

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験 (資料A-13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

試験動物: F344 系ラット、1 群雌雄各 90 匹 (主群雌雄各 50 匹、衛星群 (中間屠殺 13、26、52、78 週) 雌雄各 10 匹)、開始時 6 週齢、投与開始時体重範囲 (雄 92~114 g、雌 75~94 g)
投与後 13、26、52 及び 78 週に各群雌雄 10 匹を中間計画殺に供し、終了時に最終計画殺して諸検査を実施した。また、病理組織学的検査は途中死亡・切迫殺動物、投与後 52 週及び終了時の計画殺動物について行った。

試験期間: 104 週間 (1992 年 4 月 3 日~1994 年 4 月 6 日)

投与方法: 検体を 0、20、100、6000 及び 12000 ppm の濃度になるよう粉末飼料に混入し、104 週にわたって自由摂取させた。検体飼料調製は 2 週間に 1 回行った。

[投与量設定根拠]

投与量は、で実施した 13 週間亜急性毒性試験 (資料 A-10) の結果を参考に設定した。すなわち、検体 50、500、5000、20000 及び 50000 ppm を投与した結果、雌雄とも 20000 ppm 以上の投与群では、体重増加抑制等の影響が認められるものの生存率低下の原因となる毒性はみられなかったことから、ガイドラインに規定されるほぼ上限に相当する 12000 ppm を最高用量とした。また、検体の影響とみられる病変として、甲状腺濾胞細胞過形成、膵臓腺房細胞好酸性化、肝細胞肥大等の他、慢性腎症に関連する腎臓系球体病変が観察され、投与休止後も改善が認められないことから、投与の進展に伴い増悪する可能性が考えられた。以上のことから、最高用量を 12000 ppm とし、この最高用量で腫瘍性病変の発生した際の相関性を検索する目的から、1/2 量の 6000 ppm を設定した。次いで、検体によると考えられる腎臓系球体病変の進展度合を考慮し、かつ、無影響量を把握することを目途として 100 及び 20 ppm を設定した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率: 一般状態及び生死を 1 日 2 回観察した。

一般状態では、投与 79 週から 104 週において、雄の 12000 ppm 群及び雌の 6000 ppm 以上の群で瘦削、立毛、耳介等の蒼白、自発運動低下及び呼吸促進の発生頻度が対照群に比較して高かった。その他、各投与群の雌雄で認められた一般状態の変化はラットの長期飼育で一般的に認められるもので、その発生頻度に用量相関性は無かった。

各群の累積死亡率を次表に示す。

性別	投与量	雄					雌				
		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
累積 死亡 数	0-13 週(90)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	13-26 週(80)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	26-52 週(70)	0	1	1	2	2	0	2	0	0	
	52-78 週(60)	1	3	3	5	3	3	3	0	4	
	78-104 週(50)	8	11	11	12	25	9	11	8	15	
累積死亡率(%)		15.7	24.2	22.3	25.5	49.2	20.5	20.8	16.0	30.5	29.8

死亡率の算出は生命表解析法に基づいて行った。

カッコ内の数値は各投与時期で死亡率算出に用いた動物数。

死亡率は、投与終了時において雄 12000 ppm 群で高値、雌 6000 ppm 以上の群で高い傾向を示した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

体重変化；投与開始から 26 週間は毎週 1 回、それ以降は 2 週間に 1 回全生存動物の体重を測定した。

雄の 12000 ppm 群では投与 34 週以降、6000 ppm 群では投与 70 週以降各々投与終了時まで対照群と比較して減少した。減少率は各々 21.6 及び 13.1% であった。雌の 12000 ppm 群では投与 3 週以降、6000 ppm 群では投与 7 週以降、投与終了時前の対照群と比較して減少した。減少率は各々 33.5 及び 24.2% であった。

摂餌量及び飼料効率；摂餌量は投与期間中毎週 1 回測定した。飼料効率は、体重及び摂餌量から投与後 52 週まで算出した。

摂餌量は雄の 6000 ppm 群で投与 82 週以降、12000 ppm 群で投与 81 から 91 週の間、雌では 6000 ppm 以上の群で投与 3 週以降減少が認められた。飼料効率は雄 12000 ppm 及び雌の 6000 ppm 以上の群で低い値が多く週の週で認められた。

検体摂取量；検体投与濃度、摂餌量及び体重から算出した。

各投与群の全試験期間における 1 日当たりの平均検体摂取量を以下に示す。

投与群(ppm)		20	100	6000	12000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.9	4.7	295	627
	雌	1.2	5.9	372	777

血液学的検査；投与開始後 13, 26, 52, 78 週は各群雌雄 8~10 匹について、投与終了時は全生存動物について、約 16 時間絶食後に腹部大動脈から採血し、抗凝固剤 EDTA-3K を加えた血液を用いて下記項目について測定した。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、赤血球恒数 (MCV、MCH、MCHC)、血小板数、白血球数、白血球百分率、網赤血球数

対照群と比べて統計学的な有意差の見られた項目及びその対照群に対する割合を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

性別	雄																			
	20					100					6000					12000				
検査時期 (週)	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
ヘマトクリット値		98 ▼									96 ▽	95 ▽	96 ▼		86 ▽	93 ▽	93 ▽	85 ▽	82 ▽	78 ▽
ヘモグロビン量		97 ▼									95 ▽	94 ▽	95 ▽		88 ▽	92 ▽	94 ▽	92 ▽	93 ▼	86 ▽
赤血球数															88 ▼	97 ▼		90 ▽	85 ▼	81 ▽
MCV											96 ▽	96 ▽	98 ▽	95 ▽		95 ▽	95 ▽	95 ▽	96 ▼	
MCH							99 ▼				94 ▽	96 ▽	97 ▼			94 ▽	96 ▽		111 ▲	
MCHC						98 ▽	98 ▽											108 △	115 △	112 △
血小板数	94 ▼		92 ▼								108 △	111 △	115 △	129 △		120 △	128 △	143 △	145 △	125 △
白血球数												83 ▼						120 ▲		
リンパ球比率	95 ▽						88 ▽	88 ▼	86 ▼		92 ▽	91 ▽	92 ▽	86 ▼				90 ▽		
好中球数	117 △						121 △	121 ▲			125 △	125 △	115 ▲	127 △				121 △	119 ▲	
網状赤血球数				78 ▽		59 ▼	196 ▲								248 △	153 △			196 ▲	

性別	雌																			
	20					100					6000					12000				
検査時期 (週)	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
ヘマトクリット値						103 △						95 ▽			95 ▼	94 ▽	93 ▽			87 ▼
ヘモグロビン量						103 △						95 ▽	96 ▽		95 ▼	95 ▽	93 ▽	92 ▽		86 ▽
赤血球数						102 ▲														90 ▽
MCV											98 ▼	97 ▽			95 ▽	96 ▽	96 ▽	95 ▽	86 ▽	92 ▽
MCH											97 ▽	97 ▽	95 ▼		95 ▽	96 ▽	95 ▽	90 ▽	98 ▼	97 ▽
MCHC						98 ▽					99 ▼		97 ▼					94 ▽	115 △	105 △
血小板数													113 △	121 △	123 △	115 △	116 △	125 △	149 △	131 △
白血球数		156 △					76 ▽					140 ▲					140 ▲			
リンパ球比率							107 △	88 ▽					85 ▽					88 ▽		82 ▽
好中球数							78 ▽	121 ▲					129 △					125 △		119 ▲
網状赤血球数	67 ▼														86 ▼				40 ▽	242 ▲

▲▼: p ≤ 0.05 △▽: p ≤ 0.01 (Dunnettの多重比較検定)

血液学検査の結果、雌雄とも 6000 及びあるいは 12000 ppm 投与群で試験期間を通してヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数、MCV 及び MCH の減少、血小板数及び網状赤血球の増加が認められたことから、貧血が示唆され、その程度は増強される傾向にあった。また、雌雄とも 100 または 6000 ppm 以上の群で好中球比率の高値、リンパ球比率が低値を示した週が認められた。網状赤血球数の増加が雄では 6000 ppm 以上の群、雌では 12000 ppm 群で認められた。その他の統計学的に有意差の見られた変化は、きわめて軽微か、用量相関性のない変化で、毒性的意義の乏しい変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

血液生化学的検査;血液学的検査時と同様に、投与開始後 13, 26, 52, 78 週は各群雌雄 8~10 匹について、投与終了時は全生存動物について採取した血液の血清を用いて、以下の検査を行った。なお、投与終了時の検査は各群 10 匹について実施した。

グルコース、総コレステロール、中性脂肪、リン脂質、遊離脂肪酸、尿素窒素、総ビリルビン、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、5'-ヌクレオチダーゼ、GOT、GPT、ALP、 γ -GTP、LAP

次表に、対照群と比べて統計学的な有意差の見られた項目及びその対照群に対する割合を示す。

性別	雄																			
	20					100					6000					12000				
投与量 (ppm)	20					100					6000					12000				
検査時期 (週)	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
総蛋白						103 ▲					112 △	110 △	103 ▼			116 △	112 △	105 △		
アルブミン											117 △	111 ▲				122 △	115 △			90 ▼
グルコース	84 ▽					87 ▼					86 ▼						92 ▼	93 ▼		
総ビリルビン											128 △	126 △	134 △			160 △	148 △	176 △	127 △	
尿素窒素												113 △		137 △	142 △		112 ▲	119 ▲	184 ▲	230 ▲
クレアチニン		83 ▽					85 ▽	89 ▼				71 ▽	89 ▼				82 ▽			
総ビリルビン																124 △	114 △	112 △	131 △	
LDH			179 ▲									24 ▽					19 ▽	39 ▼		
GOT	150 ▲											48 ▽				72 ▽	41 ▽	33 ▽	59 ▼	
GPT						72 ▼					60 ▽						47 ▽	52 ▽		
ALP	95 ▼					95 ▼			85 ▼		78 ▽	77 ▽	74 ▽	82 ▼		74 ▽	78 ▽	70 ▽	73 ▽	
γ -GTP											123 △		197 △	514 △	1078 △	158 △	177 △	194 △	514 △	686 △
LAP											92 ▽	95 ▽				95 ▼		106 ▲	106 ▲	
5'-ヌクレオチダーゼ		93 ▼					93 ▽					81 ▽					91 ▽			
ナトリウム	101 ▲	101 ▲				101 ▲					101 △								99 ▼	
カリウム							91 ▼													
塩素		103 △				101 ▲	103 △	102 ▲	102 △											98 ▼
カルシウム	97 ▽										102 ▲	104 ▲	104 ▲			104 △	106 △	105 △		
無機リン																				131 △

▲▼: $p \leq 0.05$ △▽: $p \leq 0.01$ (Dunnnettの多重比較検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグマイ化学工業株式会社にある。

性別	雌																			
	20					100					6000					12000				
検査時期(週)	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104	13	26	52	78	104
総蛋白						97 ▽					108 △	111 △	109 △	106 ▲		118 △	121 △	113 △	109 △	107 △
アルブミン						96 ▽					111 △	113 △	113 △	111 △		126 △	126 △	118 △	110 ▲	
グルコース			108 ▲				114 △					110 △					111 △			
総コレステロール	86 ▲					88 ▲					122 △	138 △	136 △	160 △	146 △	167 △	188 △	191 △	204 △	194 △
尿素窒素						89 ▼									126 ▲	123 △		125 △	142 △	177 △
クレアチニン	108 ▲												122 △			110 △		113 △		
総ビリルビン	84 ▼		94 ▼								116 △	109 △		142 △	108 ▲	147 △	116 △	119 △	175 △	131 △
LDH																				
GOT											86 ▼	77 ▼	38 ▽	72 ▼		72 ▽	66 ▽	28 ▽	63 ▽	61 ▼
GPT													36 ▽	52 ▽		64 ▽	60 ▽	25 ▽	55 ▽	
ALP	111 ▲		81 ▽				81 ▽				79 ▽	73 ▽	55 ▽	63 ▽	57 ▼	68 ▽	65 ▽	55 ▽	55 ▽	
γ-GTP											136 △					175 △	141 △	146 △	194 △	189 ▲
LAP			94 ▽				97 ▽				90 ▽		88 ▽			95 ▽			110 △	117 ▲
5-αリポ チラーゼ							85 ▽									127 △		124 △		
ナトリウム		99 ▽													99 ▼					
カリウム	96 ▼	92 ▼					90 ▽					91 ▼								
塩素			102 ▲				102 △				98 ▽					98 ▽	98 ▼			
カルシウム	97 ▽	97 ▽									103 △	103 △	103 △	103 △	104 △	105 △	106 △	107 △	106 △	108 △
無機リン											125 ▲	107 △				122 ▲			135 △	132 △

▲▼: p ≤ 0.05 △▽: p ≤ 0.01 (Dunnettの多重比較検定)

血液生化学検査の結果、検体投与に関連する変化は雌雄の 6000 ppm 以上の投与群で見られ、それらは腎障害を示唆する尿素窒素、カルシウム、無機リンの増加、肝障害を示唆するコレステロール、ビリルビン、γ-GTP、総蛋白、LAP の増加が認められた。その他の変化は、いずれも軽微か用量相関性のない変化であり、検体投与に起因しないと考えられた。

尿検査；投与 26, 52, 78 及び 104 週に各群雌雄 8~10 匹について 24 時間尿を採取し、以下の検査を行った。

尿量、比重、色調、濁度、pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ビリルビン、ウロビリノーゲン、尿沈渣

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

対照と比べて統計的有意差の見られた項目及び対照群に対する割合を次表に示す。

性別	雄															
	20				100				6000				12000			
投与量 (ppm)																
検査時期 (週)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
尿量									160 △		138 ▲		140 △	138 △	163 △	158 △
比重					99 ▽				99 ▽				99 ▼		99 ▽	99 ▽
ナトリウム					57 ▽				61 ▼		82 ▼		53 ▽		77 ▽	86 ▼
カリウム					81 ▽			116 ▲	69 ▽		80 ▽		74 ▽		79 ▽	82 ▼
塩素					50 ▽				52 ▼		71 ▼		40 ▽		63 ▽	
カルシウム																

性別	雌															
	20				100				6000				12000			
投与量 (ppm)																
検査時期 (週)	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104	26	52	78	104
比重												101 ▲		102 △		101 ▲
塩素															70 ▼	
カルシウム								174 △								156 ▲

Dunnett の多重比較検定 ▲▼: p ≤ 0.05 △▽: p ≤ 0.01

尿検査の結果、雄 6000 ppm 以上の群で尿量の増加と、電解質濃度の低下が認められた。また、雌雄 6000 ppm 以上の群で高い蛋白を示す動物の増加が認められた。

眼科学的検査；投与直前、投与 52 及び 104 週の 3 回、対照群及び 12000 ppm 群の生存動物の雌雄各 10 匹ずつを対象として検査した。

各検査時期とも検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

剖検及び臓器重量；全ての中間及び最終屠殺動物を対象として、動物を麻酔下で放血致死させ、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比も算出した。切迫屠殺及び死亡動物も剖検を行った。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣または卵巣

最終屠殺で認められた主要な肉眼的病変として、雌雄 6000 ppm 以上の群で肝臓の褐色化と肥大が見られた。また、雄の同群で腎臓の嚢胞と肥大が見られた。さらに、雌雄 12000 ppm 群で全身性の消瘦が見られた。

次表に、臓器重量について、対照群と比べて統計学的有意差の見られた項目及びその対照群に対する割合を示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

性別		雄																					
検査時期		13週				26週				52週				78週				104週					
投与量 (ppm)		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D		
体重								108 ▲								88 ▽	84 ▽					87 ▽	78 ▽
脳	絶対		98 ▼		97 ▽							97 ▽	96 ▽			97 ▼	97 ▽					98 ▽	95 ▽
	相対							92 ▽								110 △	116 △					112 △	122 △
心臓	絶対															92 ▽						92 ▽	93 ▼
	相対						95 ▼	94 ▼		97 ▼	95 ▽							115 △	93 ▼	93 ▼		107 ▲	120 △
肝臓	絶対			138 △	160 △			140 △	164 △			132 △	160 △			119 △	140 △					129 △	154 △
	相対			132 △	160 △			130 △	168 △			131 △	164 △			134 ▲	167 △					148 △	195 △
腎臓	絶対			114 △	115 △			120 △	121 △			116 △	122 △				118 △					113 △	127 △
	相対			107 △	114 △			111 △	123 △			115 △	125 △			120 △	140 △					130 △	163 △
脾臓	絶対							113 △	111 △				121 △				125 ▲						
	相対				106 ▲				113 △			107 ▲	124 △				147 △					240 △	197 △
副腎	絶対			109 ▲	111 △			123 △	120 △				118 △				118 △						112 △
	相対				107 ▲			117 △	125 △				115 △			123 △	138 △					117 △	144 △
精巣	相対												109 ▲			152 △	152 △					137 △	154 △

▲▼: p ≤ 0.05 △▽: p ≤ 0.01 (Dunnettの多重比較検定)

投与量: A/20 ppm、B/100 ppm、C/6000 ppm、D/12000 ppm

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

性別		雌																				
検査時期		13週				26週				52週				78週				104週				
投与量 (ppm)		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	
体重									91 ▼			94 ▼	88 ▼			83 ▼	72 ▼				76 ▼	67 ▼
脳	絶対			97 ▼					97 ▼			96 ▼	95 ▼				96 ▼	102 ▲	102 ▲		99 ▼	97 ▼
	相対								106 △							118 △	132 △				129 △	144 △
心臓	絶対															94 ▼	92 ▼				94 ▼	89 ▼
	相対			105 △	106 △				110 △				114 △			112 △	126 △				124 △	131 △
肝臓	絶対			130 △	158 △			135 △	160 △			126 △	159 △			125 △	147 △				122 △	153 △
	相対			131 △	166 △			140 △	176 △			134 △	181 △			150 ▲	203 △				161 △	229 △
腎臓	絶対				108 △			115 △	120 △			108 △	116 △			115 △	119 △				105 ▲	114 △
	相対			107 △	113 △			120 △	131 △			116 △	133 △			137 △	164 △				136 △	169 △
脾臓	絶対					108 ▲						91 ▼										
	相対						107 ▲	110 △	109 △				109 ▲				104 △				123 △	173 △
副腎	絶対				110 △	106 ▲	114 △	108 ▲													91 ▼	94 ▼
	相対			114 △	111 △	112 △	108 ▲	119 △	119 △				117 △			125 △	138 △				120 △	140 △
卵巣	相対							114 ▲	117 △												126 △	161 △

▲▼: p ≤ 0.05 △▽: p ≤ 0.01 (Dunnett の多重比較検定)

投与量: A/20 ppm, B/100 ppm, C/6000 ppm, D/12000 ppm

雌雄の 6000 ppm 以上の群で肝臓、腎臓及び副腎の絶対/相対体重が高く、さらに雄の同群で脾臓の絶対あるいは相対重量が高く、検体投与に起因すると考えられた。その他の変化は、いずれも体重増加抑制に起因した二次的変化と考えられた。

病理組織学的検査;

投与後 52 週及び投与終了時の計画殺動物、並びに死亡・切迫屠殺動物について実施し、以下の臓器・組織を摘出して、10%緩衝ホルマリン液で固定後、パラフィン切片を作成、HE 染色した後鏡検した。

副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、大動脈、脳、眼球、大腿骨 (骨髓を含む)、胸骨、心臓、腎臓、肝臓、肺 (気管を含む)、リンパ節、乳腺、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、精囊、末梢神経、筋肉、皮膚、脊髄、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺 (上皮小体を含む)、唾液腺、膀胱、膣及び子宮、肉眼的異常部位

【非腫瘍性病変】

雌雄とも肝臓及び腎臓が主な標的臓器であった。肝臓では、雌雄 6000 ppm 以上の群で肝細胞肥大^{a)}が観察された他、雄では限局性の血管拡張と肝海綿状変性が 6000 ppm 以上の群で頻度の増加がみられ、また、細胞増殖巣が 104 週最終屠殺動物の 12000 ppm 群で発生の減少がみられた。逆に胆管増生が 6000 ppm 以上の群で発生数が減少した。雌では、泡沫細胞が 6000 ppm 以上の群で多く発生した。腎臓では、雌雄 6000 ppm 以上の群で、慢性腎症を構成する糸球体硬化、尿細管拡張、硝子滴沈着及び線維化などの病変が増加し、病変程度も増強される傾向が見られた。特に、雄ではこれらの病変の進行した例が多く、嚢胞、移行上皮過形成などの病変が見られた。肝臓及び腎臓以外の病変として、副腎の髄質過形成、唾液腺の細胞変性、皮膚の毛嚢萎縮が雌雄の 6000 ppm 以上の群でみられた。その他、対照群と比較して発生数の増減を示した所見もみられたが、いずれも自然発生病変であり、病変程度の増強もなく、用量相関性もないことなどから、検体に起因する病変とは考えられなかった。

〔申請者註：肝細胞肥大^{a)}／報告書には細胞腫脹 swelling of liver cells と記載されているが、肝細胞肥大が妥当と考え、本農薬抄録では肝細胞肥大と表現する。また、報告書の添付組織写真では小葉中心部で肥大程度が顕著であった。〕

