

(3) スピネトラム原体のマウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験 (資料 7-3)

試験機関：The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検体純度：

供試動物：CrI:CD-1 (ICR) 系マウス、1 群雌雄各 50 匹、開始時 7 週齢

投与期間：18 ヶ月 (2005 年 3 月 21 日～2006 年 9 月 28 日)

投与方法：検体を 0、25、80、150 および 300 ppm の濃度で基礎飼料に混入し、18 ヶ月間にわたって自由に摂食させた。

観察・検査項目および結果：

一般状態及び死亡率；全動物について、ケージ外からの観察を 1 日 1 回以上、臨床観察を 2 週間に 1 回の頻度で行った。さらに、各群 10 匹について、詳細な臨床観察を最初の 12 ヶ月間は月 1 回、その後は試験 15 および 18 ヶ月目に行った。

投与に関連した死亡例は認められなかった。また、臨床観察において検体投与に関連した変化は認められなかった。

試験終了時の死亡率を以下に示す。

投与量 (ppm)		0	25	80	150	300
死亡率 (%)	雄	22	26	16	12	22
	雌	26	14	24	20	14

対照群との有意差検定は Gehan-Wilcoxon procedure を用いて行った。

眼科学的検査；投与前および屠殺前に倒像検眼鏡を用いてすべての動物の眼を検査した。

検体投与に関連する異常は認められなかった。

体重変化；全動物について、投与開始前、投与開始後最初の 13 週間は週 1 回、その後は試験終了時までほぼ月 1 回の頻度で測定した。また、体重増加量を算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた平均体重増加量について下表に示す。

投与量 (ppm)	25	80	150	300
雄				
29 日目	101.6	101.6	98.3	↓85.0
雌				
456 日目	92.3	97.0	92.8	↓84.6

対照群との有意差検定は、Dunnett's 検定を用いて行った (↓: P < 0.05)  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
 太字は投与に関連すると考えられた影響を示す。

300 ppm 群の雄で試験 29 日目のみに統計学的に有意な体重増加量の低値が認められたが、その他の期間では体重増加量の低値は認められていないことから投与に関連した変化ではないと考えられた。投与に関連した変化として、統計学的に有意ではなかった (試験 456 日目の体重増加量を除く) が、300 ppm 投与群の雌で平均体重および体重増加量の軽度な低値が認められた。300 ppm 投与群の雌で試験 232 日目から 546 日目の間に、平均体重の低値 (0.3~5.4%) および体重増加量の低値 (4.3~15.4%) が一貫して認められた。試験終了時の 300 ppm 投与群の雌の平均体重および体重増加量は、対照群に比べてそれぞれ 1.3% および 5.8% の低値であった。

その他の用量群では投与に関連した体重変化は認められなかった。

**摂餌量** ; 投与開始後最初の 13 週間は週 1 回、その後はほぼ月 1 回の頻度ですべての動物の摂餌量データを収集した。

投与に関連した変化として、300 ppm 投与群の雌で摂餌量が軽度に減少し、統計学的有意差も散見された。試験 120 日目から 546 日目の間に 300 ppm 投与群の雌の平均摂餌量は対照群に比べて一貫して低く、減少率は 1.8%~8.8% であった。この摂餌量の減少は平均体重および体重増加量の減少に関連するものであった。その他の用量群では有意な摂餌量の変化は認められなかった。

**検体摂取量** ; 投与期間中の一日平均検体摂取量は次の通りであった。

投与量 (ppm)		25	80	150	300
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.0	10.0	18.8	37.5
	雌	4.0	12.8	23.9	46.6

**血液学的検査** ; すべての生存動物について、試験 12 カ月目には肢静脈から、試験 18 カ月目には眼窩静脈叢から採血して血液塗抹標本を作成し、最終屠殺時 (試験 18 カ

月目) についてののみ、総合血液学検査装置 ADVIA120 にて白血球数測定と白血球分類を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			
投与量 (ppm)	25	80	150	300
好中球	88	92	108	↑122
リンパ球	104	105	95	↓85

対照群との有意差検定は、Dunnett's 検定を用いて行った (↑↓: P < 0.05) 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

いずれの投与群でも投与に関連した変化は認められなかった。300 ppm 投与群の雄で好中球の百分率の高値ならびにリンパ球の百分率の低値が認められたが、これらの変化は、主に投与群において試験末期にみられた自然発生的な皮膚炎の発現頻度の軽度な増加 (投与に関係しない) に伴うものであり、投与との関連はないと考えられた。

肉眼的病理検査; 切迫屠殺動物および死亡発見動物を含む全動物について剖検を行った。

投与期間終了時まで生存した動物については、CO<sub>2</sub> 吸入により麻酔し、気管を露出させてクランプした後に断頭屠殺した。

検体投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

臓器重量; 投与期間終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重に対する対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、心臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、子宮、脾臓

検体投与に関連した変化がみられた項目および対照群と比べて統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄				
投与量 (ppm)	25	80	150	300	
脳	重量	100	↑104	102	102
	対体重比	102	103	101	103

対照群との有意差検定は、Dunnett's 検定を用いて行った (↑: P < 0.05) 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与に関連した変化として、80 ppm 投与群の雄で脳の平均絶対重量増加がみられたが、用量反応性がないことから投与に関連したものではないと考えられた。その他には、統計学的有意差が認められた項目はなかった。

病理組織学的検査；対照群と高用量群の動物および途中死亡動物について、以下の組織について病理標本を作成し、光学顕微鏡を用いて検査した。

副腎、大動脈、骨（関節を含む）、骨髄、脳、盲腸、子宮頸部、凝固腺、視神経、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺／ハーダー腺、喉頭、肝臓、肺、乳腺（雌のみ）、縦隔リンパ節、縦隔組織、腸間膜リンパ節、腸間膜組織、鼻組織／咽頭、口腔組織、卵巣、卵管、膵臓、上皮小体、末梢神経（脛骨）、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、精嚢、骨格筋、皮膚および皮下組織、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、膈、および肉眼的病変部

その他の投与群については、以下に示す組織の病理標本を作成し、病理組織学的検査を行った。

肝臓、肺、腎臓、胃、精巣上体および関連する肉眼的病変部

#### 〔非腫瘍性病変〕

検体投与に関連する非腫瘍性病変を表1に示す。

300 ppm 投与群の胃、肺および精巣上体に投与に関連した病理組織学的変化が認められた。胃の変化としては、腺胃部粘膜過形成の発現頻度と程度の増加ならびにこれに伴う腺腔の拡張と腺胃部粘膜下組織の慢性炎症が認められた。全般的に、胃での変化は境界線に近い腺胃部粘膜域でもっとも顕著であり、幽門部で少なかった。300 ppm 投与群の雌では、肺に軽微ないし軽度の肺泡マクロファージ集簇の発現頻度の増加が認められた。さらに、300 ppm 投与群の雄4例でも、投与に関連したと考えられる軽度の肺泡マクロファージ集簇が認められた。マクロファージ集簇の分布に規則性はなかったが、肺の胸膜下領域でもっとも多かった。300 ppm 投与群の雄では、精巣上体頭部細管上皮細胞の細胞質空胞化の発現頻度および程度の増加が認められた。

その他の病理組織学的変化は自然発生的なものであり、検体投与に関連したものではないと考えられた。

#### 〔腫瘍性病変〕

認められたすべての腫瘍性病変を表2に示す。

いずれの投与群でも雌雄ともに腫瘍の有意な増加は認められなかった。もっとも発現頻度の高い腫瘍は、細気管支・肺泡腺腫および癌ならびに肝細胞腺腫および癌であった。しかし、これらの腫瘍の発現頻度は、雌雄ともに対照群と各

投与群との間で差がなかった。

以上の結果から、本剤のマウスに対する18ヵ月間混餌投与による発がん性試験における影響として、300 ppm 投与群の雌に平均体重、体重増加量および摂餌量の軽度な低値が、300 ppm 投与群の雄または雌に胃、肺および精巣上体の病理組織学的変化が認められた。したがって、無影響量 (NOEL) は、雌雄ともに150 ppm (雄: 18.8 mg/kg/day、雌: 23.9 mg/kg/day) であると判断された。また、本試験条件下では催腫瘍性はないものと判断された。

[申請者注]

報告書中には無毒性量 (NOAEL) について記載されていないが、300 ppm 投与群で認められた所見については毒性変化と考えられることから、無毒性量は雌雄ともに150 ppm (雄: 18.8 mg/kg/day、雌: 23.9 mg/kg/day) であると判断した。

表1 (非腫瘍性病変)

性別		雄					雌						
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300		
途中死亡	胃	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7	
		腺胃部粘膜腺腔多発	軽微	3	3	1	2	5	4	2	4	2	1
		限局性拡張	軽度	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
		合計	3	3	1	3	5	4	2	4	2	2	
		腺胃部粘膜びまん性過形成	軽微	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺胃部粘膜多発限局性過形成	軽微	2	2	0	1	2	2	1	0	3	2
		軽度	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	合計	3	2	0	1	2	2	1	0	3	3		
		腺胃部粘膜下組織の多発限局性慢性炎症	軽微	0	0	0	0	1	1	0	0	2	
	肺	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7	
		肺泡マクロファージ集簇	軽微	1	1	0	1	1	2	0	0	1	0
		軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	合計	1	1	0	1	1	2	1	0	1	0		
	精巢上体	検査動物数	11	13	8	6	11	-	-	-	-	-	
		頭部上皮細胞空胞化	軽微	4	3	5	1	4	-	-	-	-	
軽度		0	0	0	0	5↑	-	-	-	-			
合計	4	3	5	1	9	-	-	-	-				
計画屠殺	胃	検査動物数	39	37	42	44	39	37	42	38	40	43	
		腺胃部粘膜腺腔多発	軽微	9	12	12	16	18	10	16	10	13	25↑
		限局性拡張	軽度	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2
		合計	9	12	12	16	19	10	16	10	14	27↑	
		腺胃部粘膜びまん性過形成	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺胃部粘膜多発限局性過形成	軽微	9	8	6	8	4	4	6	6	6	6
		軽度	2	4	3	2	9	3	5	3	4	7	
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	
	合計	11	12	9	10	13	7	11	9	10	16		
		腺胃部粘膜下組織の多発限局性慢性炎症	軽微	4	7	5	3	15↑	8	7	7	4	10
		軽度	0	0	0	1	1	0	0	0	2	6	
合計	4	7	5	4	16↑	8	7	7	6	16			

-: 該当せず。太字は投与に関連していると判断された影響を示す。

対照群との有意差検定はYates 連続修正カイニ乗検定を用いて行った (↑↓: P < 0.05)

(つづく)

表1 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
計画 屠殺	肺	検査動物数	39	37	42	44	39	37	42	38	40	43
		肺泡マクロファージ 軽微	5	3	1	7	4	7	6	7	10	<u>22</u> ↑
		集簇 軽度	0	0	0	0	<u>4</u>	0	0	0	1	<u>4</u>
	合計	5	3	1	7	<u>8</u>	7	6	7	11	<u>26</u> ↑	
	精巢 上体	検査動物数	39	37	42	44	39	—	—	—	—	—
		頭部上皮細胞空胞化 軽微	13	11	13	16	19	—	—	—	—	—
軽度		0	0	0	0	<u>14</u> ↑	—	—	—	—	—	
合計	13	11	13	16	<u>33</u> ↑	—	—	—	—	—		
全動物	胃	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		腺胃部粘膜腺腔多発限 軽微	12	15	13	18	<u>23</u> ↑	14	18	14	15	<u>26</u>
		局性拡張 軽度	0	0	0	1	1	0	0	0	1	3
		合計	12	15	13	19	<u>24</u> ↑	14	18	14	16	<u>29</u> ↑
		腺胃部粘膜びまん性 軽微	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		過形成 中等度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	合計	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	
	肺	腺胃部粘膜多発限局 軽微	11	10	6	9	6	6	7	6	9	8
		性過形成 軽度	3	4	3	2	<u>9</u>	3	5	3	4	<u>8</u>
		中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<u>3</u>
		合計	14	14	9	11	15	9	12	9	13	<u>19</u>
		腺胃部粘膜下組織の 軽微	4	7	5	3	<u>15</u> ↑	9	8	7	4	<u>12</u>
多発限局性慢性炎症 軽度		0	0	0	1	1	0	0	0	2	<u>6</u> ↑	
合計	4	7	5	4	<u>16</u> ↑	9	8	7	6	<u>18</u>		
精巢 上体	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	肺泡マクロファージ 軽微	6	4	1	8	5	9	6	7	11	<u>22</u> ↑	
	集簇 軽度	0	0	0	0	<u>4</u>	0	1	0	1	<u>4</u>	
	合計	6	4	1	8	9	9	7	7	12	<u>26</u> ↑	
	検査動物数	50	50	50	50	50	—	—	—	—	—	
	頭部上皮細胞空胞化 軽微	17	14	18	17	23	—	—	—	—	—	
軽度	0	0	0	0	<u>19</u> ↑	—	—	—	—	—		
合計	17	14	18	17	<u>42</u> ↑	—	—	—	—	—		

—: 該当せず。太字は投与に関連していると判断された影響を示す。

対照群との有意差検定はYates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓: P < 0.05)

表2〔腫瘍性病変〕

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
途中死亡	骨	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		骨腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	十二指腸	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		癌肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	心臓	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	造血系	検査動物数	1	3	0	1	1	2	0	1	0	0
		骨髄性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		リンパ肉腫 (M)	1	2	0	1	1	2	0	1	0	0
	涙腺	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		腺腫 (B)	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		組織球性肉腫 (転移性 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (転移性 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	
	肺	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		腺癌 (二次 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		腺腫、細気管支肺胞上皮 (B)	2	1	1	1	1	2	1	1	1	0
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (転移性 M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (非転移性 M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
		腺癌/腺腫、細気管支肺胞上皮	2	3	1	1	3	2	1	1	1	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	縦隔リンパ節	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		腺癌 (二次 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
腺癌、細気管支肺胞上皮 (二次 M)		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
低分化肉腫 (二次 M)		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

— : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓ : P < 0.05)

(つづく)



表 2 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
途中死亡	腋下リンパ節	検査動物数	1	0	0	0	0	1	2	0	0	2
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	縦隔洞組織	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (二次 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
	腸間膜組織	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		血管肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		低分化肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	多臓器	検査動物数	1	2	0	0	0	1	1	0	0	0
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (二次 M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		組織球形肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		低分化肉腫 (転移性 M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	口腔	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		エナメル芽細胞性歯牙腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	卵巢	検査動物数	-	-	-	-	-	13	8	12	10	7
		血管肉腫 (非転移性 M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0
	脾臓	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
		島細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	骨格筋	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7
血管肉腫 (二次 M)		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
低分化肉腫 (二次 M)		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

- : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓: P < 0.05)

(つづく)

表 2 (つづき)

性別		雄					雌						
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300		
途中死亡	皮膚	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7	
		背部; 基底有棘細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		腹部; 低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
		背部; 低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		背部; 低分化肉腫 (非転移性 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		頭部; 低分化肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		単徑部; 低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	胃	検査動物数	11	13	8	6	11	13	8	12	10	7	
		腺胃部; 骨肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
		非腺胃部; 乳頭腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	—	13	8	12	10	7	
		組織球性肉腫 (転移性 M)	—	—	—	—	—	1	1	0	0	0	
		子宮内膜腺癌 (転移性 M)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0	
		子宮内膜間質ポリープ (B)	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0	
		血管腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1	
		血管肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0	
	計画屠殺	骨	検査動物数	39	0	0	0	39	37	2	1	1	43
			骨肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		骨髄	検査動物数	39	0	0	0	39	37	0	0	0	43
			血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		盲腸	検査動物数	39	0	0	0	39	37	0	0	0	43
平滑筋腫 (B)			0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
子宮頸部		検査動物数	—	—	—	—	—	37	2	0	0	43	
		組織球性肉腫 (転移性 M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0	
		間質細胞性肉腫 (転移性 M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0	
		間質細胞性肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1	

— : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓ : P < 0.05)

(つづく)

