

1.1. 慢性毒性及び発がん性

(資料 19)

1) ラットを用いた混餌法による慢性毒性/発癌性併合試験

試験機関：(株)三菱化学安全科学研究所[GLP対応]

報告書作成年：2000年

検体純度：■■■■%

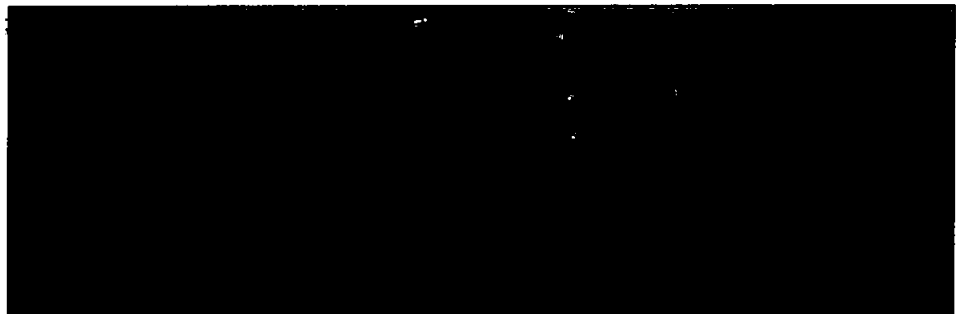
試験動物：Fischer ラット(F344/DuCrj,SPF) 1群雌雄各 60匹、開始時 5週齢、
体重 雄 83~113g、雌 73~90g

投与後 53週に 1群 10匹を中間屠殺した。

投与期間：24ヶ月 (1997年 5月 31日~1999年 6月 16日)

投与方法：検体を 0、400、2000、10000 の濃度で飼料に混合し、混餌法による経口投与とし 104
週間毎日投与した。被験物質混合飼料は 5~12 週間毎に調製した。

投与量設定根拠



試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；毎日 1回観察した。週 1回は触診を行った。

死亡率・・・2000ppm 群の雌で死亡動物が多く発現し、有意な差が第 100 週に認められた
が、10000ppm 群の雌では同様な変化は認められないことから、被験物質投
与とは関連のない偶発的な変化と判断した。

投与量(ppm)		死亡数
死亡率 (%)	♂	
	♀	

一般状態・・・対照群を含むいずれかの群で 5例以上に発現した変化は、雄では皮下腫瘍、
貧血、雌では眼球突出、眼球混濁、皮下腫瘍、腹腔内結節であった。しか
し、これらはラットを用いた発癌性試験ではしばしば認められる変化であ
り、その発現数が被験物質投与群で用量に伴って、且つ経時的に増加する
ことはなかった。従って、これらは被験物質投与とは関連がない偶発変化
と判断した。

またその他の種々の変化についても、その発現状況から被験物質投与とは
関連がないと判断した。

体重；第13週までは毎週1回、それ以後は3ないし4週に1回測定した。

体重の低値が10000ppm群の雌雄で第1週以降継続して認められた。2000ppm群の雄でも体重の低値が第3、4週と第7～16週にかけて認められたが、その後は対照群と同様に推移したことから、被験物質の慢性毒性を示唆するものではないと判断した。

摂餌量；第13週までは毎週1回、それ以後は3ないし4週に1回測定した。

摂餌量の低値ないしその傾向が10000ppm群の雌雄で第1週以降継続して認められた。その他にも摂餌量の低値が2000ppm群の雄で第1、3、7～12、16～23週に、同群の雌で第1、3、4、6、7、10、11、19～26、41、56、60、97週に、また、400ppm群の雄で第12～23、34、56週に、同群の雌で第4、7、23週に認められた。しかしいずれも対照群との差はごく僅かであった。また本変化は主として第56週までの変化であり、その後は2000ppm群の雌の第60および97週だけの変化であることから、2000ppm以下の群に認められた本変化は被験物質の慢性毒性を反映したものではないと判断した。

食餌効率；週1回測定した。算出は第13週までとした。

食餌効率の低値が10000ppm群の雄で第1、7週、雌で1、4、5週に、食餌効率の高値が400ppm群の雌で第6週にそれぞれ認められたが、いずれも一過性的変化であることから、毒性学的には意義のない変化と判断した。

被験物質摂取量；第13週までは毎週1回、それ以後は3ないし4週に1回、1日あたりの被験物質摂取量を以下の計算式を用いて算出した。

$$\text{被験物質摂取量} = \frac{1 \text{匹あたりの摂餌量(g/day)} \times 10^3 \times \text{被験物質設定濃度(ppm)} \times 10^6}{\text{平均体重(g)} \times 10^3} \text{ (mg/kg/day)}$$

投与量(ppm)		400	2000	10000
平均被験物質摂取量 (mg/kg/day)	♂	14.4	72.3	376
	♀	17.8	89.0	458

血液学的検査；第27および79週時に中間検査として105週計画解剖動物の各用量群、雌雄10匹の動物から無麻酔下で眼窩静脈叢より採血し、下記の項目を測定した。第53および105週計画解剖時の全生存動物についてはペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与により麻酔し、後大静脈より採血し、下記項目を測定した。いずれの検査時期の動物も検査前日の夕方から絶食した。絶食時間は中間検査の場合は約21～25時間、計画解剖の場合は約21～24時間であった。瀕死期解剖動物は以下の(8)、(9)を除く項目を可能な限り測定した。但し前日の夕方からの絶食は行わなかった。

- 検査項目** (1)赤血球数(RBC) (2)ヘモグロビン濃度(Hb) (3)ヘマトクリット値(Ht)
 (4)平均赤血球容積(MCV) (5)平均赤血球色素量(MCH)
 (6)平均赤血球色素濃度(MCHC) (7)血小板数(PLT) (8)プロトロンビン時間(PT)
 (9)活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT) (10)白血球数(WBC) (11)白血球百分率

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌
投与量(ppm)		
検査時期(週)		
RBC		
Hb		
Ht		
MCV		
MCH		
PLT		
リンパ球比		
分節核好中球比		

↓: P<0.05 ↑: P<0.01、 表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を表したもの

血小板数の低値が 10000ppm 群の雄で 27、53 および 105 週検査時に、2000ppm 群の雄で 27 および 105 週検査時にそれぞれ認められた。

平均赤血球容積(MCV)の低値が 10000ppm 群の雄で 53、79 および 105 週検査時に、同群の雌で 105 週検査時に、平均赤血球色素量(MCH)の低値が 10000ppm 群の雄で 105 週検査時に、同群の雌で 27 および 105 週検査時にそれぞれ認められた。しかし、同検査時の 10000ppm 群の赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値に有意な変化が認められないことから、いずれも毒性学的には意義のない変化と判断した。また、赤血球数、ヘマトクリット値およびリンパ球比の高値と分節核好中球比の低値が 2000ppm 群の雄で 105 週検査時に、ヘモグロビン濃度の高値が 2000ppm 群の雄で 105 週検査時と 400 および 2000ppm 群の雌で 53 週検査時にそれぞれ認められたが、同様な変化は 10000ppm 群の雌雄には認められないことから、これらの変化も毒性学的には意義のない変化と判断した。この他にヘモグロビン濃度の低値が 10000ppm 群の雌で 79 週検査時に認められたが、10000ppm 群の雌の 105 週検査時には認められないことから、この変化も毒性学的に意義のない変化と判断した。

血液生化学的検査；第 27 および 79 週時には各群血液学的検査対象動物のうちの 10 匹、第 53 週計画解剖時には全対象動物、また第 105 週計画解剖時には各群 10 匹の動物について、血液学的検査用と同時に採取した血液を室温で約 30 分間放置後遠心分離し、得られた血清を用いて下記の項目を測定した。

- 検査項目** (1)ASAT(GOT) (2)ALAT(GPT) (3) γ GT (4)ALP (5)総ビリルビン (6)尿素窒素 (7)クレアチン (8)グルコース (9)総コレステロール (10)トリグリセリド (11)総蛋白 (12)アルブミン (13)A/G 比 (14)カルシウム (15)無機リン (16)ナトリウム(Na) (17)カリウム(K) (18)クロール(Cl)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄	雌
投与量(ppm)		
検査時期(週)		
ASAT(GOT)		
ALAT(GPT)		
γGT		
ALP		
総ビリルビン		
尿素窒素		
グルコース		
総コレステロール		
トリグリセライド		
総蛋白		
A/G 比		
無機リン		
クロール		

↑↓ : P<0.05 ↑↑ : P<0.01

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

クロールの低値が 10000ppm 群の雌雄で 27、53、79 および 105 週検査時に、尿素窒素の高値が 10000ppm 群の雌雄で 27、53 および 79 週検査時に、総コレステロールの低値が 10000ppm 群の雄で 27、53、79 および 105 週検査時にそれぞれ認められた。また、トリグリセライドの低値が 10000ppm 群の雌で 105 週検査時に認められた。なお、尿素窒素の高値が 2000ppm 群の雌で 53 週検査時に、総コレステロールの低値が 2000ppm 群の雄で 27 週検査時と 10000ppm 群の雌で 27 および 53 週検査時にそれぞれ認められたが、経時的な推移からみて、被験物質の慢性毒性を示唆するものではないと判断した。ALAT(GPT)の高値が 10000ppm 群の雌で 53 週検査時に、γGT および ALP の低値が 2000ppm 以上の群の雄で 53 週検査時に、γGT の高値が 10000ppm 群の雌で 79 週検査時に、総ビリルビンの低値が 400ppm 以上の群の雌で 79 週検査時に、A/G 比の高値が 10000ppm 群の雄の 53 および 79 週検査時と同群の雌で 53 週検査時に、総蛋白の低値が 10000ppm 群の雄の 53 週検査時と同群の雌の 27 週検査時に、アルブミンの低値が 10000ppm 群の雌の 27 週検査時に、無機リンの高値が 10000ppm 群の雄で 27 および 53 週検査時にそれぞれ認められた。しかし、これらの変化はいずれも用量との関連がない変化ないし経時的な一貫性のない変化であることから、毒性学的には意義のない変化と判断した。

この他にも ASAT(GOT)の低値が 2000ppm 群の雄で 27 週検査時に、クロールの高値が 400ppm 群の雄で 27 週検査時に、総ビリルビンおよびトリグリセライドの高値が 400ppm 群の雌で 53 週検査時に、グルコースの低値が 400ppm 群の雌で 105 週検査時にそれぞれ認められたが、いずれも経時的な一貫性はなく、毒性学的には意義のない変化と判断した。

尿検査；第 27 および 79 週時には各群の血液学的検査対象動物のうちの 10 匹、第 53 週計画解剖時には全対象動物、また第 105 週計画解剖前には各群 10 匹の動物について、得られた新鮮尿を用いて下記(1)～(9)の項目を、約 16 時間蓄尿を用いて(10)、(11)の項目を測定した。

検査項目	(1)pH	(5)ビリルビン	(9)色調
	(2)蛋白	(6)潜血	(10)尿量
	(3)グルコース	(7)ウロビリノーゲン	(11)比重
	(4)ケトン体	(8)尿沈渣	

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌
投与量(ppm)		
検査時期(週)		
蛋白		
ケトン体		
AMP		
比重		
尿量		

↑↓：P<0.05 ↑↑：P<0.01 AMP：リン酸アンモニウムマグネシウム

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

比重の低値および尿量の高値が 10000ppm 群の雌で 27、53、79 および 105 週検査時に認められた。

その他に蛋白の低値が 2000ppm 以上の群の雄で 53 週検査時に、比重の低値および尿量の高値が 2000ppm 群の雌で 79 週検査時に、比重の低値が 2000ppm 群の雌で 27 週検査時に、ケトン体の低値が 10000ppm 群の雄で 27 および 53 週検査時に、沈渣中のリン酸アンモニウムマグネシウムの発現頻度の高値が 10000ppm 群の雄で 53 週検査時にそれぞれ認められたが、いずれの変化も経時的な一貫性がないことから、毒性学的には意義のない変化と判断した。

眼科学的検査；投与開始前に全例および第 105 週計画解剖前に対照群ならびに 10000ppm 群の全生存動物について下記の項目を検査した。第 105 週計画解剖前の検査の結果、被験物質投与によると考えられる異常が認められなかったため、他の用量群の動物については検査しなかった。なお、(2)、(3)の項目の検査は散瞳剤点眼後に行った。

(1)前眼部 (2)中間透光体 (3)眼底

第 105 週検査の結果、対照および 10000ppm 群の雌雄に角膜混濁、角膜血管新生および水晶体混濁が認められた。しかし、いずれの変化も 10000ppm 群で発現頻度が明らかに増加することはなかったことから、被験物質投与による影響はなかったと判断した。なお、投与前の検査では雌雄の全例に異常は認められなかった。

病理学的検査；

1) 器官重量

第 53 および 105 週計画解剖時の全生存動物について下記の器官重量を測定した。また、解剖日の体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別		雄	雌
投与量(ppm)			
検査時期(週)			
体 重			
脳	重量 対体重比		
肺	重量 対体重比		
肝臓	重量 対体重比		
脾臓	重量 対体重比		
腎臓	重量 対体重比		
副腎	重量 対体重比		
精巣	重量 対体重比		
卵巣	重量 対体重比		