【腫瘍性病変】

52 週中間屠殺動物では、検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。最終屠殺動物、切迫屠殺及び死亡動物では、検体投与に関連する所見として、雌雄の 12000 ppm 群で脾臓原発の LGL (Large Granular Lymphocyte) 白血病の増加、雄の 6000 ppm 及び 12000 ppm 群で肝細胞腺腫の増加及び増加傾向、雌 12000 ppm で子宮腺癌の増加が認められた。その他には検体投与に起因すると考えられる腫瘍性病変は認められなかった。

各群の発がん性検査群における良性、悪性及び総腫瘍数、及び担腫瘍動物数を次頁の表に示す。腫瘍総数では、雌 12000 ppm 群で悪性腫瘍が有意に増加したが、これは、LGL 白血病や子宮腺癌の増加によると考えられた。また表中には示さなかったが、雄 12000 ppm 群で、79～104 週の間切迫・死亡した動物において、良性及び悪性腫瘍が有意に増加した。これは、同群の同時期切迫・死亡した動物数が高群と比較して多く、また、LGL 白血病の増加によると考えられた。なお、腫瘍発生時期では投与により早期に出現することはなかった。

性別	雄					雌					
	0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000	
投与量 (ppm)	0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000	
検査動物数	50	50	51	50	50	50	50	50	50	50	
腫瘍数	良性	104	98	110	106	91	54	49	56	44	37
	悪性	23	22	27	24	38	20	20	15	24	36*
	総数	127	120	137	130	129	74	69	71	68	73
担腫瘍動物数	良性	49	49	50	48	48	36	34	32	28	26
	悪性	21	20	23	24	34	19	19	14	21	31
	総数	50	50	51	50	50	41	44	32	39	41

*: $p \leq 0.05$ (Fisher の確率検定)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上の結果から、本検体の 104 週間飼料混入投与によるラット慢性/発癌性試験における影響として、一般状態では、投与 79 週から 104 週において、雄の 12000 ppm 群及び雌の 6000 ppm 以上の群で瘦削、立毛、耳介等の蒼白、自発運動低下及び呼吸促進の発生頻度が対照群に比較して高かった。また、死亡率は投与終了時（104 週）において、雄 12000 ppm 群で高値、雌 6000 ppm 以上の群で高値傾向を示した。雌雄 6000 ppm 以上の群で体重増加抑制が認められた。

血液学検査の結果、雌雄 6000 ppm 以上の群で投与 78 週以降では貧血に関連する赤血球関連項目の異常及び網状赤血球率が増加が認められたが、血清ビリルビンの高値がみられたことから、溶血性貧血が示唆された。さらに 104 週の検査では LGL 白血病の発生により、溶血の程度が増強したものと推察された。また、雌雄とも 100 または 6000 ppm 以上の群で好中球比率の高値及びリンパ球比率が低値を示した週が認められたが、検体投与の負荷によるものと考えられた。

血液生化学的検査の結果、雌雄の 6000 ppm 以上の投与群で変化がみられ、それらは肝臓及び腎臓の障害を示すものであった。

尿検査の結果、雄 6000 ppm 以上の群で尿量の増加、雌雄 6000 ppm 以上の群で尿蛋白の高い動物の増加が認められ、腎障害が示唆された。

臓器重量測定の結果、雌雄 6000 ppm 以上の群で肝臓、腎臓及び副腎、さらに雄の同群で脾臓の絶対重量あるいは相対重量が高く、検体投与に起因すると考えられた。

病理組織学検査では、非腫瘍性病変として雌雄 6000 ppm 以上の群で肝細胞肥大、雄 12000 ppm 群で肝細胞増殖巣が多く発生した。雌では肝限局性のうっ血が 100 ppm 群から観察された。また、雌雄 6000 ppm 以上の群で、慢性腎症を構成する糸球体硬化、尿管拡張、硝子滴沈着及び線維化などの病変が増加し、病変程度も増強される傾向が見られた。特に雄では慢性腎症の進行した例が多く、嚢胞、移行上皮増生などの病変が見られた。腫瘍性病変として、雌雄の 12000 ppm 群で脾臓原発の LGL 白血病の増加、雄の 6000 及び 12000 ppm 群肝細胞腺腫の増加及び増加傾向、雌 12000 ppm 群で子宮腺癌の増加が認められた。

LGL 白血病は F344 系ラットに好発するものであり、加齢に伴いその発生率も急速に増加することが知られている。肝細胞腺腫は雌雄で肝細胞肥大や細胞増殖巣などがみられたことから、検体の高投与量投与による肝臓への慢性的負荷との関連が示唆される。また、子宮腺癌については、加齢促進に加えて、検体投与によって生じる性ホルモン不均衡との関連が考えられる。本試験では腎臓等に加齢性変化と思われる非腫瘍性病変の増加や程度の増強がみられたことから、上記腫瘍性病変は自然発生性の加齢性変化が、検体の大量投与によって増強されたものと考えられた。

本試験において、上述の如く 100 ppm 以上の群で雌雄とも検体投与による影響が認められたことから、本試験における無影響量は雌雄とも 20 ppm（雄：0.9 mg/kg/day、雌：1.2 mg/kg/day）と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

〔申請者註〕

本試験の高投与群において肝細胞腺腫、子宮腺癌及び脾臓原発 LGL 白血病が増加した。

本剤は *in vitro* 及び *in vivo* の変異原性試験は CHO 細胞における +S9 条件を除き陰性であり (資料 A-23 ~A-31)、さらに、二次的 DNA 損傷を検討したマウスの肝細胞核によるアルカリ溶出法 DNA 損傷試験でも陰性であった (資料 A-74)。このため、本剤が直接 DNA、遺伝子並びに染色体の変化をもたらすとは考えられない。

肝細胞腺腫増加について、本剤の高投与群では肝臓の重量増加と (小葉中心性) 肝細胞肥大が本試験を含めたラットの反復経口投与毒性試験における共通所見であり、肝薬物代謝酵素誘導能及び肝内 P450 免疫染色強度も顕著に増加していた (資料 A-16, A-18)。このような特性を持つ薬物の多くは高用量長期間の投与によりラットに肝細胞腫瘍を誘発することが知られているが、その腫瘍発生メカニズムの一つに考えられているのがプロモーター効果である。プロモーター効果はいくつかの作用が複合して腫瘍性病変をもたらすが、その過程で重要なのが、背景のあるいは薬物代謝亢進による活性酸素種の攻撃等により生じた、変異細胞の増殖を抑制する細胞間連絡 (cell to cell communication) の破壊である¹⁾。この点を明らかにすべく、ラットの肝細胞を用いて細胞間連絡阻害作用 (資料 A-73) 及びチャイニーズハムスターの肺線維芽細胞 V79 細胞を用いて細胞間代謝協同阻害作用 (資料 A-17) を調べたところ、いずれにも有意な阻害亢進が観察された。したがって、本剤のラットにおける肝細胞腺腫増加は非遺伝的メカニズムでもたらされたと考えられ、恐らく細胞間連絡阻害が関与したプロモーター効果により生じた可能性が高いと考えられる。

子宮腺癌増加について、90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 A-10) あるいは繁殖毒性試験 (資料 A-20) において子宮に異常を認めず、腫瘍も投与期間末期に発生していたところから、その発現には長期間の潜伏過程あるいは長期間にわたる非常に軽微な変化の積み重ねがあったと考えられる。非遺伝毒性物質による子宮腺癌誘発には 4-OH E2 (Estradiol) の関与が強く疑われ²⁾、また、最近 Yoshida 等は Indole-3-carbinol の二段階子宮腺癌誘発実験において肝臓で 4-OH E2 への代謝酵素 CYP1B1 の mRNA 発現が増強したことを報告し、本腫瘍増加の一因として肝臓における内因性 E2 から 4-OH E2 生成の亢進を示唆している^{3,4)}。また、ラットには本腫瘍発生の好発系としてドンリュウラットが知られているが、その肝臓における 4-OH E2 酵素活性、CYP1B1 mRNA 発現等を他系統ラットと比較した成績を見いだせないため、ドンリュウラットの子宮腺癌がこれらの酵素活性の高さに原因するか不明である。しかし、確かな成績として、ドンリュウラットでは長期間にわたり血中 Estrogen/Progesterone 比 (E/P 比) が高値で維持されることが示され⁵⁾、本腫瘍発生との関連を強く示唆している。本試験の 52 週後及び 104 週後の計画殺時に採血した血清において Estradiol 及び Progesterone を測定したところ、52 週後において最高投与群の雌で Progesterone が顕著に低く E/P が対照群の約 5 倍に増加していた (資料 A-19)。これらの動物の病理組織学的検査では子宮に特記すべき異常は観察されなかったが、E/P 比の増加により動物のホルモンバランスが損なわれていたことが示唆され、その状態が長期間持続したことが本腫瘍発生の一因になったと考えられる。

LGL 白血病について、本腫瘍の原発は脾臓と考えられているが本試験報告書においても“脾臓 LGL 白血病”と記載されている。LGL 細胞はヒトの Natural killer cell のげっ歯類における相似細胞とされる大型リンパ球であるが、本白血病は老齢 Fisher ラットで特異的に自然発生するもので他の系統ラットでの報告は極めて少ない^{6,9)}。また、ヒトにおける白血病の殆どが骨髄原発であるところから、脾臓原発の本腫瘍はヒトの白血病のモデルにならないとの解釈が一般的である。本腫瘍は、Benzophenone, Diisononyl phthalate, Perchloroethylene 等の化学物質により誘発されるが^{7,9)}、いずれも Fischer ラットでのみ認められた成績であり他系統ラットにおける発生増加の報告は見あたらない。本腫瘍発生のメカニズムの詳細に言及した報告はないが、その意義に関して多くの研究者は Fischer ラットにおける特異的腫

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

瘍でありヒトへのリスクを評価できない、と述べている⁷⁻⁹⁾。検体により造血系細胞への影響が示唆され、溶血性貧血が生じていると判断されたが、重度化した場合に認められる脾臓の食細胞の活性化/色素沈着増加、骨髄や脾臓/肝臓等における造血・髄外造血亢進等は見られなかった。また、本試験及びマウス発がん性試験において骨髄球系腫瘍及びリンパ球系白血病/肉腫の発生は対照群との差はなかった。これらを考慮するとラット LGL 白血病の増加及び血小板の増加は、ヒトを含め各動物種における造血系細胞異常及び腫瘍発生の誘発を示唆するものではないと考えられる。以上のことから、本試験において発生した LGL 白血病は検体投与の影響と考えられるが、抄録に述べた無影響量が本腫瘍発生の影響で変わることは無いと判断される。

参考文献

- 1) Schulte-Hermann R, Bursch W, et al. (1994): Nongenotoxic Carcinogenesis in the Liver. In Nongenotoxic Carcinogenesis (Cockburn A and Smith L, Ed.), pp 109-120. Springer-Verlag, Tokyo.
- 2) Newbold RR and Licr JG (2000): Induction of uterine adenocarcinoma in CD-1 mice by catechol estrogens. *Cancer Res* 60; 235-237.
- 3) Yoshida M, Katashima S, et al. (2004): Dietary indole-3-carbinol promotes endometrial adenocarcinoma development in rats initiated with N-ethyl-N'-nitrosoguanidine, with induction of cytochrome P450s in the liver and consequent modulation of estrogen metabolism. *Carcinogenesis* 25; 2257-2264.
- 4) Yoshida M (2006): A new hypothesis for uterine carcinogenesis: A pathway driven by modulation of estrogen metabolism through cytochrome P450 induction in the rat liver. *J Toxicol Pathol*, 19;57-67.
- 5) Nagaoka T, Onodera H, et al. (1990): Spontaneous uterine adenocarcinomas in aged rats and their relation to endocrine imbalance. *J Cancer Res Clin Oncol* 116; 623-628.
- 6) Losco P (1992): Normal Development, Growth, and Aging of the Spleen. In *Pathology of the Aging Rat*, Vol. 1 (Mohr U, Dungworth DL and Capen CC Ed.), pp 89-90. ILSI Press, Washington DC.
- 7) Lington AW, Bird MG, et al. (1997): Chronic toxicity and carcinogenic evaluation of diisononyl phthalate in rats. *Fund Appl Toxicol* 36; 79-89.
- 8) Caldwell DJ (1999): Review of mononuclear cell leukemia in F-344 rat bioassays and its significance to human cancer risk: A case study using alkyl phthalate. *Regul Toxicol Pharmacol* 30(1); 45-53.
- 9) Ishmael J and Dugard PH (2006): A review of perchloroethylene and rat mononuclear cell leukemia. *Regul Toxicol Pharmacol* 45(2); 178-184.

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表1 「非腫瘍性病変」

52週計画屠殺

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	10	10	9#	10	10	10	10	10	10	10
骨髓	色素沈着	1	1	0	0	0	7	8	5	4	2*
脾臓	色素沈着	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	肝細胞肥大	0	0	0	10**	10**	0	0	0	10**	10**
	肝細胞増殖巣	0	0	0	1	1	0	1	0	0	2
	脂肪化	0	0	0	5*	10**	0	0	0	0	0
	巣状壊死	0	4*	2	0	1	1	3	2	0	0
	泡沫細胞出現	0	0	0	0	0	6	7	3	7	10*
腎臓	リンパ球浸潤	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
	尿細管拡張	1	1	0	0	0	0	1	0	1	2
	尿細管好塩基化	10	8	9	2*	0*	4	2	1	5	7*
	糸球体硬化	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0
	硝子滴沈着	0	1	3	0	0	0	0	1	1	3
	色素沈着	0	0	0	4*	10**	0	0	0	0	3
	石灰沈着	0	0	0	0	0	3	6	4	8*	10**
	線維化	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0
	蛋白円柱	10	8	8	2	0	1	1	1	7**	7**
	慢性腎症	0	0	0	8**	10**	0	0	0	0	3
	Grade 1	0	0	0	6	3	0	0	0	0	3
Grade 2	0	0	0	2	7	0	0	0	0	0	
Grade 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
副腎	空胞化	10	10	9	10	10	0	0	0	0	0
	血管拡張	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1
	色素沈着	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001 (Fisherの確率検定)

: 投与後46週に1例死亡のため。

慢性腎症：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張、線維化及びリンパ球浸潤が存在し、かついずれかの所見が中等度以上である。

慢性腎症のGrade：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張がネフコンの認められる割合で分類した；Grade 1：25%以下、Grade 2：25~50%、Grade 3：50%以上

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

切迫屠殺・死亡動物

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	8	11	12	12	25	9	11	8	15	15
骨髓	色素沈着	2	0	0	0	3	1	1	1	1	1
	造血亢進	3	2	2	1	2	0	3	0	1	1
	肉芽巢	1	1	0	1	1	2	0	0	0	1
脾臓	色素沈着	6	5	10	9	13	6	4	6	11	7
	造血亢進	5	2*	2	2*	4*	3	3	1	3	3
肝臓	うっ血	0	0	2	1	1	1	0	1	0	2
	リンパ球浸潤	2	2	2	3	2*	1	0	1	2	3
	肝海綿状変性	1	0	0	4	10	0	0	0	0	0
	肝細胞肥大	1	0	0	2	1	0	0	0	2	2
	肝細胞増殖巣	4	3	4	4	11	1	1	2	1	5
	脂肪化	1	3	3	2	7	1	4	6**	1	1
	髓外造血	3	1	1	1	3*	1	2	0	6	2
	巣状壊死	2	2	1	0	7	1	2	2	7	0
	肉芽巢	5	2*	1*	4	5*	3	2	2	4	5
泡沫細胞出現	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7**	
唾液腺	細胞変性	1	0	2	1	3	0	0	0	1	2
腎臓	リンパ球浸潤	5	2	6	3	3*	3	3	5	3	2
	移行上皮過形成	1	0	0	3	13	0	0	0	1	1
	尿細管拡張	2	1	3	3	3	0	1	3	5	3
	尿細管好塩基化	3	3	5	3	4	2	4	4	6	5
	糸球体硬化	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	硝子滴沈着	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1
	色素沈着	7	8	7	9	21	4	6	7*	14**	14**
	線維化	1	0	0	1	5	0	0	1	1	2
	蛋白円柱	6	3	4	4	6	3	4	4	6	6
	慢性腎症	2	7	4	8	19**	1	0	1	7	8*
Grade 1	2	4	0	3	6	1	0	0	2	3	
Grade 2	0	2	3	0	5	0	0	0	2	4	
Grade 3	0	1	1	5	8	0	0	1	3	1	
子宮	子宮水腫	-	-	-	-	-	3	5	0	6	3
	腺腔拡張	-	-	-	-	-	1	3	1	1	3
	嚢胞状内膜過形成	-	-	-	-	-	1	0	0	3	2
甲状腺	C細胞過形成	4	5	3	2	5*	1	5	5*	6	7*
	濾胞拡張	0	1	1	4	1	0	0	0	0	0
副腎	髓外造血	0	0	0	0	0	0	2	1	4	1
	髓質過形成	3	5	2	6	12	1	3	4	7	3
	皮質過形成	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1
皮膚	肉芽巢	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4
	毛囊萎縮	0	2	2	3	4	1	1	0	7	7*

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001(Fisherの確率検定)

慢性腎症：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張、線維化及びリンパ球浸潤が存在し、かついずれかの所見が中等度以上である。

慢性腎症のGrade：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張がネフロン認められる割合で分類した；Grade 1：25%以下、Grade 2：25～50%、Grade 3：50%以上

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグマイ化学工業株式会社にある。

104週最終屠殺

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	42	39	39	38	25	41	39	42	35	35
骨髓	色素沈着	0	1	0	1	1	2	3	1	3	0
	造血亢進	2	2	2	2	2	0	0	2	1	2
	肉芽巣	9	8	12	9	5	18	12	11	9	9
脾臓	色素沈着	41	36	35	31*	19**	37	36	41	31	29
	造血亢進	2	2	1	1	0	12	11	7	5	7
	肉芽巣	0	1	0	0	0	0	4	1	0	1
肝臓	うっ血	0	0	0	0	0	0	0	5*	4*	11**
	肝海綿状変性	8	7	8	15*	12*	0	0	0	2	1
	肝細胞肥大	0	1	0	9**	3*	0	0	0	14**	22**
	血管拡張	0	0	0	8**	3*	4	1	5	3	1
	肝細胞増殖巣	30	31	34	31	24*	33	23*	30	24	30
	脂肪化	13	11	12	16	13	19	18	20	6**	13
	髄外造血	1	2	1	2	0	1	7*	5	2	2
	巣状壊死	3	2	2	2	3	3	1	3	4	2
	肉芽巣	32	31	30	24	17	29	30	36	28	26
	泡沫細胞出現	6	5	1	1	4	0	2	2	18**	21**
唾液腺	リンパ球浸潤	0	1	0	1	1	5	1	3	2	2
	細胞変性	6	4	3	13*	9*	5	3	6	4	9
腎臓	リンパ球浸潤	8	5	7	1*	1	20	20	24	6*	1*
	移行上皮過形成	6	3	1	11	19**	1	0	1	0	4
	尿細管拡張	0	1	1	0	0	3	3	7	1	0
	尿細管好塩基化	11	6	9	1*	0*	27	24	27	6*	1*
	糸球体硬化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	硝子滴沈着	3	3	0	0	0	7	3	7	1	1
	色素沈着	41	39	36	35	22	37	36	42	34	33
	腎盂拡張	0	0	2	3	0	1	1	0	0	4
	石灰沈着	11	13	7	9	6	14	15	20	15	14
	線維化	1	0	3	2	0	1	1	0	1	0
	蛋白円柱	11	6	9	2*	1*	25	21	28	6*	1*
	慢性腎症	31	33	30	36**	24**	14	14	11	29**	34**
	Grade 1	11	16	13	10	1	9	9	6	13	9
Grade 2	16	15	15	21	14	5	5	4	16	20	
Grade 3	4	2	2	5	9	0	0	1	0	5	
甲状腺	C細胞過形成	20	18	21	20	10	28	30	30	24	23
	濾胞拡張	1	2	1	1	2	0	0	3	0	1
副腎	髄外造血	0	0	0	0	0	1	1	3	2	1
	髄質過形成	12	16	17	22**	18**	14	11	9	9	10
	皮質過形成	8	2	7	5	2	7	7	12	5	7
皮膚	リンパ球浸潤	2	0	2	4	3	7	9	5	11	6
	肉芽巣	1	0	0	0	0	0	3	0	2	2
	毛嚢萎縮	2	4	1	9*	4	3	3	1	10*	13**

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001 (Fisherの確率検定)

慢性腎症：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張、線維化及びリンパ球浸潤が存在し、かついずれかの所見が中等度以上である。

慢性腎症のGrade：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張がネフコンの認められる割合で分類した；Grade 1：25%以下、Grade 2：25～50%、Grade 3：50%以上。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグマイ化学工業株式会社にある。

