解析の結果と背景対照との比較から、1000ppmにおける雄の肝腺腫及び雌でのリンパ肉腫所見の頻度の増加傾向は検体投与に起因したのではなく偶発的な変動と考えられた。

その他の組織においては雌雄共に検体投与に関連したと思われる腫瘍発生頻度の増加は観察されなかった。

また、本試験でみられた腫瘍数と担腫瘍動物数を次表に示した。

表にみられるように検体投与に起因したと思われる腫瘍数の増加や担腫瘍



動物数の増加は雌雄マウス共に観察されなかった。

表. 腫瘍数及び担腫瘍動物数

性別		雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
投与群 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
検査動物数		52	52 <sup>#</sup>	52 <sup>#</sup>	52	52	52 <sup>#</sup>	51 <sup>#</sup>	52
腫瘍数	良性	20	23	16	27	14	16	16	16
	悪性	27	19	27	16	27	31	22	24
腫瘍総数		47	42	43	43	41	47	38	40
担腫瘍動物数	良性	16	20	14	22	12	12	13	15
	悪性	18	14	23	14	22	24	19	22
担腫瘍動物数		31	30	32	28	33	32	29	34

#: 計画殺動物については雄の肝臓と肉眼的異常部位のみ鏡検。  
 (対照群と 1000ppm 群の担腫瘍動物数について Fisher 検定、申請者実施)

以上、検体のマウスに対する2年混餌投与による発がん試験において、最高用量の1000ppmでも雌雄共に毒性的影響は観察されなかった。また本試験において催腫瘍性を示唆する所見は認められなかった。本試験における無毒性量は雌雄共に1000ppm (雄: 110mg/kg/日、雌: 117mg/kg/日)であった。

表A-1. 主な非腫瘍性病変 (切迫・途中死亡)

性別	雄				雌				
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	34	32	31	38	15	21	18	20	
切迫殺・途中死亡	脾臓：検査数	34	32	31	38	15	20	18	20
	髄外造血	18	13	15	23	7	8	6	9
	腎臓：検査数	34	32	31	37	15	21	18	20
	アミロイド沈着	7	5	9	12	4	3	2	4
	皮質嚢胞	2	2	5	3	0	1	1	0
	精嚢：検査数	34	31	30	37	/			
	拡張(分泌物伴う)	10	9	12	12				
	甲状腺：検査数	31	32	30	35	15	21	18	20
	アミロイド沈着	4	5	8	9	0	1	1	3
	副腎：検査数	34	32	31	36	15	21	18	20
	アミロイド沈着	4	4	8	7	0	1	2	3
	子宮：検査数	/				14	19	16	18
	内膜腺拡張					2	5	2	4
	卵巣：検査数	/				13	20	17	20
	血性嚢胞					3	2	2	3
卵胞性嚢胞	8					8	4	5	
卵巣嚢拡張	2					4	3	4	
皮膚：検査数	34	31	31	36	15	21	18	20	
潰瘍	8	10	7	9	1	1	0	1	
炎症	11	12	10	11	2	4	1	5	
表皮肥厚	6	6	6	9	0	1	0	0	

(Fisher 検定、申請者実施)

表A-2. 主な非腫瘍性病変（最終計画殺）

性別	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	18	20	21	14	37	31	33	32	
最終 計画 殺	脾臓：検査数	18	7	4	14	37	15	9	32
	髄外造血	3	5	4	5	14	12	7	↓4
	腎臓：検査数	18	8	5	14	37	9	3	32
	アミロイド沈着	1	2	1	1	2	2	0	1
	皮質嚢胞	0	2	2	1	0	0	0	0
	精嚢：検査数	18	6	10	14	/			
	拡張(分泌物伴う)	6	5	10	6				
	甲状腺：検査数	18	-	-	14	37	-	-	32
	アミロイド沈着	0	-	-	1	1	-	-	1
	副腎：検査数	18	-	-	14	37	-	-	32
	アミロイド沈着	0	-	-	0	3	-	-	2
	子宮：検査数	/				37	18	26	32
	内膜腺拡張					15	12	20	12
	卵巣：検査数	/				37	23	30	32
	血性嚢胞					9	5	11	9
	卵胞性嚢胞(ア)					21	12	22	↓9
	卵巣嚢拡張(イ)					7	11	4	↑14
	(ア)+(イ)	/				28	23	26	23
	皮膚：検査数					18	2	1	14
潰瘍	0	2	0	2	1	1	1	0	
炎症	1	1	0	4	0	0	0	0	
表皮肥厚	1	2	0	2	0	0	1	0	

↑↓：P<0.05 (Fisher検定、申請者実施)

(10及び100ppm群は肉眼的異常部位のみ検索しているため、1000ppm群のみ統計処理の対象とした。)

表A-3. 主な非腫瘍性病変（全動物）

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
動物数		52	52	52	52	52	52	51	52
全動物	脾臓：検査数	52	39	35	52	52	35	27	52
	髄外造血	21	18	19	28	21	20	13	13
	腎臓：検査数	52	40	36	51	52	30	21	52
	アミロイド沈着	8	7	10	13	6	5	2	5
	皮質嚢胞	2	4	7	4	0	1	1	0
	精嚢：検査数	52	37	40	51	/			
	拡張(分泌物伴う)	16	14	22	18				
	甲状腺：検査数	49	32	30	49	52	21	18	52
	アミロイド沈着	4	5	8	10	1	1	1	4
	副腎：検査数	52	32	31	50	52	21	18	52
	アミロイド沈着	4	4	8	7	3	1	2	5
	子宮：検査数	/				51	37	42	50
	内膜腺拡張					17	17	22	16
	卵巣：検査数	/				50	43	47	52
	血性嚢胞					12	7	13	12
卵胞性嚢胞(7)	29					20	26	↓14	
卵巣嚢拡張(1)	9					15	7	↑18	
(7)+(1)	38					35	33	32	
皮膚：検査数	52	33	32	50	52	22	11	52	
潰瘍	8	12	7	11	2	2	1	1	
炎症	12	13	10	15	2	4	1	5	
表皮肥厚	7	8	6	11	0	1	1	0	

↑↓ : P<0.05、▲▼ : P<0.01 (Fisher 検定、申請者実施)

(10 及び 100ppm 群の計画殺動物は肉眼的異常部位のみ検索しているため、1000ppm 群のみ統計処理の対象とした。)

表B-1. 全ての腫瘍性病変（死亡・切迫屠殺）

性別	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	34	32	31	38	15	21	18	20	
死亡・切迫屠殺	全身性：検査数	34	32	31	38	15	21	18	20
	リンパ性白血病(M)	2	1	2	1	0	0	0	0
	リンパ肉腫(M)	0	0	3	1	2	4	3	2
	リンパ肉腫(多形性)(M)	1	0	0	0	0	1	2	3
	組織球性肉腫(M)	0	1	1	0	1	0	1	4
	肺：検査数	32	32	31	38	14	21	18	20
	腺腫(B)	4	3	2	3	0	2	0	2
	腺癌(M)	2	3	4	2	1	2	1	3
	肝臓：検査数	33	32	31	38	15	20	18	20
	腺腫(B)	2	3	4	5	1	0	0	0
	癌(M)	3	2	4	2	0	0	0	0
	血管腫(B)	2	1	0	1	0	0	0	0
	血管肉腫(M)	1	1	0	1	1	2	0	0
	脾臓：検査数	31	30	30	37	15	20	18	20
	血管腫(B)	0	1	0	0	1	0	0	0
	血管肉腫(M)	2	1	0	0	1	0	0	0
	卵巣：検査数	/				13	20	17	20
	乳頭状嚢胞腺腫(B)					0	0	1	0
	血管腫(B)					0	0	1	0
	子宮：検査数	/				14	19	16	18
ポリープ(B)	0					0	0	1	
血管肉腫(M)	1					1	0	0	
線維肉腫(M)	1					0	0	0	
内膜肉腫(M)	1					0	0	0	
甲状腺：検査数	31	32	30	35	14	21	17	20	
傍濾胞細胞癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
副腎：検査数	34	32	30	35	14	20	18	20	
良性褐色細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
胃：検査数	29	30	31	33	15	20	16	18	
平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	

(Fisher検定、申請者実施)

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

表B-1. 全ての腫瘍性病変（死亡・切迫屠殺） - 続き -

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
動物数		34	32	31	38	15	21	18	20
死亡・切迫屠殺	十二指腸：検査数	28	27	28	31	15	19	17	18
	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	盲腸：検査数	25	28	28	30	13	17	17	18
	腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚：検査数	34	31	31	36	15	20	17	20
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳：検査数	33	32	31	37	15	21	17	20
	良性神経鞘腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	悪性髄膜腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	胸骨：検査数	34	32	31	37	15	21	18	20
	血管肉腫(M)	1	1	0	0	0	0	0	0
	皮下織：検査数	6	4	1	5	2	4	2	2
	線維腫(B)	1	0	0	1	0	0	0	0
	血管肉腫(M)	2	1	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫(M)	4	3	1	4	1	1	1	1
	乳腺腺癌(M)	0	0	0	0	0	2	0	0
	腺表皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
扁平化生を伴う腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
脂肪組織：検査数	1	1	1	-	1	1	2	2	
血管肉腫(M)	1	0	0	-	0	0	0	0	

(Fisher検定、申請者実施)

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

表B-2. 全ての腫瘍性病変（最終計画屠殺）

性別	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	18	20	21	14	37	31	33	32	
最終 計 画 屠 殺	全身性：検査数	18	20	21	14	37	31	33	32
	リンパ肉腫(M)	1	0	0	1	1	5	2	3
	リンパ肉腫(多形性)(M)	0	0	0	0	1	1	0	3
	組織球性肉腫(M)	1	0	0	0	1	1	0	0
	肺：検査数	18	9	9	14	37	8	15	31
	腺腫(B)	3	5	2	4	4	4	5	1
	腺癌(M)	1	2	4	3	4	2	7	2
	胸腺：検査数	11	0	0	13	32	3	1	29
	悪性胸腺腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓：検査数	18	20	21	14	37	12	13	32
	腺腫(B)	6	8	5	10	1	3	0	3
	癌(M)	1	1	3	0	0	0	0	1
	血管腫(B)	0	0	2	2	1	3	1	1
	血管肉腫(M)	0	0	1	0	1	0	0	0
	腎臓：検査数	18	8	5	14	37	9	3	32
	腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓：検査数	18	7	4	14	37	15	9	32
	血管腫(B)	0	1	0	0	1	0	0	0
	血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
膵臓：検査数	29	30	31	48	37	0	0	32	
島細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
精巣：検査数	18	1	2	14	/				
間細胞腫(B)	1	0	0	0					
悪性神経鞘腫(M)	1	0	0	0					
卵巣：検査数	/				37	23	30	32	
顆粒膜細胞腫(B)					0	0	0	1	
乳頭状嚢胞腺腫(B)					0	0	1	0	

(Fisher検定、申請者実施)

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

10及び100ppm群は肉眼所見のある組織についてのみ検索。ただし全身性腫瘍は全動物、肝臓については雄の全動物を対象として検索。

表B-2. 全ての腫瘍性病変（最終計画屠殺） - 続き -

性別	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	18	20	21	14	37	31	33	32	
最終 計画 屠殺	卵巣：検査数	/				37	23	30	32
	血管腫(B)					1	0	0	0
	平滑筋肉腫(M)					1	0	0	0
	子宮：検査数	/				37	18	26	32
	ポリープ(B)					3	1	3	2
	平滑筋腫(B)					1	1	2	0
	血管腫(B)					0	1	0	1
	平滑筋肉腫(M)					1	1	0	0
	線維肉腫(M)					0	1	0	0
	内膜肉腫(M)					1	0	0	0
	頸管：検査数	/				36	1	2	32
	平滑筋腫(B)					0	0	1	1
	線維腫(B)					0	0	0	1
	乳腺：検査数	18	0	0	14	37	2	0	32
	腺表皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	唾液腺：検査数	18	0	1	14	37	1	0	32
	線維肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	食道：検査数	18	0	1	14	37	0	0	31
	扁平上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	胃：検査数	18	2	7	14	37	6	4	32
腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
皮膚：検査数	18	2	1	14	37	1	1	32	
良性肥胖細胞腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
骨格筋：検査数	18	0	1	14	37	0	0	32	
線維肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
皮下織：検査数	1	1	1	1	5	3	2	1	
乳腺腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	1	
線維肉腫(M)	1	1	1	0	1	0	0	0	
乳腺腺癌(M)	0	0	0	0	1	1	2	0	

(Fisher検定、申請者実施)