表2 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
計画屠殺	精巢	検査動物数	39	37	42	44	39	—	—	—	—	
	上体	低分化肉腫 (非転移性 M)	0	1	0	0	1	—	—	—	—	
	造血系	検査動物数	0	0	1	0	0	2	3	2	0	3
		リンパ肉腫 (M)	0	0	1	0	0	2	3	2	0	3
	腎臓	検査動物数	39	37	42	44	39	37	42	38	40	43
		尿管腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	涙腺	検査動物数	39	0	1	0	39	37	0	0	0	43
		腺腫 (B)	2	0	1	0	5	0	0	0	0	2
	肝臓	検査動物数	39	37	42	44	39	37	42	38	40	43
		組織球性肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		組織球性肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		肝細胞腺腫 (B)	8	4	2	4	4	0	0	0	2	0
		肝細胞癌 (M)	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫と癌の合計	10	7	2	6	6	0	0	0	2	0
		血管肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		血管肉腫 (非転移性 M)	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	肺	検査動物数	39	37	42	44	39	37	42	38	40	43
		間質細胞肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		腺腫、細気管支肺胞上皮 (B)	7	9	15	13	11	10	6	10	8	8
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (非転移性 M)	2	1	2	2	1	0	0	2	1	1
腺腫/腺癌、細気管支肺胞上皮		8	10	16	15	12	10	6	11	8	9	
骨肉腫 (二次 M)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
リンパ節	腸間膜リンパ節 : 検査動物数	39	0	0	0	39	37	0	1	2	43	
	血管肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
腸間膜組織	検査動物数	39	0	1	0	39	37	1	0	0	43	
	血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	血管肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	

— : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った ( $\uparrow$ :  $P < 0.05$ )

(つづく)

表2 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
計画 屠殺	多臓器	検査動物数	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
		組織球性肉腫 (二次M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		低分化肉腫 (転移性M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	卵巢	検査動物数	-	-	-	-	-	37	25	18	25	43
		腺腫 (B)	-	-	-	-	-	0	1	1	0	2
		顆粒膜細胞腫瘍 (B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		黄体腫 (B)	-	-	-	-	-	1	2	0	1	1
	下垂体	検査動物数	39	0	0	0	39	37	0	1	1	43
		前葉; 腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	精囊	検査動物数	39	2	3	5	39	-	-	-	-	-
		血管肉腫 (二次M)	0	0	0	0	1	-	-	-	-	-
	皮膚	検査動物数	39	6	9	10	39	37	7	4	6	43
		頭部; 基底細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		前肢; 基底細胞癌 (非転移性M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		腰部皮下; 線維肉腫 (非転移性M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		線維性組織細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		腹部; 低分化肉腫 (非転移性M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	脾臓	検査動物数	39	2	4	5	39	37	6	6	1	43
		リンパ肉腫 (非転移性M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管肉腫 (非転移性M)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	胃	検査動物数	39	37	42	44	39	37	42	38	40	43
		非腺胃部; 乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	精巣	検査動物数	39	0	4	1	39	-	-	-	-	-
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-
血管肉腫 (二次M)		1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
間質細胞腺腫 (B)		1	0	1	0	0	-	-	-	-	-	
精上皮腫 (B)		1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	
甲状腺	検査動物数	39	0	0	0	39	37	0	0	0	43	
	腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

- : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓ : P < 0.05)

(つづく)

表 2 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
計画屠殺	子宮	検査動物数	—	—	—	—	—	37	30	24	29	43
		子宮内膜間質ポリープ (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	3	1
		血管腫 (B)	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0
		平滑筋肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		間質細胞肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	2	0	0	0	0
全動物	骨	検査動物数	50	13	8	6	50	50	10	13	11	50
		骨腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		骨肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	骨髓	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	盲腸	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	—	50	9	12	10	50
		組織球性肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		間質細胞性肉腫 (転移性 M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	子宮頸部	間質細胞性肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
		検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
	十二指腸	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		癌肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣	検査動物数	50	50	50	50	50	—	—	—	—	—
		低分化肉腫 (非転移性 M)	0	1	0	0	1	—	—	—	—	—
	心臓	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		低分化肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	造血系	検査動物数	1	3	1	1	1	4	3	3	0	3
		骨髓性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
リンパ肉腫 (M)		1	2	1	1	1	4	3	3	0	3	
腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	尿細管腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
涙腺	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50	
	腺腫 (B)	3	0	2	0	5	1	0	0	0	2	

— : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイニ乗検定を用いて行った (↑↓ : P < 0.05)

(つづく)

表 2 (つづき)

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300
全動物	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	組織球性肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	組織球性肉腫 (転移性 M)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肝細胞腺腫 (B)	9	5	2	5	5	0	0	0	2	0
	肝細胞癌 (M)	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫と癌の合計	10	7	2	6	6	0	0	0	2	0
	血管肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	血管肉腫 (転移性 M)	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫 (非転移性 M)	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
	間質細胞肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	腺癌 (二次 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腺腫、細気管支肺胞上皮 (B)	9	10	16	14	12	12	7	11	9	8
	腺癌、細気管支肺胞上皮 (転移性 M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	腺癌、細気管支肺胞上皮 (非転移性 M)	2	2	2	2	2	0	0	2	1	1
	腺腫/腺癌、細気管支肺胞上皮	10	13	17	16	15	12	7	12	9	9
	骨肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
	腺癌 (二次 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	腺癌、細気管支肺胞上皮 (二次 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	腸間膜リンパ節:										
	検査動物数	48	12	8	5	49	50	8	13	12	50
	血管肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腋下リンパ節:										
	検査動物数	3	0	0	1	4	2	2	1	3	3
	低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

- : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイニ乗検定を用いて行った (↑↓: P < 0.05)

(つづく)

表 2 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
全動物	縦隔洞組織	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (二次 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
	腸間膜組織	検査動物数	50	13	9	6	50	50	9	12	10	50
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
		血管肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
		骨肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	低分化肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	多臓器	検査動物数	1	2	0	0	0	1	3	0	0	0
		腺癌、細気管支肺胞上皮 (二次 M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		組織球性肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0
	口腔	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		エナメル芽細胞性歯牙腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	—	50	33	30	35	50
		腺腫 (B)	—	—	—	—	—	0	1	1	0	2
		顆粒膜細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		血管肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
		黄体腫 (B)	—	—	—	—	—	1	2	0	1	1
	脾臓	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50
		島細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	下垂体	検査動物数	49	13	8	5	49	50	8	12	10	50
		前葉；腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	精囊	検査動物数	50	15	11	11	50	—	—	—	—	—
血管肉腫 (二次 M)		0	0	0	0	1	—	—	—	—	—	
骨格筋	検査動物数	50	13	8	6	50	50	8	12	10	50	
	血管肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	低分化肉腫 (二次 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

—：該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓：P < 0.05)

(つづく)

表 2 (つづき)

性別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300
全動物	検査動物数	50	19	17	16	50	50	15	16	16	50
	背部；基底有棘細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	頭部；基底細胞腺腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	前肢；基底細胞癌 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	腰部皮下；線維肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	線維性組織細胞腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	腹部；低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	腹部；低分化肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	背部；低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	背部；低分化肉腫 (非転移性 M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	頭部；低分化肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	単径部；低分化肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数	50	15	12	11	50	50	14	18	11	50
	脾臓	リンパ肉腫 (非転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管肉腫 (非転移性 M)	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	胃	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺胃部；骨肉腫 (転移性 M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		非腺胃部；乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	1	1	0
	精巣	検査動物数	50	13	12	7	50	—	—	—	—
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	—	—	—	—
		血管肉腫 (二次 M)	1	0	0	0	0	—	—	—	—
		間質細胞腺腫 (B)	1	0	1	0	0	—	—	—	—
		精上皮腫 (B)	1	0	0	0	0	—	—	—	—
	甲状腺	検査動物数	49	13	8	6	50	50	8	12	10
		腺腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	0

—：該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイニ乗検定を用いて行った (↑↓：P < 0.05)

(つづく)



表2 (つづき)

性別		雄					雌					
投与量 (ppm)		0	25	80	150	300	0	25	80	150	300	
全動物	子宮	検査動物数	—	—	—	—	—	50	38	36	39	50
		組織球性肉腫 (転移性 M)	—	—	—	—	—	1	1	0	0	0
		子宮内膜腺癌 (転移性 M)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
		子宮内膜間質ポリープ (B)	—	—	—	—	—	1	0	1	3	1
		血管腫 (B)	—	—	—	—	—	1	0	1	0	1
		血管肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
		平滑筋肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		間質細胞肉腫 (非転移性 M)	—	—	—	—	—	2	0	1	0	0
合計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	25	15	21	21	27	18	13	16	16	16
		悪性	13	12	4	6	12	14	18	22	7	12
	腫瘍総数		38	27	25	27	39	32	31	38	23	28
	担腫瘍動物数	良性	19	15	19	18	21	16	9	15	16	15
		悪性	8	10	4	6	8	11	11	9	5	9
担腫瘍動物数		24	20	21	22	28	24	19	23	18	21	

— : 該当せず

(B) 良性腫瘍、(M) 悪性腫瘍

対照群との有意差検定は Yates 連続修正カイ二乗検定を用いて行った (↑↓ : P < 0.05)

## 8. 繁殖毒性及び催奇形性

### (1) スピネトラム原体のラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 8-1)

試験機関：The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

検体純度：

供試動物：Cr1：CD (SD) 系雌雄ラット、1 群雌雄各 27 匹

試験開始時約 6 週齢

試験期間：2004 年 11 月 19 日 第 1 世代投与開始日

2005 年 8 月 9 日 第 2 世代の最終安楽殺日

投与期間：第 1 (P1) 世代；交配の約 10 週間前から F1 児離乳時まで

第 2 (P2) 世代；離乳時から F2 児離乳時まで

投与方法：最新の体重と摂餌量あるいは背景値から 0、3、10 及び 75 mg/kg/day の投与量となるよう飼料中検体濃度を算出し、検体を基礎飼料に混入して自由に摂取させた。飼料は週 1 回の頻度で調製した。

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

#### P1 及び P2 親動物

一般状態及び死亡；すべての親動物について、ケージサイドからの観察を 1 日 2 回以上、雄動物の臨床観察は、全動物について試験期間中週 1 回の頻度で行った。雌動物の臨床観察は、全雌動物について交配前から交配期間中は週 1 回の頻度で、交尾成立雌動物については妊娠 0、7、14 および 21 日に、児動物を出産した雌動物については哺育 0、1、4、7、14 および 21 日に行った。

体重及び摂餌量；雄動物の体重および摂餌量は、試験期間を通して週 1 回の頻度で測定した。雌の体重は、全動物について交配前期間は週 1 回の頻度で、交尾成立雌動物については妊娠 0、7、14 および 21 日に児動物を出産した雌動物については、哺育 1、4、7、14 および 21 日に測定した。雌の摂餌量は、全動物について交配前期間は週 1 回の頻度で、交尾成立雌動物については妊娠 0、7、14 および 21 日に、児動物を出産した雌動物については、哺育 1、4、7、11、14、17、19 およ

び21日に測定した。

交配及び妊娠の確認；雌を同群の雄と1対1で最長2週間同居させて交配を行った。膈垢中に精子が確認されるか膈栓が認められた場合に交尾成立と判断し、妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；生育、交配、妊娠及び哺育の各期間と剖検時に以下の指標について調べた。

性周期；交配期間の3週間前から妊娠0日および剖検日に各雌から膈垢を採取し、性周期を調べた。

交尾率(%) = (交尾成立雄(雌)数 / 同居させた雄(雌)数) × 100

交尾成立までの日数；同居開始から交尾成立日(妊娠0日)までの期間

雄受胎率(%) = (交尾した雌が妊娠した雄数 / 交尾成立雄数) × 100

雌受胎率(%) = (妊娠雌数 / 交尾成立雌数) × 100

雄妊娠率(%) = (交尾した雌が妊娠した雄数 / 同居させた雄数) × 100

雌妊娠率(%) = (妊娠雌数 / 同居させた雌数) × 100

出産率(%) = (生存児動物を出産した雌数 / 妊娠雌数) × 100

妊娠期間；交尾成立日(妊娠0日)から出産児が最初に確認された日(哺育0日)までの日数

着床痕数；剖検時に子宮内の着床痕を数えた。

精子運動性；剖検時にP1およびP2雄動物全例の右側精巣上体尾部から採取した精子について総運動率および前進運動率を測定した。

精子数；剖検時に左側の精巣と精巣上体尾部を摘出して重量を測定し、精巣/精巣上体あたりおよび精巣/精巣上体組織重量(g)あたりの精子数を測定した。P1全群およびP2の対照群および75 mg/kg/day群の精巣、P1およびP2の対照群および75 mg/kg/day群の精巣上体について評価した。

精子形態；剖検時に採取した精子懸濁液の一部から塗抹標本を作製し、対照群と75 mg/kg/day群についてそれぞれ精子200以上を観察して、正常または異常に分類した。

性成熟；P2親動物について、雌の膈開口開始および雄の包皮分離開始が確認された日齢および体重を記録した。

血清ホルモン分析；剖検予定日まで生存していた動物のうち雌雄各7~10匹/群/世代について、眼窩静脈叢から採血し、血清中の $T_3$ 、 $T_4$ およびTSH濃度を分析した。

雌動物では、児動物を出産した動物についてのみ分析した。

病理組織学的検査；雄動物は交配期間終了後、雌親動物は児動物の離乳後、児動物を出産しなかった雌動物は交配期間終了から24日以上経過後に安楽殺した。すべての親動物について、詳細な剖検を行った。雌では着床痕の観察も行った。全動物について、卵巣、子宮(卵管および頸部を伴う)、精巣、精巣上体、凝固腺

を伴う精囊、前立腺、脳、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、ならびに上皮小体を伴う甲状腺の重量を測定し、最終体重比臓器重量を算出した。対照群と 75 mg/kg/day 群の全親動物について、以下に示した臓器の病理組織学的検査を実施した。他の群の動物では、P1 および P2 世代の雌雄の甲状腺、P1 雌および P2 雌雄の腎臓、肉眼的病変がみられた組織、および繁殖能低下の徴候が認められた動物の生殖系臓器についてのみ病理組織学的検査を行った。

副腎、子宮頸部、凝固腺、精巢上体、腎臓、肝臓、乳腺（雌）、卵巣、卵管、下垂体、前立腺、精囊、精巢、甲状腺、子宮、膈、肉眼的病変部

児動物：

一般状態及び死亡；哺育期間中は、ケージサイドからの観察を 1 日 2 回以上、臨床観察を生後 0、1、4、7、14 および 21 日に行った。以下の指標を算出した。

分娩日生存率 = (生存産児数 / 総産児数) × 100

着床後死亡率 = (着床痕数 - 生存児動物数) / 着床痕数 × 100

生後 1、4 日生存率 = (生後 1、4 日の生存児動物数 / 出生児数) × 100

生後 7、14、21 日生存率 = (生後 7、14、21 日の生存児動物数 / 間引き後生存児数) × 100

性比；生後 1 日の雄：雌比

体重；生後 1、4、7、14 および 21 日の児動物体重を測定した。

病理組織学的検査；離乳時に F1 および F2 児動物から無作為に一腹当たり雌雄各 3 匹を選抜し、生後 22 日に肉眼的病理検査に供した。さらにこれらの児動物から一腹当たり雌雄各 1 匹を無作為に選抜し、脳、脾臓、子宮および胸腺の重量を測定した。

表1 試験の概要

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P1	生育(約10週間)		臨床観察を週1回、ケージサイドからの観察を1日2回 体重、摂餌量を週1回測定 交配前3週間から性周期を検査
	交配(2週間)	雌雄1対1で交配。膈栓及び膈垢中の精子で交尾確認(妊娠0日)	交配状況の観察 交尾成立までの日数を記録 交尾率を算出
	妊娠(3週間)		妊娠0、7、14および21日に体重、摂餌量測定
	出産	出産児が最初に確認された日を哺育0日とした	出産状況の観察 妊娠期間、産児数(生存及び死亡)を記録、受(授)胎率、妊娠率、出産率を算出
	哺育(3週間)	哺育4日に各同腹児数を雄4匹雌4匹に調整(可能ならば)	母動物: 哺育1、4、7、14および21日に体重、哺育1、4、7、11、14、17、19および21日に摂餌量を測定 児動物: ケージサイドからの観察を1日2回以上 生後1日に性比を計算 生後0、1、4、7、14および21日に臨床観察、生存児数計測 生後1、4、7、14および21日に体重測定
P2	離乳	F1 離乳児から雄代用の各群雄27匹雌27匹(可能ならば各腹雌雄各1匹)を無作為に選抜	次世代親動物に選抜されなかったP1 離乳児から各腹雌雄各3匹を無作為に選抜して剖検、この中から各腹雌雄各1匹を無作為に選抜し臓器重量測定。  雄親動物は交配期間終了後に剖検、精子運動性、精子数および精子形態を評価 雌親動物はF1 児動物の哺育期間終了後に剖検 臓器重量測定 親動物の各群雌雄各7~10匹について血清中T <sub>3</sub> 、T <sub>4</sub> およびTSHを剖検時に測定 親動物の病理組織学的検査
	生育(約10週間)		(P1世代に準ずる) 膈開口(雌)と包皮分離(雄)開始が確認された日齢およびその時の体重を記録
	交配(2週間)	(P1世代に準ずる)	(P1世代に準ずる)
	妊娠(3週間)		(P1世代に準ずる)
	出産	(P1世代に準ずる)	(P1世代に準ずる)
	哺育(3週)	(P1世代に準ずる)	(P1世代に準ずる)
離乳	P2世代親動物の安楽殺 P2離乳児の安楽殺	(P1世代に準ずる)	