全動物

性 別		雄					雌					
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000	
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
	骨髄/検査動物数	60	60	60	60	60	59	60	60	60	60	
骨髄	色素沈着	3	2	0	1	4	10	12	7	8	3	
	造血亢進	5	4	4	3	4	0	3	2	2	3	
	肉芽巢	11	9	13	10	6	23	13	13	11	15	
	脾臓/検査動物数	60	60	60	60	60	58	60	60	60	60	
脾臓	色素沈着	57	51	54	50	42	53	50	57	52	46	
	造血亢進	7	4	3	3	4	15	14	8	8	11	
	肉芽巢	0	1	0	0	0	0	4	1	0	1	
	肝臓/検査動物数	60	60	60	60	60	59	60	60	60	60	
肝臓	うっ血	0	0	2	1	1	1	0	6	4	14 ***	
	リンパ球浸潤	29	26	26	22	13	28	27	26	28	20	
	肝海綿状変性	10	7	8	20 *	22 *	0	0	0	2	1	
	肝細胞肥大	1	1	0	21 ***	14 ***	0	0	0	26 ***	34 ***	
	血管拡張	0	0	0	8 **	6 *	4	1	6	3	3	
	肝細胞増殖巣	34	34	38	36	36	34	25	32	25	37	
	脂肪化	14	14	15	23	30 **	20	22	26	7	14	
	髄外造血	4	3	2	3	3	2	9 *	5	8	4	
	巣状壊死	5	8	5	2	11	5	6	7	11	2	
	肉芽巢	42	42	37	32	29	40	39	47	40	38	
	泡沫細胞出現	6	5	1	1	4	6	9	5	28 ***	38 ***	
唾液腺	リンパ球浸潤	0	1	0	1	1	6	2	3	3	3	
	細胞変性	6	4	5	14 *	12	5	3	6	5	11	
	腎臓/検査動物数	60	60	60	60	60	58	60	60	60	60	
腎臓	リンパ球浸潤	14	8	14	4	4	23	23	29	9	3	
	移行上皮過形成	7	3	1	14	32 ***	1	0	1	1	5	
	尿細管拡張	3	3	4	3	3	3	5	10	7	5	
	尿細管好塩基化	24	17	23	6	4	33	30	32	17	13	
	糸球体硬化	0	0	3	1	1	0	0	0	0	0	
	硝子滴沈着	3	4	4	0	1	7	3	8	2	5	
	色素沈着	48	47	43	48	53	41	42	49	48	50	
	腎盂拡張	0	0	4	3	0	1	2	0	5	5	
	石灰沈着	12	14	11	12	13	19	23	26	28	30 *	
	線維化	2	2	4	4	5	1	1	1	2	2	
	蛋白円柱	27	17	21	8	7	29	26	33	19	14	
	慢性腎症		33	40	34	52	53	15	14	12	36	40
		Grade 1	13	20	13	19	10	10	9	6	15	15
		Grade 2	16	17	18	23	26	5	5	4	18	20
Grade 3		4	3	3	10	17	0	0	2	3	5	

*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001 (Fisherの確率検定)

慢性腎症：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張、線維化及びリンパ球浸潤が存在し、かついずれかの所見が中等度以上である。

慢性腎症のGrade：糸球体硬化、尿細管好塩基化、硝子滴沈着、尿細管拡張がネフコンの認められる割合で分類した；Grade 1：25%以下、Grade 2：25~50%、Grade 3：50%以上

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

全動物(続)

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
	甲状腺/検査動物数	60	60	60	60	60	58	60	60	57	60
甲状腺	C細胞過形成	24	23	24	22	15	29	35	35	30	30
	濾胞拡張	1	3	2	5	3	0	0	3	0	1
	副腎/検査動物数	60	60	60	59	60	59	60	60	59	60
副腎	髓外造血	0	0	0	0	0	1	3	4	6	2
	髓質過形成	15	21	19	28 *	30 ***	15	14	13	16	13
	皮質過形成	8	2	8	5	2	9	8	13	5	9
皮膚	リンパ球浸潤	2	0	2	4	3	8	10	5	13	8
	肉芽巣	1	0	0	0	0	0	4	0	2	8 **
	毛囊萎縮	2	6	3	12 **	8 *	4	4	1	17 **	20 ***

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表2 [腫瘍性病変]
52週計画屠殺

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10
肺	肺動脈/細気管支上皮腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
直腸	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣	間細胞腫 (B)	1	0	1	2	1					
子宮	子宮内膜間質ポリープ (B)						1	0	3	2	0
陰囊	中皮腫 (M)	-	-	1	-	-					
下垂体	腺腫 (B)	2	0	1	0	0	1	1	2	0	0
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
副腎	褐色細胞腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
外耳道腺	腺腫 (B)	-		-	-	1	-	-	-	-	-

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

- : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

切迫屠殺・死亡動物

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	8	11	12	12	25	9	11	8	15	15
骨髓	組織球肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
脾臓	LGL白血病 (M)	1	5	1	2	13	3	7	5	5	8
	血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
リンパ節	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
肺	扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
舌	扁平上皮乳頭腫 (B)	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
胃	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
十二指腸	乳頭部腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
空腸	腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	胆管細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
腹腔	悪性神経鞘腫 (M)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
腹膜	横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	-	0	0	1	-	0	0
大網	骨肉腫 (M)	1	-	0	-	-	-	-	-	0	0
腎臓	移行上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎芽細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱	移行上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
乳腺(雄)	線維腺腫 (B)	-	1	1	0	1					
乳腺(雌)	線維腺腫 (B)						0	0	3	0	1
精巣	間細胞腫 (B)	6	8	7	10	22					
前立腺	腺腫 (B)	1	1	0	1	1					
卵巣	平滑筋腫 (B)						0	0	1	0	0
子宮	間質性肉腫 (M)						1	1	0	2	1
	子宮内膜間質ポリープ (B)						0	2	2	1	1
	腺癌 (M)						0	0	0	2	2
	腺腫 (B)						1	1	0	0	0
腔	間質性ポリープ (B)						0	0	0	0	1
骨盤腔	血管内皮腫 (B)	-	-	1	-		-	-	-	-	-
包皮腺	腺腫 (B)		-	-	-	1					
陰核腺	腺腫 (B)						-		-	-	1
陰囊	中皮腫 (M)	1	-	-	-	0					

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

- : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

切迫屠殺・死亡動物(続)

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	8	11	12	12	25	9	11	8	15	15
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
副腎	悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	褐色細胞腫 (B)	0	1	1	2	3	1	0	1	0	0
	神経節神経腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ラ氏島	腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
脳	悪性細網症 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	悪性髄膜腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	星細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	乏突起神経膠腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
眼窩	悪性神経鞘腫 (M)	-	-	-	1	-	0	-	-	-	-
皮膚	角化棘細胞腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	基底細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	表皮嚢腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
皮下	悪性神経鞘腫 (M)	1	-	0	2	0	0	0	-	0	-
	悪性線維性組織球腫 (M)	0	-	1	0	0	0	0	-	0	-
	横紋筋肉腫 (M)	0	-	0	0	1	0	0	-	0	-
	線維腫 (B)	0	-	0	0	0	0	0	-	1	-
	線維肉腫 (M)	1	-	0	0	0	0	0	-	0	-
骨	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
脊椎	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	0	-	1	-

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

- : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

104週最終屠殺

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	42	39	39	38	25	41	39	42	35	35
骨髓	組織球肉腫 (M)	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
脾臓	LGL白血病 (M)	6	2	9	9	12 **	6	3	4	8	12 *
肺	肺胞/細気管支上皮腺腫 (B)	0	1	2	0	0	0	0	0	1	0
胃	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
腺外分泌部	腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0
十二指腸	乳頭部腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
結腸	腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
肝臓	肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫 (B)	0	0	2	5 *	4 *	0	0	1	0	0
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	胆管細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	胆管細胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
耳下腺	腺癌 (M)	-	-	-	0	-	-	-	-	1	-
腎臓	移行上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
精巣	間細胞腫 (B)	39	37	38	37	25					
	中皮腫 (M)	0	1	0	0	0					
前立腺	腺腫 (B)	4	5	1	2	3					
卵巢	中皮腫 (M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
	顆粒膜 莢膜細胞腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	1	0
子宮	間質性肉腫 (M)						0	0	0	0	1
	子宮内膜間質ポリープ (B)						13	9	12	9	12
	腺癌 (M)						0	0	0	2	5 *
	腺腫 (B)						0	1	0	3	1
	組織球肉腫 (M)						0	1	0	0	0
	脱落膜腫 (B)						1	0	0	0	0
	平滑筋腫 (B)						0	1	1	0	0

* : P<0.05 (Fisherの確率検定)

- : 検査せず

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

104週最終屠殺(続)

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	42	39	39	38	25	41	39	42	35	35
腺	角化棘細胞腫 (B)						0	0	0	1	0
	間質性ポリープ (B)						1	0	0	1	1
	表皮嚢腫 (R)						0	0	0	1	0
	平滑筋腫 (B)						0	0	1	0	0
	扁平上皮乳頭腫 (B)						0	0	1	0	0
包皮腺	腺腫 (B)	2	0	1	-	-					
陰核腺	腺腫 (B)						1	3	2	-	2
陰囊	中皮腫 (M)	1	1	2	1	1					
下垂体	腺癌 (M)	3	2	1	0	0	2	2	3	1	0
	腺腫 (B)	12	15	18	13	4	17	18	12	14	8
甲状腺	C細胞癌 (M)	0	0	3	1	0	0	0	0	0	2
	C細胞腺腫 (B)	4	7	2	4	1	3	1	3	1	0
	濾胞細胞癌 (M)	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	濾胞細胞腺腫 (B)	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
上皮小体	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
副腎	悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	褐色細胞腫 (R)	6	6	6	8	3	3	1	1	2	1
	腺腫 (B)	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0
ラ氏島	腺癌 (M)	1	1	3	0	1	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	10	3*	6	6	5	3	2	0	1	0
	星細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
	乏突起神経膠腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脊髄	表皮嚢腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
三叉神経	悪性神経鞘腫 (M)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
外耳道腺	腺腫 (B)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
皮膚	悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	角化棘細胞腫 (B)	3	0	5	1	0	1	1	0	1	1
	基底細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
	線維腫 (B)	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	皮脂腺腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	表皮嚢腫 (B)	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	毛嚢上皮腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

- ; 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

104週最終屠殺(続)

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
動物数		42	39	39	38	25	41	39	42	34	35
皮下	脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	-	0	-	0
	線維腫 (B)	2	0	1	1	0	0	-	1	-	1
	線維肉腫 (M)	1	1	0	1	0	0	-	0	-	0
	組織球肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	-	0	-	0
	表皮嚢腫 (B)	0	1	0	0	1	1	-	0	-	0
	無色素性黒色腫 (B)	1	0	0	0	0	0	-	0	-	0

(B) ; 良性腫瘍 (M) ; 悪性腫瘍

- : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

全動物

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
	骨髄/検査動物数	60	60	60	60	60	58	60	59	60	60
骨髄	組織球肉腫 (M)	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0
	脾臓/検査動物数	60	60	60	60	60	58	60	60	60	60
脾臓	LGL白血病 (M)	7	7	10	11	25***	9	10	9	13	20*
	血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ節/検査動物数	60	60	60	60	60	59	60	60	60	60
リンパ節	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	肺/検査動物数	60	60	60	59	59	60	60	60	60	59
肺	肺泡/細気管支上皮腺 (B)	1	1	2	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	舌・検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
舌	扁平上皮乳頭腫 (B)	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1
	胃/検査動物数	60	60	59	60	60	59	60	60	60	60
胃	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	膵外分泌部/検査動物数	60	60	59	60	60	58	60	60	59	60
膵外分泌部	腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0
	十二指腸/検査動物数	60	60	57	60	60	58	59	60	60	60
十二指腸	乳頭部腺腫 (B)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	空腸/検査動物数	60	60	56	57	58	57	59	60	58	58
空腸	腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	結腸/検査動物数	60	60	59	60	60	59	60	60	60	60
結腸	腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
直腸	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓/検査動物数	60	60	60	60	60	59	60	60	60	60
肝臓	肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫 (B)	0	0	2	5*	4	0	0	1	0	1
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	組織球肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	胆管細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	胆管細胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1

* : P<0.05、** : P<0.01、*** : P<0.001 (Fisherの確率検定)

(B);良性腫瘍 (M);悪性腫瘍

- : 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

全動物(統)

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
	耳下腺\検査動物	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
耳下腺	腺癌 (M)	-	-	-	0	-	-	-	1	-	
	腹腔\検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
腹腔	悪性神経鞘腫 (M)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
	腹膜\検査動物数	1	2	4	1	1	4	7	5	1	
腹膜	横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	大網\検査動物数	1	0	1	0	0	0	0	0	1	
大網	骨肉腫 (M)	1	-	0	-	-	-	-	0	0	
	腎臓\検査動物数	60	60	60	60	60	58	60	60	60	
腎臓	移行上皮癌 (M)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	
	移行上皮乳頭腫 (B)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
	腎芽細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
	腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	
	膀胱\検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	59	60	
膀胱	移行上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	移行上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	乳腺(雄)\検査動物数	9	12	10	10	8					
乳腺(雄)	線維腺腫 (B)	1	1	3	1	4					
	腺腫 (B)	0	0	1	1	0					
乳腺(雌)	脂肪腫 (B)						0	1	0	0	
	線維腺腫 (B)						2	5	8*	4	
	腺癌 (M)						3	0	0	0	
	腺腫 (B)						2	0	1	0	
精巣	間細胞腫 (B)	46	45	46	49	48					
	中皮腫 (M)	0	1	0	0	0					
前立腺	腺腫 (B)	5	6	1	3	4					
卵巢	中皮腫 (M)						1	0	0	0	
	平滑筋腫 (B)						0	0	2	0	
	顆粒膜-莖膜細胞腫 (B)						0	1	0	1	

* : P<0.05 (Fisherの確率検定)

(B): 良性腫瘍 (M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマアイ化学工業株式会社にある。

全動物(続)

性別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
子宮	間質性肉腫 (M)						1	1	0	2	2
	子宮内膜間質ポリープ (B)						14	11	17	12	13
	腺癌 (M)						0	0	0	4	7**
	腺腫 (B)						1	2	0	3	1
	組織球肉腫 (M)						0	1	0	0	0
	脱落膜腫 (B)						1	0	0	0	0
	平滑筋腫 (B)						0	1	1	0	0
膣	角化棘細胞腫 (B)						0	0	0	1	0
	間質性ポリープ (B)						1	0	0	1	2
	表皮嚢腫 (B)						0	0	0	1	0
	平滑筋腫 (B)						0	0	1	0	0
	扁平上皮乳頭腫 (B)						0	0	1	0	0
骨盤腔/検査動物数		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
骨盤腔	血管内皮腫 (B)		-	1	-	-	-	-	-	-	-
包皮腺/検査動物数		2	0	1	-	1					
包皮腺	腺腫 (B)	2	0	1	-	1					
陰核腺/検査動物数							1	3	2	0	3
陰核腺	腺腫 (B)						1	3	2	0	3
陰囊/検査動物数		2	1	3	1	2					
陰囊	中皮腫 (M)	2	1	3	1	1					
下垂体/検査動物数		59	59	59	60	60	60	60	60	59	60
下垂体	腺癌 (M)	3	3	1	0	0	3	2	6	2	1
	腺腫 (B)	18	20	25	16	9	21	20	16	16	10
	中間部腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
甲状腺/検査動物数		60	60	60	60	60	58	60	60	57	60
甲状腺	C細胞癌 (M)	0	0	3	1	0	0	0	0	0	2
	C細胞腺腫 (B)	4	7	2	4	1	3	1	3	1	0
	濾胞細胞癌 (M)	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	濾胞細胞腺腫 (B)	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0
上皮小体/検査動物数		60	60	60	60	60	60	59	60	59	60
上皮小体	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

* : P<0.05, ** : P<0.01 (Fisherの確率検定) - : 検査せず

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマアイ化学工業株式会社にある。

全動物(続)

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
副腎/検査動物数		60	60	60	59	60	59	60	60	59	60
副腎	悪性褐色細胞腫 (M)	0	2	1	1	1	0	0	0	0	0
	褐色細胞腫 (B)	6	7	7	10	7	4	1	2	2	1
	神経節神経腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0
ラ氏島/検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60	59	60
ラ氏島	腺癌 (M)	1	1	4	0	1	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	11	4	7	7	6	3	2	0	1	0
脳	悪性細網症 (M)	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	悪性髄膜腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	星細胞腫 (M)	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0
	乏突起神経膠腫 (M)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
脊髄/検査動物数		60	60	59	60	59	60	60	60	59	60
脊髄	表皮嚢腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
三叉神経/検査動物数		0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
三叉神経	悪性神経鞘腫 (M)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	0
眼窩/検査動物数		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
眼窩	悪性神経鞘腫 (M)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
外耳道腺/検査動物数		1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
外耳道腺	腺腫 (B)	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-
皮膚/検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60	59	60
皮膚	悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	角化棘細胞腫 (B)	3	0	5	2	1	1	1	0	1	1
	基底細胞腫 (B)	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0
	線維腫 (B)	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0
	皮脂腺腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	表皮嚢腫 (B)	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1
	毛嚢上皮腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

全動物(続)

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	20	100	6000	12000	0	20	100	6000	12000
臓器	所見\検査動物総数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
皮下/検査動物数		6	3	3	5	2	2	1	1	1	2
皮下	悪性神経鞘腫 (M)	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫 (B)	2	0	1	1	0	0	0	1	1	1
	線維肉腫 (M)	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	組織球肉腫 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	表皮嚢腫 (B)	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
	無色素性黒色腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
骨/検査動物数		0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
骨	骨肉腫 (M)	-	0	-	-	1	-	-	-	-	-
脊椎/検査動物		0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
脊椎	骨肉腫 (M)	-	-	-	-	-	-	0	-	1	-

(B); 良性腫瘍 (M); 悪性腫瘍

- ; 検査せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3) イヌを用いた 52 週間経口投与による慢性毒性試験 (資料 A-14)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

試験動物: ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、約 7 ヶ月齢 投与開始時体重範囲 雄 10.6~13.9 kg、
雌 9.1~11.0 kg

試験期間: 52 週間 (1993 年 7 月 14 日~1994 年 7 月 14 日)

投与方法: 検体の投与量を 2, 20 及び 200 mg/kg/day とし、ゼラチンカプセルに充填して、毎日 1 回、
52 週間経口投与した。対照群には検体を充填していないゼラチンカプセルを投与した。

[投与量設定根拠]

投与量は 200 mg/kg/day で実施した 13 週間投与によるイヌ亜急性毒性試験 (資料 A-11) の結果を参考にした。すなわち、検体の 12.5, 50 及び 200 mg/kg/day を 1 群雌雄各 4 匹に 13 週間カプセル投与した結果、50 または 200 mg/kg/day 群の雌で血清リン脂質、コレステロールの減少及び肝細胞の変性、50 または 200 mg/kg/day 群の雄で肝細胞肥大を伴う肝臓重量の増加が観察された。従って、52 週間慢性試験では、最高用量は毒性作用発現が期待される 200 mg/kg/day とし、以下公比 10 で除し中及び低投与量を 20 及び 2.0 mg/kg/day とした。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間中に死亡した動物はなかった。検体投与によると考えられる症状は認められなかった。

体重変化; 毎週 1 回全動物の体重を測定した。

いずれの投与群にも検体投与による体重推移の変化は認められなかった。

摂餌量; 自由摂取させ、個体別摂餌量を週 1 回求めた。

いずれの投与群にも検体投与による摂餌量の変化は認められなかった。

飲水量; 個体別飲水量は毎日測定し、週毎にまとめた。

いずれの投与群にも検体投与による変化は認められなかった。

眼科学的検査; 投与開始前及び投与開始後 3, 6 及び 9 ヶ月、並びに投与終了時に全動物の両眼の検眼鏡による検査を行った。

いずれの検査時期及び投与群にも検体投与による変化は認められなかった。

血液学的検査; 投与開始前及び投与開始後 1, 3 及び 6 ヶ月、並びに投与終了時に全例の頸静脈から採血し、抗凝固剤 EDTA を加えた血液を用いて以下の検査を行った。なお、採血時には前夜から絶食させた。

ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、赤血球恒数 (MCV、MCH、MCHC)、白血球数、白血球百分率、血小板数及び網状赤血球数

また、同時に採血し、クエン酸塩を加えた血液を用いてプロトロンビン時間を測定した。

いずれの検査時期及びすべての血液学検査において統計学的な有意差を認めなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

血液生化学検査；上記の血液学的検査時に採血し、抗凝固剤を使用せずに行われた血清を用いて以下の検査を行った。

総蛋白、アルブミン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、塩素、総コレステロール、総ビリルビン、GPT、GOT、ALP、CPK、LDH、グルコース、リン脂質、トリグリセリド、尿酸及び蛋白電気泳動

対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する割合を示す。

項目	投与後 月数	雄			雌		
		投与群 (mg/kg/day)			投与群 (mg/kg/day)		
		2	20	200	2	20	200
尿素窒素	3						△173
トリグリセリド	12		▲126				

▲▼；p<0.05 △▽；p<0.01 (Dunnettの多重比較検定)

投与後3ヶ月において、200 mg/kg/day群雌で尿素窒素の高値、投与終了時において、雄20 mg/kg/day群でトリグリセリドの高値がみられたが、これらの変化には一貫性がみられず、検体投与に関連するものとは考えられなかった。一方、200 mg/kg/day群雌雄においては、有意差はみられなかったが、血清ALPに高値が観察された。