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

10及び100ppm群は肉眼所見のある組織についてのみ検索。



表B-2. 全ての腫瘍性病変（最終計画屠殺） - 続き -

性別		雄				雌			
		0	10	100	1000	0	10	100	1000
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
動物数		18	20	21	14	37	31	33	32
最終 計画 屠殺	皮下織：検査数	1	1	1	1	5	3	2	1
	乳腺線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	2	0	0
	乳腺腺表皮癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	扁平化生を伴う腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	脂肪組織：検査数	1	2	1	-	1	3	2	1
	横紋筋肉腫(M)	0	0	0	-	0	1	0	0
	尾：検査数	-	-	-	1	-	1	2	-
	横紋筋肉腫(M)	-	-	-	0	-	1	0	-
	胸腔：検査数	-	-	-	-	-	2	-	1
	横紋筋肉腫(M)	-	-	-	-	-	1	-	0
	膺：検査数					-	-	-	1
	線維肉腫(M)					-	-	-	1

(Fisher検定、申請者実施)  
 (B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

表B-3. 全ての腫瘍性病変 (全動物)

性別	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	52	52	52	52	52	52	51	52	
全動物	全身性：検査数	52	52	52	52	52	52	51	52
	リンパ性白血病 (M)	2	1	2	1	0	0	0	0
	リンパ肉腫 (M)	1	0	3	2	3	9	5	5
	リンパ肉腫 (多形性) (M)	1	0	0	0	1	2	2	6
	(リンパ肉腫 (M) 合計)					(4)	(11)	(7)	(11)
	組織球性肉腫 (M)	1	1	1	0	2	1	1	4
	肺：検査数	50	41	40	52	51	29	33	51
	腺腫 (B)	7	8	4	7	4	6	5	3
	腺癌 (M)	3	5	8	5	5	4	8	5
	胸腺：検査数	33	22	18	39	41	19	15	42
	悪性胸腺腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓：検査数	51	52	52	51	52	32	31	52
	腺腫 (B)	8	11	9	15	2	3	0	3
	癌 (M)	4	3	7	2	0	0	0	1
	血管腫 (B)	2	1	2	3	1	3	1	1
	血管肉腫 (M)	1	1	1	1	2	2	0	0
	腎臓：検査数	52	40	36	51	52	29	21	52
	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓：検査数	49	37	34	51	52	35	27	52
血管腫 (B)	0	2	0	0	1	0	0	0	
血管肉腫 (M)	2	1	0	0	1	0	0	0	
膵臓：検査数	46	30	31	48	52	20	17	49	
島細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
精巣：検査数	52	33	33	51	/				
間質細胞腫 (B)	1	0	0	0					
悪性神経鞘腫 (M)	1	0	0	0					
卵巣：検査数	/				50	43	47	52	
良性顆粒膜細胞腫 (B)					0	0	0	1	

腫瘍分析 (Peto法等)

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

10及び100ppm群は途中死亡動物と肉眼所見のある組織についてのみ検索。ただし全身性腫瘍は全動物、肝臓については雄の全動物を対象として検索。

表B-3. 全ての腫瘍性病変（全動物） - 続き -

性別	雄				雌				
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
投与量 (ppm)	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
動物数	52	52	52	52	52	52	51	52	
全動物	卵巣：検査数					50	43	47	52
	乳頭状嚢胞腺腫(B)					0	0	2	0
	血管腫(B)					1	0	1	0
	平滑筋肉腫(M)					1	0	0	0
	子宮：検査数					51	37	42	50
	ポリープ(B)					3	1	3	3
	平滑筋腫(B)					1	1	2	0
	血管腫(B)					0	1	0	1
	平滑筋肉腫(M)					1	1	0	0
	血管肉腫(M)					1	1	0	0
	線維肉腫(M)					1	1	0	0
	内膜肉腫(M)					2	0	0	0
	頸管：検査数					50	20	18	51
	平滑筋腫(B)					0	0	1	1
	乳腺：検査数	52	32	31	52	51	22	17	52
	腺表皮癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	甲状腺：検査数	49	32	30	49	51	21	17	51
	傍濾胞細胞癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
副腎：検査数	52	32	31	50	51	20	18	52	
良性褐色細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
唾液腺：検査数	49	32	32	52	52	22	18	51	
線維肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	
食道：検査数	50	31	32	51	51	21	18	50	
扁平上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
胃：検査数	47	32	38	47	52	26	20	50	
腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
十二指腸：検査数	46	27	28	47	52	19	17	50	
平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	

腫瘍分析(Peto法等)

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

表B-3. 全ての腫瘍性病変（全動物） - 続き -

性 別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
動物数		52	52	52	52	52	52	51	52
全 動 物	盲腸：検査数	43	28	28	44	50	17	17	50
	腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚：検査数	52	33	32	50	52	21	18	52
	良性肥胖細胞腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脳：検査数	51	32	31	51	52	21	18	52
	良性神経鞘腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	悪性髄膜腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	胸骨：検査数	52	32	31	51	52	21	18	51
	血管肉腫 (M)	1	1	0	0	0	0	0	0
	骨格筋：検査数	52	32	32	52	51	21	18	52
	線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮下織：検査数	7	5	2	6	7	7	4	3
	乳腺腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1
	線維腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0
	血管肉腫 (M)	2	1	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫 (M)	5	4	2	4	2	1	1	1
	乳腺腺癌 (M)	0	0	0	0	1	3	2	0
	乳腺線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0
	乳腺腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	扁平化生を伴う腺癌 (M)	0	0	0	0	2	0	0	0
	脂肪組織：検査数	2	3	2	-	2	4	4	3
	血管肉腫 (M)	1	0	0	-	0	0	0	0
	横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	-	0	1	0	0
	尾：検査数	1	-	1	2	-	1	3	-
	横紋筋肉腫 (M)	0	-	0	0	-	1	0	-
胸腔：検査数	-	-	1	-	-	2	1	1	
横紋筋肉腫 (M)	-	-	0	-	-	1	0	0	
腫：検査数						-	-	-	1
線維肉腫 (M)						-	-	-	1

腫瘍分析 (Peto 法等)

(B)：良性腫瘍 (M)：悪性腫瘍

### イヌにおける 104 週間混餌投与毒性試験

毒性資料 No. 原体-32

試験機関：

報告書作成年：1980 年

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬 (HRA、virbinia)、約 7 ヶ月齢、1 群雌雄各 8 匹

投与期間：104 週間 (1977 年 9 月～1979 年 9 月)

投与方法：検体を 0、40、200 及び 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、104 週間にわたって摂食させた。飼料調製は毎週行った。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：全動物について毎日、生死、外徴や行動、食欲、排泄物の異常を観察した。

強膜の充血や、流涙、軟便、嘔吐などの所見が対照群を含む各試験群で散見された。しかし、いずれも検体投与には関連しないものと考えられた。

死亡率に対して検体投与への影響はみられなかった。40 ppm 群の雄 1 例を投与 39 週に切迫殺した。病理学的検査で死因の特定はできなかったが、検体投与によるものではないと判断した<sup>注)</sup>。

<sup>注)</sup> 申請者注：用量に関連なく最低用量 1 例のみの例であり、投与と関連するものとは思われなかった。

体重：投与開始から 34 週までは毎週、35 週から 56 週までは隔週、その後は 4 週に 1 回の割合で、すべての生存動物について体重を測定した。

体重の推移を次図に示した。また、投与期間中の体重増加量を表に示した。

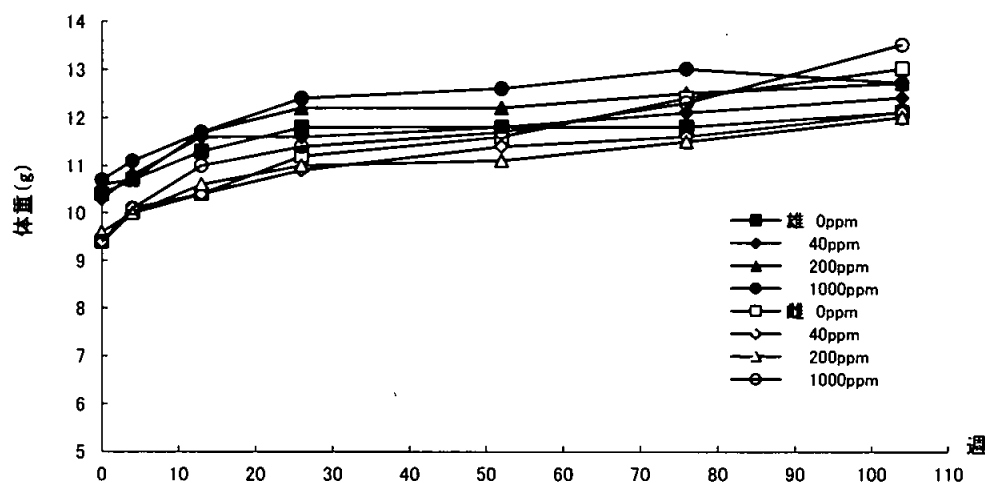


表. 体重増加量

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	40	200	1000	40	200	1000
0 - 52 週	(124)	(117)	(135)	(90)	(71)	(105)
0 - 104 週	(141)	(127)	(121)	(173)	(151)	(256)

(Games-Howellまたはscheffelによる多重比較)

( )は対照群を100とした場合の値を示した参考値 (有意差なし)

雌雄共に検体投与による体重増加抑制を示唆する変動は全く認められなかった。

摂餌量：投与開始から34週までは毎週、35週から56週までは隔週、その後は4週に1回の割合で、すべての生存動物について摂餌量を測定した

雌雄各投与群共、摂餌量への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次表のとおりであった。

投与量 (ppm)		40	200	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.2	5.7	27
	雌	1.0	6.0	25

血液学的検査：投与開始前、投与4、13、26、52、78及び104週にすべての生存動物を対象に、頸静脈より採血した血液を用い、以下の項目について測定した。  
赤血球数(RBC)、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、網状赤血球数、白血球数、血液凝固時間(CT)、トロンボプラスチン時間、白血球百分比

表. 血液学的検査結果

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		40	200	1000	40	200	1000
RBC	開始前						(86)
	13週						↓ 88
MCV	4週						↑ 106
	13週						↑ 106
	104週			↑ 107			
MCH	26週		↓ 93	↓ 94			
MCHC	26週		↓ 98				
	104週			↓ 96			
CT	26週					↓ 84	

↑ ↓ : P<0.05 (Games-Howellまたはscheffelによる多重比較)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

( )は参考値 (有意差なし)

雌の1000ppm群で投与13週にRBCの統計学的有意な減少が認められた。しかし投与開始前の検査において同群ではRBCの対照群に比べ低値を示しており、検体投与には関連しないものと考えられた。その他に雄200ppm以上、雌1000ppmで赤血球恒数 (MCV、MCH、MCHC) の統計学的有意な変動がみられたが、変動幅が小さく、一過性の変動であるか用量に依存した変動ではなく、いずれも毒性影響とは捉えられなかった。

また、雌の200ppm群で投与26週に血液凝固時間の短縮がみられたが、用量に依存した変動ではないことから検体投与との関連しないものと考えられた。

血液生化学的検査：投与開始前、投与4、13、26、52、78及び104週にすべての生存動物を対象に、頸静脈より採血した血液を用い、以下の項目を測定した。

総蛋白(TP)、アルブミン、尿素窒素、グルコース(Glu)、総コレステロール(T. Chol)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン(T. Bil)、カルシウム(Ca)、血清及び血球コリンエステラーゼ(4週除く)

また104週の剖検時に一部脳を用いて脳のコリンエステラーゼを測定した。

対照群と比べて統計学的有意差を示した項目を表に示した。

表. 血液生化学的検査結果

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		40	200	1000	40	200	1000
TP	13週			↑ 112			
	52週						
Glu	13週	↑ 111	↑ 114	↑ 114			
	52週		↑ 113				↑ 116
	104週		↑ 113	↑ 110			↑ 115
T. Chol	78週			↑ 127			
T. Bil	13週		↓ 52	↓ 61			
	26週	↓ 68					
Ca	13週						↑ 108
	78週				↑ 103	↑ 104	↑ 105
	104週						↑ 111

↑ ↓ : P<0.05 (Games-Howellまたはscheffeによる多重比較)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

いくつかの項目において雌雄各投与群で統計学的有意な変動が観察された。しかし変動幅が小さく、一過性の変動であるか用量に依存した変動ではなく、いずれも毒性影響とは捉えられなかった。

