

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-13)

(4) AF-02 原体のマウスにおける発がん性試験

検体純度

供試動物：ICR系SPFマウス [Crj:CD-1]、雌雄、投与開始時5週齢

投与開始時体重 雄、28.2～34.9 g；雌、21.9～27.1 g、1群雌雄各52匹

投与期間：18ヵ月（雄：2006年12月11日～2008年6月10日、

雌：2006年12月19日～2008年6月18日）

投与方法：検体を0、50、250および1250 ppmの濃度で飼料に混入し、動物に18ヵ月間自由摂取させる。検体を混入した飼料は1～3週に1回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。さらに、触診を含む以下の項目に示す詳細な臨床症状を週1回観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

ケージ内：興奮，鎮静，異常姿勢（腹臥，横臥など），異常行動（後ずさり，常同行動，自傷行動など）

ハンドリング：取り扱い難さ（刺激に対する反応の変化を含む），筋緊張の変化（亢進，低下），振戦，眼瞼閉鎖，流涎，流涙，分泌物（鼻孔，耳孔，膣などからの分泌物），眼球突出，体温の変化（上昇，下降），呼吸異常音，被毛の変化（外陰部湿潤），皮膚および可視粘膜の変化（充血）

ケージ外：跳躍，旋回，痙攣，歩様異常（運動協調性を含む，よろめき歩行，ひきずり歩行，後肢麻痺など），自発運動（亢進，低下），呼吸（促迫，緩徐），発声，立毛，異常姿勢（腹臥，横臥など），異常行動（後ずさり，常同行動，自傷行動など）

発生頻度が対照群に比較して有意に変動した一般状態を次表に示す。

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
[N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
皮膚：腫瘍	3	1	5	↑12	4	5	↑11	↑13

Fisher の直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]：検査動物数、表中の数値は臨床症状を示した動物数。

1250 ppm 群の雌雄および 250 ppm 群の雌で皮膚の腫瘍の発生頻度が有意に増加したが、肉眼および病理組織学的検査の結果これら腫瘍は特定の病変ではなく、投与用量と関連した発生頻度の増加も示すものでもなかった。50 ppm 群では雌雄ともに投与に関連する異常は認められなかった。

死亡率は雌雄のいずれの投与群も対照群と比較して明らかな差はなかった。

78 週間投与終了後の累積死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄	雌
0	12/52 (23%)	10/52 (19%)
50	13/52 (25%)	10/52 (19%)
250	17/52 (33%)	13/52 (25%)
1250	10/52 (19%)	14/52 (27%)

生命表解析： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

体重変化；全動物について、投与開始から 13 週まで毎週 1 回、投与 16 週から 76 週までは 4 週に 1 回、また投与終了時（78 週）に体重を測定した。

検体投与群で対照群に比し統計学的に有意差を認めた体重の変化を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

投与週	性および用量(ppm)					
	雄			雌		
	50	250	1250	50	250	1250
1			97			↓96
2			↓96			↓95
3			↓96			↓94
4			↓96			↓93
5			↓95			↓94
6			↓95			↓91
7			↓95			↓91
8			↓95			↓92
9			↓95			↓90
10			↓93			↓90
11			↓93			↓88
12			↓93			↓88
13			↓93			↓88
16			↓92			↓87
20			↓92			↓85
24			↓89			↓83
28			↓88			↓81
32			↓88			↓80
36			↓87			↓80
40			↓87			↓79
44			↓86			↓77
48			↓86			↓78
52			↓84			↓76
56			↓84			↓77
60			↓83			↓77
64			↓84			↓77
68			↓83			↓77
72			↓84			↓76
76			↓82			↓76
78			↓83			↓76

Dunnettの多重比較検定： ↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1250 ppm 群では、雌雄の体重が投与期間を通して対照群より有意に減少し、検