次表にそれらのデータを示す。

数値は対照群に対する割合

検査時期	対照群		2 mg/kg/day群		20 mg/kg/day群		200 mg/kg/day群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与開始前	98	109	88	91	123	116	82	98
投与後1ヶ月	103	104	90	87	110	110	117	137
投与後3ヶ月	89	79	75	60	104	88	139	118
投与後6ヶ月	71	72	62	48	75	95	127	129
投与終了	49	51	57	34	60	81	125	139

ALPは200 mg/kg/day群雌雄で投与後3ヶ月から投与終了時にかけて増加を示した。

尿検査；投与開始前及び投与開始後1、3及び6ヶ月、並びに投与終了時に全動物から16時間尿を採取し、以下の検査を行った。

色、外観、尿量、pH、比重、蛋白、浸透性、亜硝酸塩、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、白血球、潜血及び尿沈渣

すべての尿検査項目において統計学的な有意差を認めなかった。

剖検及び臓器重量；投与終了後、動物を麻酔下で放血致死させ、臓器・組織の肉眼的観察を行った後、以下の臓器を摘出して重量を測定するとともに、剖検時体重から対体重比も算出した。なお、剖検前に各動物の胸骨から骨髓穿刺によって骨髓を採取し、塗抹標本を作成した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、膵臓、下垂体、脾臓、精巣または卵巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）及び子宮または前立腺

検体投与と関連した肉眼的変化はいずれの投与群にも認められなかった。

臓器重量について、対照群と比べて統計学的な有意差のみられた項目及びその対照群に対する割合を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

臓器	性別	雄			雌		
	投与群 (mg/kg/day)	2	20	200	2	20	200
心臓	絶対		▽89	▼89			
	相対		▽80	▼86			
肝臓	絶対			△136			122*
	相対			△131			△135
唾液腺	絶対					△129	

▲▼ : p<0.05 △▽ : p<0.01 (Dunnett の多重比較検定)

* : 有意差なし

検体投与に起因し、有意な肝臓の絶対及び相対重量の増加が、200mg/kg/day 群雄において認められた。雌同群においても僅かに肝臓の絶対及び相対重量の増加がみられたが、統計学的有意差は相対重量のみにみられた。20 及び 200 mg/kg/day 群雄で心臓の絶対重量及び相対重量の減少がみられたが、これらの投与量では 10 倍差があるにもかかわらず、用量相関性がなかったこと、雌では変化なかったこと及び病理組織変化は認められなかったことから、この減少は毒性学的意義はないと考えられた。その他 20 mg/kg/day 群雌で唾液腺絶対重量の増加がみられたが、一貫した変化ではなく投与に関連のないものと考えられた。

病理組織学的検査；剖検時に全動物から以下の臓器・組織を摘出し、10%緩衝ホルマリン液で固定（眼球は Davidson 液で固定）後、パラフィン切片を作成し、HE 染色した後鏡検した。

副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、大動脈弓、腹部大動脈、大脳皮質、視床核、中脳、大脳髓質、小脳、眼球、大腿骨（骨髄を含む）、胆嚢、心臓、腎臓、肝臓、肺（気管支を含む）、リンパ節（頸部及び腸間膜）、乳腺、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、顎下腺、坐骨神経、骨格筋（大腿二頭筋）、皮膚、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、脾臓、胸骨（骨髄を含む）、精巣及び精巣上体、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、舌、気管、膀胱、膾及び子宮

検体投与に関連する病理組織変化は、200 mg/kg/day 群の雌雄の肝臓に見られた。その変化は軽微～中等度の肝細胞肥大であった。肝細胞はわずかに肥大し、部分的に洞間隙が閉塞されており、いくつかの肝細胞は細胞質につや消し硝子様像を示した。その他のすべての病理組織変化は、自然発生性と考えられ、検体投与とは関連がないものと考えられた。

以上の結果から、本検体の 52 週間経口投与によるイヌ慢性毒性試験における影響として、検体投与に関連する作用は、雌雄 200 mg/kg/day 群での肝細胞肥大、肝重量の増加及び血清 ALP の上昇であった。これらを考慮して、本試験における無影響量は雌雄とも 20 mg/kg/day と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

病理組織検査結果表

臓器	所見	性別	雄				雌			
		投与量 (mg/kg/day)	0	2	20	200	0	2	20	200
検査動物数			4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓	肝細胞肥大		0	0	0	4	0	0	0	4
	単核球浸潤		0	0	0	1	1	2	2	0
腎臓	尿細管石灰化		4	4	4	4	4	4	3	4
	乳頭炎		1	0	1	0	0	0	0	0
	腎盂腎炎		0	0	0	0	0	0	1	0
甲状腺	嚢胞		0	1	0	0	0	1	0	0
	リンパ球浸潤		0	0	0	1	0	1	0	0
	C細胞過形成		0	1	1	1	0	0	0	0
副腎	皮質肥大		1	0	0	0	0	0	0	0
	皮質空胞化		0	0	0	0	0	0	0	1

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) マウスにおける投与による肝薬物代謝酵素活性

(資料A-15)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上のことから、検体は肝臓中 P-450 含量を増加させ、肝薬物代謝酵素を誘導するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

5) ラットにおける原体及び異性体投与による肝薬物代謝酵素活性

(資料A-16)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上のことから、検体は肝臓中 P-450 含量を増加させ、肝薬物代謝酵素を誘導するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

6) V79 細胞を用いた細胞間代謝協同阻害作用

(資料A-17)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上の結果、検体は弱い細胞間代謝協同阻害作用を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

7) ラット肝細胞を用いた細胞間連絡阻害作用

(資料 A-73)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

以上のことから、本検体には細胞間連絡阻害作用があるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

8) マウス及びラットを用いた肝臓内 P-450 の免疫抗体法による検討

(資料 A-18)

以上のことから、検体はマウス及びラットとも高投与群において、肝チトクロム P450 (CYP3A2) 含量を増加させる可能性が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

9) マウスを用いたアルカリ溶出法 DNA 損傷試験

(資料A-74)

以上のことから、検体はマウス肝臓における DNA 損傷性は認められなかったことから、マウス肝細胞 DNA に直接作用して損傷を与えることはないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

10) ラットを用いた慢性毒性／発癌性併合試験における血清エストロゲン及びプロゲステロン
量測定 (資料A-19)

以上のことから、本検体の高投与量投与群の動物体内は性ホルモンの不均衡が生じた環境状態が想定され、また、子宮腺癌発生の原因の一つとして、エストロゲン関与が疑われた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(12) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1) ラットにおける次世代繁殖性試験

(資料A-20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

試験動物: CD系ラット(6週齢)、1群雌雄各30匹、投与開始時体重雄約174g、雌約138g

投与期間: Fo世代: 投与開始からF1児離乳時までの14週間

F1世代: 離乳時からF2児離乳時までの14週間

(1993年8月17日~1994年8月15日)

投与方法: 検体の0、20、400及び8000ppm含有した飼料を自由に摂取させた。検体混入飼料は毎週調製した。

[投与量設定根拠]

検体の投与量は で実施したラット繁殖性予備試験の結果を参考にした。即ち、100、1000、10000及び30000ppmで実施した結果、10000ppm以上の群で親動物の体重増加と摂餌量が抑制され、肝臓重量が増加した。また、30000ppm群で妊娠率低下、児動物生存率と体重増加の抑制が認められた。この結果を参考にして本試験の高投与量は親動物への毒性作用が期待できる8000ppmとし、400及び20ppmとした。

方法及び試験項目:

一般状態及び死亡率; 全動物の一般状態及び生死を観察した。

交配の確認; 交配は雌雄1対1で同居させ、翌日膣栓の存在により確認した。

繁殖性の指標; 下記の指標を算出した。

交尾所要日数=同居開始から交尾成立まで(雌)

交尾率(%)=(交尾動物数/同居動物数)×100(雌雄)

受胎率(%)=(妊娠動物数/交尾動物数)×100

(雌雄, 雄では妊娠させた雄数を分子にする)

妊娠期間=交尾成立から出産まで(雌)

出産率(%)=(生児出産雌数/妊娠雌数)×100

出生率(%)=(生後0日の生児数/生後0日の出生児総数)×100

生後4日の生存率(%)=

(生後4日(児数調整前)の生児数/生後0日の生児数)×100

生後4日以後の生存率(%)=

(生後21日(児数調整後)の生児数/生後4日(児数調整後)の生児数)×100

病理学的検査; 全動物の剖検を実施した。F0及びF1親動物は精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膣、下垂体及び肉眼的病変部について病理標本作製した。

病理組織学的検査を対照群と高投与量群について実施した。なお、病理異常所見がみられた腎では、全群のF0及びF1親動物について実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

方法及び検査項目の概要を下記にまとめた。

世代	Phase 及び期間	作業手順	試験項目
F0	成育 (8 週間)		体重、摂餌量 (週 1 回)
	交配 (2 週間)	交配：雌雄 1 : 1 交尾確認：膣栓または スメアで確認 (妊娠 0 日)	交尾状況確認
	妊娠 (3 週間)		体重：妊娠 0、7、14、20 日 摂餌量：妊娠 0~7 日、7~14 日、14~20 日、0~20 日
	出産		出産状況の観察：生存及び死亡児数、 児性別、児体重
	保育 (3 週間)	児数調整：生後 4 日に 同腹児数を雌雄各 4 匹 に調整	母動物： 体重；授乳第 1、4、7、14、21 日 摂餌量；授乳第 1-4、4-7、7-14、 14-21、1-21 日の各期間 児動物： 体重；授乳第 1、4、7、14、21、28 日
	離乳	継代選抜：各腹より少 なくとも雌雄 1 匹、計 各群雌雄各 30 匹選抜	親動物 (F0 雌雄)：剖検、病理組織学検査 余剰児動物 (F1 雌雄)： 剖検(児数調整時及び継代選抜時)
F1	成育／交配／妊娠 (期間は F0 に順 ずる)	各 Phase の作業手順は F0 に順ずる。	各 Phase の試験項目は F0 に順ずる。
	出産／保育 (期間は F0 に順 ずる)	各 Phase の作業手順は F0 に順ずる。	各 Phase の試験項目は F0 に順ずる。
F2	離乳		親動物 (F1 雌雄)：剖検、病理組織学検査 全児動物 (F2 雌雄)：剖検

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験結果：

世代	親：F0				親：F1			
	0	20	400	8000	0	20	400	8000
投与群 (ppm)	0	20	400	8000	0	20	400	8000
動物数 雄/雌	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30
一般状態								
死亡数	雄1匹 (切迫)		雌1匹		雌1匹 (事故)			
体重			増加抑制 (雌)	増加抑制 (雌雄)				増加抑制 (雌雄)
摂餌量			減少 (雌)	減少 (雌雄)				減少 (雌雄)
交配前 検体摂取量 雄/雌 (mg/kg/day)	0/0	2/2	31/36	618/627	0/0	2/2	34/38	721/738
交尾日数	2.9	3.2	2.4	3.3	2.6	2.5	2.1	3.7
交尾率 (%) 雄/雌	100/100	93.3/96.7	93.3/96.6	93.3/100	93.1/96.6	96.7/96.7	100/100	86.7/96.7
受胎率 (%) 雄/雌	93.3/93.3	86.7/90.0	86.7/89.7	93.3/93.3	82.8/82.8	100/100	96.7/96.7	83.3/93.3
妊娠動物数	28	27	26	28	24	30	29	28
出産率 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
妊娠期間 (日)	21.8	21.9	21.7	22.0	21.8	21.9	21.9	21.9
肉眼的病理検査#								
臓器重量 肝臓 (実重量) 雄/雌				△132/ △125				△127/ △124
病理組織検査 糸球体硬化/ 尿細管変性 (%) 雄/雌	41.4/23.3	50.0/6.7	50.0/10.0	73.3*/13.3	0/0	3.3/0	13.3/0	46.7*/0

▲▼ : p<0.05 △▽ : p<0.01(Dunettの検定) * : p<0.05 (Kolmogorov-Smirnovの検定)

: 所見なし

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

世代	児：F1				児：F2			
	0	20	400	8000	0	20	400	8000
投与量 (ppm)	0	20	400	8000	0	20	400	8000
母動物数	28	27	26	28	24	30	29	28
新生児生存数	12.8	13.4	13.8	12.6	12.7	14.2	13.2	12.1
死産児数	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
外表異常#								
出生率(%)	98.3	98.1	99.2	98.6	98.4	98.4	99.5	99.4
出生時性比 雄/雌	0.90	0.93	0.88	0.93	0.95	1.02	1.16	0.86
4日目生存率(%) (児数調整前)	98.0	99.2	98.6	98.0	98.4	98.8	98.4	95.0
4日以降生存率(%)	99.5	100	99.5	100*	99.5	99.2	99.6	100
出産時体重(g)	6.7	6.8	6.5	6.5	6.7	6.7	6.9	6.5
4日目体重(g)#	9.8	10.0	9.6	9.0**	10.0	9.6	10.1	8.9**
7日目体重(g)	15.5	16.1	15.8	13.3**	6.5	16.4	16.5	13.4**
14日目体重(g)	31.9	33.0	32.4	24.6**	34.2	34.4	33.9	24.0**
離乳時体重(g)	50.3	52.3	50.9	37.3**	51.7	53.9	53.0	35.8**
肉眼的病理所見#								

* : p<0.05, ** : p<0.01(Dunnnettの検定) # : 出産後4日目の児動物選抜前体重

: 所見なし

F0及びF1世代を通して、検体の0、20、400及び8000 ppmを投与した結果、親動物については、8000 ppm群において体重増加と摂餌量の抑制、肝重量の増加(F0, F1)及び病理組織検査における糸球体硬化/尿細管変性(腎ネフロパチー)の増加(F0及びF1雄)がみられた。400 ppm群においては、僅かな体重増加と摂餌量の抑制(F0雌)がみられた。交尾率、受胎率、出産率については全投与群とも対照群との差は認められなかった。児動物については、8000 ppm群において授乳第4日以降の体重増加が抑制(F1, F2)された。児動物の外表検査、生存率及び肉眼的病理検査については、全投与群には検体に起因すると考えられる所見は認められなかった。

以上の結果から、検体の2世代にわたる飼料混入投与によるラット繁殖試験において、親動物における無影響量は20 ppm(F0:雄2 mg/kg/day、雌2 mg/kg/day、F1:雄2 mg/kg/day、雌2 mg/kg/day)、児動物における無影響量は400 ppm(F0:雄31 mg/kg/day、雌36 mg/kg/day、F1:雄34 mg/kg/day、雌38 mg/kg/day)と判断された。なお、繁殖能に及ぼす影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) ラットにおける催奇形性試験

(資料A-21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992年

検体純度：

試験動物：SD系ラット（11週齢）、1群雌25匹（妊娠第0日の体重216~271g）

試験期間：交配から帝王切開まで20日間（1992年5月12日~1992年6月4日）

試験方法：検体はコーン油中に懸濁し、0, 5, 100及び1000 mg/kgの投与レベルで妊娠6日から15日までの10日間毎日1回経口投与した。雌雄を同居させ、膣栓の認められた日を妊娠0日とした。

〔投与量設定根拠〕

検体の投与量は、で実施したラット催奇形性予備試験の結果を参考にした。即ち、125~1000 mg/kgをラットに妊娠6日から15日までの10日間、毎日1回経口投与した結果、全投与群において、母獣の体重減少と摂餌量の減少が認められた。発生毒性はみられなかった。従って、本試験では親動物への毒性が期待できる1000 mg/kgを高投与量とし、100及び5 mg/kgとした。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日観察し、体重及び摂餌量を妊娠0、6~16及び20日に測定した。

妊娠20日に二酸化炭素吸入で屠殺後帝王切開し、剖検を行い、卵巣及び子宮の状態を観察して黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡吸収胚数を検査した。

生存胎児；性別、体重測定、外形異常、内臓及び骨格検査をおこなった。

試験結果：次頁に示した。

一般状態観察において、100 mg/kg以上の群でラ音が観察され、さらに1000 mg/kg群では流涎と体表面上の汚れ、摂餌量の減少が見られた。妊娠20日における剖検では、投与に起因する所見は見られなかった。また、投与に起因すると思われる胎児奇形及び変異はなかった。

以上の結果から、本検体を妊娠ラットに投与したときの親動物及び胎児における無影響量は、各々5 mg/kg/day及び1000 mg/kg/dayと判断された。また高投与量1000 mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を起こさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	5	100	1000	
動物数 (/群)		25	25	25	25	
親	一般状態			ラ音	ラ音 体表面汚れ 流涎	
	死亡率 (%)	0	0	0	0	
	体重変化 (g) (妊娠 0-20 日)	144±13.8	145±14.2	145±18.5	144±14.8	
	摂餌量 (g/日) (妊娠 6-16 日)	19±1.7	19±1.7	19±2.3	17±1.8**	
	妊娠動物数	22	24	25	25	
	解剖時の肉眼観察					
動物	着床所見	黄体数	18.0±2.3	16.7±2.2	17.6±2.5	17.1±2.2
		着床数	15.9±1.5	15.0±1.7	15.8±2.1	16.1±1.6
		生存胎児数	14.5±1.6	14.1±1.8	14.8±2.3	15.2±1.7
		着床後損失数	1.4±1.5	0.9±1.0	1.0±0.7	0.9±1.2
		着床前損失数	2.1±1.6	1.7±1.7	1.8±2.4	1.0±1.2
胎	体重 (g)	3.4±0.2	3.5±0.2	3.4±0.1	3.4±0.2	
	性比 (雄/雌)	1.05	1.07	1.05	1.00	
	検査動物数	318	339	371	380	
	外形異常	小眼球(1)	糸状尾(1)		糸状尾(1) 肛門閉鎖(1)	
界	内臓異常	検査動物数	318	339	371	380
		奇形 変異	逆転位(1) 左腎尿管欠損(1) 水頭症(1)	子宮卵巢変位(1)		逆転位(1)
動物	骨格異常	検査動物数	318	339	371	380
		奇形 変異	脊椎奇形(1) 第 5, 6 肋骨分節未 化骨(31), 第 14 肋骨痕跡(5), 第 13 肋骨化骨不全 (9), 第 7 頸肋骨 (3), 曲肋骨(2)	脊椎發育不全(1) 第 5, 6 肋骨分節未 化骨(56), 第 14 肋骨痕跡(5), 第 13 肋骨化骨不全 (8), 曲肋骨(5)	脊椎奇形(2) 第 5, 6 肋骨分節未 化骨(59), 第 14 肋骨痕跡(4), 第 13 肋骨化骨不全 (12), 第 7 頸肋骨(1), 曲肋骨(4)	第 14 肋骨(1), 第 5, 6 肋骨分節未化 骨(81), 第 14 肋骨 痕跡(7), 第 13 肋 骨化骨不全(10), 第 7 頸肋骨(4)

カッコ内の数値は該当する例数、** : p<0.01 (Dunnnett の検定)

胎児性比 : χ^2 検定、胎児変異奇形発生数 : Fisher の確率検定、着床後損失数 : Mann-Whitney の U 検定、
黄体数、総着床数、生存胎児数及び平均母獣、胎児体重 : Dunnnett の検定

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3) ウサギにおける催奇形性試験

(資料A-22)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1993年

検体の純度:

試験動物: ニュージーランドホワイト系ウサギ (5~6ヶ月齢)、1群雌18~20匹、
交配時体重 2.65~3.90 kg

試験期間: 交配から帝王切開まで28日間 (1992年6月1日~1992年7月14日)

試験方法: 検体は1%CMC中に懸濁 (Tween 80 0.1%混入) し、0, 5, 100及び1000 mg/kgの投与レベルで妊娠6日から18日までの13日間毎日1回経口投与した。雌雄を同居させ、翌日交尾の事実が認められた日を妊娠0日とした。

[投与量設定根拠]

検体の投与量は実施したウサギの催奇形性予備試験の結果を参考にした。即ち、100~1000 mg/kgをウサギに妊娠6日から18日までの13日間毎日1回経口投与した結果、1000 mg/kg群で母動物の体重増加抑制、500 mg/kg以上の群で母動物の摂餌量低下が認められた。本試験では、親動物への毒性が期待できる1000 mg/kgを高投与量とし、100及び5 mg/kgとした。

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, 9, 12, 15, 18, 23及び28日に測定した。摂餌量を毎日測定した。妊娠28日に空気を耳静脈内に注入して屠殺後帝王切開し、剖検を行い、卵巣及び子宮の状態を観察して黄体数、着床数、生存胎児数及び死亡吸収胚数を検査した。

生存胎児: 性別、体重測定及び外形異常の観察をおこなった。全胎児について内臓検査を実施後、骨格検査を行った。

結果: 次頁に示した。

親動物: 1000 mg/kg群で死亡が2例及び早産が2例認められた。また、同群では体重増加及び摂餌量の有意な低下が認められた。5 mg/kg群で早産が1例認められたが、他の検査で毒性徴候がみられなかったこと、及び100 mg/kg群では早産がなかったことより、検体投与の影響とは考えられなかった。