↑↓ : P<0.05 ↑↓ : P<0.01

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

脾臓の絶対重量および相対重量の低値が 10000ppm 群の雄で 105 週検査時に認められた。副腎の絶対重量の低値が 400ppm 以上の群の雄で 105 週検査時に認められたが、雄の同検査時の相対重量の低値は 400 および 2000ppm 群のみであった。また、有意差の認められた雄の副腎の絶対重量値および相対重量値は今回の試験とほぼ同時期に実施したラットを用いた慢癌併合試験の対照群の雄の値（添付資料）とほぼ同

程度であることから、雄の副腎重量の変化は毒性学的に意義のない変化と判断した。肺の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雌で 53 および 105 週検査時に、肺の相対重量の高値が 2000ppm 以上の群の雌で 105 週検査時に、肝臓の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雌雄で 105 週検査時に、肝臓の相対重量の高値が 10000ppm 群の雌で 53 および 105 週検査時に、脾臓の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雌で 53 および 105 週検査時に、腎臓の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雄の 105 週検査時と同群の雌の 53 および 105 週検査時に、腎臓の相対重量の高値が 10000ppm 群の雌で 105 週検査時に、副腎の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雌で 105 週検査時に、副腎の相対重量の高値が 10000ppm 群の雌で 105 週検査時にそれぞれ認められた。その他に卵巣の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雌で 105 週検査時に、脳の相対重量の高値が 10000ppm 群の雄の 105 週検査時と同群の雌の 53 および 105 週検査時と 2000ppm 群の雌の 105 週検査時にそれぞれ認められた。しかし、これらの重量変化はいずれも体重増加の抑制を反映した見かけ上の変化ないしは体重の増加抑制に伴った変化であり、毒性学的には意義のない変化と判断した。また、脳の絶対重量の低値が 2000ppm 群の雌で 53 週検査時に、腎臓の絶対重量の高値が 10000ppm 群の雄で 53 週検査時に、肝臓の相対重量の低値が 2000ppm 群の雄で 105 週検査時に、肝臓の相対重量の高値が 10000ppm 群の雄で 53 週検査時に、腎臓の相対重量の高値が 10000ppm 群の雄で 53 週検査時に、腎臓の相対重量の低値が 2000ppm 群の雄で 105 週検査時にそれぞれ認められたが、経時的に一貫性のない変化ないしは 10000ppm 群では認められない変化であることから、毒性学的には意義のない変化と判断した。

2) 病理解剖検査

計画解剖動物と瀕死期解剖動物は採血後、腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後に、また、死亡動物は発見後速やかに剖検し、その肉眼所見を記録した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌
検査時期(週)		
投与量(ppm)		
数		
所見		
肝臓 横隔膜面結節		
肝臓 結節		
腎臓 暗褐色化		
精巣 結節		
精巣 小型化		
卵巣 結節		
子宮 内膜ポリープ		
甲状腺 結節		
皮下織 腫瘤		

* : P<0.05 ** : P<0.01

①53 週計画解剖動物

肝横隔膜面結節の発現数が 400 および 2000ppm 群の雌で有意に減少した。この変化は本来奇形に類するものであり、今回雌の対照群では 4 例に発現したが、400 および 2000ppm 群では全く発現しなかったため対照群との間に偶発的に有意差が生じたものであり、被験物質投与との関連はないと判断した。

②105 週計画解剖動物

腎臓の暗褐色化の発現数が 10000ppm 群の雄で、子宮の内膜ポリープの発現数が 10000ppm 群の雌で有意に増加した。
 精巣の小型化および甲状腺の結節の発現数が 10000ppm 群の雄で、皮下織の腫瘤の発現数が 10000ppm 群の雌で有意に減少したが、発現数の減少の毒性学的意義は低いことから、これらの変化を被験物質投与による毒性変化として捉える必要はないものと判断した。また、いくつかの所見が 400 あるいは 2000ppm 群で有意な発現率で認められたが、10000ppm 群での発現が有意ではないことから偶発的な事象と判断した。上述以外の変化で、雌雄とも対照群を含まいずれかの群で 10 例以上に発現した変化は、雌雄の脾臓の腫大と皮下織の腫瘤、雄の精巣の結節および軟化、ならびに精嚢の小型化、雌の胸腺の小型化、肝臓の横隔膜面結節、赤色斑および白色斑、腎臓の暗褐色化、下垂体の結節および赤色斑、ならびに脳の陥没であったが、被験物質投与群で明らかな発現数の増加を示すものはなかったことから、被験物質投与との関連はないと判断した。

3)病理組織学的検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。死亡動物以外の眼球とハーダー腺は Davidson 液で固定し、保存した。

脳、下垂体、甲状腺(両側)および同一切片上にある上皮小体、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、大動脈(胸部)、唾液腺(下顎・舌下；両側)、肝臓、脾臓、副腎(両側)、膵臓、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺腹葉、精嚢、卵巣(両側)、子宮、膣、皮膚および皮下織、舌、食道、胃(前胃・腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓(両側)、膀胱、リンパ節(下顎・腸間膜)、乳腺、筋肉(大腿筋；片側)、坐骨神経(片側)、大腿骨および骨髄(片側)、胸骨および骨髄、眼球およびハーダー腺(両側)、脊髄(頸部・胸部・腰部)、全ての肉眼的異常部位

対照群と 10000ppm 群の全例と 400 および 2000ppm 群の投与期間中に死亡・瀕死期解剖した動物の上記の器官・組織、400 および 2000ppm 群の全例の肺、肝臓、腎臓ならびに全群の肉眼的異常部位は常法に従って H.E.染色標本を作製し、鏡検した。

3) - 1. 腫瘍性変化

①53 週計画解剖動物

精巣間細胞腫、子宮の内膜間質ポリープ、下垂体前葉腺腫、甲状腺 C 細胞癌および眼瞼の無色素性黒色腫が対照群を含む各群で散発的に認められたが、10000ppm 群の雌雄ではそれらの腫瘍が認められないことから、被験物質投与との関連はないと判断した。

性 別	雄	雌
投与量(ppm)		
精巣 間細胞腫		
子宮 内膜間質ポリープ		
下垂体 前葉腺腫		
甲状腺 C 細胞癌		
眼瞼 無色素性黒色腫		

[]は検査動物数を示す。

②105 週計画解剖動物

期間別発現頻度を表-1 (p93~p105) に示す。

被験物質に起因すると思われる腫瘍の増数や稀な腫瘍の発現はなかった。

なお、雄で重複腫瘍保有動物数が対照群と比較して 10000ppm 群で有意に減少した。これは、10000ppm 群では腫瘍の中で特に良性腫瘍数が減少したことによる差異であるが、個々の腫瘍型では有意な減少がみられないことから、それぞれの良性腫瘍が群内で少しずつ減少したものと判断した。

対照群を含む雌雄のいずれかの群で5例以上に発現した腫瘍およびそれに関連する増殖性変化を次ページに示す。

個々の腫瘍あるいは腫瘍と前腫瘍性の増殖性変化を合わせて検討しても、被験物質投与群で増加する変化はなかった。心臓の良性シュワン細胞腫の発現数が 10000ppm 群の雌で対照群と比較して少なく、105 週生存後解剖動物ではその発現がなかったため有意差もみられた。同様に 10000ppm 群の雌では乳腺腫瘍および前腫瘍性変化が全く認められず、個々の腫瘍では線維腺腫の発現数が有意な減少となった。しかし、このような腫瘍発現数の減少は発癌性評価のうえでは意義のない事象と判断した。

10000ppm 群のみで発現した腫瘍は、雄では盲腸および結腸の腺癌、肝臓の肝細胞腺腫、脳の良性星状膠細胞腫、四肢および鼻面の扁平上皮乳頭腫であり、雌では造血臓器の組織球性肉腫およびリンパ球性白血病、肝臓の胆管腫、卵巣の良性顆粒膜・莢膜細胞腫、膣の間質ポリープ、脳の悪性細網細胞症であった。これらの腫瘍は一般に本系統のラットを用いた発癌性試験では稀ながら発現することが知られており、いずれも当所で過去に経験したことのある自然発生腫瘍であることから、被験物質との関連はないと判断した。

いずれかの群で5例以上に発現した腫瘍およびそれに関連する増殖性変化

性別	雄				雌			
	0	400	2000	10000	0	400	2000	10000
重複腫瘍保有動物数	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
重複腫瘍保有動物数	41	29	29	31*	18	13	20	20

[]は検査動物数を示す。

** : P<0.01

性別	雄				雌			
	0	400	2000	10000	0	400	2000	10000
投与量(ppm)	0	400	2000	10000	0	400	2000	10000
重複腫瘍保有動物数	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]	[50]
重複腫瘍保有動物数	41	29	29	31*	18	13	20	20

[]は検査動物数を示す。

* : P<0.05

3)-2. 非腫瘍性変化

①53 週計画解剖動物：肝細胞肥大が 10000ppm 群の雌雄で多数例に認められ、有意差もみられた。この変化は、雄では小葉中心性に雌では肝小葉全域でび慢性に発現していた。腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴が、2000ppm 以上の群の雄で有意に減少した。また 2000ppm 以上の群の雄では、近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着が有意に増加した。この変化は、雌の 10000ppm 群でも有意ではなかったが認められた。このほか対照群を含むいずれかの群で半数例（5 例）以上に発現した変化は、雄では心臓の限局性炎症性細胞浸潤、肝臓の胆管増生、腎臓の好塩基性尿細管および精巣の限局性間細胞増生であり、雌では肝臓の好塩基性肝細胞小増殖巣と小肉芽腫、膵臓の限局性リンパ球浸潤およびハーダー腺の限局性炎症性細胞浸潤であった。しかし、これらはいずれもラットでは加齢に伴ってしばしば認められる非特異的な変化であり、被験物質投与との関連はないと判断した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄	雌
投与量(ppm)		
肝臓		
肝細胞肥大 (小葉中心性)		
肝細胞肥大 (小葉全域でび慢性)		
腎臓		
尿細管上皮にお けるリポフスチン沈着		
尿細管上皮の 硝子滴		

[]は検査動物数を示す。

* : P<0.05 ** : P<0.01

②105 週計画解剖動物：腎臓の近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着の発現数が雌雄とも 2000ppm 以上の群で有意に増加した。また、腎盂腔の結石の発現数が 10000ppm 群の雌で有意に増加した。結石は剖検ではとらえられず、鏡検下で初めて検出できる程度の大きさであった。これらとは逆に、いわゆるラットの慢性進行性腎症の発現数が 10000ppm 群の雄では有意に減少して、雌ではその前駆病変である好塩基性尿細管の発現数が有意に減少した。10000ppm 群の雄では好塩基性尿細管の発現数が有意に増加し、多くの動物で慢性進行性腎症にまで至っていないことが

判明した。

このほか対照群を含むいずれかの群で 10 例以上に発現した変化は、雄では心臓の線維化、脾臓の髄外造血亢進、大腿骨・胸骨骨髓の造血細胞増数、腺胃粘膜のびらん、肝臓の好塩基性肝細胞小増殖巣、同じく好酸性肝細胞小増殖巣、肉芽腫および胆管増生、膵臓の限局性腺房萎縮と限局性リンパ球浸潤、精巣のび慢性精細管萎縮と限局性間細胞増生、精巣上体の精子減少、精囊の萎縮、前立腺の反応性腺上皮増生と限局性炎症性細胞浸潤、下垂体の限局性前葉細胞増生、甲状腺の限局性 C 細胞増生、およびハーダー腺の分泌亢進と限局性炎症性細胞浸潤であり、雌では心臓の線維化と限局性炎症性細胞浸潤、脾臓の髄外造血亢進とヘモジデリン沈着、大腿骨・胸骨骨髓の造血細胞増数、腺胃粘膜のびらん、肝臓の髄外造血亢進、好塩基性肝細胞小増殖巣、肉芽腫、限局性炎症性細胞浸潤および胆管増生、膵臓の限局性リンパ球浸潤、子宮の内膜増生、下垂体前葉ののう胞様病変と限局性前葉細胞増生、甲状腺の限局性 C 細胞増生、副腎皮質における限局性好酸性細胞増生、皮膚の毛のう炎、大腿骨・胸骨の骨硬化症、およびハーダー腺の限局性炎症性細胞浸潤であった。しかし、これらの変化はいずれも本系統のラットを用いた発癌性試験ではしばしば認められる自然発生性の変化であり、被験物質との関連はないと判断した。また、腎臓の遠位尿細管の拡張の発現頻度が 2000ppm 群の雄で有意に減少したが、10000ppm 群での発現数に有意な減少が認められないことから偶発的な事象と判断した。

途中死亡・瀕死期解剖動物では、腎臓の近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着の発現数が雄の 10000ppm 群で有意に増加した。また、尿細管の褐色色素沈着の発現数の有意な減少が被験物質投与群の雌で認められたが、途中死亡・瀕死期解剖動物および 105 週生存後解剖動物を合わせた全動物では有意な減少が認められないことから偶発的な事象と判断した。