尿検査：投与開始前、投与4、13、26、52、78及び104週にすべての生存動物を対象に、得られた尿について下記項目について検査した。

比重、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ビリルビン、還元物質、沈渣

いずれの項目についても検体投与に関連したと思われる変動は全くみられなかった。

眼科学的検査：試験開始前、投与13、52及び102週にすべての生存動物を対象に、に間接検眼鏡を用いて検査を実施した。

検体投与に関連したと思われる異常所見は全く観察されなかった。

臓器重量：すべての生存ラットを対象に、屠殺・剖検後、以下の臓器について重量測定を実施し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、脳、下垂体、副腎、甲状腺  
対照群と比べて統計学的有意差を示した項目を次表に示した。

表. 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		40	200	1000	40	200	1000
最終体重		(109)					
甲状腺	実重量	↑141					

↑↓：P<0.05 (Games-Howellまたはscheffeによる多重比較)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

雄の40ppm群で甲状腺の実重量の増加が統計学的有意に認められた。しかし用量に依存した増加はみられず、検体投与に関連しない偶発的な変動と考えられた。

その他の臓器については明らかな重量の変動はみられなかった。

肉眼的病理検査：投与期間終了後、すべての生存動物を屠殺し剖検を行った。  
また切迫殺動物についても剖検を行った。

生存動物における剖検では、検体投与との関連を示唆する肉眼的異常所見は全く認められなかった。

切迫殺動物1例では肺に高度の赤色肝変化や暗赤色硬結部位が認められた。

病理組織学的検査：投与期間終了後、すべての生存動物を屠殺、剖検後、以下の臓器または組織を摘出し、常法に従い組織標本を作製した。また切迫殺動物についても同様に標本を作製した。

すべての動物の全組織を対象として鏡検を実施した。

肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、脳、脊髄(頭部、胸部、腰部)、下垂体、甲



状腺(上皮小体含む)、胸腺、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣・卵管、気管、食道、唾液腺、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胆嚢、脾臓、膀胱、リンパ節(胸部、腸間膜)、子宮(頸部含む)、大動脈、肋骨接合部、眼及び視神経、坐骨神経、乳腺、骨格筋、皮膚、骨髄、肉眼的異常部位

以下に104週投与後の計画殺動物にみられた病理組織学的所見を示した。

表. 病理学的検査所見

性別	雄				雌			
	0	40	200	1000	0	40	200	1000
投与量 (ppm)								
肝臓：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
単核炎症性細胞集簇	8	5	7	7	7	8	8	8
腎臓：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
集合管/石灰化	7	7	8	8	8	8	8	8
胸腺：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
退縮	5	6	8	7	6	↓1	5	4
胸部リンパ節：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
色素沈着	5	7	7	7	7	6	8	6
甲状腺：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
傍濾胞細胞過形成	8	5	6	7	7	8	7	8
唾液腺：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
非化膿性炎	2	0	1	3	2	3	1	3
乳腺：検査数	8	7	8	8	8	8	8	8
管拡張	0	0	0	0	3	4	5	3

↑ ↓ : P<0.05 (Fisher 検定、申請者実施)

雌雄各投与群において、各所見の頻度の増加はみられず、検体投与による影響を示唆する所見は認められなかった。

39週で切迫殺した雄40ppm群の1例では、脳や脊髄、肺、脾臓でいくつかの所見がみられたが、死因の特定はできなかった。しかし検体投与には関連しないものと判断した。

以上、検体のイヌに対する104週間混餌投与において、1000ppmでも雌雄共に検体よると思われる毒性影響は認められなかった。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄共に1000ppm(雄：27mg/kg/日、雌：25mg/kg/日)であった。

(12) 繁殖毒性及び催奇形性

ラットを用いた繁殖毒性試験 (1) - 2 世代、初産児で継代 -

毒性資料 No. 原体-33

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1987 年

検体の純度:

供試動物: SD 系ラット (Charles River; UK)、6~7 週齢、1 群雌雄各 24 匹

投与期間: P 世代: 交配前約 10 週及び妊娠・哺育期間。計約 16 週間。

F1 世代: 離乳後、交配前まで約 10 週及び妊娠・哺育期間。計約 16 週間。  
(1985 年 10 月~1986 年 7 月)

投与方法: 検体を 0、60、250 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂食させた。検体を混入した飼料は隔週調製した。

用量設定根拠:

交配・選抜及び観察・検査項目: 概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡率: 投与期間を通じ全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重及び摂餌量: すべての P 及び F1 親を対象として、雌雄共、交配終了まで毎週測定した。また、F1、F2 児の体重は生後 1、4、12 及び 21 日に測定した。

交配及び妊娠の確認: 雌雄を 1 対 1 で同居させ、膣栓または膣スメア中の精子により交尾を確認した。雄 1 匹との同居は最大 7 日とし、交尾が確認されなかった場合には 2 日後に別の雄と同様の方法で同居させた。

交尾が確認された日を妊娠 0 日とし、分娩が認められた日を哺育 0 日または生後 0 日とした。

選抜: F1 児について哺育期間終了後、F1 世代の親動物として 1 腹当り 2 匹 (可能な限り雄 1 匹、雌 1 匹) を選抜した。

繁殖性に関する指標: 交配、妊娠、分娩、哺育、及び離乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{受胎率} = (\text{妊娠雌数} / \text{交尾雌数}) \times 100$$

$$\text{出産率} = (\text{生存児分娩雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$$

交尾までの日数、妊娠期間、出産児数（1腹当り）、生存児数（1腹当り）、死産児数（1腹当り）

$$\text{生存児出産率}^{\$} = (\text{生存児数} / \text{出産児数}) \times 100$$

$$\text{4日生存率}^{\$} = (\text{生後4日生存児数} / \text{生存児数}) \times 100$$

$$\text{哺育率}^{\$} = (\text{生後21日の生存児数} / \text{生後4日の生存児数}) \times 100$$

^{\\$}: 各腹の平均

肉眼的病理検査：すべてのP及びF1親について、雄は最後の交配後、雌は離乳後に屠殺し、剖検を行った。またすべてのP及びF1親を対象に下記の組織を摘出し固定した。しかし病理組織学的検査は実施しなかった。

子宮頸部、精巣上体、卵巣、前立腺、精巣、精囊／凝固腺、子宮、膈、下垂体

また、出生後死亡したF1、F2児、継代に選抜されなかった離乳後のF1児及びすべての離乳後のF2児について肉眼的病理検査を行った。

表 1、交配・選抜及び観察・検査の概要

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (10 週) 交配 (14 日以内)  妊娠・出産 (F1)	雌雄 1 対 1 で交配 交配は膣栓または精子で確認	雌雄の体重、摂餌量は週 1 回記録。 交配状況の観察 雄については最終の交配後、剖検  出産状況の観察 (同腹児数、出生児数、 死産児数及び性比)
P/F1	哺育 (21 日) 離乳	継代用に各群雌 雄各 24 匹を無作為に選抜	児動物体重、哺育 1、4、12 及び 21 日 すべての P 雌を屠殺し、剖検 残りの F1 児を屠殺し、剖検
F1	生育 (10 週)  交配 (14 日以内) 妊娠・出産 (F2)	(P 世代に準ずる)	5 週齢時から親動物として観察を開始 (P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる)  (P 世代に準ずる)
F1/F2	哺育 (21 日) 離乳	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる) 離乳後、F2 児を屠殺し、剖検

結 果：概要を表 2（親動物）及び表 3（児動物）に示した。

1. P 及び F1 親動物への影響（表 2）

両世代の雌雄共に、投与に起因した死亡は試験期間を通じてみられなかった。また一般状態観察においても両世代雌雄共に特記すべき所見は認められなかった。

雄では両世代共に検体投与による明らかな影響はみられなかった。雌では両世代の 1000ppm 群で統計学的有意な低体重がみられ、また体重増加量の減少が認められた。また同群雌の摂餌量も対照群に比べ減少していた。

肉眼的病理検査においては、両世代共に検体投与に関連したと思われる特記すべき所見は認められなかった。

2. P 及び F1 親動物の繁殖成績（表 2）

両世代共に受胎率、妊娠率、交尾までの日数や妊娠期間、育児放棄動物数、出産時生存率に検体投与によると思われる変動はみられなかった。

P 世代では 250 及び 1000ppm 群で受胎率の統計学的有意な増加がみられたが、これは対照群の受胎率が通常に比べやや低かったためであり（当該施設での背景受胎率は 70～100%）偶発的なものと考えられた。

3. F1 及び F2 児動物への影響（表 3）

生存児数、死産児数及び離乳児数に検体投与に関連した変化はみられなかった。出生 4 日後の生存率と哺育率（21 日生存率）においても統計学的有意な変動はみられず検体投与による影響はないと判断した。

哺育期間の一般症状観察では両世代共に特記すべき所見は観察されなかった。出生 1、4 及び 12 日の体重について、F1 児、F2 児共に各投与群で明らかな差はみられなかった。しかし離乳時の 21 日後の体重において、1000ppm 群の雌 F1 児で統計学的有意ではないものの低体重が窺われた（8%減）。また同群の雌雄 F2 児でも統計学的有意ではないものの低体重が窺われた（8%減）。この離乳時における 1000ppm 群の両世代にみられた低体重については統計学的有意ではなかったものの、検体投与の影響は否定できなかった。F2 児の離乳時体重では雌雄の 60ppm 群で統計学的有意な減少がみられたが、これは 250ppm 群で全く影響がみられていなかったことから、出生 1 日体重がすでに対照群に比べやや低かったことによる影響で検体に起因したものではないと判断した。F1 児及び F2 児の哺育期間後の剖検で検体投与の影響と考えられる肉眼的異常所見は観察されなかった。

申請者注：本報告書では F1 児の出生 4 日後の生存率に関し、250 及び 1000ppm 群で低下がみられたとし、これにより無影響量を 60ppm としている。しかし、F1 児は対照群に比し 250 及び 1000ppm 群の出生 4 日生存率がや

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

や低い傾向にあったものの、統計学的に有意差がなく、また F2 児の対照群の 4 日生存率とほぼ同等であることから、検体投与による毒性影響ではないと考えられた。

以上、検体のラットを用いた飼料混入投与による 2 世代繁殖試験（初産児で継代）において、親動物への毒性影響としては雌の 1000ppm で体重増加抑制と摂餌量の減少がみられた。繁殖指標に対しては 1000ppm でも投与の影響はみられなかった。児動物への影響としては 1000ppm で離乳時における低体重傾向が観察された。従って、無毒性量は親動物、児動物共に 250ppm（P 雄：18.1mg/kg/日、雌：21.1mg/kg/日、F1 雄：19.4mg/kg/日、雌：22.3mg/kg/日）と考えられた。

表 2 親動物への影響及び繁殖成績

世 代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	60	250	1000	0	60	250	1000
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24
一般状態観察	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
	雌	-	-	-	-	-	-	-	-
体重 <sup>#c)</sup>	生育 2 週				↓93				↓93
	生育 5 週				↓92				↓90
	生育 10 週				↓92				↓89
体重増加量 <sup>#c)</sup>	生育期間				↓86				↓85
摂餌量 <sup>#c)</sup>	生育期間				90 <sup>a)</sup>				91 <sup>a)</sup>
検体摂取量 <sup>b)</sup> (mg/kg/日)	雄	---	3.8	18.1	72.2	---	4.7	19.4	78.7
	雌	---	4.6	21.1	83.1	---	5.4	22.3	90.1
肉眼的病理検査 <sup>##</sup>	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
	雌	-	-	-	-	-	-	-	-
親動物									
繁殖成績									
交配雌数		24	24	24	24	24	24	24	24
受胎雌数		16	17	23	23	24	21	22	24
不妊雌数		8	7	1	1	0	3	2	0
生存児分娩雌数		16	17	23	23	24	21	22	24
死亡雌数		0	0	0	0	0	0	0	0
受胎率 (%) <sup>##</sup>		67	71	↑96	↑96	100	88	92	100
妊娠率 (%) <sup>##</sup>		100	100	100	100	100	100	100	100
交尾までの日数(中央値)		3	3	3	3	3	3	3	3
妊娠期間 (日) <sup>#</sup>		22.3	22.1	22.2	22.0	22.4	22.2	22.3	22.2
育児放棄動物数 <sup>##</sup>		2	2	4	6	5	5	7	6
		(13%)	(12%)	(17%)	(26%)	(21%)	(24%)	(32%)	(25%)
生存児出産率 <sup>\$</sup> (%) <sup>#</sup>		98.7	98.7	95.5	98.3	91.0	95.8	93.9	99.7

<sup>##</sup> ↓ ↑ : p<0.05 (カイ二乗検定(肉眼的病理検査、受胎率、妊娠率、育児放棄動物) )