胎児: 検体投与に起因すると思われる内臓及び骨格異常は認められなかった。

以上の結果から、本検体を妊娠ウサギに投与したときの親動物及び胎児における無影響量は、各々100 mg/kg/day及び1000 mg/kg/dayと判断され、また、高投与量1000 mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を起こさないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		0	5	100	1000	
動物数 (/群)		19	18	18	20	
親	一般状態	咬合不正(1) [#]	早産(1) 右眼混濁(1)	後肢麻痺(1) [#]	早産(2)鎮静(3) 眼異常(1) [#] 下痢(1) [#]	
	死亡率 (%)	0	0	0	11.1(2)	
	体重変化 (kg) (妊娠 0-28 日)	0.87	0.89	0.88	0.46*	
	摂餌量 (g) (妊娠 6-15 日)	1493	1548	1522	619**	
動物	妊娠動物数	18	18	16	17	
	解剖時の肉眼観察					
	着床所見	黄体数	10.9±1.5	10.9±1.8	9.8±2.1	9.6±2.5
		着床数	9.4±2.4	9.1±2.4	8.6±1.8	8.3±2.6
		生存胎児数	8.1±2.4	7.4±2.1	7.5±2.0	6.0±3.5
吸収・死亡率(%)		14.5	15.6	12.0	28.0	
胎児動物	体重 (g) 雄		45.3±3.6	45.6±5.8	43.7±6.6	41.4±7.4
	雌		45.2±4.8	43.9±4.8	43.3±6.0	41.9±6.9
	性比 (雄/雌)		1.18	1.21	0.74	0.81
	検査動物数		146	126	120	78
	外見異常			無頭蓋(1)	腰椎ヘルニア(1)	
	内臓異常	奇形変異		小眼球(1)	心形態異常(1)	心形態異常(1)
骨格異常	奇形 変異	胸骨癒合(1) 胸骨癒合と分離(1) 頸椎奇形(1) 尾椎奇形(1) 胸骨分節非対称(1) 胸骨分節過剰(5) 胸骨分節分離(3) 胸腰椎体(1)	頸椎奇形(1) 尾椎奇形(4) 肋骨分離(1) 胸骨分節過剰(4) 胸骨分節分離(1) 胸腰椎体(1)	胸骨癒合(1) 胸椎奇形(1) 胸骨分節過剰(7) 胸骨分節分離(2)	胸骨癒合(1) 肋骨癒合(1) 胸骨分節過剰(1) 胸骨分節分離(2) 頸肋骨(1) 胸腰椎体(1)	

: 検体投与開始前に試験群から取り除いた。カッコ内の数値は該当する例数

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Dunnett もしくは Scheffe の多重比較検定、または順位和を用いた Dunnett 型もしくは Scheffe 型の多重比較検定)

胎児性比 : χ^2 検定

胎児奇形発生数 : Fisher の確率検定

胎児吸収及び死亡率 : Wilcoxon の順位和検定

黄体数・総着床数・生存胎児数及び胎児体重 : Dunnett もしくは Scheffe の多重比較検定または順位和を用いた Dunnett 型もしくは Scheffe 型の多重比較検定

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(13) 変異原性

1) DNA 損傷誘発性試験 (rec-assay)

(資料A-23)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

試験方法 : 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17) 及び欠損株 (M-45) を用い、DNA 損傷誘発性を検討した。検体を dimethylsulfoxide (DMSO) に溶解し、代謝非活性化には、最終濃度が 272, 544, 1088, 2175, 4350 及び 8700 μ g/disc となるよう設定した。代謝活性化では、S-9 mix を添加して最終濃度が 136, 272, 544, 1088, 2175 及び 4350 μ g/disc となるように設定した。なお、代謝非活性化の場合には、陰性対照として kanamycin、陽性対照として、mitomycin を用い、代謝活性化の場合には、陽性対照として Tryptophan-P-1 (Trp-p-1) を用いた。

[濃度設定根拠] 濃度設定のための予備試験には、溶解限度である 8700 μ g/disc を最高濃度として、代謝非活性化には、最終濃度が 89.1, 223, 557, 1392, 3480 及び 8700 μ g/disc となるよう設定した。代謝活性化では、代謝非活性化の半分量である最終濃度が 44.5, 111, 278, 696, 1740 及び 4350 μ g/disc となるように設定した。この結果に基づいて本試験における濃度を決定した。

試験結果 : 結果を次頁の表に示す。

検体処理した群では、いずれの濃度においても生育阻止は認められず、阻止帯に差はみられなかった。一方、陽性対照群 (mitomycin) では両株間に明らかな差がみとめられた。

以上の結果から、検体は DNA 損傷性を有しないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

代謝非活性化

被験物質	濃度 μg/disc	S9 mix	阻止帯の径(mm)		差 (mm)	判定
			M-45	H-17		
溶媒対照 DMSO	—	—	0.0	0.0	0.0	—
検 体	272	—	0.0	0.0	0.0	—
	544	—	0.0	0.0	0.0	—
	1088	—	0.0	0.0	0.0	—
	2175	—	0.0	0.0	0.0	—
	4350	—	0.0	0.0	0.0	—
	8700	—	0.0	0.0	0.0	—
Kanamycin*	0.3	—	5.5	4.8	0.7	—
Mitomycin**	0.02	—	16.1	0.0	16.1	+

代謝活性化

被験物質	濃度 μg/disc	S9 mix	阻止帯の径(mm)		差 (mm)	判定
			M-45	H-17		
溶媒対照 DMSO	—	+	0.0	0.0	0.0	—
検 体	136	+	0.0	0.0	0.0	—
	272	+	0.0	0.0	0.0	—
	544	+	0.0	0.0	0.0	—
	1088	+	0.0	0.0	0.0	—
	2175	+	0.0	0.0	0.0	—
	4350	+	0.0	0.0	0.0	—
Tryp-P-1**	0.02	+	15.0	0.0	15.0	+

* : 陰性対照 ** : 陽性対照

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) ネズミチフス菌を用いた復帰変異原性試験

(資料A-24)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体を DMSO に溶解させた。

[用量設定] TA100 株を用いた予備試験の結果、毒性作用が認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 :

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/ plate				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 DMSO		—	11	103	7	23	13
検体	100	—	12	83	4	15	12
	333	—	11	94	5	19	16
	667	—	14	83	4	17	14
	1000	—	9	95	3	22	16
	3330 P	—	11	78	8	15	17
	5000 P	—	10	107	5	22	18
陽性 対照	化合物名	—	SA 382	SA 452	ICR 249	2NF 147	2NF 133
対照 DMSO		+	12	112	10	28	35
検体	100	+	10	117	11	24	23
	333	+	12	113	7	26	21
	667	+	9	103	10	26	29
	1000	+	11	113	7	21	26
	3330 P	+	15	114	8	26	20
	5000 P	+	12	121	7	22	25
陽性 対照	化合物名	+	2AA 226	2AA 1016	2AA 158	2AA 1336	2AA 1156

陽性対照：

2AA : 2-aminoanthracene (処理濃度/2.5 μ g/plate)

2NF : 2-nitrofluorene SA : sodium azide ICR : ICR-191 (処理濃度/2.0 μ g/plate)

P: 検体の析出

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) 大腸菌を用いた復帰変異原性試験

(資料A-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

検体の純度：

方 法 ：トリプトファン要求性の大腸 *E. coli* WP 2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系(S9 mix)の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体を DMSO に溶解させた。試験濃度は 156 から 5000 μ g/plate の範囲で 6 用量とした。試験は 2 連制で実施した。

[用量設定] 予備試験の結果、生育阻害作用が認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 ：得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate
			塩基置換型
			WP2uvrA
対照(DMSO)		—	18
検体	156	—	18
	313	—	20
	625	—	16
	1250 P	—	23
	2500 P	—	21
	5000 P	—	21
陽性対照 (AF-2)	0.01	—	109
対照(DMSO)		+	19
検体	156	+	17
	313	+	18
	625	+	21
	1250 P	+	23
	2500 P	+	21
	5000 P	+	21
陽性対照 (2-AA)	10.0	+	812

AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2-AA : 2-aminoanthracene

P:検体の析出

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞における *in vitro* 染色体異常試験

(資料A-26)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993 年

検体の純度:

方法: チャイニーズハムスターの継代した卵巣細胞 (CHO) を用いた。検体を DMSO に溶解した。予備毒性試験として S9 mix 非存在下 (直接法) 及び S9 mix 存在下 (代謝活性化法) とともに検体を 0.083、0.250、0.833、2.50、8.33、25.0、83.3、250、833 及び 2500 μ g/mL の用量で処理した。その結果、直接法では 25.0 μ g/mL 以上の処理群で単層細胞形成減少等の細胞毒性、83.3 μ g/mL 以上の処理群で有糸分裂の減少が認められ、代謝活性化法では 250 μ g/mL 以上の処理群で単層細胞形成減少等の細胞毒性、833 μ g/mL 以上の処理群で有糸分裂の減少が認められた。

以上の結果から、下記の検体濃度で本試験を行った。

	処理	標本作成	検定に使用した濃度	
1	代謝活性化法	6 時間	26 時間目	167.5, 825, 1675, 2500 μ g/mL
2	直接法	6 時間	26 時間目	167.5, 825, 1675, 2500 μ g/mL
3	直接法	24 時間	24 時間目	25.0, 82.5, 167.5, 250 μ g/mL
4	直接法	48 時間	48 時間目	25.0, 82.5, 167.5, 250 μ g/mL

各濃度で plate 当たり 100 個の中期分裂像を 2 plates 観察した。

染色体損傷はギャップ、染色分体型切断、染色体型切断、染色分体型交換、染色体型交換、その他に分類し、計測した。倍数性を示す細胞についても計測した。調整多重比較を伴った Fisher の検定を用い、有意に高い値を持たないものを陰性とした。

陽性対照として直接法では mitomycin C、代謝活性化法では cyclophosphamide を用いた。

結果:

直接法の 24 及び 48 時間処理群では染色体異常の増加または倍数体の発生率に有意な増加は認められなかった。直接法の 6 時間処理群では 167.5 及び 2500 μ g/mL 群で溶媒対照と比較してわずかに ($p < 0.05$) 有意な反応が見られたが、陰性対照と比較すると有意差はなかった。代謝活性化法では 825, 1675 及び 2500 μ g/mL 群で染色体異常、1675 及び 2500 μ g/mL 群で倍数体の発生率に有意な増加が認められた。

一方、陽性対照の mitomycin C 及び cyclophosphamide では、異常細胞出現頻度の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体はチャイニーズハムスターの卵巣細胞 (CHO) において直接法では染色体異常誘発性を示さないが、代謝活性化法では示すと考えられた。

S 9 M i x	処 理 時 間	標 本 作 成 時 間	試 験 区	濃 度 (μ g/ mL)	観 察 細 胞 数	倍 数 体 ^{*1}		構 造 的 異 常 ^{*1}						判 定			
						細 胞 数	判 定	gap	染 色 分 体 型			染 色 体 型			そ の 他		
									ctb	ctc	osb	osb	cse		gap 含 ま な い	gap 含 む	
-	6	24	無処理		200	4(2.0)	-	1(0.5)	3(1.5)	4(2.0)	3(1.5)	0	7(3.5)	8(4.0)	-		
			溶媒対照(DMSO)	10.0 ^{*2}	200	6(3.0)	-	1(0.5)	0	0	2(1.0)	3(1.5)	0	3(1.5)	3(1.5)	-	
			検体処理	167.5	200	5(2.5)	-	0	1(0.5)	0	0	2(1.0)	2(1.0)	0	3(1.5)	3(1.5)	-
				82.5	200	9(4.5)	-	0	10(5.0)	4(2.0)	6(3.0)	6(3.0)	19(9.5)	0	19(9.5)	19(9.5)	-
				167.5	200	29(14.5)	+	3(1.5)	23(11.5)	6(3.0)	1(0.5)	30(15.0)	30(15.0)	0	30(15.0)	30(15.0)	-
				2500	200	45(22.5)	-	4(2.0)	27(13.5)	16(8.0)	4(2.0)	40(20.0)	40(20.0)	0	38(19.0)	40(20.0)	-
陽性対照(CP)	1.0	25	3(3.0) ^{*3}	-	0	6(24.0)	4(16.0)	3(12.0)	9(36.0)	9(36.0)	0	9(36.0)	9(36.0)	+			
-	6	24	無処理		200	5(2.5)	-	0	0	2(1.0)	4(2.0)	0	4(2.0)	4(2.0)	-		
			溶媒対照(DMSO)	10.0 ^{*2}	200	5(2.5)	-	0	0	0	2(1.0)	2(1.0)	0	2(1.0)	2(1.0)	-	
			検体処理	167.5	200	2(1.0)	-	0	2(1.0)	4(2.0)	5(2.5)	10(5.0)	10(5.0)	0	10(5.0)	10(5.0)	-**
				82.5	200	5(2.5)	-	0	1(0.5)	2(1.0)	2(1.0)	2(1.0)	0	2(1.0)	2(1.0)	-	
				167.5	200	7(3.5)	-	2(1.0)	2(1.0)	1(0.5)	0	5(2.5)	7(3.5)	0	5(2.5)	7(3.5)	-
				2500	200	10(5.0)	-	2(1.0)	5(2.5)	3(1.5)	3(1.5)	12(6.0)	14(7.0)	0	12(6.0)	14(7.0)	-**
陽性対照(DMSO)	10.0 ^{*2}	200	5(2.5)	-	0	1(0.5)	0	2(1.0)	3(1.5)	0	3(1.5)	3(1.5)	-				
-	24	48	無処理		200	2(1.0)	-	0	0	1(0.5)	1(0.5)	0	2(1.0)	2(1.0)	-		
			溶媒対照(DMSO)	10.0 ^{*2}	200	3(1.5)	-	0	0	1(0.5)	1(0.5)	0	4(2.0)	4(2.0)	-		
			検体処理	25.0	200	4(2.0)	-	0	0	0	0	1(0.5)	1(0.5)	0	1(0.5)	1(0.5)	-
				82.5	200	6(3.0)	-	0	1(0.5)	1(0.5)	0	6(3.0)	6(3.0)	0	6(3.0)	6(3.0)	-
				167.5	200	2(1.0)	-	0	0	0	0	3(1.5)	4(2.0)	0	4(2.0)	4(2.0)	-
				250	200	1(1.0) ^{*3}	-	0	4(16.0)	7(28.0)	12(48.0)	14(56.0)	14(56.0)	0	14(56.0)	14(56.0)	+
陽性対照(DMSO)	10.0 ^{*2}	200	1(0.5)	-	0	0	0	2(1.0)	2(1.0)	0	2(1.0)	2(1.0)	-				
-	48	48	無処理		200	3(1.5)	-	0	0	0	0	0	0	0	-		
			溶媒対照(DMSO)	10.0 ^{*2}	200	5(2.5)	-	0	0	0	0	1(0.5)	0	1(0.5)	1(0.5)	-	
			検体処理	25.0	200	3(1.5)	-	0	0	0	0	3(1.5)	3(1.5)	0	3(1.5)	3(1.5)	-
				82.5	200	6(3.0)	-	0	2(1.0)	0	0	4(2.0)	4(2.0)	0	4(2.0)	4(2.0)	-
				167.5	200	0	-	0	0	0	0	5(2.5)	5(2.5)	0	5(2.5)	5(2.5)	-
				250	200	0	-	0	0	0	0	5(2.5)	5(2.5)	0	5(2.5)	5(2.5)	-
陽性対照(MMC)	0.04	25	1(1.0) ^{*3}	-	0	4(16.0)	7(28.0)	12(48.0)	14(56.0)	14(56.0)	0	14(56.0)	14(56.0)	+			

*1: () 内の数値は発生率(%)
 *2: DMSOの用量は 10.0 μ L/mL
 *3: 陽性対照の倍率については100細胞観察した。
 異常 gap: ギャップ ctb: 染色体型切斷 ctc: 染色体型交換 osb: 染色体型交換 cse: 染色体型交換 断片化等
 判定 +: 溶媒対照群と比較し有意差あり(p<0.01) -: 有意なし ** : 有意差なし * : 有意差あり(p<0.05)で無処理と比較し有意差なし
 陽性対照 CP: cyclophosphamide MMC: mitomycin C

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

5) マウスリンホーマ細胞を用いた突然変異試験

(資料A-27)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体純度：

試験方法：マウスリンホーマ細胞 (L5178Y) を用い、3-methylcholanthreneで誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下でチミジンキナーゼ遺伝子座のTK+/-からTK-/-の変異を指標とした前進性突然変異を検索した。検体に最も適した溶媒としてDMSOを選択した。処理容量は1% v/vとした。

S9 mixの非存在下では検体を50~1500 μ g/mLの範囲の8濃度段階で4時間処理し、S-9 mix存在下で検体を5~300 μ g/mLの範囲の7用量で4時間処理した。検体処理後新しい培地に交換し、48時間の発現時間培養後、マイクロプレートに播種した。10~14日後にコロニーを計数した。検体処理後の相対生存率ならびに検体処理48時間後のコロニー形成数を測定し、突然変異誘発頻度の算出に用いた。突然変異コロニーについては、その大きさについても解析した。

何れの場合も溶媒対照ならびに陽性対照 (代謝非活性化の場合には、EMS、MMS、代謝活性化の場合には、3-MC) を同時に試験し、検体処理群および陽性対照群については各濃度あたり2枚のプレートを用い、溶媒対照については3枚のプレートを用いた。

[用量設定根拠]

培地中の検体濃度1.95~1000 μ g/mLの範囲で10段階の濃度を設定し、予備細胞毒性試験を実施した。S-9 mixの存在下および非存在下で4時間検体を処理し、24時間後に細胞数を計測した。その結果、代謝非活性化の場合には、細胞毒性 (細胞増殖抑制) が、250 μ g/mL以上で観察され、1000 μ g/mLではその相対生存率は約20.1%であった。一方、代謝活性化では1000 μ g/mLで細胞が全て死滅し、250 μ g/mLではその相対生存率は19.2%であった。

以上の結果から、本試験における最高濃度をS9 mix非存在下と存在下で各々1500及び300 μ g/mLとした。

結果：結果を次頁の表に示した。

S-9 mix非存在下では、1500 μ g/mLで突然変異頻度が増加したが、相対生存率が6.7%と極めて低かったことから、正当な評価ができないと判断され、評価の対象から削除した。1200 μ g/mLではその頻度が13.2%と高く、評価の対象になり得ると判断された。本試験の場合、突然変異頻度が、「 143.8×10^{-6} 」を上回る場合に突然変異誘発能があると判断されるが、検体では上記条件を満たす濃度群では、それ以下であった。

S9 mix存在下では、各濃度群とも上記の判断基準となる突然変異頻度を超えることはなかった。一方、陽性対照群では、明らかな突然変異頻度の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において遺伝子突然変異誘発性はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

代謝非活性化による結果を次表に示す。

薬物	濃度 (µg/ml)	処理時間 (h)	S9 mix	総変異コロニー数	総生存コロニー数	相対クローニング率(%)	相対生存率(%)	突然変異頻度 (×10 ⁻⁶)
陰性対照 (DMSO)	0	4	-	225	625	100	100	71.9
検体	50	4	-	210	586	93.8	64.0	71.7
	400			249	590	94.5	27.6	84.4
	500			197	505	80.9	25.7	78.0
	600			226	547	87.6	25.2	82.6
	800			232	464	74.3	15.1	100
	1000			---	527	84.4	15.5	---
	1200			292	513	82.1	13.2	113.8
陽性対照 (EMS)	0.25#	4	-	1273	559	89.5	70.9	455.5
	0.40#			1554	441	70.6	58.2	704.8
陽性対照 (MMS)	10##	4	-	754	311	49.8	12.3	484.9
	15##			1039	339	54.3	32.9	613.0

: µ L/mL ## : µ L/mL

* : コンタミネーションによりデータ得られず

陰性対照/1% DMSO

陽性対照/EMS : Ethylmethane sulfonate

MMS : Methylmethane sulfonate

代謝活性化による結果を次表に示す。

薬物	濃度 (µg/mL)	処理時間 (h)	S9 mix	総変異コロニー数	総生存コロニー数	相対クローニング率(%)	相対生存率(%)	突然変異頻度 (×10 ⁻⁶)
陰性対照 (DMSO)	0	4	+	285	733	100	100	77.6
検体	5	4	+	281	665	90.7	65.9	84.5
	10			295	644	87.8	76.9	91.6
	50			395	669	91.2	64.4	118.1
	100			320	726	99.0	51.4	88.2
	200			---	606	82.7	16.4	---
	250			374	644	87.8	14.6	116.1
	300			406	661	90.2	10.1	122.8
陽性対照 (MCA)	2.50	4	+	---	472	64.4	37.1	---
	4.00			1575	395	53.8	21.1	797.5

* : コンタミネーションによりデータ得られず

陰性対照/1% DMSO

陽性対照/MCA : 3-methylcholanthrene

(申請者註：報告書によれば、突然変異頻度が $<143.8 \times 10^{-6}>$ を上回る場合に、突然変異誘発能があると判断される。)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