105 週生存後解剖動物では、上述した変化の他に好塩基性肝細胞小増殖巣の発現数の有意な増加が 400 および 2000ppm 群の雄、肝臓の限局性炎症性細胞浸潤と小肉芽腫の発現数の有意な増加が 2000ppm 群の雄、腎臓ののう胞の発現数の有意な増加が 2000ppm 群の雌で認められたが、同様な変化は 10000ppm 群には認められないことから偶発的な事象と判断した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄	雌
投与量(ppm)		
腎臓		
好塩基性尿細管		
慢性進行性腎症		
遠位尿細管拡張		
腎盂腔の結石		
尿細管上皮におけるリポフスチン沈着		

[]は検査動物数を示す。

* : P<0.05 ** : P<0.01

3)一③途中死亡・瀕死期解剖動物における主要な死亡・衰弱原因

死亡・衰弱原因のほとんどが腫瘍性の変化であった。そのうち雌雄各群とも LGL 白血病に起因したものが最も多く、雌ではこれに次いで下垂体腫瘍に起因したものが多かった。2000ppm 群の雌では死亡・瀕死期解剖動物が 17 例とやや多く発現したが、LGL 白血病が 5 例、下垂体腫瘍が 3 例、骨髄性白血病と卵巣腫瘍が各 2 例、悪性リンパ腫、陰核腺、脳、子宮、乳腺の腫瘍が各 1 例と、種々の臓器にわたって様々な腫瘍が発現し、臓器にも腫瘍型にも特定の傾向はみられなかった。なお、2000ppm 群の雌 1 例が投与開始後 36 週に瀕死期解剖され、小脳に発生した髄膜腫が衰弱原因と判明したが、本例は自然発生腫瘍が偶発的に早期発現したものと判断した。

結論 (認められた所見)

10000ppm 群の雄

体重および摂餌量の低値

血小板の低値

総コレステロールの低値

脾臓の絶対重量および相対重量の低値

腎臓の近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着

塩素の低値、尿素窒素の高値

腎臓の暗褐色化

肝細胞肥大 (53 週計画解剖動物のみ)

良性腫瘍発現数減少

腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現数減少 (53 週計画解剖動物のみ)

10000ppm 群の雌

体重および摂餌量の低値

血小板の低値

中性脂肪の低値

子宮の内膜ポリープ

腎臓の近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着

腎盂腔の結石

塩素の低値、尿素窒素の高値

尿比重の低値、尿量の高値

肝細胞肥大 (53 週計画解剖動物のみ)

心臓の良性シュワン細胞腫発現数減少

2000ppm 群の雄

血小板の低値

腎臓の近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着

腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現数減少 (53 週計画解剖動物のみ)

2000ppm 群の雌

血小板の低値

腎臓の近位尿細管上皮におけるリポフスチンの沈着

以上、PDJ をラットに 24 ヶ月間投与した結果、被験物質の発癌性を示唆する変化は雌雄とも認められなかった。また、2000ppm 以上の群で被験物質に起因した毒性変化が認められたが、400ppm 群では毒性変化は認められなかった。従って、本試験条件下における無毒性量は雌雄とも 400ppm (雄 14.4mg/kg/day、雌 17.8mg/kg/day) であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

添付資料

1. 背景データ (雄: 副腎重量)

濃度 (ppm)	検査項目 検査時期	副腎 (雄)			試験条件
		最終体重 Week105	絶対重量 Week105	相対重量 Week105	
	単位	g	mg	×10 ⁻³ %	
PDJ					
0	平均値	389.5	58.56	15.28	投与期間: 1997.5.31-1999.6.4
	標準偏差	47.6	13.77	4.09	系統: Fischer ラット(F344/DuCrj,SPF)
	検査数	40	40	40	週齢: 5週齢投与開始
飼育条件: 温度 20~24°C, 相対湿度 40-70%					
400	平均値	399.0	54.93*	13.85**	換気約 12回/日,
	標準偏差	29.9	12.16	3.28	照明 12時間/日(7:00~19:00)
	検査数	41	41	41	飲用水: 5µmフィルター濾過後, 紫外線照射水道水
飼料: 放射線滅菌済粉末飼料(CRF-1)					
2000	平均値	401.2	52.48**	13.08**	動物収容匹数: ホリカーホネット製ケージに 2匹(同性)
	標準偏差	26.8	7.01	1.51	
	検査数	43	43	43	
10000	平均値	372.4**	50.53**	13.62	
	標準偏差	26.8	5.63	1.73	
	検査数	43	43	43	

背景データ

0	平均値	381.0	51.36	13.49	投与期間: 1997.2.12-1999.2.16
	標準偏差	23.9	7.49	1.96	系統: Fischer ラット(F344/DuCrj,SPF)
	検査数	42	42	42	週齢: 5週齢投与開始
飼育条件: 温度 20~24°C, 相対湿度 40-70%					
換気約 12回/日,					
照明 12時間/日(7:00~19:00)					
飲用水: 5µmフィルター濾過後, 紫外線照射水道水					
飼料: 放射線滅菌済粉末飼料(CRF-1)					
動物収容匹数: ホリカーホネット製ケージに 2匹(同性)					

*,P<0.05 ; **,P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表一1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄)

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 *: $P < 0.05$ 、**: $P < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 *: $P < 0.05$ 、**: $P < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			

[]は検査動物数を示す。 *: $P < 0.05$ 、 **: $P < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105		

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌)

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 *: $P < 0.05$ 、**: $P < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 * : P<0.05、 ** : P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表一1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・顔死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105		

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)					合計	計画解剖 105(週)	合計
		1~52	53~65	66~78	79~91	92~105			
[Redacted content]									

[]は検査動物数を示す。 *:P<0.05、 **:P<0.01

(資料 20)

2) マウスを用いた混餌法による 18 ヶ月発癌性試験

試験機関：(株)三菱化学安全科学研究 [GLP 対応]

報告書作成年：2000年

検体純度：■■■■%

試験動物：ICR 系マウス(Crj:CD-1,SPF) 1 群雌雄各 50 匹、開始時 5 週齢

体重 雄 24.6~31.4g、雌 19.7~24.8g

投与期間：18 ヶ月 (1997 年 9 月 1 日~1999 年 3 月 16 日)

投与方法：最初に 10%の被験物質混合飼料を作製しプレミックスとした。次に各濃度とも所定量のプレミックスと飼料を希釈混合し、所定濃度の被験物質混合飼料を調製した。混餌法による経口投与とし 78 週間毎日投与した。被験物質混合飼料は 11~13 週間毎に調製した。

投与量設定根拠：



試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；毎日 1 回観察した。週 1 回は触診を行った。

死亡率・・・死亡動物数の増加が 400ppm 群の雄で 55~74 週に、2000ppm 群の雄で第 65~74 週に、10000ppm 群の雄で第 63~73 週に認められたが、その後は対照群との差が認められないことから被験物質投与との関連性はないものと判断した。

投与量(ppm)				
死亡率(%)	♂			
(死亡数/全動物数)	♀			

一般状態・・・対照群を含むいずれかの群で 5 例以上に発現した変化は、雌雄の腹腔内結節であった。しかし、マウスを用いた発癌性試験ではしばしば認められる

変化であり、その発現数が被験物質投与群で用量を伴って、且つ経時的に増加することはなかった。従って、本変化は被験物質とは関連がないものと判断した。また、その他の種々の変化についても、その発現状況から被験物質とは関連がないと判断した。

体重；第13週までは毎週1回、それ以後は3ないし4週に1回測定した。

体重の低値が10000ppm群の雌雄で第1週以降継続して認められた。

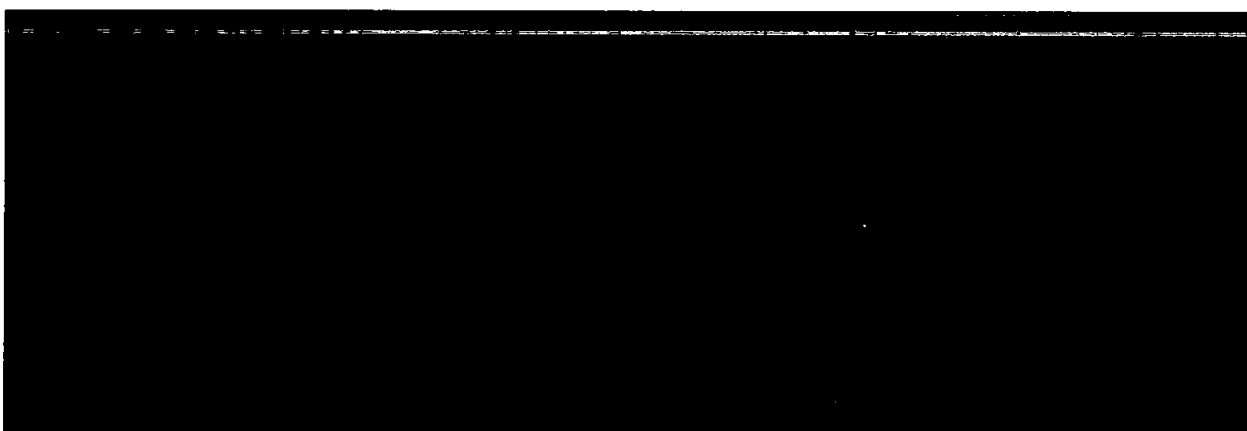
雄 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。



↑↓：P<0.05 ↑↓↓：P<0.01

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

雌 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。



↑↓：P<0.05 ↑↓↓：P<0.01

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

摂餌量；第 13 週までは毎週 1 回、それ以後は 3 ないし 4 週に 1 回測定した。

摂餌量の低値が 10000ppm 群の雄で第 1、9、10 週に、同群の雌で第 1、6、10、41、45、56 週に認められたが、一過性の変化であることから、毒性学的には意義のない変化と判断した。また、摂餌量の高値が 2000ppm 群の雄で第 78 週に、400ppm 群の雄で第 75、78 週に認められたが、10000ppm 群では認められない一過性の変化であることから、同変化も毒性学的には意義のない変化と判断した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査時期(週)	1	6	9	10	41	45	56	75	78
投与量(ppm)									
雄									
雌									

↑↓ : P<0.05 ↑↓ : P<0.01

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

食餌効率；週 1 回測定した。算出は第 13 週までとした。

食餌効率の低値が 10000ppm 群の雄で第 1、10、11 週に、雌で第 1、6 週に認められたが、いずれも一過性の変化であることから、毒性学的には意義のない変化と判断した。

被験物質摂取量；第 13 週までは毎週 1 回、それ以後は 3 ないし 4 週に 1 回、1 日あたりの被験物質摂取量を以下の計算式を用いて算出した。

$$\text{被験物質摂取量} = \frac{1 \text{ 匹あたりの摂餌量(g/day)} \times 10^3 \times \text{被験物質設定濃度(ppm)} \times 10^{-6}}{\text{平均体重(g)} \times 10^{-3}} \text{ (mg/kg/day)}$$

投与量(ppm)		400	2000	10000
平均被験物質摂取量 (mg/kg/day)	♂	40.8	202	1040
	♀	38.9	196	1070

血液学的検査；第 53 週時に中間検査として約 21~24 時間絶食後、全生存動物から無麻酔下で尾静脈より採血した。対照群ならびに 10000ppm 群の動物について(9)の項目を測定した結果、被験物質によると考えられる異常が認められなかった。他の群の検査は実施しなかった。計画解剖時の全生存動物については約 20~24 時間絶食後、エーテル麻酔下、心臓より採血後、下記の項目を測定した。瀕死期解剖動物は可能な限り計画解剖動物と同様な方法で採血し測

定した。但し前日の夕方からの絶食は行わなかった。

- 検査項目 (1)赤血球数(RBC) (6)平均赤血球血色素濃度(MCHC)
 (2)ヘモグロビン濃度(Hb) (7)血小板数(PLT)
 (3)ヘマトクリット値(Ht) (8)白血球数(WBC)
 (4)平均赤血球容積(MCV) (9)白血球百分率
 (5)平均赤血球血色素量(MCH)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌
投与量(ppm)		
検査時期(週)		
WBC		
リンパ球比		
分節核好中球比		
好酸球比		

↑↓ : P<0.05 ↑↑↓ : P<0.01

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

白血球数の低値が 10000ppm 群の雄で計画解剖時に、好中球比の高値が 10000ppm 群の雄で 53 週中間検査および計画解剖時に、400 および 2000ppm 群の雄で計画解剖時にそれぞれ認められた。また、リンパ球比の低値が 400 および 10000ppm 群の雄で計画解剖時に認められた。しかし、いずれも対照群との差はわずかであり、個々の値もその殆どが対照群の範囲内であることから毒性学的に意義はないと判断した。その他に好酸球比の高値が 10000ppm 群の雌で 53 週中間検査時に認められたが、対照群との差はわずかであり、経時的にも一貫性がないことから、被験物質投与の影響を示唆するものではないと判断した。