<sup>#</sup> ↓ ↑ p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Student t検定(体重、体重増加量、摂餌量、妊娠期間、生存児出産率))

<sup>\$</sup> : 生存児出産率(腹毎) = (生存出産児数/出産児数) × 100

- : 特記すべき所見なし

<sup>a)</sup> 統計未実施

<sup>b)</sup> 生育期間について申請者算出

<sup>c)</sup> 対照を 100 とした場合の値 (体重、体重増加量、摂餌量、)

表 3 児動物への影響

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	60	250	1000	0	60	250	1000	
対象母動物数		16	17	23	23	24	21	22	24	
児動物	生存児数 (腹当り) #	12.8	14.1	13.0	12.6	12.0	12.2	11.7	11.8	
	死産児数 (腹当り) #	0.19	0.18	1.43	0.26	1.67	1.19	0.86	0.04	
	離乳児数 (腹当り) #	10.4	12.7	9.3	8.8	9.0	8.8	7.9	8.1	
	生存児体重 # <sup>o)</sup> (21日)	雄	-				-	↓90		(92)
		雌	-			(92)	-	↓90		(92)
	4日生存率 (腹当り) #	86.0	92.5	78.9	73.7	73.4	74.2	70.2	73.9	
	哺育率 (腹当り) #	97.2	97.6	93.2	98.3	93.5	99.1	92.0	93.7	
	一般症状観察 <sup>##</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	肉眼的病理検査 <sup>##</sup>	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
雌		-	-	-	-	-	-	-	-	

<sup>##</sup> ↓ ↑ : p<0.05 (カイ二乗検定 (一般症状、肉眼的病理検査))

<sup>#</sup> ↓ ↑ : p<0.05 (Student t検定 (生存児数、死産児数、離乳児数、生存児体重、生存率、哺育率))

- : 特記すべき所見なし

<sup>o)</sup> 対照を 100 とした場合の値 (体重、体重増加量、摂餌量、)



ラットを用いた繁殖毒性試験 (2) - 2 世代、初産児で継代 -

毒性資料 No. 原体-34

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1986 年

(補遺追加 #: 2000 年)

検体の純度:

供試動物: Wistar 系ラット (Mol: WIST)、6 週齢、1 群雌雄各 24 匹

投与期間: P 世代: 交配前約 10 週及び妊娠・哺育期間、計約 16 週間。

F1 世代: 離乳後、交配前約 10 週及び妊娠・哺育期間、計約 16 週間。

(1985 年 5 月～1986 年 1 月)

投与方法: 飼料に検体を混入させ、25、75 及び 225mg/kg を交配前、交配、妊娠及び哺育期間を通じ与えた。飼料中の検体の濃度は群毎に前の週の摂餌量と体重から前述の投与量になるよう設定し、混餌飼料は毎週調製した。各投与群の飼料濃度は以下の範囲にあった。

25mg/kg 156 - 357ppm

75mg/kg 469 - 1071ppm

225mg/kg 1406 - 3214ppm

用量設定根拠:

交配・調整・選抜及び観察・検査項目: 概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡率: 投与期間を通じ全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重及び摂餌量: すべての P 及び F1 親を対象として、雌雄共、交配終了まで毎週測定した。また両世代の母動物については妊娠 0、7、14 及び 20 日、哺育 1、4、7、14 及び 21 日に測定した。さらに F1、F2 児の体重は生後 1、4、7、14 及び 21 日に測定した。

交配及び妊娠の確認: 雌雄を 1 対 1 で同居させ、膣栓または膣スメア中の精子により交尾を確認した。雄 1 匹との同居は最大 7 日とし、交尾が確認されなかった場合には別の雄と同様の方法で同居させた。妊娠成立は剖検時の着床部

\* 1986 年の報告に含まれなかった親の体重及び一般状態、児の剖検の補遺

位から確認した。

交尾が確認された日を妊娠 0 日とし、分娩が認められた日を哺育 0 日または生後 0 日とした。

調整及び選抜：F1 児及び F2 児の出生 4 日に 1 腹当り 8 匹（可能な限り雄 4 匹、雌 4 匹）に選抜、調整した。また、F1 児については哺育期間終了時に F1 世代の親動物として 1 腹当り 2 匹（可能な限り雄 1 匹、雌 1 匹）を選抜した。

繁殖性に関する指標：交配、妊娠、分娩、哺育、及び離乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{受胎率} = (\text{着床確認雌数} / \text{交尾雌数}) \times 100$$

$$\text{出産率} = (\text{生存児分娩雌数} / \text{着床確認雌数}) \times 100$$

妊娠期間、着床数（腹当り）、出産児数（腹当り）、雌雄生存児数（腹当り）

出生 1、4、7、14 及び 21 日生存児数、担奇形児数、異常行動児数

肉眼的病理検査：すべての P 及び F1 親について、雄は最後の交配後、雌は離乳後に屠殺し、剖検を行った。またすべての P 及び F1 親を対象に下記の組織を摘出し固定した。

子宮頸部、精巣上体、卵巣、前立腺、精巣、精囊／凝固腺、子宮、膣、下垂体、肉眼的異常部位

また、出生後死亡した F1、F2 児、継代に選抜されなかった離乳後の F1 児及びすべての離乳後の F2 児について肉眼的病理検査を行った。

病理組織学的検査：P 及び F1 世代の対照群及び 225mg/kg 群のすべての親を対象に上記の組織について検査した。また 25 及び 75mg/kg 群についても肉眼的異常部位について検査をおこなった。

表 1、交配・調整・選抜及び観察・検査の概要

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (10 週) 交配 (14 日以内)  妊娠  出産 (F1)	雌雄 1 対 1 で交配 交配は膣栓または精子で確認	雌雄の体重、摂餌量は週 1 回記録。 交配状況の観察 雄については最終の交配後、死後検査 (剖検、病理組織学的検査) 母動物の体重は妊娠 0、7、14 及び 20 日 出産状況の観察 (同腹児数、出生児数、死産児数、担奇形児数)
P/F1	哺育 (21 日)  離乳	哺育 4 日に各同腹児数を 8 匹に調整 (可能な場合は雌雄各 4 匹) 継代用に各群雌雄各 24 匹を無作為に選抜	母動物の体重は哺育 1、4、7、14 及び 21 日に記録 児動物の体重は生後 1、4、7、14 及び 21 日に記録 すべての P 雌を屠殺し、肉眼的病理検査 (着床数確認) 及び病理組織学的検査 残りの F1 児を屠殺し、肉眼的病理検査
F1	生育 (10 週)  交配 (14 日以内) 妊娠 出産 (F2)	(P 世代に準ずる)	親動物として観察を開始 (P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる)
F1/F2	哺育 (21 日) 離乳	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる) (P 世代に準ずる) 離乳後、F2 児を屠殺し、肉眼的病理検査

結果：概要を表 2~4 に示した。体重推移は図 1~4 に示した。

### 1. P 及び F1 親動物への影響 (表 2)

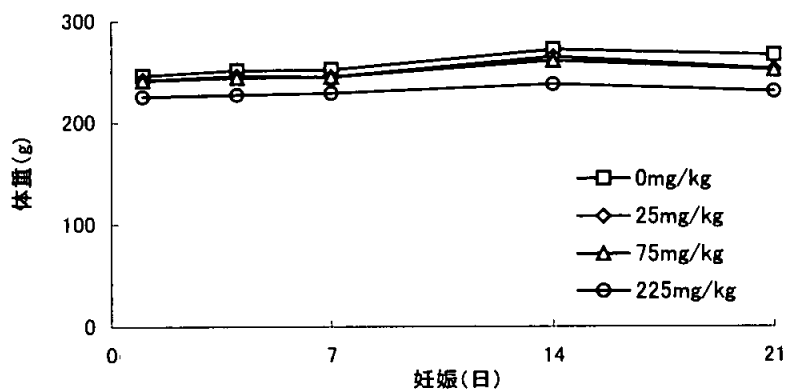
両世代の雌雄共に、投与に起因した死亡は試験期間を通じてみられなかった。また一般状態観察においても両世代雌雄共に特記すべき所見は認められなかった。

P 世代の生育 0、2、5、10 週、妊娠 0、7、14、20 日、哺育 1、4、7、14 及び 21 日の体重、及び各期間の体重増加量で統計学的に有意な変動を示したものについて表 2 に示した。

225mg/kg 群では両世代の雌雄共に対照群に比し低体重及び体重増加量の減少が認められた。25 及び 75mg/kg 群では、雄の体重への影響はみられなかったが、F1 世代の雌で生育期間の体重と哺育 21 日の体重、哺育期間の体重増加量において統計学的有意な減少が観察された。

申請者註：F1 世代雌の生育期間の 25 及び 75mg/kg 群にみられた体重変動については、生育 0 週時ですでに統計学的有意差がみられたが用量に依存した減少はみられず、その後対照に比して約 5%低値で推移した。また哺育期間の体重増加量の減少については、哺育 21 日で両群に用量に依存しない低体重がみられたことによるもので、以下の図 2-3 にみられるように対照群との間に明らかな差はみられなかった。また、雄では両世代、両群共、体重への影響は全く認められなかった。これらのことから、25 及び 75mg/kg 群の F1 世代雌でみられた体重変動については検体投与に関与したものではないと判断した。

図. F1 母動物体重の推移 (哺育期間)



生育期間の摂餌量についてはP世代の雄 225ppm 群で有意な減少がみられたが、その他の群では明らかな変動はみられなかった。生育期間の食餌効率では雄の両世代、各投与群でとくに変動はみられなかったが、雌では両世代の

225ppm 群で増加傾向がみられ食餌効率の悪化が窺われた。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査においては、両世代共に検体投与に関連したと思われる特記すべき所見は認められなかった。

2. P 及び F1 親動物の繁殖成績 (表 3)

両世代共に受胎率や妊娠率、妊娠期間、着床数、同腹児数、生存児数等の繁殖成績に変動はみられず、検体による繁殖能への影響はないと考えられた。

3. F1 及び F2 児動物への影響 (表 4)

出生後の生存児数や哺育期間中の死亡児の分布について、対照群と各投与群との間で差はみられず、出生 4 日後の生存率と離乳率 (21 日生存率) においても変動は認められなかった。また両世代の生存児の性比についても投与の影響はみられなかった。

75mg/kg 群の F1 児 1 例に無尾と F2 児 1 例に水頭症 (剖検時確認) が観察されたが、いずれも偶発的な所見と判断した。

哺育期間の一般症状観察では両世代共に特記すべき所見は観察されなかった。

F1 児では 225mg/kg 群で、F2 児では 75 及び 225mg/kg 群で哺育期間のとくに後半で統計学的有意な低体重がみられた。

F1 児及び F2 児の哺育期間後の剖検において、検体投与の影響と考えられる肉眼的異常所見は観察されなかった。

以上、検体のラットを用いた飼料混入投与による 2 世代繁殖試験 (初産児で継代) において、親動物への毒性影響としては両世代の 225mg/kg で雌雄共に体重増加抑制がみられ、雌で食餌効率が悪化した。繁殖指標に対しては 225mg/kg でも投与の影響はみられなかった。児動物への影響は 75mg/kg で F2 世代、225mg/kg で両世代の哺育期間に低体重が観察された。従って、無毒性量は親動物に対しては 75mg/kg (P 雄 : 73.1mg/kg/日、雌 : 77.5mg/kg/日、F1 雄 : 81.4mg/kg/日、雌 : 87.6mg/kg/日)、児動物に対しては 25mg/kg (P 雄 : 24.8mg/kg/日、雌 : 25.1mg/kg/日、F1 雄 : 26.3mg/kg/日、雌 : 28.1mg/kg/日) と考えられた。

表 2 親動物への影響

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2					
投与量 (mg/kg)		0	25	75	225	0	25	75	225		
動物数		雌雄	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	一般状態観察	雌雄	-	-	-	-	-	-	-		
	死亡率	雌雄	0	0	0	0	0	0	0		
	体重	生育時 #1, b) 0週	雄				↓97			↓90	
			雌					↓89	↓89	↓87	
		2週	雄				↓96			↓88	
			雌					↓94	↓93	↓85	
		5週	雄				↓94			↓93	
			雌				↓93	↓96	↓95	↓89	
		10週	雄				↓93				
			雌				↓94	↓96	↓96	↓91	
		妊娠時 #1, b)	0日	雌			↓93		↓95		↓90
			7日				↓92				↓90
			14日				(92)				↓91
			20日				(93)				↓92
	哺育時 #1, b)	1日	雌			↓93				↓91	
		4日				↓93				↓90	
		7日				↓94				↓91	
		14日				↓92				↓87	
		21日				↓91		↓95	↓94	↓87	
	体重増加量	生育期間 <sup>a) b)</sup>	雄			92				99	
雌					86				94		
妊娠期間 #1 b)		雌			(93)				(95)		
哺育期間 #1 b)		雌			(67)		↓56	↓50	↓31		
摂餌量:生育期間 #2 b)		雄			↓93						
食餌効率\$ (%)	生育期間 <sup>a)</sup>	雄	8.9	9.1	9.0	9.1	9.0	8.4	8.4	8.6	
		雌	16.4	16.5	17.5	19.6	14.8	15.2	15.9	16.1	
検体摂取量 (mg/kg/日)		雄	---	24.8	73.1	211.5	---	26.3	81.4	249.4	
		雌	---	25.1	77.5	242.5	---	28.1	87.6	268.1	
肉眼的病理検査 <sup>#2</sup>		雌雄	-	-	-	-	-	-	-		
病理組織学的検査 <sup>#2</sup>		雌雄	-	-	-	-	-	-	-		