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

体投与の影響と考えた。

250 ppm 以下の投与群の雌雄の体重は対照群との間に有意な差はなかった。

摂餌量；全ケージについて、投与1週から14週までは毎週1回、投与16週から76週までは4週に1回の頻度で、連続3日分の摂餌量を測定した。

検体投与群で対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた摂餌量の変化を次表に示す。

投与週	性および用量(ppm)					
	雄			雌		
	50	250	1250	50	250	1250
1			↓80	↑105		↓79
3						↓93
6						↓93
7						↓94
10					↓90	↓90
12					↓88	↓90
32						↓90
40			↓94			↓90
44			98		↓88	↓82
48			↓91			↓84
52			↓91			
56			↓89			↓84
60			↓92			↓88
64			↓89			
68			↓94			↓87
72			↓85			
総平均摂餌量	104	100	94	98	96	90

Dunnett の多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1250 ppm 群の雌雄の摂餌量は投与1週時に対照群と比較して有意に低値を示し、その後も対照群に比べ有意に低い値を示す週がみられた。両群の摂餌量には雄で投与1、40 および 48~72 週時に、雌で1、3、6、7、10、12、32、40~48、56、60 および 68 週時に統計学的有意差が認められた。全投与期間を通じた総平均摂餌量は雄で対照群の94%、雌で90%であった。この変化は検体投与の影響

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

と判断した。

250 ppm 群の雌の摂餌量が対照群と比較して投与 10、12 および 44 週時に有意に減少したが、それ以外の週の数および投与期間を通じての総平均摂餌量は対照群と同様であり、減少は一時的な変化であったことから、検体投与の影響とは考えなかった。雄の摂餌量は投与期間を通じて対照群と同等であった。

50 ppm 群の雄の摂餌量が対照群と比較して投与 1 週時に有意に増加したが、一時的な偶発的な変化であった。雌の摂餌量は対照群と同等であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量（単位: mg/kg/day）を次の次表に示す。

用量 (ppm)	雄	雌
50	5.40	5.30
250	26.6	26.6
1250	141	148

食餌効率；投与開始後 13 週まで毎週 1 週間ごとの群平均体重増加量および対応する群平均摂餌量から食餌効率を算出した。

雌雄の平均食餌効率を次表に示す。

検査項目	性および用量(ppm)					
	雄			雌		
	50	250	1250	50	250	1250
総平均食餌効率	100	100	76	103	100	69

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1250 ppm 群では、雌雄の 13 週間の平均食餌効率が対照群に比較し低い値を示した。

250 および 50 ppm 群の雌雄の食餌効率には明らかな変化はみられなかった。

血液学的検査；78 週間投与終了後の全生存動物を対象として、エーテル麻酔下で開腹後大静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。また、各血液試料から血液塗抹標本作製し、大型非染色球数が $0.3 \times 10^3 / \mu\text{L}$ を超えていた時に白血球百分率算定用標本とした。

白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、大型非染色球数

また、投与期間中の切迫殺動物および 52 週間投与終了後の全生存動物について、エーテル麻酔下で尾端切断により血液塗抹標本作製した。この内、切迫殺動物について白血球百分率算定を行ったが、52 週間投与終了後の標本は、78 週間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

投与終了後の検査で検体投与に関連した異常（造血器系腫瘍を疑わせる変化）が認められなかったため、白血球百分率算定は実施しなかった。

検体投与群で対照群と比較して統計学的に有意な変化が認められた血液検査項目を次表に示す。

検査項目	性および用量(ppm)					
	雄			雌		
	50	250	1250	50	250	1250
リンパ球数		↓74	↓78			
大型非染色球			↓71			

Dunnettの多重比較検定： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合（%）

1250 ppm 群の雄でリンパ球数および大型非染色球数が、250 ppm 群の雄でリンパ球数が統計学的に有意に減少した。これらの変化は悪性リンパ腫や白血病の増加を示唆する変化とは逆の変化であり、リンパ球数の減少については用量との関連性が明らかでないこと、大型非染色球数についてはもともとこの細胞の出現率が低いためこの程度の変動には毒性学的意義はないことからいずれも偶発的所見である可能性が高いと考えた。これらの投与群の雌には統計学的に有意に変動した項目はなかった。