結 果：概要を次頁の表 2 に示した。

親動物：

死 亡；P1 世代では 3、10 および 75 mg/kg/day 群のそれぞれ雄 1 例と 75 mg/kg/day 群の雌 1 例、P2 世代では 10 mg/kg/day 群の雌 2 例と 75 mg/kg/day 群の雌 2 例が試験途中で死亡または切迫殺された。このうち、75 mg/kg/day 群の P1 雌 1 例は難産の徴候が認められ妊娠 25 日に切迫殺、75 mg/kg/day 群の P2 雌 1 例は難産および胎児遺残が原因の全身状態悪化のため哺育 13 日に切迫殺した。これら 2 例は検体投与の影響と考えられた。その他の動物は偶発的な死亡または事故による全身状態の悪化による切迫殺であった。

一般状態；検体投与の影響として、75 mg/kg/day 群の雌動物のうち、P1 雌動物 4 例および P2 雌動物 3 例で分娩の異常（難産）がみられ、そのほとんどでは数日間にとり分娩が遅延した。また、これらの雌動物では分娩後に外陰部分泌物、鼻／口／下腹部の汚れ、皮膚／粘膜の蒼白化などの臨床所見が認められた。

全ての用量群の P1 および P2 雄、ならびに 3 および 10 mg/kg/day 群の P1 および P2 雌では、行動および外観に投与に関連した影響は認められなかった。その他の臨床所見は全て、用量反応関係がなく、同系統のラットによくみられることから、偶発的所見であると考えられた。

体重及び体重増加量；試験期間中のいずれの時期でも、全ての投与群で親動物の平均体重および平均体重増加量に投与に関連した影響は認められなかった。P2 雄では体重の統計学的に有意な低値が散見されたが、一過性であり、一貫した用量反応関係がなかったことから、これらの変化は正常な変動の反映と考えられた。

摂餌量；試験期間中のいずれの時期でも、全ての投与群で平均摂餌量に投与に関連した影響は認められなかった。摂餌量の統計学的に有意な増加または減少は散見されたが、用量反応関係、世代間での変化の一貫性、あるいは対応する期間の体重または体重増加量における一貫した裏付けとなる変化がいずれもなかったことから、これらの差は投与に関連していないと考えられた。

臓器重量；P1 雌雄親動物に投与に関連した臓器重量の変化は認められなかった。一方、P2 親動物では、対照群と比較して、75 mg/kg/day 群の雌雄で肝臓絶対重量（雄；18.645 g、5.7%増加、雌；10.541 g、12.5%増加）および肝臓相対重量（雄；3.068 g/100、8.7%増加、雌；3.196 g、7.7%増加）が増加し、投与に関連した変化と考えられた。この用量群の肝臓重量増加は雄の絶対重量を除き統計学的に有意であり、その値は雌の相対重量を除いて背景対照値（絶対重量；雄 14.221～18.263 g、雌 8.985～9.977 g、相対重量；雄 2.693～2.936 g/100、雌 2.582～3.491 g/100）の範囲を超えていた。しかし、この P2 親動物における肝臓重量の軽度な増加は、対応する肝臓の病理組織学的変化がないことから、毒性作用を示すのではないと考えられた。

その他に臓器重量の有意な変化として、P1 親動物では、75 mg/kg/day 群の雄で

副腎相対重量 (0.011 g/100) の増加、下垂体相対重量 (0.002 g/100) の増加、10 mg/kg/day 群の雄で下垂体絶対重量 (0.012 g) の減少、ならびに 3 mg/kg/day 群の雄で精巣上体絶対重量 (1.310 g) および精巣上体相対重量 (0.237g/100) の減少が認められたが、その値が背景対照値 (副腎相対重量; 0.008~0.013 g/100、下垂体相対重量; 0.002~0.003 g/100、下垂体絶対重量; 0.009~0.017 g、精巣上体絶対重量; 1.335~1.501 g、精巣上体相対重量; 0.224~0.277 g/100) の変動範囲内であること、あるいは用量反応関係がない変化であることから、投与に関連しないと考えられた。P2 親動物では、3 および 10 mg/kg/day 群の雄で前立腺絶対重量 (それぞれ 1.104 および 1.122 g) の有意な減少が、3 mg/kg/day 群の雌では脾臓の絶対重量 (0.569 g) および相対重量 (0.183 g/100) の有意な減少がみられたが、用量反応性がなくかつその値が背景対照値 (前立腺絶対重量; 1.098~1.283 g、脾臓絶対重量; 0.567~0.606 g、脾臓相対重量; 0.168~0.205 g) の範囲内であることから、投与に関連しないと考えられた。

血清中甲状腺ホルモン; いずれの用量でも  $T_3$ 、 $T_4$  および TSH レベルに一貫しかつ投与に関連した影響は認められなかった。

統計学的に有意な差が散見されたが、それらの変化には明確な用量反応関係がないか、次世代での再現性がなく、偶発的な変動によると考えられた。また、このことは、甲状腺重量に変化がないことや、顕微鏡検査で甲状腺濾胞内のコロイドが正常なこと、繁殖性予備試験では TSH、 $T_3$  および  $T_4$  の一貫した変化がないことから裏付けられた。

肉眼的病理検査; 投与に関連した肉眼的変化として、子宮内に残っていた後期死亡胎児に関連する子宮の異常が 75 mg/kg/day 群の P1 雌 2 例および P2 雌 1 例に認められた。

その他のすべての肉眼的病理所見は自然発生的な変化であり、検体投与との関連はないと考えられた。

病理組織学的検査; 投与に関連した病理組織学的変化は 75 mg/kg/day 群の雌雄にのみ認められた。75 mg/kg/day 群の両世代の雌雄における大多数の甲状腺に軽微から軽度のびまん性の濾胞上皮細胞の微細な細胞質内空胞が認められた。75 mg/kg/day 群の P1 および P2 雌の一部および P2 雄の少数例の腎臓では、近位尿管上皮細胞内で淡黄褐色色素物質 (リポフスチン様物質) 量の軽微な増加が認められた。また、75 mg/kg/day 群の P1 雌 2 例および P2 雌 1 例の子宮には後期死亡胎児に関連して、中等度の肉芽腫性炎症または重度の慢性活動性炎症が認められた。

その他の所見は全て自然発生的または偶発的な変化であり、検体投与に関連しないと考えられた。

精子検査; いずれの用量でも精子運動率、精子数および精子形態に投与の影響は認められなかった。

P1 対照群と 75 mg/kg/day 群の精巣あたり精子数の評価では、75 mg/kg/day 群で軽度であるが統計学的に有意な減少（精子数；288.9）が認められたため、3 および 10 mg/kg/day 群も併せて再分析した結果、75 mg/kg/day 群の有意差は消失し、3 および 10 mg/kg/day 群で有意な減少（精子数；それぞれ 260.8、275.7）が認められた。しかし、全体の用量反応相関はなく、全ての値は背景対照値（142.3～366.4）の範囲内であり、P2 雄の精巣あたり精子数に影響は認められなかったことから、この変化は投与に関連しないと考えられた。また、P2 雄では精巣上体重量あたり精子数（842.5 /g）の統計学的に有意な増加がみられたが、この値は背景対照値（838.9～1144/g）の範囲内であり、P1 対照群値よりも低い値であったことから、この変化も投与に関連しないと考えられた。

性周期；検体投与の影響は認められなかった。

繁殖性；75 mg/kg/day 群では F1 および F2 同腹児の分娩日生存率が軽度に減少（F1 世代で統計学的に有意）し、着床後死亡率もこれと一致して対照群と比較して統計学的に有意でないものの軽度に増加したことから、これらの変化は再現性があり、非常に軽度な影響であるものの投与に関連していると考えられた。また、これらの影響は子宮内での胚吸収の増加ではなく死産児数の増加によるものであった。その他、両世代とも、いずれの投与量でも交尾率、受胎率、妊娠率、出産率、交尾成立までの日数および妊娠期間に影響は認められなかった。

児動物；両世代とも、いずれの投与量でも同腹児数、児動物生存率、性比、児動物体重、陰開口日齢、包皮分離日齢、臓器重量および肉眼的病理検査に検体投与の影響は認められなかった。

本試験の結果、親動物の一般毒性学的影響として、75 mg/kg/day 群の両世代の雌雄親動物において甲状腺ホルモンの変化を伴わない軽微ないし軽度の甲状腺濾胞上皮細胞の細胞質空胞化、75 mg/kg/day 群の P2 雌雄親動物で病理組織学的変化を伴わない絶対および相対肝臓重量の増加、75 mg/kg/day 群の P1 および P2 雌動物の一部ならびに P2 雄動物の少数例で腎臓の近位尿細管上皮細胞の淡黄褐色色素物質の軽微な増加がそれぞれ認められた。これらの肝臓重量変化ならびに甲状腺および腎臓の病理組織学的変化は有害作用を示すものであるとは考えられなかった。

繁殖性に関する影響としては、75 mg/kg/day 群の P1 雌動物 4 例および P2 雌動物 3 例で分娩の異常（難産）がみられ、そのほとんどでは数日間にわたり分娩が遅延した。これらの雌動物では臨床所見（分娩後の外陰部分泌物、皮膚／粘膜蒼白化、鼻／口／下腹部汚れ）もみられ、哺乳期間中の体重および摂餌量が減少し、さらにその児動物の生存率および体重も減少した。この雌動物うち 2 例は難産の 2 次的影響で状態が悪化したため安楽殺した。この他の 75 mg/kg/day 群の動物における影響としては、分娩時の児動物生存率の軽度低下と着床後胎児死亡の軽度増加が認められた。



したがって、無影響量 (NOEL) は親動物一般毒性および繁殖性に対していずれも 10 mg/kg/day と判断される。

[申請者注]

血清甲状腺ホルモン測定では、T<sub>4</sub>の低値がP1世代雌の10mg/kg以上の群およびP2世代雄の75mg/kg群において、TSHの高値あるいは高値傾向がP1世代の雌およびP2世代の雄において各々認められた。これらの変化について、報告書中では偶発的な変動と評価しているが、P1世代雌およびP2世代雄の75mg/kg群におけるT<sub>4</sub>の低値ならびにTSHの高値ないし高値傾向については、スピネトラム投与との関連が疑われた。

しかしながら、甲状腺ホルモンが低下した場合に観察される着床数の低下、胚胎児の死亡率の上昇、胎児の奇形発現、児の体重および脳重量の低下といった繁殖性あるいは次世代発生への影響が、当該試験およびラット催奇形性試験において認められなかったことを考慮すると、今回認められたスピネトラム投与の関連が疑われる甲状腺ホルモンの変動は、毒性学的意義の低い、極めて軽微な変化であると考えられる。

[申請者注]

報告書中の記載は無影響量 (NOEL) であるが、評価の内容は無毒性量 (NOAEL) と同等であった。したがって、無毒性量 (NOAEL) は親動物一般毒性および繁殖性に対していずれも 10 mg/kg/day と考えられた。

表 2 結果概要

世代		親 : P1 児 : F1				親 : P2 児 : F2			
投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	75	0	3	10	75
動物数	雄	27	27	27	27	27	27	27	27
	雌	27	27	27	27	27	27	27	27
死亡	雄	0	1	1	1	0	0	0	0
	雌	0	0	0	1 <sup>a</sup>	0	0	2	2 <sup>b</sup>
臨床観察									
雄 :		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし			
雌 (交配前期間) :		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし			
雌 (妊娠期間) :									
検査動物数		25	21	24	24	24	24	22	23
難産		0	0	0	1	0	0	0	0
雌 (哺育期間) :									
検査動物数		26	20	24	23	24	24	23 <sup>c</sup>	23
外陰部分泌物-赤		0	0	0	1	0	0	0	3
外陰部分泌物-褐色		0	0	0	1	0	0	0	0
難産		0	0	0	2 <sup>d</sup>	0	0	0	3
皮膚/粘膜蒼白化		0	0	0	2	0	0	0	2
鼻周囲汚れ-赤		0	0	0	1	0	0	0	2
鼻周囲汚れ-透明		0	0	0	0	0	0	0	1
口周囲汚れ		0	0	0	0	0	0	1	1
下腹部汚れ		0	0	0	0	0	0	0	2
平均体重	雄	-	有意差なし			-	有意差なし	↓投与 27日	↓投与 27日
	雌	-	有意差なし			-	有意差なし		
体重増加量	雌	-	有意差なし			-	有意差なし		
摂餌量	雄	-	↓投与 92-99日	有意差 なし	↓投与 92-99日	-	有意差 なし	↓投与 120-127 日	↓投与 120-127 日
	雌	-	有意差なし		↑哺育 14-17日	-	有意差なし		↑投与 22-29、 36-43、 43-50日
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0	3.24	10.79	80.87	0	3.16	10.46	78.97
	雌	0	3.13	10.47	78.37	0	2.97	9.87	74.87

太枠は検体の投与による影響であることを示す。—：対照群

a：難産のため妊娠 25 日に切迫殺した。

b：1 例は難産後全身状態悪化のため哺育 13 日に切迫殺した。1 例は事故により状態が悪化して切迫殺した。

c：交尾成立の確認はできなかったが、児を分娩した 1 例を含む。

d：難産のため妊娠 25 日に切迫殺した 1 例、および剖検時に胎児組織の遺残がみられた 1 例は含まれていない。

対照群との有意差の検定 ( $\downarrow \uparrow : p < 0.05$ )

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定：体重、体重増加量、摂餌量

(つづく)

表2 つづき

世代		親:P1				親:P2					
投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	75	0	3	10	75		
親動物	雄	副腎重量 <sup>a</sup>	絶対	0.056	0.056	0.056	0.061	0.074	0.068	0.067	0.077
			相対	0.010	0.010	0.010	↑0.011	0.012	0.011	0.012	0.013
		下垂体重量 <sup>a</sup>	絶対	0.013	0.013	↓0.012	0.014	0.014	0.013	0.013	0.014
			相対	0.002	0.002	0.002	↑0.002	0.002	0.002	0.002	0.002
		精巣上体重量 <sup>a</sup>	絶対	1.396	↓1.310	1.386	1.400	1.409	1.309	1.394	1.409
			相対	0.247	0.237	0.253	0.258	0.227	0.224	0.244	0.237
	肝臓重量 <sup>a</sup>	絶対	15.314	15.069	15.036	15.080	17.646	16.584	16.709	18.645	
		相対	2.681	2.702	2.723	2.750	2.823	2.785	2.893	↑3.068	
	前立腺重量 <sup>a</sup>	絶対	1.178	1.138	1.235	1.147	1.246	↓1.104	↓1.122	1.170	
		相対	0.208	0.205	0.226	0.211	0.201	0.188	0.195	0.198	
	雌	肝臓重量 <sup>a</sup>	絶対	8.847	9.142	8.908	9.420	9.364	9.246	9.840	↑10.541
			相対	2.994	3.067	3.021	3.123	2.968	2.952	3.036	↑3.196
	脾臓重量 <sup>a</sup>	絶対	0.563	0.551	0.560	0.635	0.620	↓0.569	0.614	0.679	
		相対	0.191	0.184	0.189	0.209	0.197	↓0.183	0.190	0.205	
甲状腺ホルモン	T3 (ng/dL)	雄	78.43	75.73	76.74	71.38	86.65	87.86	92.10	95.61	
		雌	95.97	111.53	106.32	105.29	85.83	91.56	88.90	↑106.24	
	T4 (μg/dL)	雄	4.40	4.12	4.50	4.17	5.00	4.66	4.63	↓3.60	
		雌	4.09	3.39	↓3.26	↓3.13	2.88	3.19	2.91	3.00	
TSH (ng/mL)	雄	4.61	4.37	4.55	4.73	2.82	2.98	2.55	↑5.11		
	雌	2.81	2.89	2.86	5.02	3.00	2.36	2.54	4.63		
肉眼的病理検査											
雄: 観察例数		27	27	27	27	27	27	27	27		
検体投与に起因する異常なし					検体投与に起因する異常なし						
雌: 観察例数		27	27	27	27	27	27	27	27		
子宮:											
片側限局性肥厚 <sup>b</sup>		0	0	0	1	0	0	0	0		
胎児組織遺残		0	0	0	1	0	0	0	1		

太枠は検体の投与による影響であることを示す。

a: 絶対重量 (g)、相対重量 (g/100)

b: 病理組織学的検査で後期死亡胎児と考えられる胎児組織が認められた。

対照群との有意差の検定 (↓↑: p < 0.05)