↓ ↑ p<0.05、↓↑ : p<0.01

#1 (Student t検定 (体重、体重増加量、摂餌量))

#2 (カイ二乗検定 (肉眼的病理検査、病理組織学的検査))

a) 統計未実施

b) 対照を100とした場合の値 (体重、体重増加量、摂餌量、)

\$: 食餌効率= (総摂餌量/体重増加量) × 100 (%)

-: 検体投与に起因した所見/影響なし

表 3 親動物の繁殖成績

世 代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (mg/kg)		0	25	75	225	0	25	75	225
動物数		雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
親 動 物	交配雌数	24	24	24	24	24	23	24	24
	受胎雌数	23	20	23	22	23	23	24	23
	不妊雌数	1	4	1	2	1	0	0	1
	生存児分娩雌数	21	20	22	21	23	23	24	22
	受胎率 (%) #2	96	83	96	92	96	100	100	96
	妊娠率 (%) #2	91	100	96	95	100	100	100	96
	妊娠期間 (日) #1	21.6	21.7	21.6	21.5	21.6	21.6	21.5	21.7
	一腹当り着床数 (a) #1	9.7	10.2	10.5	9.8	12.2	12.0	11.3	11.4
	一腹当り同腹児数 (b) #1	9.5	9.8	10.1	9.3	10.8	10.7	10.1	10.6
	一腹当り生存児数 (c) #1	9.5	9.8	10.1	9.3	10.8	10.7	10.1	10.6
	出産率\$ (%) a)	98	96	96	95	89	89	89	93
	生存児出産率\$\$ (%) a)	100	100	100	100	100	100	100	100

↓ ↑ p<0.05 #1 (Student t検定 (妊娠期間、着床数、同腹児数、生存児数))

#2 (カイ二乗検定 (受胎率、妊娠率))

a) 統計未実施

\$: 出産率 = (b/a) × 100 (申請者算出)

\$\$: 生存児出産率 = (c/b) × 100 (申請者算出)

表 4 児動物への影響

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	25	75	225	0	25	75	225	
対象母動物数		21	20	22	21	23	23	24	22	
児動物	生存児数(腹当り) <sup>#1</sup> (a)	9.5	9.8	10.1	9.3	10.8	10.7	10.1	10.6	
	1日後	9.4	9.8	10.1	9.2	10.7	10.7	10.1	10.6	
	4日後(調整前, b)	9.4	9.6	10.0	9.1	10.3	10.2	9.8	10.3	
	4日後(調整後, c)	7.2	7.6	7.5	7.3	7.6	7.7	7.5	7.7	
	7日後	7.2	7.6	7.5	7.3	7.5	7.7	7.5	7.6	
	14日後	7.2	7.6	7.5	7.3	7.5	7.7	7.5	7.6	
	21日後(d)	7.2	7.6	7.5	7.3	7.5	7.7	7.5	7.6	
	性比(雄%) <sup>a)</sup>	50	52	50	51	52	44	52	53	
	出生後死亡児数 <sup>a)</sup>	1日	2	0	0	1	0	0	1	2
		4日	1	4	3	4	11	11	7	7
		7日	0	0	0	0	2	1	1	1
		14日	0	0	0	1	0	0	0	0
		21日	0	0	0	0	0	0	0	0
		計	3	4	3	6	13	12	9	10
	担奇形児動物数 <sup>a)</sup>		0	0	1	0	0	0	1	0
	4日生存率 <sup>\$</sup> <sup>a)</sup>		99	98	99	98	95	95	97	97
	離乳率 <sup>\$\$</sup> <sup>a)</sup>		100	100	100	100	99	100	100	99
	生存児体重 <sup>b)</sup> <sup>#1</sup>	7日	雌	-			-		↓92	
		14日	雄	-			-			↓85
			雌	-		↓93	-		↓92	↓89
	21日	雄	-		↓91	-		↓91	↓81	
		雌	-		↓90	-		↓85	↓83	
一般症状観察 <sup>#2</sup>	雌雄	-	-	-	-	-	-	-	-	
肉眼的病理検査 <sup>#2</sup>	雌雄	-	-	-	-	-	-	-	-	

↓ ↑ p<0.05 <sup>#1</sup> (Student t検定 (各日の生存児数及び生存児体重))

<sup>#2</sup> (カイ二乗検定 (一般症状、肉眼的病理検査))

<sup>a)</sup> 統計未実施

<sup>b)</sup> 対照を100とした場合の値 (生存児体重)

<sup>\$</sup> : 4日生存率 (b/a) × 100 (申請者算出)

<sup>\$\$</sup> : 離乳率 = (d/c) × 100 (申請者算出)

- : 検体投与に起因した所見/影響なし



ラットを用いた繁殖毒性試験 (3) - 3 世代、2 産児で継代繁殖/催奇形性試験 -

毒性資料 No. 原体-35

試験機関 :

報告書作成年 : 1979 年

本試験は 3 世代繁殖試験 (2 産児で継代) であるが、P 及び F2b 世代の各 15 腹を用い F1a 及び F3a 胎児について催奇形性を調べると共に、F2b の離乳後 3 ヶ月の生育状況を調べた。

検体の純度 :

供試動物 : SD 系ラット (CD, Charles River, US)、約 6 週齢、1 群雄 15 匹、雌 30 匹

投与期間 : P 世代 ; 投与開始から交配まで 9 週、交配/妊娠期間 (約 3 週間) 及び哺育期間 (3 週間)。2 回目交配/妊娠及び哺育期間 (同上)。F1b 児離乳までの約 21 週間

F1 世代 ; 離乳後、交配まで 9 週、交配/妊娠期間 (約 3 週間) 及び哺育期間 (3 週間)。2 回目交配/妊娠及び哺育期間 (同上)

F2b 児離乳までの約 21 週間

F2 世代 ; 離乳後、交配まで 9 週、交配/妊娠期間 (約 3 週間) 及び哺育期間 (3 週間)。2 回目交配/妊娠及び哺育期間 (同上)

F3b 児離乳までの約 21 週間

但し一部 F2b については離乳後さらに 3 ヶ月 (85 日間)

(1977 年 8 月 ~ 1979 年 4 月)

投与方法 : 検体を 0、20、100 及び 500ppm の濃度で飼料に混入し、自由に摂食させた。  
飼料調製は毎週行った。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目の概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び体重 : 生死は毎日観察。各生育期間の 0、4、9 週に一般状態の観察及び体重を測定した。

摂餌量 : 各生育期間の 4 及び 9 週に測定した。

交配 : 3 週間にわたり雌 2 対雄 1 で同居させた。同居後、毎日、精子及び膣栓の有無を観察し、認められた日を妊娠 0 日とした。

調整及び選抜 : 催奇形性をみるための F1a 及び F3a 胎児の 15 腹を除き、出生後、直ちに同腹児の数と重量を計測した。出生後 7 日に 1 腹当り 10 匹 (可能な限り雄 5 匹、雌 5 匹以上) に選抜、調整した。

初産児 (F1a, F2a, F3a) については出生後 3 週間哺育し、その後屠殺した。

2産児 (F1b, F2b) については初産児と同様に出生後 3 週間哺育し、離乳後に次世代の親動物として 1 群雄 10 匹、雌 20 匹を選抜し (F2b については別に 10 腹雌雄各 2 匹を 3 ヶ月生育のため選抜)、さらに 9 週間の生育期間後に交配を開始した。F2b の 2 産児 (F3b) については出生後 3 週間哺育し、その後屠殺した。なお、親動物は雄については 2 産児の出生段階で、雌については 2 産児の離乳後の段階で屠殺した。

出産時検査：計 6 回の交配から得られた以下の項目を調べた。

母動物；交配雌数、妊娠動物数、担生存児雌数、24 時間後担生存児雌数、担離乳児雌数

児動物；出生 24 時間後児動物数、出生 24 時間後生存児数、出生 7 日後（調整前及び調整後）生存児数、離乳時生存児数

繁殖性に関する指標：上記の観察に基づき、次の指標を求めた。

妊娠率 (%) = (妊娠動物数 / 交配雌数) × 100

生存児出産率 (%) = (生存児分娩雌数 / 妊娠動物数) × 100

哺育率 (%) = (担離乳児雌数 / 出生 24 時間後担生存児雌数) × 100

新生児率 (%) = (出生 24 時間後生存児総数 / 出生 24 時間後児動物総数) × 100

7 日生存率 (%) = (出生 7 日後生存児総数 / 出生 24 時間後生存児総数) × 100

離乳時生存率 (%) = (出生 21 日後生存児総数 / 出生 7 日後生存児総数) × 100

性比 = 雄児動物総数 / 雌児動物総数

肉眼的病理検査：すべての親動物及び一部の児動物について剖検を行った。

病理組織学的検査：F3b 児（各群 10 匹の親から雄 1 匹雌 1 匹）を対象として、下記の組織について固定した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、骨格筋、骨、骨髄、甲状腺、副腎、下垂体、卵巣、精巣、胃、小腸、大腸、膵臓、膀胱、脾臓、及び肉眼的異常部位

対照群及び 500ppm 群の雌雄各 5 例について上記の組織について標本作製し鏡検を行った。

表 1 交配・調整・選抜及び観察・検査項目

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(9週)		体重は生育0、4、9週、摂餌量は4、9週に計測
P /F1a	交配及び 妊娠(3週)	雄1雌2で交配 (各群15腹を催奇形性 試験に使用)	交配状況観察
	出産(F1a)		出産状況の観察 同腹児数及び重量、外表観察
	哺育(3週)	哺育7日に同腹児数 を10匹に調整	児動物の体重は1、7、21日に計測 児動物の一般観察
	離乳		F1a児の1/3を剖検 他は屠殺
P /F1b	交配及び 妊娠(3週)	雄1雌2で交配	交配状況観察 雄親(P)を屠殺、剖検
	出産(F1b)		P/F1a世代に準ずる
	哺育(3週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳	継代用雄10匹雌20匹 を選抜(F1b)	雌親(P)を屠殺、剖検 継代以外F1b児の1/3を剖検 他は屠殺
F1b	生育(9週)		P世代に準ずる
F1b /F2a	交配及び 妊娠(3週)	雄1雌2で交配	P/F1a世代に準ずる
	出産(F2a)		P/F1a世代に準ずる
	哺育(3週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳		P/F1a世代に準ずる
F1b /F2b	交配及び 妊娠(3週)	雄1雌2で交配	P/F1a世代に準ずる
	出産(F2b)		P/F1a世代に準ずる 雄親(F1b)を屠殺、剖検
	哺育(3週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳	継代用雄15匹雌30匹 の選抜(F2b) 3ヶ月生育用10腹より 雌雄各2匹選抜	雌親(F1b)を屠殺、剖検 継代及び生育用以外F2b児の1/3を剖検 他 は屠殺
F2b	生育(9週)		P世代に準ずる
F2b /F3a	交配及び 妊娠(3週)	P/F1a世代に準ずる (各群15腹を催奇形 性試験に使用)	P/F1a世代に準ずる P/F1a世代に準ずる
	出産(F3a)		P/F1a世代に準ずる
	哺育(3週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳		P/F1a世代に準ずる
F2b /F3b	交配及び 妊娠(3週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる P/F1a世代に準ずる
	出産(F3b)		P/F1a世代に準ずる 雄親(F2b)を屠殺、剖検
	哺育(3週)	P/F1a世代に準ずる	P/F1a世代に準ずる
	離乳		雌親(F2b)を屠殺・剖検、F3b児剖検 他は屠殺 病理組織学検査(雌雄各5匹)

[催奇形性のための観察・検査]