50 ppm 群では雌雄ともいずれの項目にも対照群と比較して差は認められなかった。

臓器重量；78 週間投与終了後の全生存動物の中から、動物番号順に選んだ各群各性 10 匹ずつについて、以下の臓器の固定前の重量（絶対重量）を測定し、それらの値と最終体重から比体重値（相対重量）を算出した。

脳、心臓、肝臓（胆のうを含む）、腎臓（両側）、脾臓、副腎（両側）、精巣（両側）、精巣上体（両側）、卵巣（両側）、子宮

検体投与群で対照群と比較して重量に統計学的に有意な変化が認められた臓器を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

検査項目	性および用量(ppm)					
	雄			雌		
	50	250	1250	50	250	1250
最終体重			↓81			↓81
脳： 相対重量			↑122			
腎臓： 相対重量			↑123			
副腎： 相対重量				↓71		
精巣： 相対重量		↑130	↑135	—	—	—
精巣上体： 相対重量			↑132	—	—	—

Dunnettの多重比較検定： ↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

1250 ppm 群では、雄の脳、腎臓、精巣および精巣上体の相対重量が対照群に比較して有意に増加した。これらの臓器には検体投与の影響と考えられる病理組織学的所見は観察されないことから、体重値の減少に伴う二次的な変化であり、毒性学的意義はないと考えた。雌ではいずれの臓器重量にも対照群に比較して有意な差は認められなかった。なお、最終体重は雌雄ともに有意に減少した。

250 ppm 群では、雄の精巣の相対重量が対照群に比較して有意に増加したが、偶発的であり毒性学的意義のない変化であると考えた。雌ではいずれの臓器重量にも対照群に比較して差は認められなかった。

50 ppm 群では、雌の副腎の相対重量が対照群に比較して有意に減少したが、偶発的であり毒性学的意義のない変化であると考えた。雄ではいずれの臓器重量にも対照群に比較して差は認められなかった。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行い、肉眼的異常を記録した。

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた所見を次表に示す。

最終計画殺動物

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
脾臓： [N=]	37	39	35	42	42	42	39	38
腫大	4	3	4	↓0	5	5	4	4
肝臓： [N=]	37	39	35	42	42	42	39	38
腫瘤	14	8	8	14	0	↑5	2	2
精囊： [N=]	37	39	35	42	—	—	—	—
肥大	14	11	11	↓7	—	—	—	—
凝固腺： [N=]	37	39	35	42	—	—	—	—
肥大	14	11	11	↓7	—	—	—	—

Fisherの直接確率計算法： ↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]検査動物数、表中の数値は所見発生数

死亡・切迫殺動物

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
全身・外観： [N=]	15	13	17	10	10	10	13	14
腹部被毛汚れ	4	2	↓0	0	0	0	0	0
皮膚： [N=]	15	13	17	10	10	10	13	14
腫瘍	1	1	1	1	0	2	↑5	2
膀胱： [N=]	15	13	17	10	10	10	13	14
尿うっ滞	10	10	11	↓2	0	0	0	0
卵巣： [N=]	—	—	—	—	10	10	13	14
卵巣嚢内水腫	—	—	—	—	0	↑5	3	2

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]検査動物数、表中の数値は所見発生数

全動物

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
皮膚： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
腫瘍	2	1	3	6	2	3	↑10	4
脾臓： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
腫大	8	7	9	↓2	8	10	11	7
リンパ節： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
腫大	0	1	↑6	4	5	2	3	8
肝臓： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
点・斑	8	8	↓2	5	2	4	2	1
精囊： [N=]	52	52	52	52	—	—	—	—
肥大	16	12	14	↓7	—	—	—	—
凝固腺： [N=]	52	52	52	52	—	—	—	—
肥大	16	12	14	↓7	—	—	—	—
腹腔： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
腹水	0	0	0	0	0	1	0	↑5