病理学的検査；

1)器官重量

計画解剖時の全生存動物について下記の器官重量を測定した。また、解剖日の体重に基づいて相対重量(対体重比)を算出した。

脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別		雄	雌
投与量(ppm)			
検査時期(週)			
体 重			
脳	重量 対体重比		
肺	重量 対体重比		
肝 臓	重量 対体重比		
腎 臓	重量 対体重比		
精 巢	重量 対体重比		

↑ ↓ : P<0.05 ↑↓ : P<0.01

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

肝臓の絶対重量の高値が 10000ppm 群の雌で、相対重量の高値が 10000ppm 群の雌雄でそれぞれ認められた。

腎臓の絶対重量の高値が 2000ppm 群の雄で、肺の絶対重量の低値が 10000ppm 群の雌でそれぞれ認められたが、いずれも相対重量には有意差が認められないことから、体重の変動を反映した変化であり、毒性学的には意義のない変化と判断した。また脳の相対重量の高値が 10000ppm 群の雌雄で、腎臓の相対重量の高値が 400 および 10000ppm 群の雄と 10000ppm 群の雌で、精巢の相対重量の高値が 10000ppm 群の雄でそれぞれ認められた。しかし、これらの変化はいずれも体重増加の抑制を反映した見かけ上の変化であることから、毒性学的には意義のない変化と判断した。

2) 病理解剖検査

計画解剖動物と瀕死期解剖動物は採血後、腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後に、また、死亡動物は発見後速やかに剖検し、その肉眼所見を記録した。

肝臓の暗赤色化の発現数が 10000ppm 群の雌雄で、卵巣の嚢胞の発現数が 10000ppm 群の雌でそれぞれ有意に増加した。

一方、脾臓の腫大の発現数が 2000ppm 群の雄と 10000ppm 群の雌で、肝臓の赤色斑の発現数が 2000ppm 以上の群の雄で、胸腺の腫大の発現数が 2000ppm 以上の群の雌でそれぞれ減少したが、発現数の減少の毒性学的意義は低いことから、これらの変化を被験物質投与による毒性変化と捉える必要はないものと判断した。

上述以外の変化で、雌雄とも対照群を含むいずれかの群で 10 例以上に発現した変化は、雌雄の肺の結節、雄の肝臓の結節、腎臓の褪色、雌のハーダー腺の褐色化であったが、被験物質投与群で明らかな発現数の増加を示すものはなかったことから、被験物質投与との関連はないと判断した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌
投与量(ppm)		
数		
所見		
胸腺腫大		
脾臓腫大		
肝臓暗褐色化		
肝臓赤色斑		
卵巣嚢胞		

* : P<0.05 ** : P<0.01

3)病理組織学的検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。死亡動物以外の眼球とハーダー腺は Davidson 液で固定し、保存した。

脳、下垂体、甲状腺(両側)および同一切片上にある上皮小体、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、大動脈(胸部)、唾液腺(下顎・舌下；両側)、肝臓(含む胆嚢)、脾臓、副腎(両側)、膵臓、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺腹葉、精嚢、卵巣(両側)、子宮、膣、皮膚および皮下織、舌、食道、胃(前胃・腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓(両側)、膀胱、リンパ節(下顎・腸間膜)、乳腺、筋肉(大腿筋；片側)、坐骨神経(片側)、大腿骨および骨髄(片側)、胸骨および骨髄、眼球およびハーダー腺(両側)、脊髄(頸部・胸部・腰部)、カーカス、全ての肉眼的異常部位

対照群と 10000ppm 群の全例と 400 および 2000ppm 群の投与期間中に死亡・瀕死期解剖した動物のカーカスを除く上記の器官・組織、400 および 2000ppm 群の全例の肺、肝臓、腎臓ならびに全群の肉眼的異常部位は常法に従って H.E.染色標本を作製し、鏡検した。

死亡・瀕死期解剖動物のみで評価したときに、下顎腺の限局性リンパ球浸潤の発現数が 10000ppm 群の雌で有意に減少したが、発現数の減少であることから毒性学的に意味のない事象と判断した。

計画解剖時の生存動物のみで評価したときに、上述した肝細胞肥大の他に腸間膜リンパ節でリンパ濾胞の過形成の発現数が 10000ppm 群の雌で有意に増加した。しかし、この変化はマウスで自然発生性に認められる変化であることや、雄では 10000ppm 群で減少していることから偶発的な変化と判断した。また、心臓の限局性線維化、胸腺の過形成、ハーダー腺の限局性炎症性細胞浸潤の発現が 10000ppm 群の雌で有意に減少したが、発現の軽減であることから毒性学的に意味のない事象と判断した。

被験物質投与に起因すると考えられる変化

性 別	雄	雌

[]は検査動物数を示す。

** : P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄	雌

[]は検査動物数を示す。

* : P<0.05 ** : P<0.01

3)一③死亡・瀕死期解剖動物における主要な死亡・衰弱原因

死亡・衰弱原因として多かったものを挙げると、腫瘍性変化では悪性リンパ腫、非腫瘍性変化では雄の尿閉および雌のアミロイド症であった。これらの変化はマウスを用いた発癌性試験においてしばしば死亡・衰弱原因となる変化であり、またその発現数が10000ppm群に多く認められることはなかった。組織学的検査で死亡・衰弱原因となる変化が認められなかった例については剖検所見から判断して、400ppm群の雄1例は胸腔内出血、対照群の雌1例は消化管出血、10000ppm群の雌1例は全身の貧血が原因で死亡・衰弱したものと考えられた。

以上、PDJをマウスに78週(18ヶ月)間投与した結果、被験物質の発癌性を示唆する変化は雌雄とも認められなかった。なお、10000ppm群で被験物質に起因した毒性変化として体重の低値が認められたが、2000ppm以下の群では毒性変化は認められなかった。従って、本試験条件下における無毒性量は雌雄とも2000ppm(雄 202mg/kg/day、雌 196mg/kg/day)であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄)

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)				計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79	合計		

[]は検査動物数を示す。

*:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)				計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79	合計		

[]は検査動物数を示す。 *: $P < 0.05$ 、**: $P < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)			計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79		

[]は検査動物数を示す。

*: P<0.05、 **: P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雄) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)			計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79		

[]は検査動物数を示す。

*:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌)

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)				計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79	合計		

[]は検査動物数を示す。

*: P<0.05、 **: P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)				計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79	合計		

[]は検査動物数を示す。

*:P<0.05、 **:P<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

表-1 腫瘍性変化期間別発現頻度表(雌) つづき

所見	投与量 (ppm)	途中死亡・瀕死期解剖(週)				計画解剖 79(週)	合計
		1~52	53~65	66~79	合計		

[]は検査動物数を示す。

*: P<0.05、 **: P<0.01

(資料 21)

3) ビーグル犬を用いた経口投与による 52 週間慢性毒性試験

試験機関：(株)三菱化学安全科学研究所 (GLP 対応)

報告書作成年：2000年

検体純度：■■■■%

試験動物：ビーグル犬 1群雌雄各4頭、開始時7ヶ月齢

体重 雄 9.0~11.0kg、雌 8.1~11.0kg

投与期間：52週 (1998年1月28日~1999年2月3日)

投与方法：被験物質が0、40、200、1000mg/kgの用量で充填されたゼラチンカプセルを1日1回、午前中(給餌直前)に投与した。

投与量設定根拠：



試験項目及び結果：

一般状態；投与開始前1週から投与期間終了まで1日1回観察した。

嘔吐が1000mg/kg群の雌雄で投与開始週にやや頻度が高く認められた。イヌでは、被験物質の局所刺激によりしばしば嘔吐が継続して発現する。しかし、本変化については、継続的に発現しなかったこと、先に実施した13週間亜急性毒性試験では1000mg/kg群で認められていないことから、偶発的な変化と考えられる。

この他に対照群を含む各群で種々の変化がみられた。しかし、いずれも発現状況に一定の傾向を欠く散発的な変化、あるいはビーグル犬でしばしば認められる変化であった。従って、これらについては被験物質とは関連のない変化と判断した。

体重；投与開始前1週から第13週まで毎週1回、それ以後は少なくとも4週に1回測定した。

計画解剖日にも測定した。

対照群と比較して、各測定時期における被験物質投与群の体重に有意な変化は見られ

なかった。しかし、投与開始前日を基準とした増加量の推移から、増加抑制が1000mg/kg 群の雌雄で投与開始後初期に認められた。

なお、40mg/kg 群の雌でも増加抑制傾向が見られたが、200mg/kg 群では順調に増加しており、用量との関連が明らかでないことから、被験物質の影響ではないと判断した。

摂餌量；投与開始前1週から投与期間終了まで、毎日測定した。

いずれの群にも被験物質投与の影響は認められなかった。

食餌効率；各期間の体重増加量を摂餌量で除し、パーセントで表示した。

対照群と比較して、有意な低値が1000mg/kg 群の雄で第1週に、また、有意な変化ではなかったが、1000mg/kg 群の雌では第2週に著しい低値が認められた。

なお、対照群と比較して有意な低値が全被験物質投与群の雌で第21週に認められたが、いずれの群も負の値ではなかったことから、対照群の体重増加が著しかったことによる偶発的な変化と判断した。

血液学的検査；投与開始前1週、第14、27および53週（解剖日）に、橈側皮静脈より採血し、次の項目を測定した。

- | | | |
|------|---------------------|----------------------------|
| 検査項目 | (1)赤血球数(RBC) | (7)網状赤血球数 |
| | (2)ヘモグロビン濃度(Hb) | (8)血小板数(PLT) |
| | (3)ヘマトクリット値(Ht) | (9)プロトロンビン時間(PT) |
| | (4)平均赤血球容積(MCV) | (10)活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT) |
| | (5)平均赤血球血色素量(MCH) | (11)白血球数(WBC) |
| | (6)平均赤血球血色素濃度(MCHC) | (12)白血球百分率 |

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌

↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01

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

プロトロンビン時間(PT)の軽度な短縮が 1000mg/kg 群の雄で第 14 週に認められた。本変化は軽度でかつ一過性の変化であったこと、先に実施した 13 週間亜急性毒性試験において見られていないことから、偶発的な変化であると考えられる。

なお、平均赤血球容積(MCV)の低値が 40mg/kg 群の雄で、平均赤血球色素量(MCH)の高値が 200mg/kg 群の雌でいずれも第 14 週にみられたが、同群では投与開始前から同様の値を示していることから、被験物質の影響ではないと判断した。また、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の低値が 40mg/kg 群の雄で第 27 週に、リンパ球比の高値が 40mg/kg 群の雌で第 53 週にみられたが、用量との関連が明らかでないことから、被験物質の影響ではないと判断した。

血液生化学的検査；血液学的検査用と同時に採取した血液を室温で約 30 分間放置後、遠心分離して得られた血清を用いて次の項目を測定した。

検査項目	(1)ASAT(GOT)	(8)グルコース	(15)カルシウム
	(2)ALAT(GPT)	(9)総コレステロール	(16)無機リン
	(3) γ GT	(10)リン脂質	(17)ナトリウム(Na)
	(4)ALP	(11)トリグリセライド	(18)カリウム(K)
	(5)総ビリルビン	(12)総蛋白	(19)クロール(Cl)
	(6)尿素窒素	(13)アルブミン	
	(7)クレアチニン	(14)A/G 比	

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雌

↑↓：P<0.05

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

いずれの群にも被験物質投与の影響は認められなかった。

なお、40mg/kg 群の雌で ASAT(GOT)の高値が第 27 週に、カリウム(K)の低値が第 53 週にみられたが、用量との関連が明らかでないことから、被験物質の影響ではないと判断した。また、カルシウムの低値が 1000 および 200mg/kg 群の雌

で第 14 週に認められたが、対照群においても第 27 週に同程度の値が見られていることから、生理的変動の範囲内の変化であると判断した。

尿検査；投与開始前 1 週、第 26 および 52 週に、採尿した。

検査項目	(1)pH	(5)ビリルビン	(9)比重
	(2)蛋白	(6)潜血	(10)色調
	(3)グルコース	(7)ウロビリノーゲン	(11)尿沈渣
	(4)ケトン体	(8)尿量	

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄

↑↓：P<0.05 ↑↓↓：P<0.01

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

蛋白の高値と尿量の高値が 1000mg/kg 群の雄で第 26 週および 52 週に認められた。しかし、その変化は軽度で、生理的変動の範囲を逸脱するものではなかった。また、病理学的検査においても腎臓に異常は認められなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられる。

なお、対照群と比較して、ビリルビンの有意な変化が 1000mg/kg 群の雄で第 26 週および 52 週にみられたが、毒性学的意義のない陰性側の変化であった。また、尿量の高値が 40mg/kg 群の雄で第 26 週に見られたが、用量との関連は明らかでないことから、被験物質の影響ではないと判断した。

眼科学的検査；投与開始前 1 週および第 52 週に前眼部、中間透光体および眼底を検査した。
いずれの群にも被験物質投与の影響は認められなかった。

病理学的検査；

1) 器官重量

解剖時に下記の器官重量を測定した。また、解剖日の体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、甲状腺、精巣、卵巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄	雌