P 及び F2b 世代の各 15 腹を用い F1a 及び F3a 胎児について以下の項目について観察した。

母動物の観察：生死については毎日、一般状態は妊娠 0、6、11、15 及び 19 日に観察を実施した。

体重を妊娠 0、6、15 及び 19 日に測定した。摂餌量の計測(親 F2b のみ)は妊娠 6、15 及び 19 日に行った。

帝王切開時の観察：妊娠 19 日に帝王切開し、胎児を取り出した。母動物についてはその後剖検。また腹毎に黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、着床後死胚数を記録した。

胎児の検査：各胎児について性の確認、体重と頭部-臀部長の計測、外表検査を実施した。さらに得られた胎児の約 2/3 を Wilson 法により内臓検査し、残りの約 1/3 の胎児については 95%エタノール固定の後、アリザリンレッド染色骨格標本を作製し実体顕微鏡下で検査した。

[離乳後 3 ヶ月 (85 日間) の生育状況の観察・検査]

F2b の 10 腹雌雄各 2 匹、すなわち 1 群雌雄各 20 匹を対象とし、離乳後 3 ヶ月の生育状況を調べるために以下の観察を行った。

この期間はそれまでと同様に検体を 0、60、250 及び 500ppm を含む飼料で維持した。

一般状態の観察：離乳後 85 日間、毎日観察した。

肉眼的病理検査：すべての動物について離乳後 86 日目に剖検を行った。

## 結 果

### [繁殖性の結果]

P、F1 及び F2 世代にみられた結果を表 2、3 及び 4 に各々示した。

#### 1. 親動物 (P、F1b 及び F2b) に対する一般毒性

親動物に対する毒性影響はいずれの世代においてもみられなかった。

各世代の雌雄共、試験期間を通じて検体投与に起因したと思われる症状や行動の変化は観察されなかった。死亡が散見されたがいずれも投与に関連したものではなかった。

生育期間中の体重について、P 及び F2b では体重の変動はみられなかった。F1b では生育 0 週で 100 及び 500ppm 群雌で統計学的有意な低体重をみたが、その後変動はみられず、一過性のものであり毒性影響とは捉えられなかった。摂餌量では F1b の生育 4 週時の測定ですべての投与群で対照群に比し統計学的有意な減少を示したが用量に依存しておらず、投与に関連しないものと判断した。その他には変動はみられなかった。

屠殺後の肉眼的病理検査において、各世代の雌雄各投与群共に、検体投与に関連した所見は認められなかった。

#### 2. 繁殖能への影響

3 世代各 2 回の計 6 回の交配から得られた成績から、妊娠率、生存児出産率、哺育率などの繁殖指標に対照群と各投与群との間に差は全くみられなかった。従って検体の最高用量 500ppm 投与によってもラットの繁殖能への影響はないと考えられた。

#### 3. 児動物 (F1a、F1b、F2a、F2b、F3a 及び F3b) への影響

各世代共に出生後の生存児数、死産児数、性比については対照と各投与群との間に明らかな差は認められなかった。F3b 児の 500ppm 群で性比(雄/雌)の統計学的有意な減少がみられたが、他の世代で同様の所見はみられず、むしろ対照群における性比が高かったことによる偶発的な変動と考えられた。また出生 7 日や離乳時(出生 21 日)の生存率で統計学的有意な変動が散見されたが、用量に依存がなく、あるいは対照群に比べ生存率が高く、いずれも毒性影響とは捉えられなかった。

児動物の哺育期間中の体重については、F1a 児の 500ppm 群で 21 日の離乳時に雄で統計学的有意な減少がみられた。また、統計学的有意ではなかったが、F2a 児の雌、F3a 児の雄では離乳時体重のわずかな減少傾向が窺われた。

児動物に対する哺育期間中の一般観察ではとくに異常はみられなかった。ま

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

た屠殺後の肉眼的病理検査でも各世代、各投与群で投与に関連したと思われる所見は認められなかった。さらに対照群と 500ppm 群の F3b 児に対して実施した病理組織学的検査でも特記すべき所見は認められなかった。

申請者注：500ppm 群児動物の哺育期間における体重増加への影響が窺われているが、そのほとんどが統計学的有意差を伴わないわずかな変化であり、各世代の児動物で一貫して認められた変化でもないことから毒性影響を示唆したものは考えられなかった。

[催奇形性の結果]

P 及び F2b 世代の各 15 腹を用いて実施した催奇形性検査の結果の概要を表 5-1 及び 5-2 に示した。

1. 母動物への影響

P 及び F2b 世代共に妊娠期間中、死亡及び検体投与に起因した一般症状や行動の変化は観察されなかった。

妊娠期間中の体重は両世代、各投与群共に対照群と変わらない推移を示した。P 世代の 100ppm 群で妊娠 6～15 日の体重増加量が統計学的有意に減少したが、用量に依存した変動はみられず、検体投与との関連はないと判断した。

また F2b 世代については摂餌量が測定され、500ppm 群の妊娠 0～6 日でのみ統計学的有意な減少がみられた。しかし他の時期には有意な変化がなく体重増加量に全く影響していないことから毒性影響とは捉えられなかった。

屠殺後の剖検において、両世代でいくつかの肉眼的異常所見を散見したが、いずれも低頻度であり、用量に依存した頻度の増加もみられなかったことから偶発的な所見と考えられた。

両世代共、妊娠率や着床所見において検体投与に関連したと思われる所見は認められなかった。

2. 胎児への影響

F1a 及び F3a 両世代の胎仔動物体重には有意な変動はみられなかった。一方、頭部-臀部長については F1a 胎児の 100 及び 500ppm 群で統計学的有意な増加が認められた。しかし F3a 胎児ではとくに変動はみられず、検体による影響ではないと判断した。

F1a と F3a 胎児に対して行われた外表検査において異常所見は全く認められなかった。内臓及び骨格検査では両世代でいくつかの所見が散見されたが、用量に依存した所見はなく、また本系統で自然発生的にみられることから、いずれも検体投与に起因したものではないと判断した。

以上、P 及び F2b 世代の各 15 腹を用いた催奇形性試験では検体の 500ppm でも母動物及び胎児に対する影響はみられなかった。

[離乳後 3 ヶ月 (85 日間) の生育状況の結果]

F2b の 1 群雌雄各 20 匹について、離乳後さらに 3 ヶ月にわたり、検体 0、60、250 及び 500ppm を含む飼料で維持し、その間の一般状態の観察と、投与期間経過後に肉眼的病理検査を行った。

その結果、検体投与に関連した所見は全く観察されなかった。

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

ラットに対する3世代、2産児で継代の繁殖試験の結果、検体投与による親動物及び  
児動物共への影響は認めなかった。また、繁殖能への影響はみられなかった。

併せて実施したF1aとF3a胎児を用いた催奇形性及びF2bの離乳後3ヶ月の生育にお  
いても検体の影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験における無毒性量は500ppm（P:雄 34.1mg/kg/日, 雌  
40.9mg/kg/日、F1:雄 39.1mg/kg/日, 雌 47.2mg/kg/日、F2:雄 34.5mg/kg/日, 雌  
43.1mg/kg/日\*、）と判断された。

\*（催奇形性観察の妊娠期間中検体摂取量：母動物 500ppm（40.7mg/kg/日））



表 2 繁殖試験 (P 世代～F1 世代)

世 代		親 P : 児 F1a				親 P : 児 F1b				
投与量 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500	
親 動 物	動物数	雄	15	15	15	15	8	7	7	8
		雌	30	30	30	30	15	13	13	15
	一般状態	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
		雌	-	-	-	-	-	-	-	-
	死亡率	雄	0	0	0	0	0	0	0	0
		雌	0	2	2	0	2	1	0	1
	生育時体重	雄	-	-	-	-				
		雌	-	-	-	-				
	生育時摂餌量	雄	-	-	-	-				
		雌	-	-	-	-				
	検体摂取量 <sup>a)</sup> (mg/kg/日)	雄	---	1.3	6.4	34.1				
		雌	---	1.7	7.6	40.9				
	交配雌数		15	15	15	15	14	13	13	15
	妊娠雌数		15	14	14	13	13	13	13	15
	生存児分娩雌数		15	14	14	13	12	12	13	15
	担離乳児雌数		15	13	13	13	10	12	12	14
	妊娠率 (%)		100	93	93	87	93	100	100	100
	生存児出産率 (%)		100	100	100	100	92	92	100	100
	哺育率 (%)		100	93	93	100	83	100	92	100
	肉眼的 病理検査	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
雌		-	-	-	-	-	-	-	-	
児 動 物	生存児数		183	179	188	139	159	154	185	173
	死産児数		1	1	0	1	2	4	0	7
	性比 (雄/雌)		1.00	0.80	1.25	1.06	0.96	1.11	1.06	0.99
	生存児数 (1 日)		12.2	12.8	13.4	10.7	13.3	12.8	14.2	11.5
	(7 日調整前)		11.7	12.2	13.1	10.5	10.3	11.3	11.6	11.1
	(7 日調整後)		9.6	9.7	10.0	9.0	9.8	9.8	9.8	9.1
	(21 日)		9.0	8.4	8.9	9.0	8.2	8.3	8.5	6.7
	7 日生存率 (%)		96	96	98	98	77	↑88	82	↑97
	離乳時生存率 (%)		94	87	89	↑100	84	85	87	74
	体重 <sup>b)</sup>	雄	-	-	-	↓85	-	-	-	-
雌		-	-	-	-	-	-	-	-	
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-	
肉眼的病理検査		-	-	-	-	-	-	-	-	

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 ; Student t 検定または Cochran 検定)  
(計数値 ; カイ 2 乗検定)

- : 特記すべき所見なし/有意差なし

<sup>a)</sup> 生育 4 及び 9 週の摂餌量と体重から申請者が算出

<sup>b)</sup> 対照を 100 とした場合の値

表 3 繁殖試験 (F1 世代～F2 世代)

世 代		親 F1b : 児 F2a				親 F1b : 児 F2b				
投与量 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500	
親 動 物	動物数	雄	10	10	10	10	10	10	10	
		雌	20	20	20	20	20	20	20	
	一般状態	雄	-	-	-	-	-	-	-	
		雌	-	-	-	-	-	-	-	
	死亡率	雄	0	0	0	0	0	0	0	
		雌	0	0	0	0	0	1	0	
	生育時体重 <sup>b)</sup> (生育 0 週)	雄	---	-	-	-				
		雌	---	-	↓89	↓85				
	生育時摂餌量 <sup>b)</sup> (生育 4 週)	雄	-	-	-	-				
		雌	-	↓81	↓78	↓82				
	検体摂取量 <sup>a)</sup> (mg/kg/日)	雄	---	1.5	7.1	39.1				
		雌	---	1.8	8.4	47.2				
	交配雌数		20	20	20	20	20	20	20	20
	妊娠雌数		18	15	19	19	17	15	19	19
	生存児分娩雌数		18	15	19	18	16	15	19	18
	担離乳児雌数		18	14	19	18	16	14	19	18
	妊娠率 (%)		90	75	95	95	85	75	95	95
	生存児出産率 (%)		100	100	100	95	94	100	100	100
	哺育率 (%)		100	93	100	100	100	93	100	100
	肉眼的 病理検査	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
雌		-	-	-	-	-	-	-	-	
児 動 物	生存児数		215	180	241	228	205	181	271	227
	死産児数		1	1	1	3	0	4	2	1
	性比 (雄/雌)		1.00	0.90	1.02	0.93	1.01	0.91	1.10	0.91
	生存児数 (1 日)		11.9	12.0	12.7	12.0	12.8	12.1	14.3	12.6
	(7 日調整前)		11.7	11.3	12.0	12.0	11.9	10.3	13.9	12.3
	(7 日調整後)		9.8	10.0	9.7	9.8	9.4	8.5	9.9	9.1
	(21 日)		8.6	8.1	8.8	8.9	7.6	6.7	9.6	8.9
	7 日生存率 (%)		98	94	94	100	93	↓85	↑97	98
	離乳時生存率 (%)		88	↓81	91	91	81	79	↑97	↑98
	体重 <sup>b)</sup> 21 日後	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
		雌	-	-	-	(91)	-	-	-	-
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-	
肉眼的病理検査		-	-	-	-	-	-	-	-	

↓ ↑ : p<0.05 (計量値; Student t 検定または Cochran 検定)  
(計数値; カイ 2 乗検定)

( ) は参考値 (有意差なし)

- : 特記すべき所見なし/有意差なし

<sup>a)</sup> 生育 4 及び 9 週の摂餌量と体重から申請者が算出

<sup>b)</sup> 対照を 100 とした場合の値

表 4 繁殖試験 (F2 世代～F3 世代)