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定: 血清中ホルモン濃度、臓器重量

Cochran-Armitage 傾向検定または Yates 連続補正カイ二乗検定: 肉眼的病理検査

(つづく)

表2 つづき

世代		親：P1				親：P2					
投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	75	0	3	10	75		
親動物	病理組織学的検査-雄										
	甲状腺：検査動物数	27	26	26	27	26	27	27	27		
	びまん性濾胞細胞細胞質空胞化 軽微	0	0	0	↑4	0	0	0	0		
	軽度	0	0	0	↑22	0	0	0	↑22		
	腎臓：検査動物数	27	3	1	27	27	27	27	27		
	多発性近位尿細管色素増加 軽微	0	0	0	0	0	0	0	2		
	病理組織学的検査-雌										
	甲状腺：検査動物数	27	27	27	27	27	27	27	27		
	びまん性濾胞細胞細胞質空胞化 軽微	0	0	0	↑10	0	0	0	0		
	軽度	0	0	0	↑14	0	0	0	↑18		
	腎臓：検査動物数	27	27	27	27	27	27	27	27		
	多発性近位尿細管色素増加 軽微	0	0	0	↑9	1	0	0	↑11		
	子宮：検査動物数	27	7	3	26	27	3	7	27		
	限局性子宮筋層肉芽腫性炎症 中等度	0	0	0	1	0	0	0	0		
	慢性活動性炎症 重度	0	0	0	1	0	0	0	1		
	親動物繁殖能力	精子検査	精子総運動率	97.8	89.2	97.2	97.8	98.3	94.7	94.1	94.6
			精子前進運動率	91.1	79.8	89.3	91.3	91.6	85.8	86.4	88.0
			精巣	総数	306.5	↓260.8	↓275.7	288.9	302.8		
背景値				平均：271.5 (範囲：142.3 - 366.4)							
精子数 <sup>a</sup>			重量比	178.8	↓154.3	↓156.1	165.4	160.1			164.9
			背景値	平均：150.6 (範囲：80.5 - 193.5)							
精巣上体			総数	317.1			306.3	234.3			261.3
			精子数 <sup>a</sup> 重量比	1023.7			951.3	713.1			↑842.5
精子形態 <sup>b</sup>			0.018			0.018	0.021				0.022

太字は検体の投与による影響であることを示す。斜線：検査せず。  
 a：総数は精巣/精巣上体あたり (× 10<sup>6</sup>)、重量比は精巣/精巣上体 1 g あたり (× 10<sup>6</sup>/g) の精子数  
 b：異常精子の割合  
 対照群との有意差の検定 (↑ : p < 0.05)  
 Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定：精子数、精子運動率  
 Dunnett 検定：精子形態  
 Cochran-Armitage 傾向検定または Yates 連続補正カイ二乗検定：病理組織学的検査

表2 つづき

世代		親:P1 児:F1				親:P2 児:F2				
投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	75	0	3	10	75	
親動物繁殖能力	膈開口日齢 (日)	/				31.7	31.4	31.6	31.7	
	同日体重 (g)	/				111.0	106.1	109.8	105.8	
	包皮分離日齢 (日)	/				44.7	44.7	44.9	45.9	
	同日体重 (g)	/				249.1	235.7	237.6	244.4	
	性周期 (日)	4.2	4.2	4.1	4.0	4.3	4.2	4.2	4.1	
	同居動物数	雄	27	26	27	26	27	27	25	27
		雌	27	27	27	27	27	27	25	27
	交尾率 (%)	雄	96.3	96.2	96.3	96.2	88.9	96.3	100.0	88.9
		雌	96.3	96.3	96.3	96.3	88.9	96.3	100.0	88.9
	受胎率 (%)	雄	100.0	80.0	92.3	92.0	100.0	92.3	92.0	95.8
		雌	100.0	80.8	92.3	92.3	100.0	92.3	92.0	95.8
	妊娠率 (%)	雄	96.3	76.9	88.9	88.5	88.9	88.9	92.0	85.2
		雌	96.3	77.8	88.9	88.9	88.9	88.9	92.0	85.2
	出産率 (%)		100.0	95.2	100.0	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0
交尾成立までの日数		2.5	3.3	2.3	2.7	3.0	2.8	3.1	2.9	
妊娠期間 (日)		21.6	21.6	21.6	21.8	21.7	21.8	21.7	21.7	
着床後死亡率 (%)		5.06	6.28	5.43	11.45	8.48	8.51	9.32	13.28	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。斜線：検査せず。

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定：性周期

Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定：膈開口日齢、包皮分離日齢、妊娠期間、交尾成立までの期間

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定：着床後死亡率

Bonferroni 補正 Fisher 正確確率検定：交尾率、受胎率、妊娠率、出産率

(つづく)

表2 つづき

世代		親 : P1		児 : F1		親 : P2		児 : F2			
投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	75	0	3	10	75		
児動物	分娩時生存率 (%)	99.7	98.9	99.7	↓97.5	98.1	99.1	98.7	95.4		
	性比 (哺育1日)	47:53	47:53	47:53	51:49	53:47	49:51	55:45	53:47		
	平均生存産児数	13.5	13.6	14.2	13.0	13.0	13.2	13.4	12.6		
	平均死産児数	0.0	0.2	0.0	0.3	0.3	0.1	0.2	0.6		
	生存率 (%)	哺育1日	99.1	99.3	100.0	100.0	99.4	99.4	98.7	98.8	
		哺育4日	97.8	98.9	98.2	99.3	95.2	98.4	98.1	97.6	
		哺育7日	100.0	100.0	100.0	100.0	99.5	100.0	100.0	99.4	
		哺育14日	100.0	100.0	100.0	100.0	99.5	100.0	100.0	98.7	
		哺育21日	100.0	100.0	100.0	100.0	99.5	100.0	100.0	98.7	
	臨床観察		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし				
	体重 (g)	哺育1日	雄	7.3	7.1	7.0	7.1	7.0	7.3	7.3	6.9
			雌	6.8	6.8	6.7	6.8	6.6	6.9	6.8	6.5
		哺育4日 <sup>a</sup>	雄	10.4	9.9	9.8	9.9	10.2	10.2	10.5	10.0
			雌	9.7	9.5	9.4	9.5	9.7	9.8	10.0	9.5
		哺育4日 <sup>b</sup>	雄	10.4	10.0	9.8	9.9	10.1	10.2	10.6	9.9
雌			9.7	9.6	9.5	9.5	9.7	9.8	10.1	9.6	
哺育7日		雄	17.0	16.2	16.0	15.6	16.2	16.5	16.9	15.7	
		雌	15.9	15.5	15.5	15.0	15.6	15.7	16.0	15.2	
哺育14日		雄	35.1	33.6	33.5	33.1	34.5	34.8	35.2	34.3	
		雌	33.6	32.5	32.7	32.1	33.5	33.7	33.7	33.3	
哺育21日		雄	57.2	54.6	54.0	54.1	56.6	57.1	58.1	56.4	
		雌	54.3	52.6	52.6	52.1	54.6	54.6	54.8	54.0	

太枠は検体の投与による影響であることを示す。 - : 対照群

a : 児数調整前

b : 児数調整後

対照群との有意差の検定 (↓ : p < 0.05)

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定 : 体重

Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定 : 同腹児数

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定 : 児動物生存率

二項分布 : 児動物性比

表2 つづき

世代		親 : P1				親 : P2					
投与量 (mg/kg/day)		0	3	10	75	0	3	10	75		
児動物	雄	脳	絶対	1.539	1.502	1.491	1.497	1.550	1.552	1.559	1.552
			重量 <sup>a</sup>	相対	2.562	2.649	2.630	2.650	2.638	2.652	2.563
		脾臓	絶対	0.287	0.245	0.263	0.259	0.265	0.281	0.300	0.261
			重量 <sup>a</sup>	相対	0.473	0.426	0.452	0.455	0.440	0.473	0.489
		胸腺	絶対	0.226	0.212	0.229	0.210	0.255	0.238	0.253	0.228
			重量 <sup>a</sup>	相対	0.372	0.372	0.399	0.367	0.428	0.404	0.414
	雌	脳	絶対	1.493	1.491	1.447	1.455	1.483	1.502	1.519	1.482
			重量 <sup>a</sup>	相対	2.617	2.713	2.663	2.692	2.780	2.687	2.669
		脾臓	絶対	0.284	0.258	0.269	0.250	0.256	0.275	0.279	0.259
			重量 <sup>a</sup>	相対	0.496	0.462	0.487	0.457	0.465	0.487	0.486
		胸腺	絶対	0.242	0.230	0.228	0.230	0.260	0.234	0.265	0.240
			重量 <sup>a</sup>	相対	0.423	0.414	0.415	0.422	0.473	0.415	0.463
	子宮	絶対	0.043	0.042	0.043	0.043	0.045	0.043	0.046	0.044	
		重量 <sup>a</sup>	相対	0.075	0.076	0.079	0.079	0.083	0.076	0.080	0.082
肉眼的病理検査		検体投与に起因する異常なし				検体投与に起因する異常なし					

太枠は検体の投与による影響であることを示す。 - : 対照群

a : 絶対重量 (g)、相対重量 (g/100 g 体重)

対照群との有意差の検定 (↓ : p < 0.05)

Dunnnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定 : 臓器重量

Cochran-Armitage 傾向検定または Yates 連続補正カイ二乗検定 : 肉眼的病理検査



(2) ラットにおける催奇形性試験

(資料 8-2)

試験機関：The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年：2005年

検体純度：

供試動物：CRL：CD (SD) 雌ラット (試験開始時 10~11 週齢、体重範囲；約 200~250 g)、  
1 群 26 匹

試験期間：2005 年 2 月 27 日 検体投与開始  
2005 年 3 月 24 日 剖検終了

投与方法：検体を 0.5% METHOCEL<sup>®</sup> A4M 水溶液に懸濁し、30、100 および 300 mg/kg/day の  
投与量で妊娠 6 日<sup>\*)</sup>から 20 日までの 15 日間、投与当日の体重に基づきそれぞれ  
4 mL/kg の投与液量で 1 日 1 回強制経口投与した。対照群には 0.5% METHOCEL<sup>®</sup> A4M  
水溶液を同様に投与した。

\*) 膈栓が確認された日を妊娠 0 日として起算した。

観察・検査項目：

親動物；全雌動物について、臨床観察を 1 日 1 回の頻度で行った。妊娠 0 日、妊娠 6~21  
日に毎日体重を測定し、妊娠 0、6、9、12、15、18 および 21 日の体重、ならび  
に妊娠 0~6、6~9、9~12、12~15、15~18、18~21、6~21 および 0~21 日間  
の体重増加量について統計解析を行った。摂餌量は妊娠 3~6 日、6~9 日、9~  
12 日、12~15 日、15~18 日および 18~21 日間で測定した。妊娠 21 日の帝王切  
開時に、すべての雌動物について肉眼的病理検査を行った。また、肝臓、腎臓お  
よび妊娠子宮の重量を測定するとともに、黄体、着床、死亡胚・胎児および生存  
胎児について観察した。

生存胎児；全胎児について体重測定、性別判定、外表検査を行った。胎児の約半数につい  
て、低倍率実体顕微鏡下で解剖して内臓検査を行い、これらの胎児の頭部をプ  
アン液で固定後、連続切片を作製して眼、脳、鼻腔および舌の観察を行った。残り  
の胎児については、内臓を除去し、軟骨と骨をアルシアンブルーおよびアリザリ  
ンレッド S で二重染色した後、詳細な骨格検査を行った。

結 果：概要を次頁の表に示した。

親動物；すべての雌動物が計画殺時まで生存した。300 mg/kg/day 群で母動物の体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた。その他、いずれの用量でも、検体投与に関連した臨床所見および肉眼的病理所見は認められず、臓器重量および繁殖性に関する項目（妊娠率、黄体数、着床数、着床前ならびに着床後死亡率、生存胎児数および妊娠子宮重量）にも投与の影響は認められなかった。

胎 児；いずれの用量でも、性比および胎児体重に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格検査で奇形あるいは変異の統計学的に有意な増加は認められなかった。数例の胎児奇形が認められたが、対照群を含む全ての群で散発的に認められ、腹単位での発現頻度が低く、用量相関性もみられないことから、これらの奇形に毒性学的意義はないと考えられた。

一方、300 mg/kg/day 群で内臓変異である副腎の出血の発現頻度の軽度増加（3腹の胎児4例、統計学的な有意差なし）が認められたが、（1）この所見は以前に対照群の動物でも報告されていること、（2）本試験において、対照群の胎児でも同等の頻度（3腹の胎児3例）で同様な内臓変異である肝臓の出血がみられていること、（3）同用量での影響が副腎に限られていることから、この所見は被験物質投与に関連しないと考えられた。

以上のように、本剤を妊娠6～20日に300 mg/kg/dayの用量で経口投与したところ、母動物では明らかな毒性（体重増加抑制および摂餌量の減少）が認められたことから、母動物に対する無影響量（NOEL）は100 mg/kg/dayであった。一方、胎児には検体投与の影響が認められなかったことから、胎児に対する無影響量（NOEL）は300 mg/kg/dayであると考えられた。また、最高投与量の300 mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

〔申請者注〕

報告書中の記載は無影響量（NOEL）であるが、評価の内容は無毒性量（NOAEL）と同等であった。したがって、母動物に対する無毒性量（NOAEL）は100 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量（NOAEL）は300 mg/kg/dayであると考えられた。

附表

投与群 (mg/kg/day)		対照	30	100	300	
1群あたり動物数		26	26	26	26	
生存胎児のある雌動物数		26	26	24	25	
母動物	死亡	0	0	0	0	
	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった				
	平均体重	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	体重増加量	—	有意差なし	有意差なし	↓:妊娠6-9日 抑制傾向:妊娠 9-12日	
	摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	↓:妊娠6-9、 9-12、12-15日	
	腎臓重量 (g)	2.043	2.021	1.983	2.027	
	肝臓重量 (g)	14.691	14.181	14.613	14.497	
	肉眼的病理所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
	繁殖性に関する項目	検査母動物数	26	26	24	25
		妊娠率 (%)	100.0	100.0	92.3	96.2
		平均黄体数	13.7	13.5	13.5	13.4
		平均着床数	13.1	12.7	13.0	12.7
		着床前死亡率 (%)	4.2	6.5	3.6	5.4
		着床後死亡率 (%)	7.0	4.3	4.4	5.7
		平均生存胎児数	12.2	12.2	12.4	12.0
妊娠子宮重量 (g)		99.95	98.66	100.96	95.32	
胎児	平均胎児体重 (g)	雄	6.04	6.09	5.99	5.92
		雌	5.73	5.75	5.72	5.66
	性比 (雄:雌)	50:50	49:51	51:49	50:50	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。 — : 対照群

妊娠率 (%) = (着床痕を有する雌動物数 / 交配雌動物数) × 100

着床前死亡率 (%) = ((黄体数 - 着床数) / 黄体数) × 100

着床後死亡率 (%) = ((着床数 - 生存出生児数) / 着床数) × 100

対照群との有意差の検定 (↓: p < 0.05)

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定: 母動物体重、母動物体重増加量、摂餌量、臓器重量、胎児体重

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定: 着床前死亡率、着床後死亡率、胎児の外表、内臓、骨格検査

Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定: 黄体数、着床数、生存胎児数

Bonferroni 補正 Fisher 正確確率検定: 妊娠率

二項分布検定: 胎児性比

Cochran-Armitage 傾向検定または Yates 連続補正カイ二乗検定: 肉眼的病理所見

(つづく)

附表 (つづき)

投与量 (mg/kg/day)	対照	30	100	300
外表検査:				
検査胎児 (腹) 数	317 (26)	317 (26)	298 (24)	299 (25)
	異常は認められなかった			
内臓奇形:				
検査胎児 (腹) 数	164 (26)	165 (26)	157 (24)	156 (25)
精巣低形成	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
横隔膜膨張	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
水腎	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
内臓変異:				
検査胎児 (腹) 数	164 (26)	165 (26)	157 (24)	156 (25)
肝臓出血	3 (3)	0 (0)	2 (2)	2 (2)
腎臓出血	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)
副腎出血	0 (0)	1 (1)	0 (0)	4 (3)
副腎点状出血	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
骨格奇形:				
検査胎児 (腹) 数	153 (26)	152 (26)	142 (24)	143 (25)
胸椎・胸椎体・肋骨・胸骨 分節の過剰	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1)
波状肋骨 (Class II)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
合計	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (2)
骨格変異:				
検査胎児 (腹) 数	153 (26)	152 (26)	142 (24)	143 (25)
鼻骨骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
前頭骨骨化遅延	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
頭頂骨骨化遅延	4 (2)	2 (2)	6 (3)	4 (3)
頭頂間骨骨化遅延	16 (11)	12 (11)	18 (11)	19 (10)
上後頭骨骨化遅延	0 (0)	1 (1)	3 (2)	0 (0)
頭頂間骨不整	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸椎体骨化遅延	2 (2)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
肋骨肥厚	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
波状肋骨 (Class I)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
肋骨骨化遅延	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胸骨分節骨化遅延	1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
胸骨分節過剰部位骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸骨分節不整	2 (2)	1 (1)	2 (2)	1 (1)