↑↓ : P<0.05 ⇕ : P<0.01

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

肝臓の実重量と相対重量の高値あるいは高値傾向が 1000mg/kg 群の雌雄で認められた。その他に腎臓(左側)および副腎の相対重量の高値が 1000mg/kg 群の雄で、腎臓の相対重量の高値が 1000mg/kg 群の雌で、甲状腺の実重量と相対重量の高値が 200 および 1000mg/kg 群の雌で認められた。全て、毒性学的に問題となるような変化ではないと考えられる。なお、腎臓(右側)の相対重量の高値が 40mg/kg 群の雌でも見られたが、用量との関連は明らかでないことから、被験物質の影響ではないと判断した。

2) 病理解剖検査

ペントバルビタールナトリウムの静脈内投与による麻酔下で、総頸動脈および腋窩動脈より放血し、安楽死させた後剖検した。

病理解剖検査所見

性 別	雄	雌

表中の数値は発現動物数、[]は検査動物数を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

肝臓の腫大が 200mg/kg 群の雌 1 例、1000mg/kg 群の雄全例、雌 3 例で見られ、このうち雄の 2 例では褐色化を伴っていた。また、甲状腺の腫大が 200mg/kg 群の雌 2 例、1000mg/kg 群の雄 1 例、雌 3 例で、褪色が 200mg/kg 群の雌 1 例および 1000mg/kg 群の雌雄各 1 例で認められた。

この他に対照群を含む各群で種々の変化がみられた。しかし、これらはいずれも発現状況に一定の傾向を欠く散発的な変化、あるいはビーグル犬でしばしば自然発生性の病変として発現することが知られている変化であった。従って、これらについては被験物質とは関連のない、偶発病変と判断した。

3)病理組織学的検査

下記の器官・組織を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液（眼球はダビドソン液）で固定後、常法によりヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

心臓、大動脈、リンパ節(下顎、腸間膜)、胸腺、脾臓、気管、肺および気管支、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、唾液腺(耳下、下顎、舌下)、肝臓および胆嚢、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、前立腺、下垂体、甲状腺および上皮小体、副腎、骨および骨髄(大腿骨、胸骨)、筋肉(大腿筋)、末梢神経(坐骨神経)、皮膚、乳腺(雌、腹部)、眼球、脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、卵巣、子宮、陰、その他肉眼で変化の認められた器官・組織

病理組織学的検査所見 (雄)

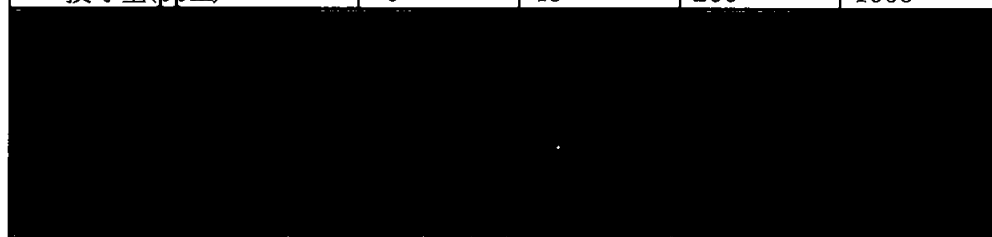
投与量(ppm)	0	40	200	1000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

病理組織学的検査所見（雄） つづき

投与量(ppm)	0	40	200	1000
				

病理組織学的検査所見（雌）

投与量(ppm)	0	40	200	1000
				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

病理組織学的検査所見（雌） つづき

投与量(ppm)	0	40	200	1000

肝臓において、肝細胞の小葉中心性肥大が 200mg/kg 群の雄 3 例、1000mg/kg 群の雌雄各 3 例で認められた。この変化は対照群の雌 1 例にも認められた。また、甲状腺に

において、大型濾胞の増数が 40mg/kg 群の雄 1 例、200mg/kg 群の雌全例、1000mg/kg 群の雌雄全例で両側性に認められた。この変化は対照群の雄 2 例で両側性に、雌 1 例で片側性に認められた。

その他に、被験物質投与群に種々の変化が認められたが、いずれも偶発的に発現する病変であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

以上、PDJ をビーグル犬に 52 週間経口投与した結果、体重の増加抑制と食餌効率の低値が 1000 mg/kg 群の雌雄で認められた。また、生体の適応性変化と考えられる肝臓の肥大性変化が 200 mg/kg および 1000mg/kg 群の雌雄で認められた。従って、本試験における PDJ の無毒性量は雌雄とも 40mg/kg と考えられる。

1 2. 繁殖毒性及び催奇形性

(1) 繁殖性に及ぼす影響

(資料 22)

ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験

試験機関 ㈱三菱化学安全科学研究所 [GLP 対応]
報告書作成年 1999 年

検体の純度：■ %

試験動物 : SD 系ラット (Cj:CD(SD)IGS, SPF), 投与開始時 8 週齢

1 群雌雄各 30 匹 (F₀ 世代), 雌雄各 24 匹 (F₁ 世代)

投与期間 : P 世代; 投与開始から雄は交配前 14 週間及び剖検日までの計 17 週間, 雌は交配前 14 週間及び F₁ 動物の離乳までの計 21 週間.

F₁ 世代; 離乳時から雄は交配前 14 週間及び剖検日までの計 17 週間, 雌は交配前 14 週間及び F₂ 動物の離乳までの計 21 週間.

(1997 年 6 月 18 日~1998 年 4 月 13 日)

投与方法 : 検体を 400, 2000, 10000 ppm 含有した飼料を自由に摂食させた.

投与量設定根拠;

方法及び試験項目: 概要を次頁の表にまとめた.

一般状態及び死亡率; 全動物の全投与期間に一般状態及び生死を毎日観察した.

交配及び妊娠の確認; 交配は雌雄 1 対 1 で同居させ, 翌日膣栓あるいは精子の有無により交尾を確認した. 妊娠の確認は出産及び着床の有無により行った. なお, 交尾が成立した日を妊娠 0 日とした.

繁殖性に関する指標; 交配, 妊娠, 出産及び離乳までの観察に基づき, 次の指標を算出した.

交尾所要日数: 交配開始から交尾成立までに要した日数

交尾が成立するまでに逸した発情期の回数

$$\text{交尾率 (\%)} = \frac{\text{交尾動物数}}{\text{同居動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数}} \times 100$$

妊娠期間: 妊娠 0 日から分娩日までの期間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

$$\text{出産率(\%)} = \frac{\text{生存児出産雌数}}{\text{妊娠雌数}} \times 100$$

$$\text{出生率(\%)} = \frac{\text{出産生存児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

$$\text{出産時生存率(\%)} = \frac{\text{出産生存児数}}{\text{出産児数}} \times 100$$

$$\text{4日生存率(\%)} = \frac{\text{生後4日の生存児数}}{\text{出産生存児数}} \times 100$$

$$\text{離乳率(\%)} = \frac{\text{離乳時の生存児数}}{\text{児数調整後の児数}} \times 100$$

病理学的検査；全動物について剖検を実施した。以下に示す器官・組織を摘出し、対照群及び10000 ppm 投与群のP及びF₁世代の親動物について病理標本を作製し、鏡検した。また、400及び2000 ppm 投与群についてはP世代の雌、F₁世代の雌雄について、精巣、前立腺、子宮及び膣の組織検査も行った。

下垂体、精巣、精巣上体、精のう、前立腺、卵巣、子宮、膣、
肉眼的異常部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

世代	期間 (週間)	作業手順	試験項目
P	生育 (14週)		体重及び摂餌量を週1回測定.
	交配 (1週)	雌雄1対1で交配. 交尾は膣栓 あるいは膣垢標本中の精子 で確認 (妊娠0日)	交尾状況の観察. 交配終了後雄全例を剖検し, 対照群と10000 ppm投与群について病理組織学的検査.
	妊娠 (3週)		妊娠0, 7, 14及び20日に体重と摂餌量を測定.
	出産		出産状況の観察. 新生児数, 死産児数, 外表異常, 性別
	哺育 (3週)	出産後4日目に各同腹児数を 雄4匹, 雌4匹に調整 (不可能 な場合, 雌雄計8匹, 8匹に満 たない場合, そのまま飼育)	母動物は哺育0, 4, 7, 14及び21日に体重, 摂 餌量測定. 同腹生存児は生後0, 4, 7, 14及び 21日に体重測定. なお, 途中死亡の出生児は外表異常を検査し た後, 剖検.
F ₁	離乳	継代用の各群雌雄1匹ずつ24 腹から無作為に選抜	母動物全例を剖検し, 対照群と10000 ppm投 与群について病理組織学的検査. また, 継代 用以外の児動物を剖検.
	生育 (14週)		
	交配 (1週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	妊娠 (3週)		
	出産		(P世代に準ずる)
F ₂	哺育 (3週)	(P世代に準ずる)	(P世代に準ずる)
	離乳	(F ₁ 世代に準ずる)	(F ₁ 世代に準ずる)
			F ₁ 母動物全例を剖検し, 対照群と10000 ppm 投与群について病理組織学的検査. F ₂ 児動物 全例を剖検.

結果：概要を次頁の表に示す。

10000 ppm 投与群の P 及び F₁ 世代の雌雄ともに、体重増加抑制及び摂餌量減少が妊娠・哺育期間を含むほぼ全試験期間を通じて認められた。病理組織検査では、発育抑制に起因したと考えられる萎縮性の変化が、P 世代で子宮及び膣、F₁ 世代で子宮、膣及び精巣に認められた。なお、死亡動物が F₀ 世代および F₁ 世代でみられたが、分娩時にしばしば認められる播種性血管内凝固症候群 (DIC) あるいは自然発生性の変化などが原因で、被験物質に起因した死亡は認められなかった。繁殖能への影響として、10000 ppm 投与群の F₁ 世代において出産生存児数の減少が認められた。2000 ppm 投与群では、F₁ 世代の雄で離乳後の体重と摂餌量の推移に統計学的に有意な変化が認められた。しかし、雌では同様な変化はなく、離乳後、間もない発育の著しい時期のみにみられ、その後は対照群と同様の推移を示した。試験期間全般を通してみると、一過性の変化であると判断され、2000 ppm 投与群での変化は毒性学的に意義のないものと考えられる。その他、P 及び F₁ 世代の一般状態、交尾能、受胎能、分娩・哺育状態及び剖検では、検体投与に起因する変化は認められなかった。

10000 ppm 投与群の F₁ 及び F₂ 児動物ともに体重増加抑制が認められた。なお、F₂ 児動物の出産時の性比に 400 ppm 投与群で差がみられたが、10000 ppm 投与群で変化がないことから、検体投与と関連のない偶発的な変化と考えられる。その他、F₁ 及び F₂ 児動物とも生存率、一般状態及び剖検では検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上、2 世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、10000 ppm 投与群で親動物に体重増加抑制、摂餌量減少が認められた。また、児動物では低体重を示し生後の発育抑制が認められた。繁殖能に対しては 10000 ppm 投与群の F₁ 世代で出産児数の減少が認められた。400 及び 2000 ppm 投与群では親動物及び児動物とも検体投与による影響は認められなかった。

したがって、本剤のラットに対する繁殖試験の無毒性量は親動物及び児動物に対し 2000 ppm (P : 雄 94.37 mg/kg/日, 雌 103.59 mg/kg/日, F₁ : 雄 138.7 mg/kg/日, 雌 153.0 mg/kg/日) と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

試験結果：

世 代		親：P 児：F ₁				親：F ₁ 児：F ₂			
投与群 (ppm)		0(対照)	400	2000	10000	0(対照)	400	2000	10000
動物数	雄	30	30	30	30	24	24	24	24
	雌	30	30	30	30	24	24	24	24
一般状態									
死亡数	雄		1 ²⁾						
	雌	1 ¹⁾	1 ²⁾						1 ³⁾
体 重					増加抑制↓ (雌雄)			28-56日 ↓ (雄)	増加抑制↓ (雌雄)
摂餌量					減少↓ (雌雄)			35-42日 ↓ (雄)	減少↓ (雌雄)
摂餌効率									
検体摂取量 (mg/kg)	雄；交配前期間		18.77	94.37	478.5		24.74	138.7	714.3
	雌；交配前期間		21.06	103.59	514.7		27.84	153.0	765.8
	妊娠期間		21.50	104.77	545.3		21.17	102.79	541.3
	哺育期間		52.77	283.4	1332.9		61.11	259.7	1344.2
交尾所要日数		2.3	2.2	2.2	2.0	2.4	2.7	2.3	2.9
逸した発情回数		0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
交尾率(%)		100 (30/30)	100 (30/30)	96.7 (29/30)	96.7 (29/30)	95.8 (23/24)	95.8 (23/24)	100 (24/24)	95.8 (23/24)
受胎率(%)		96.7 (29/30)	96.7 (29/30)	100 (29/29)	86.2 (25/29)	100 (23/23)	87.0 (20/23)	95.8 (23/24)	87.0 (20/23)
妊娠期間(日)		22.3	22.3	22.2	22.0	22.3	22.3	22.1	22.0
着床数		14.2	13.7	13.5	14.0	14.3	14.1	13.9	13.4
分娩異常			1 ³⁾						
哺育異常(全児死)		1 ⁴⁾				1 ⁴⁾			
出生率(%)		85.87	88.82	81.68	85.88	88.80	87.65	91.90	84.83
出産率(%)		100 (28/28)	96.4 (27/28)	92.9 (26/28)	100 (25/25)	95.7 (22/23)	100 (20/20)	100 (23/23)	100 (19/19)
剖 検									
病理組織学的検査									
子宮・膣の萎縮					5/30 ⁶⁾				8/24 ⁶⁾
精巣の萎縮									4/24 ⁷⁾