世 代		親 F2b : 児 F3a				親 F2b : 児 F3b				
投与量 (ppm)		0	20	100	500	0	20	100	500	
親 動 物	動物数	雄	15	15	15	15	10	12	11	11
		雌	30	30	30	30	15	15	15	15
	一般状態	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
		雌	-	-	-	-	-	-	-	-
	死亡率	雄	0	0	0	0	0	0	0	0
		雌	0	0	0	0	0	1	0	1
	生育時体重	雄	-	-	-	-				
		雌	-	-	-	-				
	生育時摂餌量	雄	-	-	-	-				
		雌	-	-	-	-				
	検体摂取量 <sup>a)</sup> (mg/kg/日)	雄	---	1.4	7.0	34.5				
		雌	---	1.8	8.9	43.1				
	交配雌数		15	15	15	15	15	15	15	15
	妊娠雌数		10	13	14	13	11	15	14	13
	生存児分娩雌数		10	13	14	13	11	14	14	12
	担離乳児雌数		10	13	13	12	10	14	14	12
	妊娠率 (%)		67	87	93	87	73	100	93	87
	生存児出産率 (%)		100	100	100	100	100	93	100	92
	哺育率 (%)		100	100	93	92	91	100	92	100
	肉眼的 病理検査	雄	-	-	-	-	-	-	-	-
雌		-	-	-	-	-	-	-	-	
生存児数		129	176	198	168	141	188	206	172	
死産児数		1	2	0	2	8	5	1	2	
性比 (雄/雌)		1.20	1.41	1.03	1.00	1.41	1.19	0.99	↓0.83	
生存児数 (1 日)		12.9	13.5	14.1	12.9	12.8	13.4	14.7	14.3	
(7 日調整前)		12.0	11.6	13.3	11.7	10.5	12.3	13.7	13.3	
(7 日調整後)		9.8	9.2	9.6	9.2	9.2	9.2	9.8	9.5	
(21 日)		7.0	6.2	7.8	6.6	8.4	8.3	9.4	8.3	
7 日生存率 (%)		93	86	94	91	82	↑92	↑93	↑93	
離乳時生存率 (%)		71	67	81	72	91	90	96	87	
体重 <sup>b)</sup>	雄	-	-	-	(87)	-	-	-	-	
	21 日後 雌	-	-	-	-	-	-	-	-	
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-	
肉眼的病理検査		-	-	-	-	-	-	-	-	
病理組織学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-	

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 ; Student t 検定または Cochran 検定)  
(計数値 ; カイ 2 乗検定)

- : 特記すべき所見なし/有意差なし

<sup>a)</sup> 生育 4 及び 9 週の摂餌量と体重から申請者が算出

<sup>b)</sup> 対照を 100 とした場合の値

表 5-1. 催奇形性試験 (P 世代親 : Fla 胎児)

世代		親 P : 児 Fla				
投与量 (ppm)		0	20	100	500	
1 群当り動物数		15	15	15	15	
母動物	死亡動物数 (率)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
	一般状態	-	-	-	-	
	体重変化 <sup>a)</sup> (妊娠 6~15 日)			↓ 83		
	妊娠動物数 (率)	12 (80%)	12 (80%)	14 (93%)	12 (80%)	
	全吸収胚動物数	0	0	0	0	
	肉眼的病理検査	膀胱壁肥厚 1 例	子宮膨大 1 例	異常なし	子宮膨大 1 例	
	母動物数	12	12	14	12	
	一腹当り着床所見	黄体数	13.3	13.8	13.1	13.8
		着床数 (率)	12.8 (96%)	13.1 (95%)	12.6 (97%)	13.0 (95%)
		生存胎仔数 (率)	12.3 (96%)	12.5 (96%)	12.1 (96%)	12.4 (96%)
死亡胎仔数 (率)		0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
着床後死胚数 (率)		0.5 (3.9%)	0.6 (4.5%)	0.6 (4.5%)	0.6 (4.5%)	
胎児	体重 (g)	2.53	2.51	2.60	2.51	
	頭部-臀部長 (cm)	3.23	3.28	↑ 3.38	↑ 3.42	
	外表異常 検査胎児数	147 -	150 -	169 -	149 -	
	内臓異常 検査胎児数	100	105	116	102	
	臍帯ヘルニア	0	1 (1.0%)	0	0	
	腎盂拡張	0	0	5[*] (4.3%)	0	
	骨格異常 検査胎児数	47	45	53	47	
	骨化遅延	頭骨	6[4] (12.8%)	4[2] (8.9%)	1 (1.9%)	3[3] (6.4%)
		肋骨	1 (2.1%)	0	1 (1.9%)	1 (2.1%)
		脊柱	1 (2.1%)	1 (2.2%)	1 (1.9%)	0
四肢		1 (2.1%)	0	0	0	
変異	肋骨屈曲	0	0	2[1] (3.8%)	1 (2.1)	
	肋骨長不整	0	1 (2.2%)	0	0	

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 ; Student t 検定または Cochran 検定)  
(計数値 ; カイ 2 乗検定)

- : 特記すべき所見なし/有意差なし

<sup>a)</sup> 対照を 100 とした場合の値

[ ] は腹数

[\*] 腹数不明

表 5-2. 催奇形性試験 (F2b 世代親 : F3a 胎児)

世 代		親 F2b : 児 F3a				
投与量 (ppm)		0	20	100	500	
1 群当り動物数		15	15	15	15	
母 動 物	死亡動物数 (率)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
	一般状態	-	-	-	-	
	体重変化	-	-	-	-	
	摂餌量 <sup>a)</sup> (妊娠 0~6 日)	-	-	-	↓ 87	
	検体摂取量 <sup>b)</sup> (mg/kg/日)	---	1.7	8.2	40.7	
	妊娠動物数 (率)	8 (53%)	12 (80%)	13 (87%)	12 (80%)	
	全吸収胚動物数	0	0	0	0	
	肉眼的病理検査	腎盂拡張 2 例	肝臓肥大 1 例	異常なし	異常なし	
	母動物数		8	12	13	12
	一 腹 当 り 着 床 所 見	黄体数	15.0	15.6	15.2	15.2
着床数 (率)		12.8 (85%)	13.1 (87%)	12.6 (95%)	13.0 (90%)	
生存胎仔数 (率)		12.8 (97%)	13.5 (96%)	14.5 (97%)	13.7 (95%)	
死亡胎仔数 (率)		0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
着床後死胚数 (率)		0.4 (2.9%)	0.5 (3.7%)	0.4 (2.7%)	0.7 (4.9%)	
胎 児	体 重 (g)		2.29	2.24	2.35	2.54
	頭部-臀部長 (cm)		3.35	3.24	3.32	3.37
	外表異常 検査胎児数		99	156	183	156
			-	-	-	-
	内臓異常 検査胎児数		62	101	118	99
	側脳室拡張		0	1 (1.0%)	0	0
	骨格異常 検査胎児数		37	55	65	57
	骨化遅延 頭骨		0	3[2] (5.5%)	2[2] (3.1%)	2[2] (3.5%)
変 異	肋骨屈曲		0	1 (1.8%)	0	2 (3.5%)
	肋骨減形成		0	2[1] (3.6%)	0	0
	異常 下顎欠損及び 咬合不整合		0	0	1 (1.5%)	0

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 ; Student t 検定または Cochran 検定)  
(計数値 ; カイ 2 乗検定)

- : 特記すべき所見なし/有意差なし

a) 対照を 100 とした場合の値

b) F2b について母動物妊娠期間の摂餌量と体重から申請者が算出

[ ] は腹数

ラットを用いた催奇形性試験 (1)

毒性資料 No. 原体-36

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1988 年

検体の純度 :

供試動物 : Wistar ラット [Wistar/HAN、Kfm: WIST]、11 週齢、1 群 雌 25 匹

投与期間 : 妊娠 6~15 日の 10 日間 [1987 年 11~12 月]

投与方法 : 検体を 4%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁させ、0、150、450 及び 1350mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日まで毎日 1 回、強制経口投与した (投与容量 : 10mL/kg)。対照群には 4%CMC 水溶液を同量投与した。交配は 1:1 で行い、膣栓または膣スミア中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

観察・検査項目 :

親動物 : 一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。途中死亡がみられた場合には直ちに剖検し、とくに子宮及び内容物を精査した。

体重を妊娠 0 日から 21 日まで毎日測定し、摂餌量は妊娠 6、11、16 及び 21 日に測定した。

妊娠 21 日に全ての母動物を屠殺して帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡・吸収胎児数を検査した。併せて子宮重量を測定し、着床痕を確認した。

生存胎児 : 性別及び体重を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児の約 1/2 の胎児について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児についてはアリザリンレッド S 染色骨格標本作製し、骨格異常の有無、骨格変異を検査した。

結 果：表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

### 1. 母動物への影響

試験期間中を通じて検体投与に起因したと思われる一般症状及び死亡は認められなかった。

1350mg/kg 群でわずかながら統計学的有意な低体重がみられ、妊娠 6～11 日の体重増加量や補正体重増加量(妊娠 6～21 日)が対照群に比べて低かった。

また摂餌量では妊娠 6～11 日で統計学的有意な減少がみられた。

屠殺後の剖検では投与に関連した肉眼的異常所見はいずれの群にも認められなかった。

繁殖成績において受胎率、妊娠率に検体投与の明らかな影響はみられなかった。

着床前及び着床後死胚率には検体投与の影響はみられなかった。さらに生存児数にも変動はみられなかった。

### 2. 胎児への影響

胎児重量及び性比に投与による影響はみられなかった。

外表検査では対照群を含む試験群で異常胎児を散見した。しかしいずれも頻度は極めて低く、また用量に依存した頻度の増加は観察されなかった。

内臓検査でみられた異常はいずれも外表検査で観察された胎児にみられ、検体投与に関連した所見は認められなかった。

骨格検査では 150mg/kg 群で波状肋骨の出現頻度が統計学的有意に増加した。しかし、用量に依存したものではないことから、検体投与に関連しない所見と考えられた。その他にも骨格異常を散見したが、いずれも低頻度でかつ用量に依存した頻度の増加はみられないことから、投与に関連しないものと判断した。

骨格変異については、四肢の基節骨や末節骨などの未骨化が統計学的に有意な頻度の変動を示したが、用量に依存した変動ではなく、これらの所見と検体投与との関連性はないと判断した。

以上、ラットに対する催奇形性試験において、1350mg/kg で母動物の体重及び摂餌量でわずかな減少がみられたが、胎児に対して催奇形性を示唆する所見はみられなかった。本試験における無毒性量は母動物で 450mg/kg/日、胎児では 1350mg/kg/日と判断された。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	150	450	1350	
母動物	1群あたりの動物数	25	25	25	25	
	一般症状	-	-	-	-	
	死亡動物数	0	0	0	0	
	体重 <sup>a)</sup> 妊娠 12 日	-			↓ 96	
	妊娠 16 日				↓ 97	
	妊娠 17 日				↓ 96	
	妊娠 18 日				↓ 96	
	体重増加量 <sup>b)</sup> (妊娠 6 - 11 日)	8.1	6.4	6.3	5.0	
	補正体重増加量 <sup>b) #1</sup> (妊娠 6 - 21 日)	6.6	6.9	5.5	4.2	
	摂餌量 <sup>a)</sup> (妊娠 6 - 11 日)	-	-	-	↓ 91	
	肉眼的病理検査	-	-	-	-	
	交尾雌数	25	25	25	25	
	着床確認雌数	25	23	21	25	
	担生存胎児雌数	24	23	21	25	
	流産動物数	0	0	0	0	
	全吸収胚動物数	1 <sup>#</sup>	0	0	0	
	受胎率 (%) <sup>#2</sup>	100	92	84	100	
	妊娠率 (%) <sup>#3</sup>	96	100	100	100	
	着床所見 (腹あたり)	黄体数	13.8	13.1	13.5	14.1
		着床数	12.6	11.6	12.2	12.5
着床前死胚数		1.1	1.6	1.3	1.6	
着床前死胚率 (%)		8.2	11.9	9.5	11.6	
生存児数		12.2	10.9	11.5	11.6	
着床後死胚数		0.4	0.7	0.7	0.9	
着床後死胚率 (%)		3.3	6.0	5.9	7.4	

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 : Dunnett 多重検定または Wilcoxon 検定)  
(計数値 : Fisher 直接確率計算法)

# : 着床に関するデータなし

- : 検体投与に関連した所見を認めず/有意差なし

<sup>a)</sup> 対照を 100 とした場合の値

<sup>b)</sup> 体重増加量 : 妊娠 6 日体重に対する増加率 (%)