胎児  
対照群との有意差の検定

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定: 胎児の外表面、内臓、骨格検査

(3) スピネトラム原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 8-3)

試験機関：The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年：2005年

検体純度：

供試動物：New Zealand White 雌ウサギ（試験開始時5～6ヵ月齢、体重範囲；2500～3500 g）、1群26匹

試験期間：2004年10月4日 検体投与開始

2004年11月4日 剖検終了

投与方法：検体を0.5% METHOCEL<sup>®</sup> A4M水溶液に懸濁し、2.5、10および60 mg/kg/dayの投与量で妊娠7日\*）から27日までの21日間、投与当日の体重に基づきそれぞれ4 mL/kgの投与液量で1日1回強制経口投与した。対照群には0.5% METHOCEL<sup>®</sup> A4M水溶液を同様に投与した。

\*）交尾観察日を妊娠0日として起算した。

観察・検査項目：

親動物；全雌動物について、ケージサイドからの観察を1日2回、臨床観察を1日1回の頻度で行った。妊娠0日、投与期間中毎日と剖検日に体重を測定し、妊娠0、7、10、13、16、20、24および28日の体重ならびに妊娠0～7、7～10、10～13、13～16、16～20、20～24、24～28、7～28および0～28日の間の体重増加量について統計解析を行った。摂餌量は妊娠4～28日の毎日測定し、1日当たりの摂餌量を算出した。妊娠28日に、すべての生存雌動物を安楽殺し、肉眼的病理検査に供した。肝臓、腎臓および妊娠子宮の重量を測定するとともに、生殖器官の詳細な検査を行い、黄体、着床、死亡胚・胎児および生存胎児について観察した。

生存胎児；全胎児について体重測定および外表検査を行った。全胎児について、低倍率

実体顕微鏡下で解剖して性別判定および内臓検査を行い、各腹の約半数例については、頭部をブアン液で固定後、連続切片を作製して眼、脳、鼻腔および舌の観察を行った。また全胎児について、アリザリンレッド S で染色した後、骨格検査を行った。

結 果：概要を次頁の表に示した。

親動物；60 mg/kg/day 群の母動物1例では、検体投与に関連していると考えられる飢餓性の衰弱と体重減少がみられたため、妊娠 21 日に切迫殺した。一方、2.5 および 10 mg/kg/day 群の各 1 例における切迫殺については、用量反応性が認められず、また、両群の摂餌量および体重増加量に影響がみられなかったことから、被験物質投与に関連しない自然発生的なものと考えられた。

60 mg/kg/day で検体投与に関連した母動物への影響として、摂餌量および排糞量の減少、体重増加抑制ならびに絶対および相対肝臓重量の増加が認められた。その他、いずれの用量でも、検体投与に関連した肉眼的病理所見および繁殖性に関する項目（妊娠率、黄体数、着床数、着床前ならびに着床後死亡率、生存胎児数および妊娠子宮重量）に検体投与の影響は認められなかった。

胎 児；いずれの用量でも、性比および胎児体重に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格検査で奇形あるいは変異の統計学的に有意な増加は認められなかった。

各群 4~8 例の胎児に奇形が認められたが、発現頻度が低いこと、用量相関性がみられないことならびに奇形発現パターンに一貫性がないことから、検体投与に関連した影響ではないと考えられた。

以上のように、本剤を妊娠 7~27 日に 60 mg/kg/day の用量で経口投与したところ、投与に関連した母動物への影響として、摂餌量と排糞量の減少、体重増加抑制ならびに絶対および相対肝臓重量の増加が認められた。さらに、母動物 1 例では、投与に関連すると考えられる飢餓性の衰弱および体重減少がみられたため、妊娠 21 日に安楽殺した。その他の投与群で母動物への影響はみられなかった。したがって、母動物に対する無影響量 (NOEL) は 10 mg/kg/day であった。一方、胎児には検体投与の影響が認められなかったことから、胎児に対する NOEL は 60 mg/kg/day であると考えられた。また、最高投与量の 60 mg/kg/day でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

[申請者注]

報告書中の記載は無影響量 (NOEL) であるが、評価の内容は無毒性量 (NOAEL) と同等であった。したがって、母動物に対する無毒性量 (NOAEL) は 10 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量 (NOAEL) は 60 mg/kg/day であると考えられた。

付表

投与群 (mg/kg/day)		対照	2.5	10	60	
1群あたり動物数		26	26	26	25 <sup>a</sup>	
妊娠動物数		26	24	23	23	
妊娠率		100.0	92.3	88.5	92.0	
母動物	途中死亡/切迫殺動物数	0	1	1	1	
	流産動物数	1	0	0	0	
	誤投与による死亡	0	0	0	2	
	一般状態: 排糞量減少	3	4	4	13	
	会陰部の糞便汚れ	0	0	0	2	
	平均体重	-	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	体重増加量	-	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠 7-10、13-16、7-28 日	
	摂餌量	-	有意差なし	有意差なし	↓: 妊娠 9-10~20-21 日の毎回	
	腎臓重量	(g)	14.683	14.597	15.089	14.732
		(g/100)	0.423	0.425	0.427	0.436
	肝臓重量	(g)	75.270	76.141	81.237	83.252 ↑
		(g/100)	2.164	2.218	2.299	2.459 ↑
	肉眼的病理所見		検体投与に起因する異常は認められなかった			
	繁殖性に関する項目	検査母動物数	25	23	22	20
平均黄体数		9.9	9.2	9.4	9.9	
平均着床数		9.2	9.0	8.9	9.4	
着床前死亡率		6.8	2.8	4.8	5.3	
着床後死亡率		3.7	3.7	5.2	2.5	
平均生存胎児数		8.9	8.6	8.5	9.2	
妊娠子宮重量 (g)		457.23	451.50	454.70	456.13	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

- : 対照群

a : 投与開始前に1例を除外した。

妊娠率 (%) = (着床痕を有する雌動物数 / 交配雌動物数) × 100

着床前死亡率 (%) = ((黄体数 - 着床数) / 黄体数) × 100

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

対照群との有意差の検定 (↓: p < 0.05)

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定: 母動物体重、母動物体重増加量、摂餌量、臓器重量

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定: 着床前死亡率、着床後死亡率、胎児の外表、内臓、骨格検査

Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定: 黄体数、着床数、生存胎児数

Bonferroni 補正 Fisher 正確確率検定: 妊娠率

Cochran-Armitage 傾向検定または Yates 連続補正カイ二乗検定: 肉眼的病理所見

(つづく)

付表 (つづき)

投与量 (mg/kg/day)		対照	2.5	10	60	
胎児	平均胎児体重 (g)	雄	34.98	35.40	37.59	34.12
		雌	34.00	35.07	35.94	32.71
	性比 (雄:雌)	51:49	50:50	47:53	51:49	
胎児	外表奇形:					
	検査胎児 (腹) 数	223 (25)	198 (23)	186 (22)	183 (20)	
	全身浮腫/小顎/後肢捻転の合併	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	内臓奇形:					
	検査胎児 (腹) 数	223 (25)	198 (23)	186 (22)	183 (20)	
	脳の形成不全	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	異所性精巣	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
	異所性食道	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	鎖骨下動脈欠損	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	動脈幹遊離	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	
	食道背方鎖骨下動脈	3 (3)	3 (3)	0 (0)	0 (0)	
	頸動脈狭窄	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
	胆嚢欠損	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
	腎動脈分岐	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	合計	3 (3)	7 (6)	3 (3)	4 (4)	
	内臓変異:					
	検査胎児 (腹) 数	223 (25)	198 (23)	186 (22)	183 (20)	
	精巣周囲嚢胞	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
	卵巣周囲嚢胞	0 (0)	3 (3)	0 (0)	0 (0)	
	胸腺出血	6 (5)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	
	心臓周囲液貯留	2 (2)	5 (3)	5 (4)	0 (0)	
	肺癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	
	肺尾状葉欠損	13 (7)	12 (8)	2 (2)	11 (6)	
	肝臓中間葉過形成	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	肝臓右葉過形成	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
	肝臓左葉過形成	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	

対照群との有意差の検定

Dunnett 検定または Bonferroni 補正 Wilcoxon 順位和検定: 胎児体重

二項分布検定: 胎児性比

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定: 胎児の外表、内臓、骨格検査

(つづく)



附表 (つづき)

投与量 (mg/kg/day)		対照	2.5	10	60
胎児	内臓変異 (つづき) :				
	肝臓尾状葉過形成	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	肝臓中間葉出血	2 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
	肝臓右葉出血	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	肝臓左葉出血	1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (2)
	肝臓中間葉捻転絞扼	1 (1)	1 (1)	0 (0)	2 (1)
	肝臓左葉捻転絞扼	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	胆嚢嚢胞	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	胆嚢変形	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	脾臓褪色	1 (1)	2 (2)	0 (0)	2 (1)
	大静脈後尿管	4 (3)	7 (6)	4 (4)	1 (1)
	骨格奇形 :				
	検査胎児 (腹) 数	223 (25)	198 (23)	186 (22)	183 (20)
	胸椎癒合 / 胸椎半椎 / 胸椎体癒合 / 肋骨分岐の合併	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	肋骨癒合	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	肋骨・上腕骨・橈骨・尺骨・肩甲骨・脛骨・腓骨・大腿骨・腸骨・坐骨の短小 / 肋骨肥厚の合併	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	上顎骨短小	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	下顎骨短小	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	頸椎体癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	合計	1 (1)	1 (1)	3 (3)	0 (0)
	骨格変異 :				
	検査胎児 (腹) 数	223 (25)	198 (23)	186 (22)	183 (20)
	胸椎骨化遅延	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腰椎骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
仙椎骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
尾椎骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
胸椎体骨化遅延	1 (1)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	

対照群との有意差の検定

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定 : 胎児の外表、内臓、骨格検査

(つづく)

附表 (つづき)

投与量 (mg/kg/day)		対照	2.5	10	60
胎 児	骨格変異 (つづき) :				
	腰椎体骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	仙椎体骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	尾椎体骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	胸椎体不整	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	距骨骨化遅延	3 (3)	2 (2)	0 (0)	1 (1)
	腸骨過剰部位骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	恥骨骨化遅延	5 (4)	11 (3)	8 (2)	5 (2)
	胸骨分節骨化遅延	73 (22)	52 (18)	39 (14)	60 (16)
	胸骨分節過剰部位骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
	胸骨分節癒合	2 (2)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
	胸骨分節不整	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
	上後頭骨骨化遅延	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	第1頸椎骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	第2頸椎骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	齒骨骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	舌骨屈曲	3 (2)	3 (3)	1 (1)	3 (3)
	舌骨骨化遅延	31 (18)	25 (13)	22 (13)	30 (12)
	頸椎骨化遅延	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	頸椎体骨化遅延	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)

対照群との有意差の検定

Bonferroni 補正 Wilcoxon 検定 : 胎児異常

## 9. 変異原性

(1) スピネトラム原体の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 9-1)

試験機関：Covance Laboratories Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*, TA98, TA100, TA1535 及び TA1537 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*, WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はエタノールに溶解し、ネズミチフス菌株の S9 mix 存在下の 3.33~5000 µg/プレート、S9 mix 非存在下の 1.00~1000 µg/プレート、WP2uvrA 株では S9 mix 存在下、非存在下とも 33.3~5000 µg/プレートの範囲で、少なくとも 6 用量を用いて実施した。試験は 3 連制とし、プレインキュベーション法で 2 回行った。

試験結果：結果を次表に示した。

2 回の試験において検体は S9 mix の有無にかかわらず、各菌株が生育阻害を示す最高用量あるいは 5000 µg/プレートの最高用量においても、いずれの菌株においても、復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照化合物であるベンゾピレン、2-ニトロフルオレン、2-アミノアントラセン、アジ化ナトリウム、ICR-191、4-ニトロキノリン-N-オキシドは全ての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

1 回目試験

(表中の数値は3反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA1537	TA98
対照 (エタノール)		-	103±23	13±6	8±4	10±6	36±19
検体	1.00	-	85±9	14±2		9±2	27±1
	3.33	-	107±14	13±4		7±4	32±7
	10.0	-	88±13	10±3		6±3	26±8
	33.3	-	93±10	9±1	11±3	7±2	34±4
	100	-	101±4*	11±2	11±2	5±3	25±10
	333	-	12±9*	7±1*	14±5	5±3*	7±3*
	1000	-	3±0*	2±3*	8±3	3±3*	0±1*
	2500	-			8±3**		
	5000	-			4±1**		
対照 (エタノール)		+	108±3	19±13	10±5	8±3	54±20
検体	3.33	+	115±11	16±2		6±1	42±3
	10.0	+	128 <sup>a)</sup>	15±3		9±5	42±7
	33.3	+	129±7	15±1	10±2	6±1	44±1
	100	+	125±3	14±2	11±4	10±2	40±6
	333	+	115±23	13±1	13±5	8±3	31±6
	1000	+	22±19*	8±3*	8±2†	4±1*	12±4*
	2500	+			9±1†		
	5000	+	1±1**	2±2**	6±1†	0±0**	0±1**
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	1.0					1981±59
	アジ化ナトリウム	2.0	1228±66	1148±23			
	ICR-191	2.0				3852±163	
	4-ニトロキノリン - <i>N</i> -オキシド	0.4			606±77		
	ベンゾピレン	2.5					589±74
	2-アミノアントラ セン	2.5		1558±104	197±22		297±20
		25.0				293±84	

a) : 雑菌混入のため、2反復の平均値

\* : 検体による生育阻害が認められた

† : 検体の析出が認められた

2回目試験

(表中の数値は3反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA1537	TA98	
対照 (エタノール)		-	88±34	13±7	17±5	5±3	18±3	
検体	1.00	-	91±17	14±5		4±3	14±3	
	3.33	-	89±16	9±4		3±3	14±1	
	10.0	-	84±13	12±3		3±2	19±3	
	33.3	-	84±7	16 <sup>a)</sup>	23±4	6±2	19±1	
	100	-	83±13	8±2	16±3	5±4	19 <sup>b)</sup>	
	333	-	70±9*	10±2*	13±4	5±1*	9±1*	
	1000	-	27±15 <sup>†</sup>	8±4 <sup>†</sup>	13±2	1±1 <sup>†</sup>	6±4 <sup>†</sup>	
	2500	-			15±3 <sup>†</sup>			
5000	-			17±5 <sup>†</sup>				
対照 (エタノール)		+	99±11	11±3	16±1	5±3	32±9	
検体	3.33	+	85 <sup>b)</sup>	12±3		8±1	25±1	
	10.0	+	92±12	13±5		5±3	23±9	
	33.3	+	88±8	10±2	16±1	7±3	28±3	
	100	+	94±11	11±3	16±3	8 <sup>b)</sup>	24±6	
	333	+	94±3	15±5	19±3	4±2	29±3	
	1000	+	25±4*	11±2*	16±2	3±1*	17±9*	
	2500	+			20±8 <sup>†</sup>			
	5000	+	4±3 <sup>†</sup>	2±1 <sup>†</sup>	25±4 <sup>†</sup>	0±1 <sup>†</sup>	0±1 <sup>†</sup>	
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	10.0	-				1154±339	
	アジ化ナトリウム	2.0	-	1003±51	669±43			
	ICR-191	2.0	-			2259±154		
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-			407±72		
	ベンゾピレン	2.5	+				394±46	
	2-アミノアントラ セン	2.5	+	1086±168	130±14		185±32	
		25.0	+			269±67		

a) : 雑菌混入のため、2反復の平均値

b) : 操作ミスのため、2反復の平均値

\* : 検体による生育阻害が認められた

† : 検体の析出が認められた

(1-1) チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO) を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 9-1-1)

試験施設 : The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2005 年

検体純度 :

試験方法 : チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO) を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で検体のヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HGPRT) 遺伝子座における突然変異誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解して用いた。試験は 2 連制とし、2 回行った。

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。2 回の試験を通じて S9 mix 存在下、非存在下にかかわらず、いずれの検体処理群においても、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な突然変異率の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたエチルメタンサルホン酸及び 20-メチルコラントレンは突然変異率の有意な増加を示した。

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、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO) に対して突然変異誘発性を有しないものと判断された。