空欄は異常なし

多重比較検定 ↑ ↓ : P<0.05, 介 ↓ : P<0.01

1) 腎芽腫による死亡 (哺育7日) 2) 慢性心不全による死亡 (投与開始後105日)

3) DIC(播種性血管内凝固症候群)による死亡 (妊娠23日) 4) 全出生児死亡 (哺育0及び1日)

5) 分娩完了せず

6) 内膜上皮, 内膜間質, 子宮腺及び平滑筋層の萎縮, 粘膜上皮層の菲薄化

7) び慢性の精細管萎縮

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

世 代		親 : P 児 : F ₁				親 : F ₁ 児 : F ₂			
投与群 (ppm)		0(対照)	400	2000	10000	0(対照)	400	2000	10000
母動物数		28	27	26	25	23 ¹¹⁾	20	23	19
児 動 物	出産児数	12.6	12.8	12.7	12.4	13.7	12.7	12.8	11.5
	出産生存児数	12.2	12.6	12.5	12.1	13.4	12.4	12.8	11.4↓
	性比 (雄/雌) ⁸⁾	0.92 (169/184)	0.93 (167/179)	1.01 (165/164)	1.04 (157/151)	1.12 (166/148)	0.72** (106/147)	0.86 (136/159)	1.00 (109/109)
	出生時生存率 (%)	95.40	98.71	98.12	98.09	93.68	97.72	99.67	99.04
	4日生存率 (%)	92.83	97.12	99.44	99.16	96.89	98.25	98.85	98.43
	離乳率 (%)	99.36	99.54	100.0	100.0	100.0	100.0	98.37	100.0
	生存児体重 (g)								
	0日 雄	7.0	6.9	6.9	6.4↓	6.7	6.7	6.6	6.5
	雌	6.6	6.5	6.6	6.0↓	6.3	6.4	6.3	6.2
	4日 雄	11.1	10.7	10.9	9.4↓	10.5	10.9	10.7	10.2
雌	10.4	10.4	10.5	8.9↓	9.8	10.5	10.4	9.7	
21日 雄	61.0	60.6	60.0	47.0↓	60.5	61.7	59.5	49.3↓	
雌	57.6	57.7	57.8	44.5↓	56.7	58.6	57.1	45.6↓	
外表異常/一般状態			不正咬合 口唇裂 無眼球症 (雄1例) ⁹⁾						自発運動低下 (雌2例) ¹⁰⁾
剖 検									

空欄は異常なし

多重比較検定 介↓: P<0.01, Fisherの直接確率法 **: P<0.01

8) 出産時の性比 9) 自然発生性の変化と判断した。

10) 同腹の他の児動物には異常はみられず、2例のみの発現であることから偶発的な変化と判断した。

11) 全出生児死亡が認められた母動物数を含む(哺育0日)。

(2) 催奇形性

(資料 23)

1) ラットにおける催奇形性試験

試験機関 株式会社 実医研[GLP対応]
報告書作成年 1997年

検体の純度：■■■■%

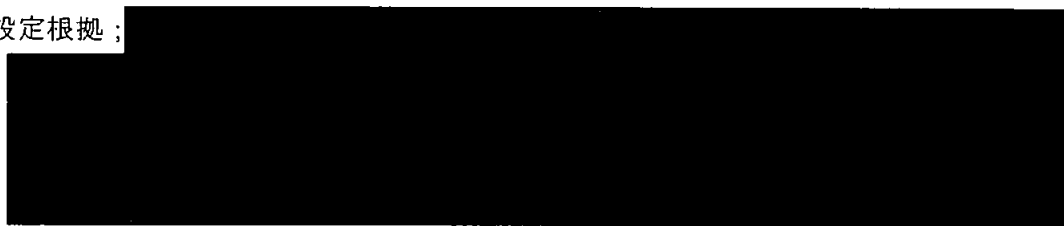
試験動物：SD系ラット、1群24匹（交尾動物）

妊娠0日において11～12週齢

試験期間：妊娠期間

方法：検体を0.2% Tween80 添加 0.2% ドラガントゴム水溶液に乳濁し、30、120 及び 500mg/kg の投与レベルで妊娠6日～15日の10日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には0.2% Tween80 添加 0.2% ドラガントゴム水溶液のみを同様に投与した。なお、交配は雌雄1対1で昼夜同居させることにより行い、膣垢中に精子が確認された日を妊娠0日とした。

投与量設定根拠：



試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、体重を妊娠0、3、6～20日（毎日）に測定し、投与開始日の体重をもとに体重増加量を算出した。また、摂餌量を妊娠3日及び6～20日に測定した。

妊娠20日に帝王切開し、剖検の後、黄体数及び着床数を調べ、着床前胚死亡率を算出した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常を検査した。各腹の半数の胎児について骨格標本作製し、骨格異常の有無及び骨化進行度を検査した。残り半数の胎児については、ブアン液で固定後内臓検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

結果：

投与群 (mg/kg/日)		0 (溶媒)	30	120	500	
妊娠動物数		21	20	22	20	
親動物	一般状態	—	—	—	—	
	死亡数	0	0	0	0	
	流産数	0	0	0	0	
	体重変化	—	—	一過性増加抑制	一過性増加減少	
	摂餌量	—	—	—	減少	
	黄体数	17.2	16.8	16.8	17.0	
	着床数	15.0	14.7	15.6	16.3	
物	着床前胚死亡率	13.7	11.4	6.2	4.0	
	剖検所見	—	—	—	—	
胎児	着床後胚死亡率	4.5	3.7	3.3	4.5	
	生存胎児数	14.2	14.1	15.1	15.6	
	性比 (雄/雌)	0.88	1.20	0.95	1.07	
	生存胎児体重 (g)	雄	3.82	3.95	3.82	3.78
		雌	3.68	3.75	3.60	3.57
	外表奇形 (%)	0	0	0	0	
	内臓奇形 (%)	0	0	0	0	
	内臓変異 (%)	胸腺 頸部残留	1.8	2.9	4.6	7.4
		腎盂拡張	0	0.7	1.1	1.4
		尿管拡張	0	0.7	1.1	0.7
		脊椎 左 臍帯動脈	0	0	0.6	1
		骨格奇形 (%)	0	0	0.5	0
	胸骨裂		0	0	0.5	0
	骨格変異 (%)	頸肋骨	11.4	6.4	18.4	28.6
		14 本肋骨 (%)	0.7	0.8	0.6	0.6
		第 13 肋骨短小	9.5	4.9	16.7	↑28.0
		腰椎 5 個	1.3	0.6	1.2	0
		腰椎 7 個	0	0	0.7	0
			1.6	0	0.5	3.2
骨化進行	—	—	—	—		

分散分析又は Kruskal-Wallis 検定後 Dunnet 検定 ↑、↓ : P<0.05

— : 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日本ゼオン株式会社にある。

親動物では 120mg/kg 投与群で一過性の体重増加抑制が、500mg/kg 投与群で一過性の体重減少及び摂餌量の減少が見られた。これらの変化はその後回復した。胎児では 500mg/kg 投与群で骨格変異の一つである 14 本肋骨の発生頻度が有意に増加し、検体投与に起因した変化と思われた。しかし、14 本肋骨は自然発生性に見られる骨格変異であり、またその発生頻度には実験間で著しい変動のあることが知られていることから、偶発的である可能性も考えられる。なお、外表、骨格及び内臓検査では検体投与に起因した異常は見られなかった。

以上の結果から、本検体を妊娠ラットに投与したときの母体に対する無毒性量は 30mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は 120mg/kg/日であると判断した。また、最高投与量の 500mg/kg/日においても胎児に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。

2) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 24)

試験機関 株式会社 実医研[G L P 対応]

報告書作成年 1997 年

検体の純度：■■■■%

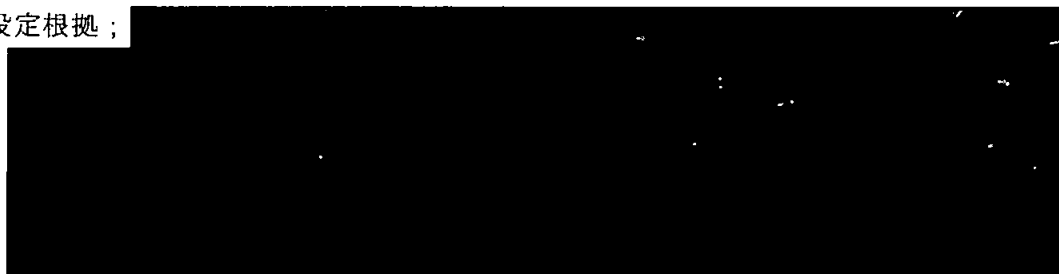
試験動物：New Zealand White 系妊娠ウサギ、1 群 15～17 匹（交尾確認動物）

妊娠 0 日（交尾確認の翌日）において 5～6 カ月齢（体重 2.61～3.68kg）

試験期間：妊娠期間 28 日間（1996 年 11 月 12 日～12 月 26 日）

方 法：検体を 0.2% Tween80 添加 0.2% トラカントコム水溶液に乳濁し、20、80、300mg/kg の投与で、妊娠 6 日～18 日の 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。対照群には 0.2% Tween80 添加 0.2% トラカントコム水溶液のみを投与した。

投与量設定根拠；



試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、4、6～19、21、23、25、27、及び 28 日に体重を、妊娠 5～28 日の毎日摂餌量を測定した。妊娠 28 日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡胚数を検査した。また、検査結果に基づき着床前胚死亡率、着床後胚死亡率及び総合胚死亡率を算出した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。全群の全生存胎児について内臓検査を行った後、骨格標本作製し、骨格異常の有無及び骨化進行度を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

結果：

投与群(mg/kg/日)		0(溶媒)	20	80	300
妊娠動物数		15	17	15	17
親動物	一般状態	—	—	—	摂水の減少
	死亡数	0	0	0	0
	流産数	0	0	0	1/17 例
	体重変化	—	—	—	減少(14~19日)
	摂餌量	—	—	—	減少(14~16日) ↓
	黄体数	7.5	8.2	8.0	8.0
	着床数	6.9	7.1	7.5	7.1
	生存胎児数	6.5	6.7	6.9	5.8
	着床前胚死亡率	9.4	13.7	6.4	12.8
	着床後胚死亡率	5.4	6.7	6.8	13.4
剖検所見		—	—	—	—
胎児	性比(雄/雌)	1.04	0.95	1.05	1.26
	生存胎児体重(g)	雄 41.8 雌 41.2	41.6 41.6	41.0 39.0	40.7 41.0
	外表奇形(%)	3.1	2.4	0	1.9
	半陰陽	0.8	0	0	0
	臍帯ヘルニア	2.2	0	0	0.8
	水頭症	0	1.2	0	1.1
	前肢拘縮	0	2.4	0	0
	内反足	0	1.2	0	0
	内臓異常(%)	0.8	2.4	0	1.2
	水頭症	0	2.4	0	1.2
	半陰陽	0.8	0	0	0
	内蔵変異				
	側脳室拡張	0	2.2	0	0
	骨格奇形(%)	0	0	0	1.0
	前頭骨 減形成	0	0	0	1.0
	骨格変異(%)	68.5	60.8	65.6	50.7
	13本肋骨	53.5	45.9	50.4	47.5
	胸骨核過剰	0	1.3	0	0
	腰椎の仙椎化	0	0	0.7	0
	胸骨核分離	0	2.2	1.9	0
	胸骨核非対称	0	0	0	0.8
	腰椎8個	63.7	51.9	57.5	45.5
	骨化進行	—	—	—	—

分散分析又は Kruskal-Wallis 検定後 Dunnet 検定 ↑↓ : P<0.01

— : 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日本ゼオン株式会社にある。

親動物の 300mg/kg 群において、妊娠 14～19 日に体重増加量の減少、妊娠 14～16 日に摂餌量及び授水の減少が見られ、1 例に流産が認められた。流産例については摂餌量の減少が著しく、衰弱に伴う続発的な流産と考えられた。なお、300mg/kg 群で着床後胚死亡率の増加傾向及び生存胎児数の減少傾向が見られたが、水様性下痢が発生し胚／胎児が全て死亡した 1 例を除くと対照群との差はないことから、偶発的なものと判断した。黄体数、着床数、着床前胚死亡率及び剖検では検体に起因した異常は見られなかった。

胎児検査では性比、生存胎児体重、外表異常、内臓異常、骨格異常及び骨格変異の発現率及び骨化進行度に検体に起因した異常は見られなかった。

以上の結果から、本検体をウサギに投与した時の親動物における無毒性量は 80mg/kg/日、胎児における無毒性量は 300mg/kg/日であった。また、最高投与量の 300mg/kg/日においても胎児に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。