6) マウスを用いた小核試験

(資料A-28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体の純度：

試験動物：ICR 系マウス、1 群雌雄各 5 匹、約 8 週齢（体重雄 27.9～38.5 g 雌 21.0～29.9 g）

方法：検体をコーン油中に懸濁し、1250、2500 及び 5000 mg/kg の投与量で、単回強制経口投与した。

陽性対照物質として cyclophosphamide、陰性対照物質として溶媒を用いた。検体投与群は 24、48、72 時間後に、溶媒対照群及び陽性対照群は投与 24 時間後にマウスを屠殺し脛骨より骨髓細胞を吸引抽出し塗抹標本を作成した。標本をメタノール固定し、May-Grunwald 溶液染色及び Giemsa 染色した後、鏡検により各動物の小核赤血球数及び正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合について計数した。小核出現頻度は視野中の多染性赤血球に対する百分率で示した。

[用量設定] 予備試験の結果、およその最大許容中毒量と考えられる 5000 mg/kg を最高投与量とし、以下 2500、1250 mg/kg とした。

試験結果：得られた結果を次頁の表に示す。

陽性対照群では多染性赤血球の小核出現数が有意に増加したのに対し、検体投与群では有意な増加は見られなかった。また、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合も正常であった。

以上の結果から、検体は骨髓細胞に対し細胞遺伝学的影響を誘起しないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

屠殺時間	化合物	投与量 (mg/kg)	小核出現頻度 [#] (平均±S.D.)			PCE/NCE 比 ^{##} (平均±S.D.)	
			雄	雌	合計	雄	雌
24 時 間	溶媒対照	—	0.06±0.02	0.04±0.04	0.05±0.02	0.54±0.16	0.74±0.17
	検 体	1250	0.06±0.06	0.10±0.05	0.08±0.04	0.40±0.18	0.94±0.11
		2500	0.08±0.02	0.06±0.02	0.07±0.02	0.27±0.09	1.11±0.25
		5000	0.00±0.00	0.06±0.04	0.03±0.02	0.75±0.11	1.01±0.19
	陽性対照 (CP)	80	2.72±0.39*	1.38±0.28*	2.05±0.32*	0.36±0.14	0.65±0.14
48 時 間	検 体	1250	0.00±0.00	0.02±0.02	0.01±0.01	0.62±0.15	0.81±0.21
		2500	0.02±0.02	0.04±0.02	0.03±0.02	0.19±0.05	0.70±0.10
		5000	0.04±0.02	0.04±0.02	0.04±0.02	0.30±0.11	0.56±0.18
72 時 間	検 体	1250	0.02±0.02	0.02±0.02	0.02±0.01	0.54±0.15	1.02±0.40
		2500	0.00±0.00	0.04±0.02	0.02±0.01	0.70±0.19	0.75±0.05
		5000	0.08±0.04	0.00±0.00	0.04±0.02	0.56±0.11	1.32±0.35

陽性対照 (CP) : cyclophosphamide

* : p<0.05 (Tukey's Studentized range test)

: 多染性赤血球 1000 個中で小核を有するものの割合(%)

: 多染性赤血球数 (PCE) / 正染性赤血球数 (NCE)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

7) ラットを用いた小核試験

(資料A-29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

試験動物: Crj:CD(SD)系ラット、1 群雄 6 匹、8 週齢、体重 282~301 g

方法: 検体をコーン油に懸濁し、650, 1300, 2600 mg/kg の投与量で、1 日 1 回 2 日間腹腔内投与した。

検体の用量は純度が 100%となるよう換算して求めた。陰性対照物質として投与媒体を検体と同様に投与し、陽性対照物質として mytomycin C を 1 回尾静脈注射した。最終投与 24 時間後にラットを屠殺し、大腿骨から骨髓細胞を、牛胎仔血清を用いて洗い出し、塗抹標本を作成した。標本をメタノール固定し、アクリジンオレンジ染色した後、鏡検により各動物の多染性赤血球 1000 個中の小核赤血球数および赤血球 1000 個中の多染性赤血球の割合について計数した。

[用量設定] 予備試験の結果、最大耐量付近と考えられる 2600 mg/kg を最高用量とし、以下 1300、650 mg/kg とした。

試験結果 : 得られた結果を次表に示す。

化合物	投与量 (mg/kg)	動物 数	観察多染性 赤血球数	小核出現頻度 [#] (平均±SD)	PCE/NCE 比 ^{##} (平均±SD)
陰性対照	-	6	6000	0.25±0.14	67.5± 6.8
検 体	650	6	6000	0.27±0.14	62.7± 8.5
	1300	6	6000	0.42±0.15	63.6±10.0
	2600	6	6000	0.40±0.17	64.1± 6.2
陽性対照	2	6	6000	4.82±1.15**	51.9±13.5*

* : p<0.05 ** : p<0.01

小核多染性赤血球出現頻度 ; Kastenbaum and Bowman の推計学的方法

多染性赤血球の割合 ; Dunnett の t 検定

: 多染性赤血球 1000 個中で小核を有するものの割合(%)

: 多染性赤血球数 (PCE) / 正染性赤血球数 (NCE) (%)

検体投与群において、小核出現頻度、多染性赤血球数とも陰性対照に対して有意な変化はみられなかった。一方、陽性対照群では小核出現頻度は陰性対照に対して有意な増加を示し、多染性赤血球数も陰性対照に対して有意な減少を示した。

以上の結果から、検体のラット骨髓細胞に対する小核誘発性はないものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はタミアイ化学工業株式会社にある。

8) KIH-6127 E 体の細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 A-30)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 : 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	33	11	131	10	13	29
検 体	50	—	40	11	120	11	11	23
	158	—	38	12	110	10	8	27
	500	—	34	12	106	9	9	26
	1580	—	34	9	104	10	9	26
	5000	—	36	6	85	8	7	9
対照(DMSO)		+	39	13	127	11	15	30
検 体	50	+	40	10	67	14	14	28
	158	+	43	10	96	13	13	28
	500	+	35	11	100	9	11	29
	1580	+	34	12	91	14	14	28
	5000	+	37	7	64	8	7	13
陽 性 対 照	ENNG	2	—	232				
	SA	2	—		490	879		
	9-A	80	—			388		
	2-N	1	—					109
		2	—				116	
	2-A	2	—		13			
			+		246			
		10	—	37				
	+		144					
	B[a]P	5	—		133	17	10	23
+				458	96	96		

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	38	12	102	10	11	25
検 体	50	—	28	9	99	8	13	27
	158	—	35	9	88	11	12	15
	500	—	39	12	93	13	13	22
	1580	—	35	14	97	8	11	22
	5000	—	40	9	57	4	6	15
対照(DMSO)		+	37	14	94	11	12	26
検 体	50	+	35	8	87	12	13	26
	158	+	36	13	100	7	10	25
	500	+	38	10	97	8	12	25
	1580	+	34	12	89	9	13	21
	5000	+	37	4	35	6	8	10
陽 性 対 照	ENNG	2	—	265				
	SA	2	—		540	802		
	9-A	80	—			267		
	2-N	1	—					120
		2	—				197	
	2-A	2	—		16			
			+		209			
		10	—	36				
			+	138				
	B[a]P	5	—		114	7	10	19
+				335	170	117	437	

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

9) KIH-6127 Z 体の細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料 A-31)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9-mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 : 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		—	33	11	131	10	13	29
検 体	50	—	39	10	96	10	7	23
	158	—	38	12	100	12	11	30
	500	—	36	9	97	8	9	27
	1580	—	34	10	102	10	14	26
	5000	—	25	8	53	7	7	16
対照 (DMSO)		+	39	13	127	11	15	30
検 体	50	+	29	12	114	10	10	26
	158	+	38	11	111	13	11	24
	500	+	43	9	125	11	12	30
	1580	+	39	10	116	9	13	28
	5000	+	34	6	50	6	7	10
陽 性 対 照	ENNG	2	—	232				
	SA	2	—		490	879		
	9-A	80	—			388		
	2-N	1	—					109
		2	—				116	
	2-A	2	—		13			
			+		246			
		10	—	37				
			+	144				
	B[a]P	5	—			133	17	10
+					458	96	96	519

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/ plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		—	38	12	102	10	11	25
検 体	50	—	27	12	116	11	10	20
	158	—	30	12	100	10	12	18
	500	—	35	11	111	11	11	20
	1580	—	38	11	85	9	13	21
	5000	--	31	5	56	5	8	12
対照 (DMSO)		+	37	14	94	11	12	26
検 体	50	+	41	15	95	12	14	24
	158	+	39	14	87	10	11	27
	500	+	37	14	97	10	12	27
	1580	+	38	10	92	11	11	28
	5000	+	32	4	51	6	9	20
陽 性 対 照	ENNG	2	—	265				
	SA	2	—		540	802		
	9-A	80	—				267	
	2-N	1	—					120
		2	—					197
	2-A	2	—		16			
			+		209			
		10	—	36				
			+	138				
	B[a]P	5	—		114	7	10	19
+				335	170	117	437	

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(14) 生体の機能に及ぼす影響

(資料A-32)

1) ペリミノバックメチル原体の一般薬理試験

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994年

検体の純度：

(1) 中枢神経系に対する作用

供試動物：CD-1系雄マウス、体重21～25g(6週齢)、1群5匹

方法：検体はコーン油中に懸濁して、0, 500, 1500及び5000mg/kgを1回経口投与し、24時間後までIrwinの多元観察法に準じ一般症状を観察した。また、7日間までの死亡の有無と一般症状を観察した。

結果：5000mg/kg群1例に、運動量減少、驚愕反応と触反応の低下及び、体緊張並びに握力の低下がみられた。その他、2例に非特異的の症状として異常体位と異常歩行及び閉眼がみられた。これらの症状は投与24時間後には消失した。その他の3例には体温の低下がみられた。1000mg/kg群では全例に非特異的の症状として異常体位と異常歩行がみられ、他の1例に軽度の触反応及び体緊張の低下がみられた。これらの症状は投与150分後には消失した。500mg/kg群においては何等行動異常や毒性徴候を示さなかった。

(2) 呼吸・循環器系に対する作用

供試動物：Wistar系雄ラット、体重167～212g(7週齢)、1群5匹

方法：検体はコーン油中に懸濁して、1000mg/kgを十二指腸内に投与後、呼吸、血圧、心拍数を測定した。また、心電図も記録した。

結果：検体1000mg/kg投与群動物においても、溶媒処理対照動物と比較して呼吸数、血圧及び心拍数に投与による変化はみられなかった。また、溶媒あるいは検体投与後のECG(第二誘導)の波形に変化はみられなかった。

(3) 消化管に対する影響

供試動物：CD-1系雄マウス、体重18～24g(6週齢)、1群10匹

方法：検体はコーン油中に懸濁して、0, 100, 300及び1000mg/kgを単回強制経口投与した。投与45分後に蒸留水中に5%濃度で懸濁した医療用炭末を各マウスに経口投与した。炭末の投与から正確に30分後に胃腸管全体を摘出し、炭末の移動度を測定した。陽性対照薬剤として、硫酸アトロピン100mg/kgを経口投与した。

結果：溶媒処理群と比較して、検体の300及び1000mg/kg投与群の胃腸管輸送能は各々18及び51%の有意な阻害を示した。100mg/kg投与群では溶媒処理群と同様であった。硫酸アトロピンの100mg/kgを経口投与した結果、炭末移動度の有意な減少がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(4) 運動協調性に対する影響

供試動物：CD-1系雌マウス、体重17～23g（6週齢）、1群10匹

方法：検体はコーン油中に懸濁して、0, 100, 300及び1000 mg/kgを単回強制経口投与した。投与45分後にRota-Rodにより、回転筒上に止まっていることができた時間を測定した。陽性対照薬剤として、mephenesin 400 mg/kgを経口投与した。

結果：溶媒処理群と比較して、検体の1000 mg/kg投与群において、加速回転棒上のマウスの達成時間は有意に減少した。検体の100及び300 mg/kg投与群では有意な作用はみられなかった。mephenesin 400 mg/kgを経口投与した結果では加速回転棒上のマウスの達成時間は有意な減少がみられた。

(5) 血液凝固に対する影響

供試動物：Wistar系雄ラット、体重152～190g（6週齢）、1群10匹

方法：検体はコーン油中に懸濁して、0, 100, 300及び1000 mg/kgを単回強制経口投与した。投与60分後に各ラットの尾から採血し、Dale and Laidlawの方法で全血凝固時間を測定した。また、採取血液サンプルを用いて、プロトロンビン時間と活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結果：溶媒処理群と比較して、検体投与の各群ともプロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及び全血凝固時間には有意な差は認められず、投与による影響はないものと考えられた。

(6) 溶血作用

方法：3人のボランティアより、ヘパリン処理注射筒で約10 mLを採血し、0.9%生理食塩液で3%の赤血球浮遊液を調製した。この赤血球浮遊液に最終濃度0.03、0.1、0.3、1.0 mg/mLとなるよう生理食塩液で溶解した検体を添加し、37℃で2時間インキュベートした。溶血の程度を吸光度（540 nm）により測定した。陽性対照として蒸留水を用いた。

結果：検体の0.03, 0.1及び0.3 mg/mlの濃度では溶血作用はみられなかったが、1.0 mg/mLの濃度で弱い溶血作用が認められた。蒸留水は著しい溶血を起こした。

以上より、ピリミノバックメチルの大量投与により、中枢神経系の抑制、消化器運動及び筋肉の運動を抑制する傾向が認められた。呼吸、循環器系及び血液凝固に対しては影響を及ぼさないと考えられた。溶血に対しては高濃度で弱い作用が認められた。しかしながら、いずれの場合も高投与量あるいは高濃度における影響であり、いずれの場合も非特異的であろうと考えられた。

次頁に試験結果の総括表を示す。

ピリミノバクシメチル原体の生体機能に及ぼす影響に関する試験の総括表

試験項目 (試験動物)	動物/性別	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果概要
中枢神経系に対する作用 Irwin 法	マウス/雄	経口 (コーン油)	0, 500, 1000, 5000	5	500	1000	運動抑制、驚愕及び体緊張の低下がみられた。
呼吸・循環器系 に対する作用	ラット/雄	十二指腸 (コーン油)	0, 1000	3	1000	—	対照群と比較して一貫的な差は無かった。
消化管に対する 作用・胃腸管炭 末移動度測定	マウス/雄	経口 (コーン油)	0, 100, 300, 1000	10	100	300	対照群と比較して用量に関連した炭末移動時間の延長がみられた。
運動協調性に対 する作用 ローター ワーク法	マウス/雌	経口 (コーン油)	0, 100, 300, 1000	10	300	1000	対照群と比較して 1000 mg/kg 群で達成時間の減少が見られた。
血液凝固に対す る作用 Dale and Laidlaw 法	ラット/雄	経口 (コーン油)	0, 100, 300, 1000	10	1000	—	対照群と比較してプロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及び全血凝固時間に差はなかった。
溶血作用	(ヒト赤血球)	<i>in vitro</i> (生理食塩水)	0, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 mg/mL	3人	0.3 mg/mL	1.0 mg/mL	1.0 mg/mL 群に弱い溶血作用が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2. 代謝物及び原体中混在物

(1) 急性毒性試験

1) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-75)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度：

試験動物： F344/DuCrj系ラット、7週齢、体重：雄99～107 g、雌82～87 g、
1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体をコーン油中に懸濁させ強制経口投与した。動物を投与前16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与前直前、投与7日後及び14日後に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与4時間後から発現 投与5日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

雄では軟便が1例のみで、雌では軟便、自発運動低下、被毛の汚れ、鼻出血が何れも半数以上あるいは全例で認められた。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-33)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：

試験動物：CDFR(F-344)/Cr1BR系ラット、約9～15週齢、
体重：雄 164～186 g、雌 132～158 g、1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：検体を脱イオン水に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前約17～20時間絶食させた。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後7日及び14日及び死亡時に測定した。
死亡動物及び試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雄 5000 雌 3000, 4000, 5000, 5500
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >5000 雌 5154 (4599 - 5776)
死亡開始時間及び終了時間	投与211後から開始 投与2日後に終了
症状発現及び消失時間	投与30分後から発現 投与9日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雄 5000 雌 4000

中毒症状として、運動量低下、よろめき歩行、流涙、疼痛反応の欠如、顔面の赤色斑、泌尿生殖器周囲の黄色の汚れ、軟便、衰弱および縮瞳が観察された。

投与後14日に5000 mg/kg群の雌1例で体重減少が見られた。その他の動物の体重は増加した。死亡例の剖検では胃腸管内の内容物がみられた。生存動物の剖検では肉眼的所見はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグミアイ化学工業株式会社にある。

3) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-34)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄107～125 g、雌109～119 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルロースに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日、投与後8及び15日に測定した。
死亡動物及び試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間 * 及び終了時間	投与3時間後から開始 投与3時間後に終了
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与3日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雄 5000

*:雌2例が濃厚な投与液を投与中に負った傷のため死亡した。
これ以外の死亡はみられなかった。

投与時の傷のため死亡した動物で観察された症状は、活動低下、呼吸数増加、筋肉性振戦、間代性痙攣、立毛、円背位、及び閉眼であった。生存動物で観察された症状は活動低下、呼吸数増加、立毛及び円背位であった。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

死亡動物では食道の裂傷ならびに胸郭および腹部にごくわずかの非結晶の投与液がみられた。試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-35)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄99～124 g、雌93～106 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルロースに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晩絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日、投与後8及び15日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与3日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

中毒症状として活動低下、活動亢進、呼吸数増加、立毛、鼻吻部の汚れ、円背位及び閉眼が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

5) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-36)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、約6週齢、体重：雄 165～171 g、雌 127～140 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水中に調製して経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与15分後から発現 投与1日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

試験期間中、中毒症状として流涎、自発運動抑制、呼吸緩徐、うずくまり姿勢およびよろめき歩行等が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

6) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-37)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、約6週齢、体重：雄 159～175 g、雌 125～131 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水中に調製して強制経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与直後から発現 投与1日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

試験期間中、中毒症状として流涎、身づくろい、身ぶるい、腹這い歩行、自発運動抑制、呼吸緩徐、うずくまり姿勢およびよろめき歩行等が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

7) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-38)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年 : 1995年

検体の純度 :

試験動物 : SD系ラット、約6週齢、体重:雄 177~188 g、雌 127~138 g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を注射用水中に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日(投与前)、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与直後から発現 投与1時間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

試験期間中、中毒症状として流涎が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

8) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-39)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、約6週齢、体重：雄 182～186 g、雌 130～137 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水中に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与3時間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

試験期間中、中毒症状として雄で自発運動抑制または呼吸緩徐が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

9) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-40)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年 : 1995年

検体の純度 :

試験動物 : CD系ラット、約5週齢、体重:雄106~123 g、雌104~118 g、1群雌雄各5匹

試験期間 : 14日間観察

方法 : 検体を純水に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日、投与後8及び15日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果 :

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状なし
最大無作用量(mg/kg)	5000

試験期間中、中毒症状は観察されなかった。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

10) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料A-41)

試験機関：
[GLP対応]
報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄113～133 g、雌110～120 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルローズに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日、投与後8及び15日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状なし
最大無作用量(mg/kg)	5000

試験期間中、中毒症状は観察されなかった。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

11) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-76)

試験機関：
[GLP対応]
報告書作成年：1996年

検体の純度：

試験動物： F344/DuCrj系ラット、7週齢、体重：雄96～103 g、雌79～85 g、
1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体をコーン油中に懸濁させ強制経口投与した。動物を投与前16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与直前、投与7日後及び14日後に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与3時間後から発現 投与5日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

試験期間中、雌雄とも鼻出血、軟便及び被毛の汚れが認められ、雌ではさらに自発運動低下が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

12) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-77)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度:

試験動物: F344/DuCrj系ラット、7週齢、体重:雄97~106 g、雌76~83 g、
1群雌雄各5匹

試験期間: 14日間観察

方法: 検体をコーンオイル中に懸濁させ経口投与した。動物を投与前16時間絶食させた。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与前、投与7日後及び14日後に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与3時間後から発現 投与4日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

試験期間中、雌雄とも鼻出血、軟便及び被毛の汚れ、自発運動低下が認められた。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

13) 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-96)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2008年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、約8.5週齢、雌5匹、体重:199~210 g

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水中に懸濁させ経口投与した。動物を投与前18時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。

体重は投与直前、投与1, 2, 3, 7日後及び14日後に測定した。

試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与3時間後から発現 投与2日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌 2000

投与3時間後から、引きずり歩行、爪先歩行、流涙、自発運動の低下、軟便及び円背位が認められた。

試験期間中、全ての動物に体重減少はみられなかった。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

14) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-12)

試験機関：
[GLP対応]
報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄115～131 g、雌112～126 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルローズに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与前、投与後8及び15日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与3日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 5000

中毒症状として立毛、円背位、腹臥位及び不規則呼吸が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

15) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-43)

試験機関：

【GLP対応】

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、6週齢、体重：雄164～173 g、雌124～129 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を界面活性剤(ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエート)に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定した。
試験終了時に全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	2000 *
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与30分後から発現 投与2日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