1 回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix の有無	相対細胞 生存率 (RCS) (%)	TG <sup>a)</sup> コロニ ー数 <sup>b)</sup>	クローニング 効率 (%)	突然変異率 ( $/10^6$ 細胞)
溶媒対照 (DMSO)	1%	-	90.3	10	67.7	7.4
			109.7	10	80.8	6.2
検体	10	-	81.9	3	62.0	2.4
			96.3	3	107.5	1.4
	20	-	84.8	5	- <sup>c)</sup>	- <sup>c)</sup>
			85.6	14	62.2	11.3
	40	-	74.7	6	79.2	3.8
			90.7	3	94.8	1.6
80 <sup>d)</sup>	-	32.5	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	
		23.3	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	
陽性対照 (EMS)	621	-	47.5	129	23.2	278.4*
			38.5	143	25.0	286.0*
溶媒対照 (DMSO)	1%	+	93.6	3	64.0	2.3
			106.4	10	57.7	8.7
検体	10	+	104.6	4	79.5	2.5
			123.6	11	92.3	6.0
	20	+	135.1	6	75.5	4.0
			127.2	11	71.3	7.7
	40	+	128.0	13	56.2	11.6
			115.5	7	52.7	6.6
	80 <sup>d)</sup>	+	106.9	10	63.2	7.9
87.6			12	68.8	8.7	
160 <sup>d)</sup>	+	129.9	9	81.2	5.5	
		125.9	8	57.2	7.0	
320 <sup>d)</sup>	+	40.2	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	
		21.9	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	
陽性対照 (20-MCA)	4	+	63.9	177	41.8	211.6*
			51.9	169	40.3	209.5*

\* :  $p < 0.05$  (ダネットのt検定)

EMS : エチルメタンサルホン酸

20-MCA : 20-メチルコラントレン

a) 6-チオグアニン抵抗性

b) シャーレ 10 枚の合計

c) 検体の析出が認められた

d) 検体による強い細胞毒性が認められた

e) 操作ミスにより値が得られなかった

2 回目試験

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix の有無	相対細胞 生存率 (RCS) (%)	TG <sup>a)</sup> コロニ ー数 <sup>b)</sup>	クローニング 効率 (%)	突然変異率 (/10 <sup>6</sup> 細胞)
溶媒対照 (DMSO)	1%	-	100.2	6	108.0	2.8
			99.8	10	82.2	6.1
検体	10	-	93.9	4	77.3	2.6
			94.4	14	89.7	7.8
	20	-	104.3	5	93.3	2.7
			105.8	8	80.2	5.0
	30	-	77.9	8	91.2	4.4
			70.9	6	96.7	3.1
	40	-	69.4	17	75.5	11.3
			67.9	4	79.8	2.5
50 <sup>c)</sup>	-	40.6	3	101.0	1.5	
47.3	2	101.0	1.0			
60 <sup>c)</sup>	-	38.4	1	89.7	0.6	
36.5	4	86.3	2.3			
70 <sup>c)</sup>	-	48.1	3	84.3	1.8	
51.8	8	82.7	4.8			
80 <sup>c)</sup>	-	20.4	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	
19.3	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>			
陽性対照 (EMS)	621	-	10.0	145	26.3	275.3*
			27.1	398	45.3	439.0*
溶媒対照 (DMSO)	1%	+	100.6	3	80.8	1.9
			99.4	8	71.2	5.6
検体	20	+	79.2	16	87.7	9.1
			83.1	6	75.5	4.0
	40	+	80.7	4	82.7	2.4
			82.2	9	93.7	4.8
	80 <sup>c)</sup>	+	90.6	11	81.0	6.8
			100.8	2	80.7	1.2
160 <sup>c)</sup>	+	89.9	13	91.5	7.1	
73.4	13	85.5	7.6			
200 <sup>c)</sup>	+	58.6	14	94.7	7.4	
37.9	2	91.0	1.1			
240 <sup>c)</sup>	+	44.2	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	
39.8	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>	- <sup>d)</sup>			
陽性対照 (20-MCA)	4	+	54.4	301	72.5	207.6*
			69.2	220	69.7	157.9*

\* :  $p < 0.05$  (ダネットの t 検定)

EMS : エチルメタンサルホン酸

20-MCA : 20-メチルコラントレン

a) 6-チオグアニン抵抗性

b) プレート 10 枚の合計

c) 検体の析出が認められた

d) 検体による強い細胞毒性が認められた



(2) スピネトラム原体のラットリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 9-2)

試験施設 : The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2005 年

検体純度 :

試験方法 : ラットリンパ球を用い、薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で検体の染色体異常誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 200 個の分裂中期像について行い、試験は 1 回行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。S9 mix 存在下および非存在下にかかわらず、いずれの検体処理群においても、染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C およびシクロホスファミドでは染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加を示した。

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、ラットリンパ球に対して染色体異常誘発性を有しないものと判断された。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	処理時間 (h)	標本作製時間 (h)	分裂指数 (%)	観察細胞数	S9 M i x 有無	構造異常							数的異常 (%)		
							異常数						異常細胞 (%)			
							染色分体型			染色体型						
							ギャップ	切断	交換	ギャップ	切断	交換			多重異常	
溶媒対照 (DMSO)	1%	4	24	100	200	-	6	3	0	0	1	0	0	2.0	0.5	
検体	10			73.3	200		3	2	0	0	0	0	0	0	1.0	0.0
	30			54.4	200		4	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.5
	40			31.7	200		5	3	0	0	0	0	0	0	1.5	0.5
陽性対照 (MMC)	0.5						39.6	100		2	20	18	0	2	0	9
溶媒対照 (DMSO)	1%	4	24	100	200	+	2	4	0	0	0	0	0	2.0	0.0	
検体	30			75.6	200		4	1	0	0	0	0	0	0	0.5	0.0
	50			58.9	200		4	6	0	0	1	0	0	0	3.5	0.5
	80			35.6	200		5	3	0	0	0	0	0	0	1.5	0.0
陽性対照 (CP)	4						38.9	125		5	16	14	0	4	0	10
溶媒対照 (DMSO)	1%	24	24	100	200	-	1	2	0	0	2	0	0	2.0	0.0	
検体	10			73.3	200		2	3	0	0	0	0	0	0	1.5	0.5
	20			58.1	200		1	2	0	0	1	0	0	0	1.5	0.0
	30			24.8	200		2	2	1	0	0	0	0	0	1.5	0.5
陽性対照 (MMC)	0.05						41.9	175		14	27	7	1	2	0	3

\* :  $p < 0.05$  (構造異常 : 片側  $\chi^2$  乗検定、数的異常 : Fisher 検定)

DMSO : ジメチルスルホキシド      MMC : マイトマイシン      CCP : シクロホスファミド

a) : 各濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察した。

b) : ギャップを除く異常細胞

c) : 申請者注 : 当該値の片側  $\chi^2$  乗検定 (\* :  $p < 0.05$ ) は申請者が実施した。

(3) スピネトラム原体のマウスを用いた小核試験

(資料 9-3)

試験施設：The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検体純度：

供試動物：CrI:CD1 (ICR) 系マウス (8~12 週齢、体重 28.7~36.4 g)

1 群雄 6 匹

試験方法：検体を 0.5% METHOCEL™ 水溶液に懸濁し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で強制的に 2 回経口投与した。なお、対照群に 0.5% METHOCEL™ 水溶液を同様に投与した。最終投与の 24 時間後に動物を安楽死させ、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上にメタノールで固定後、ライト-ギムザ染色を行って骨髓塗抹標本を作製した。陽性対照群にはシクロホスファミド 120 mg/kg を単回経口投与して 24 時間後に標本を作製した。

各個体あたり 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞の出現頻度を求めた。また、骨髓細胞に対する毒性を調べるため、各個体あたり 200 個の赤血球を観察して赤血球 (多染性赤血球及び正染性赤血球) 中の多染性赤血球の割合を調べた。

結果：結果を次表に示した。

いずれの投与群においても毒性症状は認められなかった。いずれの検体投与群においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。また、全赤血球中の多染性赤血球の割合にも有意な変化はみられず、検体は骨髓細胞に毒性を示さないと考えられた。陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な小核の増加が認められた。

観察結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MNPCE % (平均 ± SD)	PCE/(PCE+NCE) <sup>a)</sup> (平均 ± SD)
最終投与 後 24hr	陰性対照 (0.5% METHOCEL™)	—	雄	6	0.7 ± 0.4	64.4 ± 7.5
	検体	500 <sup>b)</sup>	雄	6	0.6 ± 0.6	58.9 ± 6.6
		1000 <sup>b)</sup>	雄	6	1.0 ± 0.6	63.1 ± 5.3
		2000 <sup>b)</sup>	雄	6	0.8 ± 0.5	59.3 ± 6.5
	陽性対照 (シクロホスファミド)	120	雄	6	51.4 ± 13.1*	52.7 ± 4.9*

統計学的解析:小核を有する多染性赤血球の出現頻度および多染性赤血球の割合については一元配置の分散分析を行い、群間に有意差が認められた場合はDunnetのt検定を行った。

\* : p < 0.05

PCE : 多染性赤血球      NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 多染性赤血球 2000 個のうち、小核を有する多染性赤血球

a) 1 個体につき 200 個の赤血球を観察した。

b) 24 時間間隔で 2 回経口投与した。

結論 : 以上の結果から、本試験条件下において、検体はマウス骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

## 10. 生体機能影響

スピネトラム原体の生体機能に及ぼす影響

(資料10)

試験機関：株式会社三菱化学安全科学研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2007年

検体の純度：

### (1) ラットの中樞神経系に対する作用

#### ①ラットにおける一般症状及び行動

供試動物：Crl：CD(SD)ラット、6週齢、体重：雄169.6～181.8g、雌129.5～138.6g、  
一群雌雄各3匹

方 法：粉砕した検体を0.5 w/v%メチルセルロース溶液に懸濁して200、600及び  
2000 mg/kg（投与容量：20 mL/kg）を強制経口投与した。対照群には同容量  
の媒体を投与した。動物は投与前に16時間以上絶食させた。投与前、投与  
後0.5、1、2、4、8及び24時間にIrwinの変法に準じて、一般症状及び行  
動を観察した。

結 果：検体投与前、投与後の一般症状及び行動に雌雄ともに異常及び変化は認めら  
れなかった。検体投与群の投与後0.5、1、2、4、8及び24時間の排尿及び  
脱糞を認めた例数は媒体投与群と同程度であり、明らかな差はなかった。

#### ②ラットの自発運動量に対する作用

供試動物：Crl：CD(SD)ラット、6週齢、体重178.5～197.3g、一群雄各5匹

方 法：粉砕した検体を0.5 w/v%メチルセルロース溶液に懸濁して200、600及び  
2000 mg/kg（投与容量：20 mL/kg）を強制経口投与した。対照群には同容量  
の媒体を投与した。動物は投与前に16時間以上絶食させた。投与2時間後  
に自発運動センサーを用いて90分間の自発運動量を測定した。自発運動量  
の収集単位は10分とし、測定開始から終了までの90分間の10分ごとの自  
発運動量を解析した。

結 果：媒体投与群と比較して統計学的有意差が認められた測定時間を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	自発運動量 (counts/10 min)	
	10~20分	70~80分
0 (媒体)	210	14
200	248	69*
600	161	11
2000	103**	2

Dunnett の多重比較検定 \* :  $p < 0.05$  \*\* :  $p < 0.01$

2000 mg/kg 投与群の測定開始後 10 分から 20 分までの 10 分間の自発運動量に媒体投与群と比較して有意な減少が認められた。200 mg/kg 投与群では測定開始後 70 分から 80 分までの 10 分間の自発運動量に媒体投与群と比較して有意な増加が認められたが、この自発運動量の増加は 600 及び 2000 mg/kg 投与群では認められなかったことから、検体投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。600 mg/kg 投与群の自発運動量に媒体投与群と比較して有意な差は認められなかった。

#### ③ラットのペンテトラゾール誘発痙攣に対する協力作用

供試動物 : Cr1 : CD(SD)ラット、6 週齢、体重 189.2~214.0 g、一群雄各 10 匹

方法 : 粉碎した検体を 0.5 w/v% メチルセルロース溶液に懸濁して 200、600 及び 2000 mg/kg (投与容量 : 20 mL/kg) を強制経口投与した。対照群には同容量の媒体を投与した。動物は投与前に 16 時間以上絶食させた。投与後 2 時間にペンテトラゾールを 45 mg/kg 腹腔内投与 (5 mL/kg) し、ペンテトラゾール投与後 30 分までの間代性痙攣及び強直性痙攣の有無を観察した。

結果 : 検体投与群の間代性痙攣及び強直性痙攣の発現例数に媒体投与群と比較して有意な差はなかった。

#### ④ラットのペンテトラゾール誘発痙攣に対する拮抗作用

供試動物 : Cr1 : CD(SD)ラット、6 週齢、体重 165.7~182.4 g、一群雄各 10 匹

方法 : 粉碎した検体を 0.5 w/v% メチルセルロース溶液に懸濁して 200、600 及び 2000 mg/kg (投与容量 : 20 mL/kg) を強制経口投与した。対照群には同容量の媒体を投与した。動物は投与前に 16 時間以上絶食させた。投与後 2 時間にペンテトラゾールを 90 mg/kg 腹腔内投与 (5 mL/kg) し、ペンテトラゾール投与後 30 分までの間代性痙攣及び強直性痙攣の有無を観察した。

結果：検体投与群の間代性痙攣及び強直性痙攣の発現例数に媒体投与群と比較して有意な差はなかった。

(2) ラットの腎機能に対する作用

ラットの尿量・尿中電解質に対する作用

供試動物：Cr1：CD(SD)ラット、6週齢、体重189.3～221.6g（追加試験：182.9～209.4g）、一群雄各10匹

方法：粉碎した検体を0.5 w/v%メチルセルロース溶液に懸濁して200、600及び2000 mg/kg（投与容量：20 mL/kg）を強制経口投与した。対照群には同容量の媒体を投与した。また、0（対照群）、50、100及び150 mg/kgの投与量で追加試験を実施した。動物は投与前に16時間以上絶食させた。投与後、直ちに生理食塩液を2.5 mL/100 g経口投与し、投与後6時間の自然排泄尿を採取して、尿量、尿浸透圧、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>及びCl<sup>-</sup>濃度を測定した。また、各電解質濃度及び尿量からNa<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>及びCl<sup>-</sup>排泄量を算出した。採尿中は絶食及び絶水とした。

結果：検体投与群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

(本試験)

投与量 (mg/kg)	尿量 (mL/kg/6 hr)	Na <sup>+</sup> 排泄量 (mEq/kg/6 hr)	K <sup>+</sup> 排泄量 (mEq/kg/6 hr)	Cl <sup>-</sup> 排泄量 (mEq/kg/6 hr)	浸透圧 (Osm/kg H <sub>2</sub> O)
0 (媒体)	36.02	1.90	1.03	2.69	0.356
200	29.12*	1.89	0.54**	2.36	0.401
600	26.54**	1.95	0.63**	1.99*	0.445
2000	9.09**	0.78**	0.69*	0.82**	1.187**

Dunnettの多重比較検定 \* : p < 0.05 \*\* : p < 0.01  
Steel 検定 \*\* : p < 0.01

(追加試験)

投与量 (mg/kg)	尿量 (mL/kg/6 hr)	Na <sup>+</sup> 排泄量 (mEq/kg/6 hr)	K <sup>+</sup> 排泄量 (mEq/kg/6 hr)	Cl <sup>-</sup> 排泄量 (mEq/kg/6 hr)	浸透圧 (Osm/kg H <sub>2</sub> O)
0 (媒体)	32.99	1.81	1.02	2.55	0.386
50	29.63	1.98	0.85	2.38	0.419
100	32.20	2.20	0.62**	2.38	0.355
150	33.01	2.41	0.53**	2.44	0.380

Dunnettの多重比較検定 \*\* : p < 0.01

100 mg/kg 以上の投与群で尿中  $K^+$  排泄量の減少、200 mg/kg 以上の投与群で尿量の減少、600 mg/kg 以上の投与群で尿中  $Cl^-$  排泄量の減少、2000 mg/kg 投与群で尿中  $Na^+$  排泄量の減少及び浸透圧の上昇が認められた。しかし、尿中  $K^+$  排泄量の減少は用量に比例したものではなく、また、100 及び 150 mg/kg 投与群では尿中  $K^+$  排泄量のみに変化が認められ、その他の測定項目に有意な変化は認められなかった。従って、100 及び 150 mg/kg 投与群における尿中  $K^+$  排泄量の減少は検体投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。200 mg/kg 以上の投与群での尿中  $K^+$  排泄量の減少については、尿量の減少が認められ、 $K^+$  排泄量以外の電解質への影響及び尿浸透圧への影響が認められたことから、検体による影響と考えられた。