1.3. 変異原性

(資料 25)

1) 細菌を用いる復帰変異原性

試験機関 三菱化学安全科学研究所[GLP 対応]
報告書作成年 1996 年

検体の純度：■■■■%

方 法：*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び *Escherichia coli* WP2*uvrA* を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素 (S9 mix) の非共存下及び共存下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検索した。
溶媒には DMSO を用いた。予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 µg/プレート の濃度で実施した結果、S9 mix の有無によらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。また、S9 mix 非共存下ではすべての菌株の 78.1 µg/プレート以上で、共存下では TA100, TA1535 の 313 µg/プレート以上、WP2*uvrA*, TA98, TA1537 の 1250 µg/プレート以上でそれぞれ抗菌性が認められた。この結果をもとに本試験では、各菌株の最高濃度を、S9 mix 非共存下の TA100, TA1535, TA1537 は 78.1 µg/プレート、WP2*uvrA*, TA98 は 156 µg/プレート、共存下の TA100, TA1535 は 625 µg/プレート、WP2*uvrA*, TA98 は 2500 µg/プレート、TA1537 は 1250 µg/プレートとし、以下公比 2 で 5 または 6 濃度を設定した。

結 果：結果を次表に示した。

2 回の本試験ともに、S9 mix の有無によらず、いずれの菌株においても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。また、S9 mix 非共存下では TA100, WP2*uvrA*, TA98, TA1537 の 78.1 µg/プレート以上、TA1535 の 39.1 µg/プレート以上で、共存下では TA100, TA1535 の 313 µg/プレート以上、WP2*uvrA*, TA98, TA1537 の 625 µg/プレート以上で抗菌性が見られた。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃、9-AA、ENNG 及び 2-AA ではすべての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

結果：

一回目試験結果(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9Mix の有無	復帰変異数 (コロニー数/プレート)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		—	109	12	18	25	8
検体	2.44	—	128	9	23	23	6
	4.88	—	113	11	18	23	5
	9.77	—	132	12	19	23	7
	19.5	—	136	9	16	25	6
	39.1	—	120	9	18	25	6
	78.1	—	0*	0*	18*	13*	0*
	156	—			18*	14*	
対照 (DMSO)		+	133	9	27	32	12
検体	9.77	+	133	10			
	19.5	+	123	9			
	39.1	+	142	10	23	32	10
	78.1	+	121	10	28	31	10
	156	+	121	9	21	32	9
	313	+	99*	10	21	24	10
	625	+	88*	0*	20*	15*	0*
	1250	+			20*	19*	0*
	2500	+			17*	16*	
陽性対照	AF-2	0.01	—	640			
		0.1	—			553	
	NaN3	0.5	—		456		
	ENNG	2	—			477	
	9-AA	80	—				357
	2-AA	1	+	933			
		2	+		287		
		10	+			1598	
		0.5	+				301
	2	+					127

*：抗菌性あり

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN3：アジ化ナトリウム

ENNG：N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA：9-アミノアクリジン

2-AA：2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

二回目試験結果(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9Mix の有無	復帰変異数 (コロニー数/プレート)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)		-	118	16	33	18	10
検体	2.44	-	116	9	39	21	9
	4.88	-	112	13	34	20	10
	9.77	-	117	8	38	21	14
	19.5	-	107	9	35	24	14
	39.1	-	101	8	34	24	10
	78.1	-	0*	0*	31*	13*	0*
	156	-			18*	13*	
対照(DMSO)		+	135	13	45	21	12
検体	9.77	+	112	9			
	19.5	+	117	10			
	39.1	+	115	11	39	23	15
	78.1	+	111	10	43	23	16
	156	+	110	11	41	23	13
	313	+	89	6*	42	20	14
	625	+	88	0*	30*	21*	0*
	1250	+			25*	18*	0*
	2500	+			22*	19*	
陽性対照	AF-2	0.01	-	690			
		0.1	-			674	
	NaN3	0.5	-		429		
	ENNG	2	-			558	
	9-AA	80	-				350
対照	2-AA	1	+	932			
		2	+		300		
		10	+			1537	
		0.5	+				322
		2	+				

* : 抗菌性あり

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN3 : ナトリウム

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

2) 染色体異常誘発性

(資料 26)

チャイニーズハムスター肺由来細胞株 CHL/IU を用いた in vitro 哺乳動物細胞遺伝学的試験
試験機関 三菱化学安全科学研究所[G L P 対応]
報告書作成年 1996 年

検体の純度 : %

方 法 : チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 CHL/IU を用い、代謝活性化法及び非代謝活性化法によって染色体異常誘発性を検討した。溶媒としてアセトンを用いた。細胞増殖抑制試験の結果、50%細胞増殖抑制濃度は非代謝活性化法の 24 及び 48 時間処理で 64 及び 54 μ g/ml、代謝活性化法の S9Mix 共存下及び非共存下で 4776 及び 81 μ g/ml であった。この結果より、非代謝活性化法及び代謝活性化法の S9Mix 非共存下では 80, 40, 20, 10 μ g/ml の 4 濃度、S9Mix 共存下では 5000, 2500, 1250 μ g/ml の 3 濃度で染色体異常試験を行った。

本試験では、各濃度について 2 枚のシャーレを用い、1 枚のシャーレにつき 100 個の分裂中期像を観察した。染色体の異常をギャップ、染色分体型切断、染色分体型交換、染色体型切断、染色体型交換、断片化及び数的異常（核内倍加細胞を含む倍数体細胞）に分類した。

構造異常を 1 個以上持つ細胞を染色体異常細胞とし、ギャップのみの異常を持つ細胞を除いた場合（-gap）と含めた場合（+gap）で集計し、+gap の構造異常細胞及び数的異常細胞の出現頻度がいずれも 5%未満を陰性、いずれかが 5%以上 10%未満を疑陽性、10%以上を陽性と判定した。

なお、陽性対照としてマイトマイシン C (MMC)、ベンゾ[a]ピレン (BP) を用いた。

結 果 : 非代謝活性化法の 48 時間処理の 80 μ g/ml の標本で 50 個以上の分裂中期細胞が得られなかったため、この処理群は観察対象から除外した。いずれの処理条件においても、検体による染色体構造異常及び数的異常細胞の出現頻度は 5%未満であった。

一方、陽性対照として用いた MMC 及び BP では染色体異常構造細胞の著しい増加が観察された。

以上の結果より、本検体のチャイニーズハムスター肺由来細胞株 CHL/IU に対する染色体異常誘発性は陰性と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

結果：

(非代謝活性化法による)

薬物	処理時間 (h)	処理濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	倍数体の出現頻度 (%)	染色体構造異常細胞の出現頻度 (%)							
				ギャップ g	染色分体型		染色体型		断片化	合計	
					切断	交換	切断	交換		-g	+g
無処理	24	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	48	0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5
溶媒 (アセトン)	24	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	48	0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
検体	24	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5
		20	0.0	0.0	0.5	0.0	1.0	0.0	0.0	1.5	1.5
		40	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5
		80	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5
	48	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5
		20	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		40	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0
		80	細胞毒性								
陽性対照 (MMC)	24	0.03	0.0	0.0	11.5	8.0	0.0	0.0	0.0	18.5	18.5
	48	0.03	1.0	1.5	11.5	17.0	0.5	0.5	0.0	28.0	28.5

1 検体あたり 2 枚のシャーレを作成し、シャーレ 1 枚につき分裂中期細胞 100 個を観察した

MMC：マイトマイシンC

判定基準：陰性； +g の構造異常細胞及び数値的異常細胞の出現頻度がいずれも 5% 未満

擬陽性； +g の構造異常細胞及び数値的異常細胞の出現頻度のいずれかが 5% 以上 10% 未満

陽性； +g の構造異常細胞及び数値的異常細胞の出現頻度のいずれかが 10% 以上

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

(代謝活性化法による)

薬物	S9mix の有無	処理濃度 (μ g/mL)	倍数体の 出現頻度 (%)	染色体構造異常細胞の出現頻度 (%)							合計	
				ギャップ g	染色体分体型		染色体型		断片化	-g	+g	
					切断	交換	切断	交換				
溶媒 (アセトン)	-	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	
	+	0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	1.0	0.5	
検体	-	10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	
		20	0.0		0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	
		40	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5	
		80	0.5	0.0	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	
	+	1250*	0.0	0.0	1.0	0.0	1.0	0.0	0.0	2.0	0.5	
		2500*	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		5000*	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	1.0	1.0	
陽性対照 (BP)	-	20	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
	20	0.0	0.0	9.5	59.0	0.0	0.0	0.0	60.0	60.0		

1 検体あたり 2 枚のシャーレを作成し、シャーレ 1 枚につき分裂中期細胞 100 個を観察した。

BP : ベンゾ [a] ピレン

判定基準: 陰性; +g の構造異常細胞及び数的異常細胞の出現頻度がいずれも 5% 未満

擬陽性; +g の構造異常細胞及び数的異常細胞の出現頻度のいずれかが 5% 以上 10% 未満

陽性; +g の構造異常細胞及び数的異常細胞の出現頻度のいずれかが 10% 以上

S9 の用量 (5%)、被検物質処理時間 (6 h)、被検物質処理後の細胞回復時間 (18) 時間

* : 処理開始時に油滴状物質の分離が認められた。

3) DNA損傷性

(資料 27)

細菌を用いたDNA修復試験

試験機関 三菱化学安全科学研究所〔G L P対応〕

報告書作成年 1996年

検体の純度：■■■■%

方 法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組み換え修復機能保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、代謝活性化及び非代謝活性化法によってDNAの損傷性を検定した。検体の最高濃度を検体原液の濃度である 848mg/ml とし、以下、DMSO で希釈して、265～16960 μ g/ディスクの範囲で7濃度 (公比2) を設定した。

H17株にわずかな生育阻止帯を示す濃度においてH17株及びM45株の生育阻止帯の直径の差が5mm以上の場合を陽性と判断した。

なお、陽性対照として Mitomycin C (MC) 及び 2-Aminoanthracene (2-AA) を、陰性対照として Kanamycin (KM) を用いた。

結果：各濃度につき2回実施した結果の平均を次表に示す。

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	非代謝活性化法			代謝活性化法		
		阻止帯直径(mm)			阻止帯直径(mm)		
		M-45	H17	差	M-45	H-17	差
溶媒対照 (DMSO)		0	0	0	0	0	0
PDJ	265	0	0	0	0	0	0
	530	0	0	0	0	0	0
	1060	0	0	0	0	0	0
	2120	0	0	0	0	0	0
	4240	0	0	0	0	0	2
	8480	0	0	0	2.5	0	2.5
	16960	0	0	0	3	2	1
陰性対照 KM	2	15.0	15.0	0	11.0	9.5	1.5
陽性対照 MMC	0.02	22.0	4.0	18.0			
2-AA	10				8.0	0	8.0

代謝活性化法による場合の M45 株で $4240\mu\text{g}/\text{ディスク}$ 以上に生育阻止帯が認められたが、両菌株間の生育阻止帯の差は 5mm 未満であり、陰性であった。

陰性対照 (KM) では、両菌株に生育阻止帯が生じたが、長さに差は見られなかった。

陽性対照 (MMC、2-AA) では、生育阻止帯の差は、5mm 以上であった。溶媒対照 (DMSO) では、両菌株に生育阻止帯は認められなかった。

以上の結果から、細菌を用いる DNA 修復試験において PDJ の DNA 損傷性は陰性と結論した。

4) ラットを用いた小核試験

(資料 28)

試験機関 (株)三菱化学安全科学研究所〔GLP 対応〕
報告書作成年 2002 年

検体純度：■ %

供試動物：SD 系〔Crj:CD(SD)IGS,SPF〕ラット (7 週齢、体重 259~280g)
一群 雄 5 匹

試験方法：被験物質に媒体 (1%Tween80・トラガントゴム) を加え、ボルテックスミキサーおよび超音波処理により投与液を調製した。500、1000、2000mg/kg の用量で被験物質を 24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。媒体のみを投与する陰性対照群および小核を誘発する CP (シクロホスファミド) 10mg/kg を投与する陽性対照群を設定し、CP は単回腹腔内投与した。

体重を、各投与日の投与開始直前および標本作製前に測定した。

陰性対照群、被験物質群については 1 回目投与 1 時間後、2 回目投与前、投与後および標本作製前に一般状態を観察した。陽性対照群については、投与 1 時間後および標本作製前に一般状態を観察した。

標本の作製は、ラットを安楽死させた後、大腿骨を摘出し骨髓細胞を洗出し、得た細胞浮遊液を処理して骨髓細胞懸濁液として保存した。観察骨髓細胞懸濁液をアクリジン・オレンジ染色し、骨髓細胞をスライドガラスに伸展した。

個体毎に全赤血球 (多染性赤血球および正染性赤血球) 1000 個に対する多染性赤血球の割合を調べると共に、多染性赤血球 2000 個中の小核をもつ細胞数を数えた (2 領域、合計 2000 個)。