<sup>#1</sup> 補正体重増加量 = 妊娠 21 日体重 - 妊娠 6 日体重 - 子宮重量

<sup>#2</sup> 受胎率 (%) = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

<sup>#3</sup> 妊娠率 (%) = (担生存胎児雌数 / 着床確認雌数) × 100



表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	150	450	1350
母動物数	24	23	21	25
生存胎児数	293	250	241	289
死亡胎児数	0	0	0	0
性比 (雄の割合、%)	46	47	49	52
平均体重 (両性)	-	-	-	-
外表検査：( ) は腹数				
検査動物数	293	250	241	289
異常胎児数	2(2)	1(1)	1(1)	2(1)
重複異常	1(1) <sup>1)</sup>	-	-	-
無尾	1(1)	-	-	-
小型胎児	-	1(1)	1(1)	2(1)
内臓検査：( ) は腹数				
検査動物数	144	124	121	145
異常胎児数	2(2)	1(1)	-	1(1)
重複異常	1(1) <sup>2)</sup>	1(1) <sup>3)</sup>	-	-
無尾	1(1)	-	-	-
小型胎児	-	-	-	1(1)
骨格検査：( ) は腹数				
検査動物数	147	126	120	144
異常胎児数	7(6)	13(6)	2(2)	6(5)
重複異常	-	-	1(1) <sup>4)</sup>	1(1) <sup>5)</sup>
波状肋骨	-	▲9(▲4)	1(1)	-
肋骨骨化不全	-	2(1)	-	-
胸椎体二分型	-	-	-	1(1)
胸椎体分銅型	4(3)	3(1)	-	1(1)
胸椎体骨化不全	1(1)	-	-	1(1)
腰椎体・弓骨化不全	1(1)	-	-	-
胸骨核異形	2(2)	1(1)	-	2(2)
骨格変異 (以下いずれも未骨化所見)				
左前肢：第2末節骨	32(14)	▲47(14)	25(11)	38(19)
第5基節骨	101(9)	84(7)	▼61(9)	97(7)
右前肢：第2末節骨	26(12)	▲43(13)	18(8)	28(12)
第5基節骨	93(6)	83(7)	▼54(8)	86(5)
左後肢：第1中足骨	42(18)	48(16)	25(11)	▼22(↓12)

↓↑ : p<0.05 (計量値 : Dunnett 多重検定または Wilcoxon 検定)  
(計数値 : Fisher 直接確率計算法/腹数での検定は申請者が実施)

- 1) 小型胎児、小顎症
- 2) 部分的双胎 (肝臓、腎臓、肺の2連、背部結合)、臍帯ヘルニア
- 3) 小型胎児、臍帯ヘルニア
- 4) 小型胎児、全身性骨化遅延、肋骨一部欠損・癒合、胸椎体二分型・分銅型
- 5) 小型胎児、全身性骨化遅延

## ラットに対する催奇形性試験 (2)

毒性資料 No. 原体-37

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1989 年

検体の純度 :

供試動物 : Wistar ラット (Mol:WIST)、1 群 雌 22 匹

投与期間 : 妊娠 6~15 日の 10 日間 [1989 年 5~7 月]

投与方法 : 検体を 1%カルボキシメチルセルロース (CMC) 水溶液に懸濁させ、0、625、1250 および 2500mg/kg の投与量で妊娠 6 日から 15 日まで毎日 1 回、強制経口投与した (投与容量 : 10 あるいは 20mL/kg)。対照群には 1%CMC 水溶液を同量投与した。交配は 1 : 1 で行い、膣栓が認められた日を妊娠 0 日とした。

観察・検査項目 :

母動物 : 一般状態および生死を毎日観察した。

体重は妊娠 0、3、6~15、18 および 20 日に測定した。また妊娠 0~3、3~6、6~9、9~12、12~15 および 15~20 日の摂餌量を測定した。

妊娠 20 日に全ての母動物を屠殺し、剖検後に帝王切開した。子宮重量を測定後、黄体数、着床数、生存胎児数および死亡・吸収胎児数を検査した。併せて胎盤重量を測定した。また、以下の指標を算出した。

受胎率 (%) = (着床確認雌数 / 交尾雌数) × 100

妊娠率 (%) = (担生存胎児雌数 / 着床確認雌数) × 100

着床前死胚率 (%) = ((黄体数 - 着床数) / 黄体数) × 100

着床後死胚率 (%) = ((着床数 - 生存胎児数) / 着床数) × 100

生存胎児 : 性別および体重を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児の約 2/3 の胎児については内臓除去後にアリザリンレッド染色骨格標本を作製し、骨格異常の有無、骨格変異を検査した。残りの胎児については Wilson 法に従い内臓検査を行った。

結 果：表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

### 1. 母動物への影響

試験期間を通じて検体投与に起因したと思われる一般症状および死亡は認められなかった。

2500mg/kg 群では妊娠 15 日に統計学的有意な低体重がみられ、妊娠 0～20 日の体重増加量が対照群に比べて有意に低かった。また期間毎の摂餌量では全投与群で用量と関連しない統計学的有意な減少が散見されたが、妊娠期間中(妊娠 0 - 20 日)の総摂餌量では 2500mg/kg 群のみで有意な減少がみられ、摂餌量への投与の影響が 2500mg/kg 群でみられたものと判断した。

1250mg/kg および 625mg/kg においても摂餌量の減少が認められたが、体重に影響が認められないことから毒性影響とは考えなかった。

屠殺後の剖検では投与に関連した肉眼的異常所見はいずれの群にも認められなかった。

繁殖成績において受胎率、妊娠率に検体投与の明らかな影響はみられなかった。

また着床前および着床後死胚率には検体投与の影響はみられなかった。さらに各投与群共、生存児数について対照群との間に差はみられなかった。

### 2. 胎児への影響

胎児の性比に投与による影響はみられなかった。胎児重量については 1250 および 2500mg/kg 群で統計学的有意な減少が観察された。

外表検査および内臓検査で対照群を含む全ての群で所見が観察されたが、用量に依存した頻度の増加はみられなかった。また重大な奇形所見は本試験において認められなかった。

骨格検査において統計学的有意な頻度の増減を示した所見が認められた。

頭頂間骨、頭頂骨および後頭骨の未骨化や不完全骨化の頻度において、統計学的有意な変動が各投与群で観察された。頭頂間骨と頭頂骨の所見については用量に依存した変動がみられていないことから投与との関連性はないと考えられた。2500mg/kg 群でみられた後頭骨の未骨化の増加についてはこの群で胎児重量の減少がみられていることから、体重低下による二次的な影響を示唆したものと考えられた。

頸椎骨の不完全骨化については対照群に比べて各投与群で頻度の増加が統計学的有意に観察された。しかし用量に依存した明らかな増加がみられていないことから、むしろ対照群で偶発的に頻度が低かったことによるものと考えられ、投与に関連した所見とは捉えられなかった。その他の所見については偶発的あるいは毒性学的意義が低いものと判断した。

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

ラットに対する催奇形性試験において、2500mg/kg で母動物の体重および摂餌量の減少がみられた。また、胎児に対しては1250mg/kg 以上で胎児重量の減少がみられ胎児重量の減少の二次的影響と考えられる後頭骨の未骨化が2500mg/kg で増加した。母動物への影響を認めない用量では胎児の未骨化所見の増加は認めなかった。以上のことより本試験における無毒性量は母動物で1250mg/kg/日、胎児では625mg/kg/日と判断された。

申請者注：2500mg/kg で頻度の増加が認められた後頭骨の未骨化については、1250mg/kg では逆に対照群より頻度が減少し、また不完全骨化を示す動物数も対照群より少なかった。頸椎骨の不完全骨化は全投与群で対照群に比べ、有意な頻度の増加がみられているが、少なくとも625および1250mg/kg については用量に関連しておらず、検体の影響とは考えられなかった。以上のことから、1250mg/kg でみられた胎児重量は対照群に比べ97%とその減少程度はきわめて軽度であることも考えあわせ、胎児の無毒性量は1250mg/kg/日と考えた。

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	625	1250	2500	
母動物	1群あたりの動物数	22	22	22	22	
	一般症状	-	-	-	-	
	死亡動物数	0	0	0	0	
	体重 <sup>a)</sup> 妊娠 15 日	-	-	-	↓ 95	
	体重増加量 <sup>a)</sup> (妊娠 0 - 20 日)	-	-	-	↓ 87	
	摂餌量 <sup>a)</sup> (妊娠 6 - 9 日)	-	↓ 87	↓ 87	↓ 86	
	(妊娠 12 - 15 日)	-	-	↓ 88	↓ 84	
	(妊娠 15 - 20 日)	-	↓ 87	-	-	
	(妊娠 0 - 20 日)	-	-	-	↓ 92	
	肉眼的病理検査	-	-	-	-	
	交尾雌数	22	22	22	22	
	着床確認雌数	22	22	21	22	
	担生存胎児雌数	22	22	21	22	
	流産動物数	0	0	0	0	
	全吸収胚動物数	0	0	0	0	
	受胎率 (%)	100	100	95	100	
	妊娠率 (%)	100	100	100	100	
	着床所見 (腹あたり)	黄体数	13.1	12.4	12.9	13.0
		着床数	12.6	12.5	12.5	12.1
		着床前死胚数	0.5	0.0	0.4	0.9
着床前死胚率 (%)		3.8	0.0	3.2	5.9	
生存児数		11.9	12.0	12.2	11.6	
着床後死胚数		0.6	0.5	0.3	0.5	
着床後死胚率 (%)		5.0	3.7	2.4	4.1	

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 : Dunnett 多重検定または Wilcoxon 検定)  
(計数値 : Fisher 直接確率計算法)

<sup>a)</sup> 対照を 100 とした場合の値

- : 検体投与に関連した所見を認めず/有意差なし

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)	0	625	1250	2500
母動物数	22	22	21	22
生存胎児数	262	264	256	254
性比 (雄の割合、%)	48	47	49	46
平均体重 <sup>a)</sup> (両性)	-	-	↓ 97	↓ 94
外表検査：( ) は腹数				
検査動物数	262	264	256	254
胎盤肥大	-	-	1 (1)	-
胎盤癒着	1 (1)	-	2 (2)	-
皮下小出血	11 (8)	13 (10)	12 (11)	12 (9)
頭部皮下水腫	1 (1)	1 (1)	-	-
尾部出血環	1 (1)	3 (3)	1 (1)	-
後肢出血環	1 (1)	-	1 (1)	-
大腿部絞輪	-	-	1 (1)	-
左子宮角凝固血	-	-	-	2 (2)
内臓検査：( ) は腹数				
検査動物数	81	80	79	79
脳室拡張 (軽度)	-	-	-	1 (1)
腎盂拡張 (片/両側)	7 (6)	8 (5)	7 (7)	8 (6)
尿管拡張 (片/両側)	11 (7)	11 (9)	9 (7)	9 (7)
皮下出血	2 (2)	2 (2)	2 (2)	2 (2)
腎臓出血	1 (1)	1 (1)	-	1 (1)
腹腔内出血	4 (3)	2 (1)	1 (1)	2 (2)
肝臓出血	2 (2)	-	-	1 (1)
眼球内出血	1 (1)	1 (1)	-	-
子宮角菲薄	-	1 (1)	-	-
肺静脈拡張	-	-	1 (1)	-
胸膜出血	-	-	-	1 (1)
骨格検査：( ) は腹数				
検査動物数	181	184	177	175
頭頂間骨： 未骨化	55 (18)	↓ 29 (12)	35 (14)	48 (16)
不完全骨化	12 (9)	28 (14)	23 (12)	21 (13)
頭頂骨： 未骨化	25 (13)	↓ 14 (7)	↓ 12 (8)	29 (11)
不完全骨化	101 (19)	114 (22)	↑ 122 (21)	97 (21)
後頭骨： 未骨化	19 (8)	11 (7)	↓ 9 (5)	↑ 27 (11)
不完全骨化	30 (11)	20 (9)	16 (9)	25 (13)
頸椎骨： 不完全骨化	107 (21)	↑ 134 (22)	↑ 134 (21)	↑ 142 (22)
舌骨： 不完全骨化	9 (5)	7 (6)	↓ 0 (↓ 0)	10 (6)
仙骨間骨化点	56 (21)	46 (18)	53 (20)	↓ 33 (↓ 14)

胎児

↓ ↑ : p<0.05 (計量値 : Dunnett 多重検定または Wilcoxon 検定)  
(計数値 : Fisher 直接確率計算法/腹数での検定は申請者が実施)

<sup>a)</sup> 対照を 100 とした場合の値  
- : 検体投与に関連した所見を認めず/有意差なし