### (3) ラットの呼吸器系に対する作用

供試動物：Cr1：CD(SD)ラット、6週齢、体重 161.3～208.8 g、一群雄各 6 匹

方法：粉碎した検体を 0.5 w/v% メチルセルローズ溶液に懸濁して 200、600 及び 2000 mg/kg (投与容量：20 mL/kg) を強制経口投与した。対照群には同容量の媒体を投与した。動物は投与前に 16 時間以上絶食させた。投与前、投与後 0.5、1、2、4 及び 8 時間目の呼吸数、1 回換気量及び分時換気量を測定した。測定時間中は絶食絶水とした。

結果：検体投与群の呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に媒体投与群と比較して有意な差はなかった。

### (4) イヌの循環器系に対する作用

供試動物：ビーグル犬、7 ヶ月齢、体重 9.8～10.9 kg、雄 4 匹 (各動物を対照群、低用量群、中間用量群、高用量群として使用)

方法：イソフルラン・笑気吸入により麻酔し、血圧・心電図送信機を腰部皮下に留置し、送信機に接続している圧センサーからのカテーテルを大腿動脈に、心電図用電極を胸部右外側部皮下と腹部左外側部皮下に留置した。術後 12～15 日以上経過し、安定したパラメータが得られるようになった動物にゼラチンカプセルに充填した検体 200、600 及び 2000 mg/kg (7 カプセル/匹) を強制経口投与した。対照群には同個数の空ゼラチンカプセルを投与した。検



強制経口投与した。対照群には同個数の空ゼラチンカプセルを投与した。検体及び媒体の投与は下表投与計画に従って行い、各用量の投与間隔は6日間とした。投与前には給餌は実施しなかった。収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧、心拍数及び心電図（PQ間隔、QRS群持続時間、QT間隔及びQTc）を無麻酔下で投与前約1時間から投与開始後約25時間まで連続して測定した。

投与スケジュール

1回目	2回目	3回目	4回目
媒体	低用量 200 mg/kg	中間用量 600 mg/kg	高用量 2000 mg/kg

結果：検体投与群の投与後0.5、1、2、4、8及び24時間の血圧（収縮期、拡張期及び平均）、心拍数及び心電図（PQ間隔、QRS群持続時間、QT間隔及びQTc）に媒体投与群と比較して有意な差はなかった。

以上の試験結果より、本実験条件では、本剤は無麻酔動物の生体機能に対して、ラットでは200 mg/kg以上の用量で尿量及び尿中電解質排泄量の減少作用を示し、2000 mg/kgで尿浸透圧を上昇させた。また、2000 mg/kgの投与により軽度な自発運動量減少作用を示した。ラットの一般症状及び行動、ペンテトラゾール誘発痙攣、呼吸器系及びイヌの循環器系に対しては2000 mg/kgの用量まで影響は認められなかった。本実験条件における無作用量は150 mg/kgと考えられた。

スピネトラムの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (媒体)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	一般症状及び行動 [Irwin法]	ラット	経口 (0.5 w/v% 昇 純化-S溶液)	0、200、 600、 2000	雄 3 雌 3	>2000	2000	検体投与による影響は認められなかった。
	自発運動量	ラット	経口 (0.5 w/v% 昇 純化-S溶液)	0、200、 600、 2000	雄 5	2000	600	2000 mg/kg で軽度の自発運動量減少が認められた。
	ペンテタリ-ル誘発痙攣に対する協力作用	ラット	経口 (0.5 w/v% 昇 純化-S溶液)	0、200、 600、 2000	雄 10	>2000	2000	検体投与による影響は認められなかった。
	ペンテタリ-ル誘発痙攣に対する拮抗作用	ラット	経口 (0.5 w/v% 昇 純化-S溶液)	0、200、 600、 2000	雄 10	>2000	2000	検体投与による影響は認められなかった。
腎機能 尿量 尿中電解質 尿浸透圧	ラット	経口 (0.5 w/v% 昇 純化-S溶液)	0、200、 600、 2000 追加試験 0、50、 100、 150	雄 10	200	150	200 mg/kg 以上の用量で尿量及び尿中 K <sup>+</sup> 排泄量の減少、600 mg/kg 以上の用量で尿中 Cl <sup>-</sup> 排泄量の減少、2000 mg/kg で尿中 Na <sup>+</sup> 排泄量の減少及び浸透圧の上昇が認められた。	
呼吸器系 呼吸数 1 回換気量 分時換気量	ラット	経口 (0.5 w/v% 昇 純化-S溶液)	0、200、 600、 2000	雄 6	>2000	2000	検体投与による影響は認められなかった。	
循環器系 血圧 心拍数 心電図	イヌ	経口 (セ'ラチンカ'セ ル)	0、200、 600、 2000	雄 4	>2000	2000	検体投与による影響は認められなかった。	

## 2. 代謝物を用いた試験成績

### (1) 代謝物 N-formyl-175-J および N-formyl-175-L のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代 1-1)

試験機関：Eurofins | Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：代謝物 N-formyl-175-J および N-formyl-175-L

検体の純度：N-formyl-175-J； 、 N-formyl-175-L；

供 試 動 物：N-formyl-175-J；Fischer 344 系ラット、10 週齢、体重 120～141 g、雌 5 匹  
N-formyl-175-L；Fischer 344 系ラット、9 週齢、体重 126～133 g、雌 3 匹

観 察 期 間：14 日間

試 験 方 法：上げ下げ法

投 与 方 法：N-formyl-175-J； 投与前に 1 晩絶食したラットに、0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に 30% w/w となるように混合した投与液を、ステンレス製の胃ゾンデを装着したシリンジを用いて単回強制経口投与した。まず 790 mg/kg の投与量で 1 匹に投与し、投与初期に死亡が認められないことを確認後、別の 1 匹に 2500 mg/kg、さらに計 3 匹に 5000 mg/kg を投与した。いずれの場合も投与後初期に死亡が認められないことを確認した後、次の動物への投与を実施した。5000 mg/kg の投与量でも死亡が認められなかったため試験を終了した。

N-formyl-175-L； 投与前に 1 晩絶食したラットに、0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に 25% w/w となるよう混合した投与液を、ステンレス製の胃ゾンデを装着したシリンジを用いて単回強制経口投与した。まず上限の 5000 mg/kg の投与量で 1 匹に投与し、死亡が認められないことを確認後、別の 2 匹に同時に 5000 mg/kg を投与した。追加の 2 匹にも死亡が認められなかったため、試験を終了した。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般症状および生死を 14 日間観察し、体重は投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

	N-formyl-175-J	N-formyl-175-L
投与方法	経口	経口
投与量 (mg/kg)	790、2500、5000	5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間および 終了時間	死亡例なし	死亡例なし
毒性兆候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

いずれの代謝物においても毒性症状、死亡例は認められず、体重および剖検においても検体投与の影響は認められなかった。

(2) 代謝物 N-demethyl-175-J のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 代 1-2)

試験機関：Eurofins | Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：代謝物 N-demethyl-175-J

検体の純度：N-demethyl-175-J；

供 試 動 物：N-demethyl-175-J；Fischer 344 系ラット、体重 109～136 g、雌 13 匹

観 察 期 間：14 日間

試 験 方 法：上げ下げ法

投 与 方 法：N-demethyl-175-J； 投与前に 1 晩絶食したラットに、0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に 25% w/w となるように混合した投与液を、ステンレス製の胃ゾンデを装着したシリンジを用いて単回強制経口投与した。まず 5000 mg/kg の投与量で 1 匹に投与し、投与初期に死亡が認められないことを確認後、さらに 2 匹に同用量を投与した。最初のラットが投与後 4 日に死亡したため、さらに 2 匹に同用量を投与した。計 5 匹中 3 匹が死亡したことから、本試験は 175 mg/kg を開始用量とし、上げ下げ法に従い、計 8 匹の動物に 175、550、1750 および 5000 mg/kg を投与した。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般症状および生死を 14 日間観察し、体重は投与前、投与後 7 あるいは 8 日、および 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

	N-demethyl-175-J
投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	175、550、1750、5000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	3129
(95%信頼限界)	1750~5000*
死亡開始時間および 終了時間	投与後2日から開始 投与後6日に終了
症状発現および消失時間	投与後1時間から発現 投与後6日に消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	550
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	1750

\*：おおよその値

中毒症状としては、活動低下、肛門性器の汚れ、下痢、顔面の汚れ、軟便、便量の減少、および円背姿勢が観察された。

剖検所見では、死亡動物に、肝臓ならびに腸の退色、および胃のガスの充満が認められた。

(3) 代謝物 N-formyl-175-J 及び N-formyl-175-L の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 代 2-1)

試験機関：Covance Laboratories Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：代謝物 N-formyl-175-J 及び N-formyl-175-L

検体の純度：N-formyl-175-J； 、 N-formyl-175-L；

試験方法：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 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。  
検体は DMSO に溶解し、33.3~5000 µg/プレートの範囲の 6 用量で実施した。  
試験は 3 連制とし、プレインキュベーション法で 2 回行った。

試験結果：結果を次表に示した。

いずれの代謝物も、2回の試験において S9 mix の有無にかかわらず、5000  $\mu\text{g}/$ プレート の最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたベンゾピレン、2-アミノアントラセン、2-ニトロフルオレン、アジ化ナトリウム、ICR-191 及び 4-ニトロキノリン-N-オキシドではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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



代謝物 N-formyl-175-J ;

1 回目試験

(表中の数値は 3 反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 <sub>uvrA</sub>	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	14±6	105±8	10±4	26±3	6±4
検体	33.3	-	15±3	105±10	10±8	30±10	5±3
	100	-	15±1	108±8	10±2	37±5	6±3
	333	-	12±4	106±12	9±1	33±4	5±2
	1000	-	10±4	101±11	12±7	24±6	3±4
	2500*	-	16±2	100±22	10±1	27±4	6±3
	5000*	-	11±2	103±20	7±3	19±6	5±3
対照 (DMSO)		+	14±4	128±4	13±3	35±6	9±3
検体	33.3	+	19±6	126±11	11±6	33±5	6±3
	100	+	18±3	132±22	11±1	39±3	7±3
	333	+	17±4	128±8	15±5	36±2	7±3
	1000	+	17±5	163±11	11±3	36±10	6±3
	2500*	+	14±2	138±17	17±4	26±6	5±2
	5000*	+	13±5	126±10	11±2	20±8	3±1
陽 性 対 照	2-ニトロフルオレン	1.0	-				335±37
	アジ化ナトリウム	2.0	-		1045±35	876±122	
	ICR-191	2.0	-				4541±178
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-	519±33			
	ベンゾピレン	2.5	+				387±6
	2-アミノアントラ セン	2.5	+		1060±60	115±21	
		25.0	+	294±40			

\* 検体の析出が認められた

代謝物 N-formyl-175-J ;

2 回目試験

(表中の数値は 3 反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	17±3	104±9	13±11	12±2	3±2
検体	33.3	-	12±3	102±4	12±1	14±8	5±2
	100	-	16±3	89±12	9±3	13±3	5±2
	333	-	13±6	109±20	11±5	11±3	2±1
	1000	-	14±5	107±6	12±7	12±3	3±2
	2500*	-	10±2	95±6	9±3	10±5	4±1
	5000*	-	10±2	105±10	13±4	8±1	5±2
対照 (DMSO)		+	18±5	165±11	16±2	24±5	7±4
検体	33.3	+	15±4	153±7	10±1	23±2	8±1
	100	+	23±9	155±25	17±4	27±2	8±3
	333	+	14±3	150±19	13±7	19±2	9±2
	1000	+	18±6	147±16	14±4	22±4	8±1
	2500*	+	17±1	137±8	11±2	19±3	9±2
	5000*	+	18±4	138±14	14±1	23±8	6±3
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	1.0	-			359±40	
	アジ化ナトリウム	2.0	-		1126±46	897±50	
	ICR-191	2.0	-				3241±302
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-	415±84			
	ベンゾピレン	2.5	+			452±56	
	2-アミノアントラ セン	2.5	+		1016±55	109±6	
	25.0	+	368±53				

\* 検体の析出が認められた

代謝物 N-formyl-175-L ;

1 回目試験

(表中の数値は3反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	13±4	100±10	11±3	18±3	6±2
検体	33.3	-	12±1	97±2	15±1	13±3	7±1
	100	-	13±1	106±14	13±3	15±2	7±1
	333	-	14±6	120±6	13±3	25±3	9±6
	1000*	-	13±1	104±6	11±2	10±5	4±3
	2500*	-	10±2	95±6	12±3	12±4	4±2
	5000*	-	9±1	89±6	15±6	9±4	2±2
対照 (DMSO)		+	17±1	131±10	14±5	15±7	4±3
検体	33.3	+	16±1	108±9	12±1	14±3	6±3
	100	+	17±5	123±8	12±4	19±6	7±3
	333	+	17±7	119±4	9±2	17±4	7±1
	1000	+	17±4	132±14	19±1	21±4	6±2
	2500*	+	7±3	104±10	11±6	23±6	6±1
	5000*	+	14±4	114±8	16±6	18±4	7±3
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	1.0	-			319±40	
	アジ化ナトリウム	2.0	-		1035±59	827±68	
	ICR-191	2.0	-				3897±118
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-	578±179			
	ベンゾピレン	2.5	+			362±68	
	2-アミノアントラ セン	2.5	+		1098±36	99±18	115±12
		25.0	+	251±50			

\* 検体の析出が認められた

代謝物 N-formyl-175-L ;

2 回目試験

(表中の数値は 3 反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	15±10	109±11	14±3	32±15	3±2
検体	33.3	-	17±4	119±18	11±6	24±3	4±2
	100	-	16±2	104±16	10±5	23±8	9±1
	333	-	18±6	96±1	13±1	22±4	5±2
	1000*	-	18±4	102±10	12±4	33±14	6±3
	2500*	-	12±3	86±9	9±2	24±13	5±2
	5000*	-	13±5	99±10	9±2	22±11	5±1
対照 (DMSO)		+	18±4	133±18	11±2	38±10	8±3
検体	33.3	+	16±3	123±8	12±2	36±2	7±0
	100	+	16±1	125±15	14±4	24±4	5±3
	333	+	20±5	126±7	11±5	23±5	8±3
	1000	+	17±7	130±10	13±6	41±10	10±7
	2500*	+	15±3	120±11	13±6	27±8	7±2
	5000*	+	18±3	114±1	11±3	23±5	5±3
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	1.0	-			330±17	
	アジ化ナトリウム	2.0	-		1153±79	874±31	
	ICR-191	2.0	-				2561±246
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-	747±156			
	ベンゾピレン	2.5	+			370±174	
	2-アミノアントラ セン	2.5	+		1024±228	124±8	
		25.0	+	231±77			

\* 検体の析出が認められた

(4) 代謝物 N-demethyl-175-J の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 代 2-2)

試験機関 : Covance Laboratories Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2007 年

検 体 : 代謝物 N-demethyl-175-J

検体純度 :

試験方法 : 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 *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、ネズミチフス菌株の S9 mix 存在下では 1.00~1000 µg/プレート、S9 mix 非存在下では 0.333~333 µg/プレート、WP2uvrA 株では S9 mix 存在下、非存在下とも 3.33~3330 µg/プレートの範囲の 7 用量で実施した。試験は 3 連制とし、プレインキュベーション法で 2 回行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。

2 回の試験において検体は S9 mix の有無にかかわらず、各菌株が生育阻害を示す最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたベンゾピレン、2-アミノアントラセン、2-ニトロ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

フルオレン、アジ化ナトリウム、ICR-191 及び 4-ニトロキノリン- $\mu$ -オキシドではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

1 回目試験

(表中の数値は 3 反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)		-	13± 2	85±11	9± 3	12± 1	4± 1	
検体	0.333	-		86±17	6± 1	13± 4	6± 2	
	1.00	-		71± 4	9± 6	15± 3	7± 3	
	3.33	-	11± 4	74±16	11± 2	13± 4	4± 1	
	10.0	-	14± 7	82±11	8± 1	12± 8	6± 5	
	33.3	-	13± 3	62± 8*	6± 2	5± 4	4± 1*	
	100	-	11± 4*	4± 2*	0± 1*	5± 2*	0± 0*	
	333	-	10± 5*	2± 1*	0± 0*	0± 0*	0± 0*	
	1000	-	8± 1*					
	3330	-	0± 0*					
対照 (DMSO)		+	15± 5	109± 13	11± 3	29± 7	5± 1	
検体	1.00	+		108± 2	11± 3	28± 5	4± 2	
	3.33	+	14± 4	101± 5	10± 3	23± 4	8± 2	
	10.0	+	16± 7	104±17	9± 4	21± 3	7± 2	
	33.3	+	15± 1	109± 7	11± 4	27± 9	8± 3	
	100	+	13± 4	108± 8	10± 5	22± 4	7± 2	
	333	+	12± 2	66±10*	11± 4	19± 5*	6± 1*	
	1000	+	12± 2*	0± 0*	3± 1*	1± 1*	0± 0*	
	3330	+	2± 3*					
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	1.0	-				330±82	
	アジ化ナトリウム	2.0	-		1404±92	1029±43		
	ICR-191	2.0	-				1057±27	
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-	724±93				
	ベンゾピレン	2.5	+				596±90	
	2-アミノアントラ セン	2.5	+		864±42	110± 8		76±17
		25.0	+	405±49				