用量設定根拠：■

結果：骨髓標本の観察結果を表に示した。

2000mg/kg 群で 1 回目投与後から体重の減少が見られた。

2000mg/kg 群において、2 回目投与前と標本作製前に尿量の増加と飲水量の増加が見られた。

小核をもつ多染性赤血球 (MNPCE) の出現頻度は、いずれの被験物質群でも明らかな増加、減少は見られず、陰性対照群と比較して有意な差はなかった。

多染性赤血球 (PCE) の出現頻度は、陰性対照群と比較して 2000mg/kg 群で有意な増加 ($p < 0.05$) が見られ、陽性対照群では有意な減少が見られた ($p < 0.05$)。

陰性対照群の MNPCE 出現頻度が、当研究所における背景データの変動範囲内の値 [2000 年 4 月 19 日~2001 年 11 月 13 日、 $0.21 \pm 0.31\%$ (平均 $\pm 3SD$, $n=93$)] であり、陽性対照群の MNPCE 出現頻度が著しく増加した。したがって本試験は適切に行われたと考えられる。

観察結果

薬物	投与量(mg/kg) ×回数	性	観察 動物数	MNPCE (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) % (平均値±SD)
陰性対照 (1%Tween80 -トランソコム)	0×2	雄	5	0.09±0.07	52.0±2.6
被験物質 (PDJ)	500×2	雄	5	0.10±0.04	54.0±3.2
	1000×2	雄	5	0.12±0.06	52.8±2.6
	2000×2	雄	5	0.10±0.05	56.8±2.1 #
陽性対照 (CP)	10×1	雄	5	1.73±0.14 *	43.0±6.6 #

MNPCE 出現頻度 … Kastenbaum & Bowman 法、* p<0.01

PCE 出現頻度 … Student の t-検定、# p<0.05

PCE : 多染性赤血球数、 NCE : 正染性赤血球数、

MNPCE : 小核をもつ多染性赤血球、 CP : シクロホスファミド

結 論 : 以上の結果、本試験条件下における PDJ の小核誘発性は陰性と結論した。

1.4. 生体の機能に及ぼす影響

薬理試験

(資料 29)

試験機関 (株)三菱化学安全科学研究所

報告書作成年 1996年

検体の純度 : ████████ %

1) 中枢神経系に対する作用

①マウスにおける一般症状

供試動物 : ICR系マウス、4週齢、体重 雄 22.7~26.8g、1群雄 3匹

方 法 : 検体を1% Tween 80 添加1% トラガントゴムに乳化させ、溶媒対照(0)、500、1500および5000mg/kgを経口投与し、Irwinの多次元観察法に準じて観察した。

結 果 : 500mg/kg 投与群では一般症状に異常は認められなかった。1500mg/kg以上の投与群で反応性および自発運動の低下、腹遣いおよび眼瞼裂の狭小が、5000mg/kg 投与群ではこれらに加えて受動性の増大、宙返り反射、四肢緊張、握力の低下、立毛、体温低下が見られた。

②マウスのヘキソバルビタール睡眠時間に対する作用

供試動物 : ICR系マウス、4週齢、体重 雄 23.9~29.6g、1群雄 8匹

方 法 : 検体を上記と同様にして乳化させ、0、500、1500、5000mg/kgを経口投与し、4時間後にヘキソバルビタール 80mg/kgを腹腔内に投与し、睡眠時間を測定した。

結 果 : 1500mg/kg 投与群までは、睡眠時間に対する影響は見られなかった。5000mg/kg 投与群では統計学的有意差はなかったが、睡眠時間延長傾向(対照群の1.41倍)が見られた。

投与量(mg/kg)	対照	500	1500	5000
ヘキソバルビタール				
睡眠時間 (min)	29.6	28.6	34.1	41.6
% of control		97	115	141

③マウスにおける痙攣誘発作用(電撃痙攣に対する作用)

供試動物 : ICR系マウス、4週齢、体重 雄 25.0~30.2g、1群雄 10匹

方 法 : 検体を上記と同様にして乳化させ、0、500、1500、5000mg/kgを経口投与し、4時間後に電撃痙攣装置を用いて、正常動物の痙攣誘発閾値よりやや低い電気刺激を角膜に与え、強直性屈曲、強直性伸展および間代性の各痙攣および昏睡の有無を観察した。陽性対照群には電気刺激の15分前にペンチレンテトラゾール 40mg/kgを皮下投与した。

結 果 : 5000mg/kg まで痙攣誘発作用は見られなかった。一方、陽性対照群では強直性屈曲、強直性伸展および間代性の各痙攣および昏睡が発現し、有意な痙攣誘発作用が見られた。

④ラットにおける正常体温に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、4週齢、体重 雄 96～111g、1群雄6匹

方 法：検体を上記と同様にして乳化させ、0、500、1500、5000mg/kg を経口投与した。
投与前、投与後0.5、1、2、4および6時間にデジタル電子体温計を用いて直腸温を測定した。

結 果：1500mg/kg までの投与群では体温に対する影響は見られなかった。5000mg/kg 投与群では投与後0.5 および1時間に有意な体温低下が見られ、6時間でも低下傾向が見られた。このためこの投与群のみ投与後24時間にも体温を測定したが、ほぼ回復していた。

投与量 (mg/kg)	対照	500	1500	5000
体温 (°C) 投与前	38.4	38.4	38.3	38.3
0.5時間	38.3	38.2	38.3	↓ 37.7
1時間	38.3	38.1	38.1	↓ 37.5
2時間	38.2	38.0	38.1	37.7
4時間	37.9	37.9	37.9	37.7
6時間	37.9	38.0	37.8	37.5
24時間	38.2	38.1	38.2	37.8

Dunnet の多重比較検定

↓ : P < 0.05

2) 循環器系に対する作用

①ラットにおける血圧および心拍数に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、7週齢、体重 雄 268～329g、1群雄6匹

方 法：検体を上記と同様にして乳化させ、0、500、1500、5000mg/kg を経口投与し、投与前、投与後1、2、4および6時間にラット尾動脈圧測定装置を用い無麻酔下で収縮期血圧および心拍数を測定した。

結 果：いずれの投与群においても、収縮期血圧および心拍数に対する作用は認められなかった。

3) 自律神経に対する作用

①ラットにおける瞳孔径に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、5週齢、体重 雄 164～186g、1群雄6匹

方 法：検体を0、500、1500、5000mg/kg の用量で経口投与し、投与前、投与後0.5、1、2、4および6時間に実体顕微鏡を用いて瞳孔径を測定した。

結 果：いずれの投与群においても瞳孔径に対する作用は見られなかった。

4) 消化器系に対する作用

①マウスの腸管輸送能に対する作用

供試動物：ICR系マウス、4週齢、体重 雄 20.1~25.7g、1群雄8匹

方法：検体を0、500、1500、5000mg/kgの用量で一晩絶食させたマウスに経口投与し、投与後4時間に5%アラビアゴム溶液に懸濁させた5%炭末液を一匹あたり0.2ml経口投与した。30分後に頸椎脱臼により致死させ、十二指腸起始部から炭末到達先端までの距離を測り、全小腸の長さに対する炭末移動距離の比率を測定した。

結果：1500mg/kg以下の投与群では腸管輸送能に対する作用は見られなかった。

5000mg/kg投与群では有意な腸管輸送能の昂進が見られた。

投与量 (mg/kg)	対照	500	1500	5000
炭末移動距離比+	62.2	61.9	73.2	↑ 76.8
% of control		100	118	123

Dunnetの多重比較検定 ↑ : P < 0.05

+炭末移動距離比 = 小腸移動距離 / 全小腸の長さ

5) 骨格筋に対する作用

①マウスにおける懸垂動作試験

供試動物：ICR系マウス、4週齢、体重 雄 22.5~27.6g、1群雄8匹

方法：水平に張り渡した太さ1mmの針金に前肢をかけて懸垂させ、5秒以内に後肢を針金に懸けられるマウスを選び試験に供した。検体を0、500、1500、5000mg/kgの用量でマウスに経口投与し、投与後0.5、1、2、4および6時間に判定を行い、10秒以内に後肢を針金に懸けられない場合を筋弛緩反応陽性とした。

結果：1500mg/kg以下の投与群では筋弛緩作用は見られなかった。5000mg/kg投与群では有意差はなかったが、数例に筋弛緩反応が見られた。

投与量 (mg/kg)	対照	500	1500	5000
筋弛緩例数 0.5時間	0/8	0/8	0/8	0/8
1時間	0/8	0/8	0/8	1/8
2時間	0/8	0/8	0/8	2/8
4時間	0/8	0/8	0/8	2/8
6時間	0/8	0/8	0/8	0/8

6) 血液に対する作用

①ラットにおける血液凝固に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、5週齢、体重 雄 159～199g、1群雄6匹

方 法：検体を0、500、1500、5000mg/kgの用量で経口投与し、投与後4時間にペントバルビタール麻酔下で後大静脈から採血し、血液凝固自動測定装置を用いてプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果：いずれの投与群においてもプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間に対する影響は見られなかった。

②ラットにおける溶血作用

供試動物：Wistar系ラット、5週齢、体重 雄 159～199g、1群雄6匹

方 法：検体を0、500、1500、5000mg/kgの用量で経口投与し、投与後4時間にペントバルビタール麻酔下で後大静脈から採血しヘパリン加血漿を得、分光光度計を用いて540nmでの吸光度を測定した。

結 果：いずれの投与群においてもラット血液に対する溶血作用は見られなかった。

考察及び結論：本試験において、中枢神経系、睡眠時間、骨格筋、消化器系及び体温への作用が見られた。すなわち、いずれも軽度な作用ではあるが、マウスの一般状態観察における種々の全身性症状の発現に加えて、ヘキソバルビタール睡眠時間延長傾向、筋弛緩作用と消化管の炭末輸送の昂進及びラットでの体温低下作用が観察された。一方、マウスでの電撃痙攣誘発、ラットにおける血圧、心拍数、瞳孔径、血液凝固及び溶血性に対する作用は見られず、循環器系、自律神経系及び血液に対する作用はないものと判断した。

マウスの一般症状観察では、1500mg/kg投与で反応性及び自発運動の低下、腹遣い及び眼瞼裂の狭小が、5000mg/kgではこれらに加えて受動性の増大、宙返り反射、四肢緊張及び握力の低下、立毛、体温低下が見られ、ヘキソバルビタール睡眠時間延長及びラットでの体温低下作用も見られた。なおマウスでの電撃痙攣誘発作用は見られなかった。これらのことから検体は中枢神経系の抑制作用を有するものと思われる。

マウスの懸垂動作試験において5000mg/kg投与で筋弛緩が見られ、一般状態観察でも握力及び四肢緊張度の低下が見られていることから、検体は筋弛緩作用を有すると考えられるが、上記のように中枢抑制作用も有していることから、この筋弛緩は末梢性のものではなく中枢抑制による骨格筋緊張の低下が原因と考えられる。

マウスの腸管輸送能試験において5000mg/kg投与で昂進が見られたが、自律神経系への影響を反映する瞳孔径への作用が見られていないことから、この昂進は腸管に対する直接的な作用である可能性が高い。

なお、上記に見られた作用はいずれも軽度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本ゼオン株式会社にある。

以上の結果から、検体の投与による生体機能に及ぼす影響として、1500mg/kg では中枢神経抑制作用が、5000mg/kg ではこれに加えて睡眠延長傾向、筋弛緩、体温低下及び腸管運動の昂進作用がいずれも軽度に見られた。なお、循環器系、自律神経系及び血液に対する作用は見られなかった。

別紙：PDJ 一般薬理 総括表

別紙 PDJ 一般薬理 総括表

試験の種類		供試生物	一群当たり 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	概要
中枢神経	一般状態 Irwin	マウス	♂3	経口	0, 500, 1500, 5000,	500	1500	>1500で反応性/自発運動低下、腹這い/眼瞼裂狭小、5000で受動性増大、宙返り反射/四肢緊張/握力低下、立毛、体温低下
	睡眠時間	マウス	♂8	経口	0, 500, 1500, 5000,	1500	5000	5000で延長
	痙攣誘発作用	マウス	♂10	経口	0, 500, 1500, 5000,	5000	—	作用なし
	正常体温	ラット	♂6	経口	0, 500, 1500, 5000,	1500	5000	5000で低下
循環器	血圧・心拍数	マウス	♂6	経口	0, 500, 1500, 5000,	5000	—	作用なし
消化器	腸管輸送	マウス	♂8	経口	0, 500, 1500, 5000,	1500	5000	5000で鼻進
自律神経	瞳孔径	ラット	♂6	経口	0, 500, 1500, 5000,	5000	—	作用なし
骨格筋	懸垂動作	マウス	♂8	経口	0, 500, 1500, 5000,	1500	5000	5000で数例に筋弛緩
血液	血液凝固 PT,APTT	ラット	♂6	経口	0, 500, 1500, 5000,	5000	—	作用なし
	溶血	ラット	♂6	経口	0, 500, 1500, 5000,	5000	—	作用なし