*; 検体の物性(粘着性)により2000 mg/kgを超える量の投与液の調整は困難であった。

中毒症状として流涎、自発運動抑制、呼吸緩徐、紅涙、うずくまり姿勢、立毛、よろめき歩行、体温低下、肛門周辺の汚れおよび糞量の減少が観察された。

投与翌日に雌1例で体重減少が見られた事を除いて、動物の体重は順調に推移した。

投与後14日の剖検では全例に特記すべき症状は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

16) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-44)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、6週齢、体重：雄192～200 g、雌127～154 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を界面活性剤(ポリオキシエチレン(20)ソルピタンモノオレユート)に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定した。
試験終了時に全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000 *
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	投与直後から発現 投与4日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

*; 検体の物性(粘着性)により2000 mg/kgを超える量の投与液の調整は困難であった。

中毒症状として流涎、自発運動抑制、振戦、呼吸緩徐、泡沫液の口腔からの漏出、紅涙、腹臥、散瞳、水様性粘液便、よろめき歩行、肛門周辺の汚れ、白色物質混入糞、糞量の減少および軟便が観察された。

投与翌日から投与後2日まで雌雄各1例で体重減少が見られたことを除いて動物の体重は順調に推移した。

投与後14日の剖検では全例に特記すべき症状は観察されなかった。

17) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-45)

試験機関：
[GLP対応]
報告書作成年：1995年

検体の純度：

- 試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄 97～134 g、雌 84～121 g、1群雌雄各5匹
- 試験期間： 14日間観察
- 方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルロースに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。
- 試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与前、投与後8及び15日に測定した。
死亡動物及び試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも 800,1265,2000,2515,3162
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1857 (1336 - 2379) 雌 3049 (1660 - 4437)
死亡開始時間及び終了時間	投与2日後から開始 投与4日後に終了
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与5日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雄800、雌1265

中毒症状として死亡動物で嗜眠、活動低下、腹臥位、蒼白、発赤、失調性歩行、筋繊維束痙攣、筋肉性振戦、呼吸緩徐、呼吸数増加、過呼吸、身づくろい動作消失、立毛、鼻吻の着色、眼分泌物の着色、流涎、冷たい触感、円背位、瘦身、眼球突出及び閉眼ならびに生存動物で活動低下、腹臥位、蒼白、失調性歩行、立毛、冷たい触感、円背位及び閉眼が観察された。

試験期間中、生存動物の体重は増加を示した。

死亡動物の剖検では、毛皮の汚れ及び腸管内の異常内容物が見られた。生存動物の剖検では、有意な肉眼的所見はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

18) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-46)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、6週齢、体重：雄178～220 g、雌126～151 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を界面活性剤(ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレート)に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前約16時間絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は投与日、投与後1, 2, 3, 5, 7, 11および14日に測定し、
途中死亡動物については剖検前にも測定した。
死亡動物及び試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも250, 500, 750, 1000, 1250
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1030 (775 - 2423) 雌 908 (607 - 1623)
死亡開始時間及び終了時間	投与2時間後から開始 投与2日後に終了
症状発現及び消失時間	投与直後から発現 投与5日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量(mg/kg)	雌雄とも500

中毒症状として、流涎、呼吸緩徐、自発運動抑制、うずくまり姿勢、立毛、紅涙、よろめき歩行、振戦、四肢強直、散瞳、口腔からの泡沫液漏出、横臥、腹臥、体温低下、蒼白、口腔または尿道周辺の汚れ、肛門周囲の汚れ、糞量の減少、軟便、水様性粘液便および泥状便が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

19) 原体中混在物のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-47)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄 96～134 g、雌 88～128 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルローズに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晩絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日、投与後8及び15日に測定した。
死亡動物及び試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 589,800,2000,3162,5000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1789 (1011 - 2567) 雌 2178(1595 - 2761)
死亡開始時間及び終了時間	投与1日後から開始 投与3日後に終了
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与4日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雄589, 雌800

中毒症状として、死亡動物では嗜眠、活動低下、腹臥位、蒼白、失調性歩行、筋肉性振戦、不規則な呼吸動作、立毛、眼分泌物の着色、流涎、円背位、眼球突出及び下痢ならびに生存動物では活動低下、筋繊維束痙攣、立毛、流涎、円背位及び閉眼が観察された。

試験期間中、生存動物の体重は増加を示した。

死亡動物の剖検では、頭部の汚れ及び繊維粘膜のび慢性の暗色域および空腸の異常内容物が観察された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

20) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A・48)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄108～116 g、雌95～118 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を純水に懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日(試験第1日)、第8日及び第15日に測定した。
試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも>5000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状なし
最大無作用量(mg/kg)	5000

試験期間中、中毒症状は観察されなかった。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

剖検では有意な所見は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

21) 原体中混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料A-49)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物： CD系ラット、約5週齢、体重：雄104～117 g、雌107～117 g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%(w/v)メチルセルロースに懸濁して強制経口投与した。動物を投与前一晚絶食させた。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。
体重は絶食前、投与日、投与後8及び15日に測定した。
死亡動物及び試験終了時の全動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄とも >5000
死亡開始時間 * 及び終了時間	投与中から開始 投与中に終了
症状発現及び消失時間	投与1時間後から発現 投与3日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投量 (mg/kg)	雌5000

*: 濃厚な検体調製液のために、投与後食道からカテーテルを引き抜くことが出来なくなり雄1匹を投与中に屠殺した。

生存動物では、中毒症状として活動低下、立毛及び円背位が観察された。

試験期間中、全ての動物の体重は増加した。

試験終了時に屠殺した動物の剖検では異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) 変異原性試験

1) 代謝物の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-78)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。試験濃度は156~5000 μ g/plate の範囲で6用量とした。試験は2連制で行った。

(用量設定)

TA1537株の代謝活性化法のみで生育阻害作用が観察された5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群ではS9 mixの有無にかかわらず、いずれの用量においてもコロニーの有意な増加は認められなかった。なお、TA1537株の代謝活性化法5000 μ g/plate 群以外では生育阻害作用は見られなかったが、ネズミチフス菌の高用量群においては復帰突然変異コロニー数が溶媒対照に比べて減少する傾向が見られた。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表中の数値は2プレートの平均値

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 _{uvrA}	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		—	20	20	117	8	17
検 体	156	—	20	15	111	4	19
	313	—	9	15	109	5	17
	625	—	19	9	94	5	14
	1250	—	16	10	71	1	19
	2500	—	15	5	46	0	17
	5000	—	16	2	5	0	7
対照 (DMSO)		+	22	13	122	12	32
検 体	156	+	19	13	116	9	25
	313	+	17	16	134	6	26
	625	+	15	9	106	6	19
	1250	+	28	14	100	2	24
	2500	+	19	7	49	3	13
	5000	+	16	1	4	2 T	5
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	149		813	
		0.1	—				412
	SA	0.5	—		437		
	ACR	80	—			589	
	2-AA	0.5	+				313
		1	+			405	
		2	+		213		103
10		+	546				

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

ACR : 9-Aminoacridine 2-AA : 2-Aminoanthracene

T : 細胞毒性作用

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-50)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames の方法で変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。試験濃度は 100~5000 μ g/plate の範囲で 6 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA100 および WP2uvrA-) に対して毒性作用が認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 : 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		—	18	11	84	15	14	16
検 体	100	—	18	15	87	15	19	20
	333	—	22	10	93	13	17	18
	667	—	16	11	97	11	17	16
	1000	—	16	13	93	9	16	18
	3330	—	12	20	92	12	18	18
	5000	—	14	17	90	10	22	9
対照 (DMSO)		+	16	13	128	14	21	31
検 体	100	+	18	14	134	13	25	26
	333	+	20	9	123	13	23	25
	667	+	22	14	119	15	20	25
	1000	+	15	16	86	18	21	26
	3330	+	18	16	103	17	16	30
	5000	+	18	14	108	13	19	33
陽 性 対 照	4NQO	10.0	—	839				
	SA	2.0	—		478	613		
	ICR	2.0	—				330	
	2-N	1.0	—					195 126
	2AA	2.5	+		215	1260	258	1554
25.0		214						

4NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide SA : Sodium azide
 ICR : ICR-191 2-N : 2-nitrofluorene
 2AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

薬物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100 *	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)		--	14	9	102	8	9	15
検 体	100	--	17	9	96	4	10	17
	333	--	14	11	99	7	11	10
	667	--	13	10	102	7	13	17
	1000	--	15	10	97	6	11	13
	3330	--	13	11	94	5	10	12
	5000	--	16	13	99	8	9	12
対照 (DMSO)		+	18	11	125	8	16	18
検 体	100	+	18	15	114	10	18	27
	333	+	15	10	120	6	16	26
	667	+	13	14	125	7	21	24
	1000	+	20	11	126	6	18	24
	3330	+	17	11	117	8	21	24
	5000	+	21	12	121	6	21	18
陽 性 対 照	4NQO	10.0	--	581				
	SA	2.0	--		441	761		
	ICR	2.0	--				249	
	2-N	1.0	--					286 238
	2AA	2.5	+		155	1570	180	1037
25.0		249						

4NQO : 4-nitroquinoline-N-oxide SA : Sodium azide

ICR : ICR-191 2-N : 2-nitrofluorene

2AA : 2-aminoanthracene

* : 最初の試験の溶媒対照群の平均コロニー数が異常値を示したため、後日やり直した試験の結果。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料A-51)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

方 法 ：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 及び WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果：

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	46	15	113	10	14	32
検 体	50	—	48	16	105	7	16	36
	158	—	40	11	109	7	14	33
	500	—	47	14	110	9	17	25
	1580	—	36	13	116	6	13	37
	5000	—	42	14	94	8	13	29
対照(DMSO)		+	52	16	106	11	14	38
検 体	50	+	44	15	107	6	14	33
	158	+	38	17	118	8	12	31
	500	+	30	11	104	13	11	35
	1580	+	40	12	99	8	15	37
	5000	+	39	17	102	9	15	30
陽	ENNG	2	—	855				
	SA	2	—		814	806		
性	9-A	80	—			705		
	2-N	1	—					133
		2	—				214	
対	2-A	2	—		13			
			+		414			
	10	—	42					
		+	789					
照	B[a]P	5	—		128	9	12	44
			+		272	163	129	546

FNNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照(DMSO)		—	43	14	99	7	15	30	
検 体	50	—	38	12	105	9	14	28	
	158	—	44	12	79	5	11	37	
	500	—	41	12	81	7	9	23	
	1580	—	44	12	85	8	13	26	
	5000	—	29	13	102	6	13	30	
対照(DMSO)		+	52	14	100	9	14	33	
検 体	50	+	50	11	89	8	12	26	
	158	+	45	13	109	7	12	30	
	500	+	30	13	101	8	12	28	
	1580	+	41	14	93	7	11	30	
	5000	+	35	10	108	6	9	22	
陽 性 対 照	ENNG	2	—	738					
	SA	2	—		641	676			
	9-A	80	—			579			
	2-N	1	—					160	
		2	—				225		
	2-A	2	—		14				
			+		313				
		10	—	57					
	B[a]P	5	—			86	9	10	42
			+			319	207	189	568

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-52)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

方 法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 及び WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果：得られた結果を次頁の表にしめす。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S-9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	46	15	113	10	14	32
検 体	50	—	50	13	112	8	10	26
	158	—	51	7	104	6	13	35
	500	—	39	9	104	9	14	33
	1580	—	40	11	109	7	11	29
	5000	—	46	13	115	7	15	32
対照(DMSO)		+	52	16	106	11	14	38
検 体	50	+	32	15	114	10	13	32
	158	+	39	10	114	7	16	27
	500	+	41	16	121	8	11	35
	1580	+	46	15	118	9	13	35
	5000	+	36	8	108	9	13	36
陽 性 対 照	ENNG	2	—	855				
	SA	2	—		814	806		
	9-A	80	—				705	
	2-N	1	—					133
		2	—				214	
	2-A	2	—		13			
			+		414			
		10	—	42				
	+		789					
	B[a]P	5	—			128	9	12
+					272	163	129	546

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	43	14	99	7	15	30
検 体	50	—	38	14	101	7	12	28
	158	—	40	13	96	5	9	26
	500	—	39	11	94	7	12	31
	1580	—	43	9	115	7	8	26
	5000	—	38	11	76	6	13	30
対照(DMSO)		+	52	14	100	9	14	33
検 体	50	+	52	14	93	10	9	28
	158	+	39	11	97	8	8	29
	500	+	36	10	87	10	12	35
	1580	+	49	9	82	8	12	32
	5000	+	32	7	88	6	10	26
陽	ENNG	2	—	738				
	SA	2	—		641	676		
性	9-A	80	—			579		
	2-N	1	—					160
		2	—				225	
対 照	2-A	2	—		14			
			+		313			
	10	—		57				
		+		644				
B[a]P	5	—			86	9	10	42
		+			319	207	189	568

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグマイ化学工業株式会社にある。

5) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-53)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 312.5~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で 1 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、全ての菌株に対して生育阻害は認められなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/ plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照(DMSO)		—	20.5	7.5	79.0	2.5	18.5	
検 体	312.5	—	15.5	4.0	87.0	5.5	21.5	
	625	—	16.5	7.0	85.0	5.0	18.0	
	1250	—	14.5	8.0	99.5	6.5	18.5	
	2500	—	17.5	7.5	91.0	3.0	18.5	
	5000	—	25.0	10.5	91.5	11.0	23.0	
対照(DMSO)		+	19.5	4.5	92.5	12.5	37.5	
検 体	312.5	+	17.0	10.5	104.5	6.0	30.5	
	625	+	14.5	8.0	107.0	9.5	17.5	
	1250	+	25.0	5.5	108.0	6.0	29.5	
	2500	+	14.5	5.5	121.5	11.5	30.0	
	5000	+	23.0	8.5	113.5	6.0	37.5	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	192.0		372.5		
		0.1	—				438.5	
	SAZ	0.5	—		434.0			
	9AA	80	—			824.0		
	2AA	0.5	+					255.5
		1	+			798.0		
		2	+		369.5		231.0	
		10	+	1043.0				

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9AA : 9-Aminoacridine

2AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照 (注射用水)		—	20	12	109	7	20	
検 体	156	—	19	13	113	9	27	
	313	—	18	13	116	7	21	
	625	—	18	12	124	7	17	
	1250	—	17	10	117	6	19	
	2500	—	19	12	116	8	22	
	5000	—	18	13	140	8	23	
対照 (注射用水)		+	19	13	121	9	25	
検 体	156	+	20	10	113	11	28	
	313	+	20	15	118	11	28	
	625	+	17	13	122	10	24	
	1250	+	18	11	120	7	24	
	2500	+	23	11	110	8	34	
	5000	+	18	10	114	8	28	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	132		507		
		0.1	—					448
	NaN ₃	0.5	—		320			
	ACR	80	—				622	
	2-AA	0.5	+					256
		1	+			540		
		2	+		240		134	
		10	+	557				

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide NaN₃ : Sodium azide

ACR : 9-Aminoacridine 2-AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

7) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-54)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 312.5~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で 1 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、全ての菌株に対して生育阻害は認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表中の数値は2プレートの平均値

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 $uvrA$	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(DMSO)			16.5	8.0	82.0	3.5	18.0
検 体	312.5	—	24.0	9.0	84.0	4.5	17.5
	625	—	23.0	6.0	78.5	4.0	21.5
	1250	—	19.5	8.0	96.0	4.0	22.5
	2500	—	18.5	5.5	100.5	2.0	23.5
	5000	—	17.0	10.0	89.5	5.0	25.5
対照(DMSO)		+	25.0	11.5	94.5	4.0	28.0
検 体	312.5	+	22.5	8.0	84.5	3.5	31.0
	625	+	20.0	7.5	102.0	7.0	39.0
	1250	+	22.0	9.5	104.0	5.0	29.0
	2500	+	24.5	8.5	103.5	4.5	31.0
	5000	+	25.5	7.0	116.5	3.5	35.0
陽	AF-2	0.01	—	190.5		333.0	
		0.1	—				505.0
性	SAZ	0.5	—		421.0		
	9AA	80	—			971.0	
対	2AA	0.5	+				217.0
		1	+			639.5	
		2	+		448.5		137.0
		10	+	1426.0			

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9AA : 9-Aminoacridine

2AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグミアイ化学工業株式会社にある。

8) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-55)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は水 (日本薬局方注射用水) に懸濁させた。試験濃度は 312.5~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で 1 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、全ての菌株に対して生育阻害は認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(水)		—	38.5	7.5	87.5	18.0	23.0
検体	312.5	--	35.0	9.5	95.5	18.0	20.0
	625	—	29.5	8.0	104.0	9.5	18.0
	1250	—	27.0	11.5	97.5	12.5	19.0
	2500	—	19.5	6.0	85.0	13.0	21.5
	5000 P	—	12.0	6.5	75.0	8.0	16.5
対照(水)		+	40.0	7.0	100.5	20.5	36.5
検体	312.5	+	37.0	10.5	93.5	16.5	29.0
	625	+	31.0	8.0	106.0	11.0	33.5
	1250	+	39.0	6.5	96.5	16.5	24.0
	2500	+	47.0	4.0	89.5	10.0	25.5
	5000 P	+	38.5	8.5	98.0	10.5	30.0
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	93.0		308.0	
		0.1	—				418.5
	SAZ	0.5	—		421.0		
	9AA	80	—			936.0	
	2AA	0.5	+				242.0
		1	+			656.0	
		2	+		379.0		161.0
		10	+	1328.0			

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

9AA : 9-Aminoacridine 2AA : 2-Aminoanthracene

P : 溶解しきれなかった検体がプレート上に残存した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

9) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (再試験) (資料A-82)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体は注射用水に懸濁させた。試験濃度は156~5000 μ g/plateの範囲で6用量とした。試験は2連制で行った。

[用量設定] 用量設定試験の結果、直接法の5000 μ g/plate で生育阻害作用が観察されたため、この濃度を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群ではS9 mixの有無にかかわらず、いずれの用量においてもコロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照 (注射用水)		—	22	12	113	5	23	
検 体	156	—	22	13	118	6	23	
	313	—	24	13	106	6	21	
	625	—	21	10	107	4	22	
	1250	—	18	12	97	6	21	
	2500 P	—	11	5	88	2	13	
	5000 P	—	5 T	6 T	35 T	2 T	1 T	
対照 (注射用水)		+	23	15	106	13	27	
検 体	156	+	20	12	108	12	35	
	313	+	21	14	120	13	31	
	625	+	22	15	106	12	36	
	1250	+	26	12	110	9	33	
	2500 P	+	18	11	130	7	24	
	5000 P	+	27	12	124	8	15	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	159		717		
		0.1	—				447	
	SA	0.5	—		407			
	ACR	80				409		
	2-AA	0.5	+					339
		1	+			415		
		2	+		522		131	
10		+	557					

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

ACR : 9-Aminoacridine 2-AA : 2-Aminoanthracene

T : :毒性作用が観察された。P : :溶解しきれなかった検体がプレート上に残存した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

10) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-56)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在トおよび非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は水 (日本薬局方注射用水) に溶解させた。試験濃度は 312.5 ~ 5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で 1 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、全ての菌株に対して生育阻害は認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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定される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2 $uvrA$	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (水)		—	30.0	7.0	79.0	2.5	19.0
検 体	312.5		32.5	8.0	95.0	1.5	23.5
	625		32.0	6.5	89.5	2.0	24.5
	1250	—	25.5	9.0	77.0	2.0	13.5
	2500	—	25.0	6.0	90.0	2.5	16.5
	5000	—	35.5	8.0	78.0	3.0	22.0
対照 (水)		+	43.5	7.5	102.5	6.5	26.5
検 体	312.5	+	36.0	4.5	90.5	3.5	30.5
	625	+	34.0	4.5	96.0	5.5	27.5
	1250	+	37.0	11.0	90.0	7.5	31.0
	2500	+	45.0	8.0	86.5	7.0	30.0
	5000	+	38.0	6.5	102.5	3.5	28.5
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	186.0		311.5	
		0.1	—				308.0
	SAZ	0.5	—		408.5		
	9AA	80	—			892.0	
	2AA	0.5	+				163.0
		1	+			500.5	
		2	+		324.5		109.0
		10	+	1600.0			

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SA : Sodium azide

9AA : 9-Aminoacridine

2AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		--	55	13	112	11	14	38
検 体	50	--	47	13	107	10	10	39
	158	--	43	12	105	9	12	26
	500	--	44	10	119	9	13	39
	1580	--	48	12	103	12	14	28
	5000	--	44	12	103	11	13	32
対照(DMSO)		+	52	13	113	12	15	36
検 体	50	+	45	12	108	9	13	35
	158	+	47	13	110	9	13	38
	500	+	39	14	123	8	13	37
	1580	+	52	13	109	7	15	36
	5000	+	33	11	104	9	12	33
陽性 対照	ENNG	2	--	855				
	SA	2	--		814	806		
	9-A	80	--				705	
	2-N	1	--					133
		2	--				214	
	2-A	2	--		13			
			+		414			
		10	--	42				
			+	789				
	B[a]P	5	--			128	9	12
+					272	163	129	546