\* バックグラウンドの菌の減少が認められた

2 回目試験

(表中の数値は 3 反復の平均値±標準偏差)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		-	13±3	137±27	16±6	21±6	5±2
検体	0.333	-		120±2	16±5	18±6	12±6
	1.00	-		126±8	16±2	17±8	10±3
	3.33	-	12±5	121±16	15±5	15±3	6±3
	10.0	-	11±3	141±13	21±4	17±3	6±3
	33.3	-	10±1	122±22*	15±5	19±1*	5±2*
	100	-	16±5*	6±5*	13±3*	17±7*	0±0*
	333	-	10±1*	2±2*	1±1*	2±2*	0±0*
	1000	-	11±5*				
3330	-	0±0*					
対照 (DMSO)		+	18±8	159±12	18±2	25±8	9±2
検体	1.00	+		143±12	14±4	26±4	6±1
	3.33	+	16±8	169±12	15±1	29±1	10±2
	10.0	+	15±5	155±19	17±2	22±3	8±3
	33.3	+	14±4	179±13	15±4	33±19	11±3
	100	+	14±4	159±6	18±5	20±13	8±1
	333	+	13±4	161±25*	17±5*	25±2*	6±1*
	1000	+	7±3*	68±10*	5±1*	2±1*	0±0*
	3330	+	2±2*				
陽性 対照	2-ニトロフルオレン	1.0	-			2638±390	
	アジ化ナトリウム	2.0	-		1281±274	1105±186	
	ICR-191	2.0	-				1662±341
	4-ニトロキノリン -N-オキシド	0.4	-	863±202			
	ベンゾピレン	2.5	+			784±46	
	2-アミノアントラ セン	2.5	+		1009±18	121±16	118±10
		25.0	+	379±50			

\* バックグラウンドの菌の減少が認められた



### 3. 製剤を用いた試験成績

#### 1. スピネトラム 25.0%水和剤

(1) スピネトラム 25.0%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 製1-1)

試験機関: Eurofins | Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年: 2007 年

検 体: 25.0%水和剤  
組 成: スピネトラム 25.0%  
          鋳物質微粉、界面活性剤等 75.0%

供 試 動 物: Fischer 344 系ラット、9 週齢、体重: 126~128 g、雌 3 匹

観 察 期 間: 14 日間

試 験 方 法: 上げ下げ法

投 与 方 法: 検体を蒸留水で 40% w/w になるように混合した投与液を調製した。投与前に 1 晩絶食したラット 1 匹に 5000 mg/kg の投与量でステンレス製の胃ゾンデを装着したシリンジを用いて単回強制経口投与したところ、死亡が認められなかった。さらに、同用量を別の 2 匹に投与したところ、追加の 2 匹にも死亡が認められなかったため、試験を終了した。

観 察 ・ 検 査 項 目: 一般症状および生死を 14 日間観察し、体重は投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果:

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD50 (mg/kg)	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状の発現なし
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

毒性徴候および死亡は認められず、体重および剖検においても検体投与の影響は認められなかった。

(2) スピネトラム 25.0%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 製 1-2)

試験機関 : Eurofins | Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2007 年

検 体 : 25.0%水和剤  
組 成 : スピネトラム 25.0%  
          鋳物質微粉、界面活性剤等 75.0%

供 試 動 物 : Fischer 344 系ラット、12 週齢、体重 ; 雄 218~251 g 雌 143~159 g、  
          一群雌雄各 5 匹

観 察 期 間 : 14 日間

投 与 方 法 : 5000 mg/kg の割合で 65% w/w となるように蒸留水で湿らせてドライペーストにした検体を 2 × 3 inch の 4 層ガーゼに塗布し、およそ 2 × 3 inch (体表の約 10%) の刈毛した背部皮膚に貼付して単回経皮投与した。Durapore テープを用いて投与部位を 24 時間閉塞した。投与 24 時間後に投与部位の検体を 3% の石鹼液および水道水で洗浄し、紙タオルで拭き取った。

観 察 ・ 検 査 項 目 : 一般症状および生死を 14 日間観察し、体重は投与前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時の全生存動物について投与部位を含む肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 ; 5000
LD50 (mg/kg)	雌雄共 ; > 5000
死亡開始時間および終了時間	雌雄共 ; 死亡例なし
症状発現時間および消失時間	雌雄共 ; 症状の発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 ; 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 ; 5000

毒性徴候および死亡は認められなかった。投与後 7 日に体重減少が認められたが、投与後 14 日には体重が増加した。剖検では検体投与の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及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

また、投与部位の異常も認められなかった。

(3) スピネトラム 25.0%水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 製1-3)

試験機関：Eurofins | Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：25.0%水和剤  
 組 成：スピネトラム 25.0%  
           鋳物質微粉、界面活性剤等 75.0%

供 試 動 物：ニュージーランドホワイト種ウサギ、若齢成獣、一群雄 3 匹

観 察 期 間：検体除去後 72 時間

投 与 方 法：検体 0.5 g を 65% w/w となるように蒸留水で湿らせてドライペーストにして 1 x 1 inch の 4 層ガーゼに塗布し、6 cm<sup>2</sup> の剪毛した無傷背部皮膚に貼付し半閉塞固定した。曝露時間は 4 時間とし、投与部位の検体を 3% の石鹼液および水道水で洗浄し、タオルで拭き取った。

観 察 項 目：検体除去の 30~60 分、24、48、および 72 時間後に適用部分の刺激性変化（紅斑および浮腫の有無等）を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点	曝露後時間（時間）			
			0.5~1	24	48	72
3501	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3502	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3503	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	2	1	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.7	0.3	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

2 匹のウサギにおいて、検体除去 30~60 分後に紅斑（評点 1）を認めたが、その後軽減し、検体除去 48 時間後までに回復した。

以上の結果から、スピネトラム 25.0%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性があると判定した。刺激性変化は 48 時間以内に回復した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

[申請者注]

申請者が検体除去 72 時間後までの評点平均値（一次刺激率）を算出して Draize の方法で評価した場合、一次刺激率は 0.25 でごく軽度の刺激性があると判定された。

(4) スピネトラム 25.0%水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 製1-4)

試験機関: Eurofins | Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年: 2008 年

検 体: 25.0%水和剤  
 組 成: スピネトラム 25.0%  
       鋳物質微粉、界面活性剤等 75.0%

供試動物: ニュージーランドホホワイト種ウサギ、若齢成獣、一群雌 3 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 検体 0.1 mL (0.05 g) を右眼に適用し、洗眼はしなかった。無処理の左眼を  
 対照とした。

観察項目: 適用の 1、24、48、72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize  
 法に従って採点した。

結 果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである

項目			最高 評点	適用後時間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 3401	角膜	程度	4	0	0	0	0
		混濁	面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	1	0
			浮腫	4	1	1	0	0
			眼脂分泌	3	2	1	0	0
	動物 番号 3402	角膜	程度	4	0	0	0	0
		混濁	面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	1	0	0
浮腫			4	1	0	0	0	
眼脂分泌			3	2	1	0	0	

項目		最高 評点	適用後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 3403	角膜 程度	4	0	0	0	0
		混濁 面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	1	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	1	1	0
		浮腫	4	1	0	0	0
		眼脂分泌	3	1	1	1	0
	合計*		330	43	16	6	0
	平均		110	14.3	5.3	2.0	0

\* Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

角膜の刺激性変化は認められなかった。

すべての動物において虹彩炎 (評点 1) および結膜炎 (発赤: 評点 2、浮腫: 評点 1、眼脂分泌: 評点 1~2) が適用 1 時間後に認められた。これらの刺激性変化の発生頻度および程度は時間とともに低下し、すべての動物の刺激性変化は 72 時間後までに回復した。

以上の結果から、スピネトラム 25.0%水和剤はウサギの眼粘膜に対して刺激性があると判定した。刺激性変化は 72 時間以内に回復した。

[申請者注]

申請者が試験結果を Kay and Calandra の方法で評価した場合、軽度の刺激性があると判定された。



(5) スピネトラム 25.0%水和剤のマウスを用いた LLNA 試験 (Local Lymph Node Assay)

(資料 製 1-5)

試験機関: The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年: 2007 年

検 体: 25.0%水和剤  
組 成: スピネトラム 25.0%  
          鉍物質微粉、界面活性剤等 75.0%

供 試 動 物: CBA/J 系マウス、9~12 週齢、一群雌 6 匹

観 察 期 間: 6 日間観察

試 験 操 作: [LLNA 試験 (Local Lymph Node Assay)]

LLNA 試験; 両耳の背部に検体の 5、25 および 75% (w/v) 溶液、あるいは溶媒 (1% Pluronic® L92) を 1 日 1 回 (25  $\mu$ L/耳)、3 日間 (1~3 日目) 連続して局所適用した。6 日目に PBS (リン酸緩衝生理食塩水) で希釈した  $^3$ H-チミジン 250  $\mu$ L (20  $\mu$ Ci 相当量) を尾静脈内に投与し、約 5 時間後に各動物の耳介リンパ節を摘出して、放射能 (dpm) を  $\beta$ -シンチレーションカウンターで測定した。一方、陽性対照群には、 $\alpha$ -ヘキシルシンナムアルデヒド (HCA) の 30% (v/v) 溶液 (溶媒: 1% Pluronic® L92) を適用した。

観 察 項 目:

体重変化; 試験開始時および終了時に体重を測定した。

適用部位の紅斑; 検体適用前および 2、3、6 日目に以下の基準に従って耳の紅斑を評価した。

	評点
肉眼的影響なし	0
軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし重度紅斑	3
痂皮	4

皮膚感作性；耳介リンパ節中放射能 (dpm) の値から SI 値 (Stimulation Index、各動物の dpm/溶媒対照群の平均 dpm) を算出した。SI 値が 3 未満であれば皮膚感作性なし、3 以上であれば皮膚感作性ありと判定した。皮膚感作性ありと判定された場合には、SI が 3 となる検体濃度 (EC<sub>3</sub>) を算出し、以下の基準に従って皮膚感作性の強さを分類した。

EC <sub>3</sub>	強さ
10%以上 100%以下	弱い
1%以上 10%未満	中等度
0.1%以上 1%未満	強度
0.1%未満	極度

結果：体重増加量および SI 値の各群平均値、および各観察時間における適用部位の紅斑が認められた動物数を下表に示す。

群	供試動物数	紅斑の認められた動物数																平均体重増加量	平均 SI 値					
		1 日目				2 日目				3 日目				6 日目										
		紅斑評点																						
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4			
溶媒対照 (1%L92)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.1	1.0	
検体 (%)	5	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	-0.1	1.5
	25	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	-0.2	2.4
	75	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	0.2	2.7
陽性対照 HCA	6	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0.3	6.4

a：統計学的解析は実施しなかった

75%溶液の検体群において3日目に軽度の紅斑が認められた。5、25および75%検体群の SI 値は、それぞれ 1.5、2.4 および 2.7 であり、いずれも 3 未満であったため EC<sub>3</sub> は算出できなかった。

陽性対照群の SI 値は 6.4 であった。

以上の結果から、スピネトラム 25.0%水和剤は皮膚感作性を有しないと判定された。

## 2. スピネトラム 11.7%水和剤

### (1) スピネトラム 11.7%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 製 2-1)

試験機関：Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検 体：11.7%水和剤  
組 成：スピネトラム ; 11.7%  
界面活性剤、水等 ; 88.3%

供 試 動 物：Fischer 344 ラット、10 週齢、体重：124~125 g、一群雌 3 匹

観 察 期 間：14 日間

試 験 方 法：上げ下げ法。1 匹に 5000 mg/kg の投与量で投与したところ、生存したため、  
続いて同用量を別の 2 匹に投与した。これらも生存したため試験を終了した。

投 与 方 法：検体を経口投与した。投与前に一晩絶食した。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般状態および生死を 14 日間観察した。観察期間終了時の全生存動物に  
ついて組織の肉眼的病理検査を行なった。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD50 (mg/kg)	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	投与後 1 日目に発現 2 日目までに消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

毒性兆候としては下痢が観察された。

剖検では、特記すべき変化は認められなかった。

(2) スピネトラム 11.7%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 製2-2)

試験機関：Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検 体：11.7%水和剤  
組 成：スピネトラム ; 11.7%  
界面活性剤、水等 ; 88.3%

供 試 動 物：Fischer 344 ラット、9 週齢、体重：雄 176~187 g 雌 120~128 g、一群雌雄  
各 5 匹

観 察 期 間：14 日間

投 与 方 法：検体を刈毛した背部（体表の約 10%）に適用し、24 時間半閉塞貼付した。投  
与 24 時間後に検体を拭き取った。

観 察 ・ 検 査 項 目：一般状態および生死を 14 日間観察した。観察期間終了時の全生存動物に  
ついて適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行なった。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	5000
LD50 (mg/kg)	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000

特記すべき毒性症状は認められなかった。

剖検では、投与部位を含め特記すべき変化は認められなかった。

(3) スピネトラム 11.7%水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 製 2-3)

試験機関：Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検 体：11.7%水和剤  
組 成：スピネトラム ; 11.7%  
界面活性剤、水等 ; 88.3%

供 試 動物：ニュージーランド白色種ウサギ、若齢成獣、一群雄 2 匹および雌 1 匹

観 察 期 間：検体除去後 72 時間

投 与 方 法：検体 0.5 mL を剪毛した動物の背部皮膚 (6 cm<sup>2</sup>) に適用し、半閉塞固定した。  
曝露時間は 4 時間とし、皮膚表面に残った検体は拭き取った。

観 察 項 目：検体除去の 30~60 分、24、48、および 72 時間後に適用部分の刺激性変化 (紅斑および浮腫の有無等) を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点	曝露後時間 (時間)			
			0.5~1	24	48	72
14145	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
14146	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
14147	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	3	1	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.0	0.3	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

すべてのウサギにおいて、検体除去 30~60 分後に紅斑 (評点 1) を認めたが、その後軽減し、検体除去 48 時間後までに回復した。

以上の結果から、スピネトラム 11.7%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性があると判定した。刺激性変化は 48 時間以内に回復した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

[申請者注]

申請者が検体除去 72 時間後までの評点平均値（一次刺激率）を算出して Draize の方法で評価した場合、一次刺激率は 0.33 でごく軽度の刺激性があると判定された。

(4) スピネトラム 11.7%水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 製 2-4)

試験機関：Product Safety Laboratories

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検 体：11.7%水和剤  
組 成：スピネトラム ; 11.7%  
界面活性剤、水等 ; 88.3%

供 試 動 物：ニュージーランド白色種ウサギ、若齢成獣、一群雄 1 匹および雌 2 匹

観 察 期 間：72 時間

投 与 方 法：検体 0.1 mL を右眼に適用した。洗眼はしなかった。無処理の左眼を対照とした。

観 察 項 目：適用の 1、24、48、および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

項目				最高 評点	適用後時間					
					1 時間	24 時間	48 時間	72 時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 14190	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0		
			面積	4	0	0	0	0		
		虹彩			2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	2	2	1	0		
			浮腫	4	0	0	0	0		
			眼脂分泌	3	1	0	0	0		
		動物 番号 14191	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
				面積	4	0	0	0	0	
			虹彩			2	0	0	0	0
	結膜		発赤	3	2	2	1	0		
			浮腫	4	0	0	0	0		
			眼脂分泌	3	1	0	0	0		
	動物 番号 14192		角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
				面積	4	0	0	0	0	
			虹彩			2	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	1	0		
			浮腫	4	0	0	0	0		
			眼脂分泌	3	1	0	0	0		
		合計*				330	18	12	6	0
		平均				110	6	4	2	0

\* Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

角膜および虹彩の刺激性変化は認められなかった。すべてのウサギにおいて結膜に発赤（評点2）が適用1及び24時間後に認められたが、その後軽減し、適用の72時間後には消失した。またすべてのウサギに眼脂分泌（評点1）が適用1時間後に認められたが24時間後には回復した。

以上の結果から、スピネトラム11.7%水和剤はウサギの結膜に対して刺激性があると判定した。刺激性変化は72時間以内に回復した。

[申請者注]

申請者が試験結果をKay and Calandraの方法で評価した場合、軽度の刺激性があると判定された。