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine 2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	49	12	103	9	13	31
検 体	50	—	47	11	102	6	11	36
	158	—	47	10	102	9	15	32
	500	—	42	11	102	7	12	33
	1580	—	42	10	102	7	10	32
	5000	—	32	8	109	9	12	32
対照(DMSO)		+	48	14	107	8	12	37
検 体	50	+	45	10	102	8	10	34
	158	+	57	11	106	9	12	33
	500	+	52	9	105	7	11	34
	1580	+	36	12	108	7	9	35
	5000	+	28	9	103	7	9	27
陽 性 対 照	ENNG	2	—	738				
	SA	2	—		641	676		
	9-A	80	—				579	
	2-N	1	—					160
		2	—				225	
	2-A	2	—		14			
			+		313			
		10	—	57				
	+		644					
	B[a]P	5	—			86	9	10
+					319	207	189	568

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine 2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

12) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-58)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2*uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2*uvrA*) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2 $uvrA$	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照(DMSO)		—	55	26	122	10	18	30	
検 体	50	—	39	24	113	9	16	35	
	158	—	44	27	115	11	15	27	
	500	—	34	22	101	8	17	27	
	1580	—	43	25	115	8	16	28	
	5000	—	32	23	106	10	16	31	
対照(DMSO)		+	57	27	111	10	19	40	
検 体	50	+	40	22	119	9	14	39	
	158	+	42	23	93	10	16	39	
	500	+	37	25	103	11	17	35	
	1580	+	30	20	101	8	18	38	
	5000	+	38	22	95	9	13	35	
陽 性 対 照	ENNG	2	—	591					
	SA	2	—		979	1053			
	9-A	80	—			637			
	2-N	1	—					138	
		2	—				373		
	2-A	2	+						
			—	56					
		10	+	522					
	B[a]P	5	—		35	102	10	13	20
			+		543	471	174	228	489

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	50	13	113	9	15	35
検 体	50	—	43	9	103	7	11	33
	158	—	48	11	99	8	13	29
	500	—	39	13	115	6	12	32
	1580	—	35	8	96	8	14	32
	5000	—	45	10	105	9	13	36
対照(DMSO)		+	42	13	113	9	18	35
検 体	50	+	38	7	106	8	12	34
	158	+	43	10	110	9	14	34
	500	+	46	8	107	9	9	31
	1580	+	31	8	122	7	10	29
	5000	+	39	8	108	6	9	30
陽 性 対 照	ENNG	2	—	633				
	SA	2	—		971	913		
	9-A	80	—			577		
	2-N	1	—					154
		2	—				310	
	2-A	2	—		17			
			+		298			
		10	—	63				
	+		844					
	B[a]P	5	—			102	7	16
+					452	133	211	435

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

13) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-79)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解させた。試験は2連性で行った。試験濃度は大腸菌については156~5000 μ g/plateの範囲で6用量とし、ネズミチフス菌については78.1~5000 μ g/plateの範囲で7用量とした。

[用量設定] 生育阻害作用が観察されなかったので 5000 μ g/plateを最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群ではS9 mix濃霧にかかわらず、いずれの用量でもコロニーの有意な増加は認められなかった。なお、直接法及び代謝活性化法の何れの試験用量及び試験菌種においても生育阻害作用は見られなかったが、ネズミチフス菌の高用量群においては復帰突然変異コロニー数が溶媒対照に比べて減少する傾向が見られた。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S-9 Mix 有無	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 _{uvrA}	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照(DMSO)		—	20	9	123	7	18	
検 体	78.1	—		14	123	4	16	
	156	—	19	9	128	3	23	
	313	—	16	5	118	4	20	
	625	—	22	3	73	3	18	
	1250	—	23	0	28	0	9	
	2500	—	22	0	1	0	3	
	5000	—	26	0	0	0	1	
対照(DMSO)		+	26	10	120	14	33	
検 体	78.1	+		9	131	11	27	
	156	+	24	12	102	8	29	
	313	+	26	5	109	5	26	
	625	+	22	4	106	4	17	
	1250	+	22	0	28	0	11	
	2500	+	16	0	4	0	5	
	5000	+	20	0	0	0	0	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	130		636		
		0.1	—				450	
	SA	0.5	—		531			
	ACR	80	—			589		
	2-AA	0.5	+					407
		1	+			517		
		2	+		308		149	
10		+	511					

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

ACR : 9-Aminoacridine 2-AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマアイ化学工業株式会社にある。

14) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-80)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解させた。試験濃度は156~5000 μ g/plateの範囲で6用量とした。試験は2連制で行った。

〔用量設定〕 生育阻害作用が観察されなかったので、5000 μ g/plateを最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群ではS9 mixの有無にかかわらず、いずれの用量においてもコロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(DMSO)		—	21	16	104	5	24
検 体	156	—	21	14	99	6	24
	313	—	26	14	96	6	22
	625	—	22	14	102	4	21
	1250	—	22	15	94	3	22
	2500	—	19	14	91	1	19
	5000	—	25	10	91	2	19
対照(DMSO)		+	24	13	102	12	26
検 体	156	+	23	11	103	10	29
	313	+	22	10	120	9	25
	625	+	25	11	95	10	23
	1250	+	32	11	98	9	21
	2500	+	20	10	101	11	22
	5000	+	23	10	110	8	18
陽 性 対 照	AF-2	0.01	—	160		670	
		0.1	—				484
	SA	0.5	—		392		
	ACR	80	—			395	
	2-AA	0.5	+				347
		1	+			476	
		2	+		287		159
10		+	539				

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

ACR : 9-Aminoacridine 2-AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

15) 代謝物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-97)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2008年

検体の純度：

方 法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体はDMSOに溶解させた。試験濃度は156.3~5000 μ g/plate (公比2) の範囲で6用量 (TA1535株のみ78.1~5000 μ g/plateの範囲で7用量) とした。

〔用量設定〕 用量設定試験を実施した結果、6.86~5000 μ g/plateの範囲 (公比3) において生育阻害作用が観察されなかったため。尚、TA1535株において、低濃度付近にて変異コロニーの微増が見られたことから、本試験ではTA1535株のみ78.1 μ g/plateを追加した。

試験結果：得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群ではS9 mixの有無にかかわらず、いずれの用量においてもコロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照(DMSO)		-	31	14	108	6	21	
検 体	78.1	-	-	14	-	-	-	
	156.3	-	26	15	105	5	20	
	312.5	-	27	19	104	6	19	
	625	-	26	14	108	6	18	
	1250	-	34	16	104	5	17	
	2500	-	28	14	100	5	16	
	5000	-	23	13	89	6	12	
対照(DMSO)		+	33	16	135	9	34	
検 体	78.1	+	-	14	-	-	-	
	156.3	+	32	14	123	12	33	
	312.5	+	32	15	117	11	29	
	625	+	34	12	125	9	32	
	1250	+	30	13	125	8	33	
	2500	+	33	14	117	8	31	
	5000	+	27	12	112	8	30	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	210		523		
		0.1	-				438	
	SA	0.5	-		339			
	ACR	80	-				319	
	2-AA	0.5	+					522
		1	+			1072		
		2	+		314		299	
10		+	1011					

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide
 ACR : 9-Aminoacridine 2-AA : 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

16) 原体中混在物の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-59)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 及び WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	47	21	113	9	11	38
検 体	50	—	47	24	133	10	12	47
	158	—	45	21	118	7	12	40
	500	—	51	21	103	5	11	36
	1580	—	42	25	124	11	10	36
	5000	—	46	17	115	8	9	33
対照(DMSO)		+	46	21	119	10	15	38
検 体	50	+	45	17	130	8	14	41
	158	+	45	11	94	10	11	43
	500	+	43	14	107	11	11	40
	1580	+	41	19	120	9	11	37
	5000	+	36	17	107	8	12	37
陽 性 対 照	ENNG	2	—	469				
	SA	2	—		826	916		
	9-A	80	—				474	
	2-N	1	—					
		2					267	
	2-A	2	—		22			
			+		625			
		10	—		54			
	+			784				
	B[a]P	5	—			112	8	11
+					286	212	174	558

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine SA : Sodium azide
 9-A : 9-Aminoacridine 2-N : 2-Nitrofluorene
 2-A : 2-Aminoanthracene B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate						
			塩基置換型			フレームシフト型			
			WP2 <i>uvrA</i>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98	
対照(DMSO)		—	46	15	104	9	15	34	
検 体	50	—	67	16	112	10	19	26	
	158	—	52	14	105	8	13	36	
	500	—	57	13	86	8	16	30	
	1580	—	53	19	93	10	18	40	
	5000	—	38	13	82	8	14	28	
対照(DMSO)		+	65	16	116	8	15	36	
検 体	50	+	52	14	87	6	14	33	
	158	+	47	17	105	5	16	37	
	500	+	63	12	107	7	15	25	
	1580	+	32	13	101	9	13	22	
	5000	+	36	11	93	7	13	28	
陽 性 対 照	ENNG	2	—	651					
	SA	2	—		699	880			
	9-A	80	—				517		
	2-N	1	—						141
		2						283	
	2-A	2	—		23				
			+		518				
		10	—	66					
	+		868						
	B[a]P	5	—			95	6	11	40
+					304	208	209	512	

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

17) 原体中混在物の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-60)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 312.5~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で実施した。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株に対して生育障害が認められなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果 :

(表中の数値は2プレートの平均値)

化合物	濃度 (μ g/Plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照(DMSO)		-	17.0	26.0	82.5	3.0	26.0	
検 体	312.5	-	20.5	16.0	84.0	3.0	14.0	
	625	-	16.0	21.0	97.5	4.5	18.0	
	1250	-	20.0	17.0	84.0	2.0	27.5	
	2500 P	-	19.5	23.5	86.0	3.0	16.0	
	5000 P	-	26.5	13.0	87.0	3.0	20.0	
対照(DMSO)		+	23.0	8.0	78.0	8.0	30.0	
検 体	312.5	+	34.0	8.0	82.0	7.0	32.0	
	625	+	21.0	6.5	87.5	10.0	32.0	
	1250	+	29.5	8.0	81.5	7.0	27.0	
	2500 P	+	30.0	10.0	84.5	4.5	30.0	
	5000 P	+	21.0	10.0	84.5	8.0	30.0	
陽 性 対 照	AF2	0.01	-	131.0		280.0		
		0.1	-					392.0
	SAZ	0.5	-		384.0			
	9AA	80	-				783.0	
	2AA	0.5	+					271.5
		1				708.5		
		2			320.0		145.5	
		10		1154.0				

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SAZ : Sodium azide

9AA : 9-aminoacridine

2AA : 2-aminoanthracene

P : 検体の析出がみられた濃度

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

18) 原体中混在物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-61)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 312.5~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で実施した。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株に対して生育障害が認められなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果 :

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照(DMSO)		—	24.5	8.0	88.0	3.0	30.5
検 体	312.5	—	28.5	6.5	90.5	3.0	16.5
	625	—	22.5	4.5	101.5	2.0	20.0
	1250	—	21.0	7.5	95.0	3.5	19.5
	2500 P	—	24.5	9.0	75.0	3.5	21.5
	5000 P	—	21.0	5.5	73.5	3.5	27.0
対照(DMSO)		+	19.0	10.0	99.5	8.0	36.5
検 体	312.5	+	30.5	10.0	91.5	5.0	36.0
	625	+	24.5	13.5	91.5	8.0	34.0
	1250	+	27.5	10.0	92.5	8.5	30.5
	2500 P	+	29.0	7.0	75.5	9.5	31.5
	5000 P	+	36.5	4.5	83.5	6.5	26.5
陽	AF2	0.01	—	114.5		363.0	
		0.1	—				485.5
性	SA	0.5	—		531.5		
	9AA	80	—			307.0	
対	2AA	0.5	+				337.0
		1			623.0		
		2		320.0	164.5		
		10		1426.0			
照							

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

9AA : 9-aminoacridine 2AA : 2-aminoanthracene

P : 検体の析出がみられた濃度

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

19) 原体中混在物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-62)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 : 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

化合物	濃度 (μ g/ plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/ plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対 照		--	55	26	122	10	18	30
検 体	50	--	43	22	99	12	15	32
	158	--	52	23	101	13	15	23
	500	--	46	18	98	10	15	25
	1580	--	47	21	97	9	15	28
	5000	--	42	22	114	9	18	27
対照(DMSO)		+	57	27	111	10	19	40
検 体	50	+	50	24	100	8	17	43
	158	+	43	21	109	11	17	41
	500	+	42	21	114	11	15	38
	1580	+	47	21	117	9	17	37
	5000	+	52	19	104	8	17	35
陽 性 対 照	ENNG	2	--	591				
	SA	2	--		979	1053		
	9-A	80	--				637	
	2-N	1						138
		2					373	
	2-A	2	--		35			
			+		543			
		10	--	56				
	+		522					
	B[a]P	5	--			102	10	13
+					471	174	228	489

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	50	13	113	9	15	35
検 体	50	—	51	11	100	12	11	35
	158	—	53	10	116	10	13	30
	500	—	41	11	114	7	15	43
	1580	—	51	11	99	8	14	35
	5000	—	41	9	112	9	10	33
対照(DMSO)		+	42	13	113	9	18	35
検 体	50	+	51	12	95	10	16	38
	158	+	49	10	105	9	18	33
	500	+	43	9	112	8	11	34
	1580	+	45	10	107	7	14	36
	5000	+	36	11	94	5	9	31
陽 性 対 照	ENNG	2	—	633				
	SA	2	—		971	913		
	9-A	80	—			577		
	2-N	1	—					154
		2	—				310	
	2-A	2	—		17			
			+		298			
		10	—	63				
			+	844				
	B[a]P	5	—		102	7	16	23
+				452	133	211	435	

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はタミアイ化学工業株式会社にある。

20) 原体中混在物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-63)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で Ames の方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 312.5~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 2 連制で実施した。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株に対して生育障害が認められなかったので、5000 μ g/plate を最高用量とした。

試験結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 ^{uvrA}	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
対照(DMSO)		-	14.0	23.0	98.0	4.5	15.5	
検 体	312.5	-	17.0	17.0	84.0	2.0	14.5	
	625	-	17.0	25.5	86.5	3.5	15.0	
	1250	-	20.0	17.5	92.5	3.5	19.0	
	2500 P	-	15.0	20.5	84.5	1.5	14.0	
	5000 P	-	19.0	20.0	89.5	2.5	16.5	
刻照(DMSO)		+	27.5	8.5	79.0	7.0	28.5	
検 体	312.5	+	21.0	10.0	86.0	3.5	21.5	
	625	+	26.0	9.5	80.0	5.0	25.5	
	1250	+	22.0	11.5	80.5	8.5	27.0	
	2500 P	+	27.0	7.5	73.0	3.0	20.5	
	5000 P	+	24.5	6.0	83.0	6.5	23.0	
陽 性 対 照	AF2	0.01	-	93.5		328.5		
		0.1	-					307.0
	SA	0.5	-		379.5			
	9AA	80	-				548.0	
	2AA	0.5	+					245.5
		1				513.5		
		2			270.5		127.5	
		10		1144.0				

AF2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide SA : Sodium azide

9AA : 9-aminoacridine 2AA : 2-aminoanthracene

P : 検体の析出がみられた濃度

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

21) 原体中混在物 の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-64)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方 法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2*uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2*uvrA*) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結 果 : 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	SO mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		-	55	24	104	9	20	33
検 体	50	-	56	20	102	8	17	32
	158	-	52	20	102	12	18	32
	500	-	38	25	108	10	14	36
	1580	-	48	20	106	10	17	35
	5000	-	54	19	103	8	15	35
対照(DMSO)		+	52	23	99	12	21	40
検 体	50	+	56	20	115	16	13	36
	158	+	51	20	90	9	19	41
	500	+	45	22	108	10	16	38
	1580	+	47	23	104	9	16	35
	5000	+	46	19	91	9	13	31
陽 性 対 照	ENNG	2	-	591				
	SA	2	-		979	1053		
	9-A	80	-			637		
	2-N	1	-					138
		2	-				373	
	2-A	2	-		35			
			+		543			
		10	-	56				
	+		522					
	B[a]P	5	-			102	10	13
+					471	174	228	489

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	45	13	103	8	13	29
検 体	50	—	40	11	111	6	10	31
	158	—	36	7	105	8	11	31
	500	—	35	5	105	7	9	31
	1580	—	38	9	95	6	13	28
	5000	—	33	8	94	7	15	34
対照(DMSO)		+	45	9	104	7	10	30
検 体	50	+	41	6	93	5	11	29
	158	+	51	7	97	7	9	26
	500	+	42	10	93	7	13	28
	1580	+	31	7	94	5	10	26
	5000	+	26	7	95	4	9	29
陽 性 対 照	ENNG	2	—	633				
	SA	2	—		971	913		
	9-A	80	—			577		
	2-N	1	—					154
		2	—				310	
	2-A	2	—		17			
			+		298			
		10	—	63				
	+		844					
	B[a]P	5	—			102	7	16
+					452	133	211	435

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

22) 原体中混在物の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-65)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では s9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1 回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/ plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		--	47	21	113	9	11	38
検 体	50	—	50	24	104	8	16	34
	158	—	47	21	98	6	13	31
	500	—	47	21	98	6	14	30
	1580	—	38	22	105	8	10	33
	5000	—	49	20	118	6	12	30
対照(DMSO)		+	46	21	119	10	15	38
検 体	50	+	51	23	116	6	14	37
	158	+	47	20	115	10	11	34
	500	+	40	21	121	11	11	33
	1580	+	47	19	118	9	13	40
	5000	+	35	15	100	8	12	32
陽 性 対 照	ENNG	2	—	469				
	SA	2	—		826	916		
	9-A	80	—			474		
	2-N	1	—					132
		2	—				267	
	2-A	2	—		22			
			+		645			
		10	—	54				
	+		784					
	B[a]P	5	—			112	8	11
+					286	212	174	558

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数/ plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	46	15	104	9	15	34
検 体	50	—	51	18	100	9	15	34
	158	—	46	13	103	7	17	34
	500	—	38	15	105	9	15	31
	1580	—	53	15	108	8	13	28
	5000	—	55	15	95	6	14	37
対照(DMSO)		+	65	16	116	8	15	36
検 体	50	+	39	19	105	7	12	37
	158	+	58	13	105	7	15	40
	500	+	46	15	106	9	14	29
	1580	+	50	12	113	9	18	36
	5000	+	41	14	86	6	17	28
陽 性 対 照	ENNG	2	—	651				
	SA	2	—		699	880		
	9-A	80	—			517		
	2-N	1	—					141
		2	—				283	
	2-A	2	—		23			
			+		518			
		10	—	66				
	+		868					
	B[a]P	5	—			95	6	11
+					304	208	209	512

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

23) 原体中混在物の細菌を用いた復帰変異原性試験 (資料A-66)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 *E.coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から精製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解させた。試験濃度は 50~5000 μ g/plate の範囲で 5 用量とした。試験は 3 連制とし 2 回行った。

[用量設定] 予備試験の結果、使用菌株 (TA98 および WP2uvrA) のバックグラウンドローンの減少を引き起こさなかったため、5000 μ g/plate を最高用量とした。

結果: 得られた結果を次頁の表に示す。

検体処理群では S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においても復帰変異コロニーの有意な増加は認められなかった。

一方、各陽性対照群では全ての試験菌株で復帰突然変異の有意な増加が認められた。

以上の結果より、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考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

1回目

化合物	濃度 (μ g/plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	47	21	113	9	11	38
検 体	50	—	49	18	115	8	8	28
	158	—	45	15	106	8	12	42
	500	—	44	18	92	8	13	33
	1580	—	36	21	122	12	11	37
	5000	—	44	16	110	7	11	34
対照(DMSO)		+	46	21	119	10	15	38
検 体	50	+	44	21	107	8	14	40
	158	+	40	20	122	9	12	37
	500	+	39	18	113	9	14	39
	1580	+	41	20	121	7	10	37
	5000	+	35	22	112	6	9	31
陽 性 対 照	ENNG	2	—	469				
	SA	2	—		826	916		
	9-A	80	—			474		
	2-N	1	—					132
		2	—				267	
	2-A	2	—		22			
			+		645			
		10	—	54				
			+	784				
	B[a]P	5	—		112	8	11	38
+				286	212	174	558	

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2 回目

化合物	濃度 (μ g/Plate)	S9 mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基置換型			フレームシフト型		
			WP2 _{uvrA}	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照(DMSO)		—	46	15	104	9	15	34
検 体	50	—	53	16	115	7	18	31
	158	—	47	18	107	9	12	31
	500	—	61	16	110	7	14	35
	1580	—	50	22	114	6	11	34
	5000	—	44	20	100	6	12	30
対照(DMSO)		+	65	16	116	8	15	36
検 体	50	+	53	19	106	8	14	36
	158	+	56	22	107	7	16	36
	500	+	47	22	103	6	14	34
	1580	+	59	16	96	6	15	32
	5000	+	35	16	92	6	11	35
陽 性 対 照	ENNG	2	—	651				
	SA	2	—		699	880		
	9-A	80	—				517	
	2-N	1	—					141
		2	—				283	
	2-A	2	—		23			
			+		518			
		10	—	66				
	+		868					
	B[a]P	5	—			95	6	11
+					304	208	209	512

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

SA : Sodium azide

9-A : 9-Aminoacridine

2-N : 2-Nitrofluorene

2-A : 2-Aminoanthracene

B[a]P: Benzo[a]pyrene