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]検査動物数、表中の数値は所見発生数

1250 ppm 群では、脾臓の腫大、精囊および凝固腺の肥大の発生頻度が雄の最終計画殺動物および全動物で有意に減少したが、これらの変化の毒性学的意義は低いと考えた。雄の途中死亡・切迫殺動物では膀胱の尿うっ滞の発生頻度が有意に減少した。雌では、腹腔の腹水の発生頻度が全動物において有意に増加した。腹水の原因として、腎臓や心臓の機能障害、腫瘍形成等に伴うリンパの流障害などが考えられる。以下にこれらの動物の腹水の原因として疑われる病死組織学的所見を列挙する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

転帰	動物番号	腹水の原因が疑われる所見	腹水関連所見
最終計画殺動物	430	心臓：動脈炎(大動脈)+ 腎臓：糸球体腎炎+ 卵巣：血腫+++	特になし
	442	心臓：動脈炎(大動脈)+	特になし
途中死亡・切迫殺動物	416	悪性リンパ腫	特になし
	420	特になし	前胃：粘膜下水腫++
	445	心臓：動脈炎(大動脈)+ 腎臓：糸球体腎炎+	皮下水腫+~++ 盲腸：粘膜下水腫++

程度：軽度+、中等度++、重度+++

これらの所見のうち、心臓の動脈炎(大動脈)は後述するように被験投与の影響による変化と考えられるが、本所見を示すその他の動物では腹水の発生は認められていないことから、上記の動物では種々の要因が重なった結果、腹水の発生頻度が増加したものと考えられた。したがって、雌における腹水の発生頻度の増加は検体投与の影響とは考えられなかった。

250 ppm 群では、雄の腹部被毛汚れの発生頻度が途中死亡・切迫殺動物で有意に減少した。さらに、雄の全動物ではリンパ節の腫大の発生頻度が有意に増加し、肝臓の点・斑の発生頻度が有意に減少した。雌の途中死亡・切迫殺動物および全動物では、皮膚の腫瘤の発生頻度が有意に増加した。これらの変化はいずれも用量との関連性のない変化であり、毒性学的意義のないものであった。

50 ppm 群の雌では、肝臓の腫瘤の発生頻度が最終計画殺動物で有意に増加し、卵巣嚢内水腫の発生頻度が途中死亡・切迫殺動物で有意に増加したが、これらの変化はいずれも用量との関連性のない変化であり、毒性学的意義のないものであった。雄ではいずれの検査時期においても病変の発生頻度に対照群に比較して差はみられなかった。

病理組織学的検査；対照群、1250ppm 群の全動物から採取した以下の臓器・組織について、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した病理標本を作製し、鏡検した。また、50 および 250 ppm 群の途中死亡・切迫殺動物についても同様の検査を行った。

脳(大脳、小脳、橋および延髄)、脊髄(頸部、胸部および腰部)、坐骨神経(片側)、下垂体、胸腺、甲状腺(両側)、上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾臓、骨および骨髄(胸骨、片側大腿骨および椎骨3ヵ所)、リンパ節(頸部および腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺および舌下腺)、食道、胃(前胃および腺胃)、肝臓、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺、腎臓(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、精のう(両側)、凝固腺(両側)、卵巣(両側)、子宮(角部および頸部)、瞳、眼球(網膜および視神経を含む、両側)、ハーダ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

一腺（両側）、下腿三頭筋（片側）、膝関節（片側）、皮膚（腰背部）、乳腺、肉眼的異常部位

さらに、50および250 ppm群の最終計画殺動物から採取した雌雄の心臓、肝臓、膀胱および雌雄の肉眼的異常部位についても同様に検査した。

[腫瘍性病変]

観察されたすべての腫瘍性病変を別表1に示す。

いずれの検体投与群においても腫瘍性病変の発生頻度の有意な増減はなかった。検体投与群で腫瘍発生の早期化はなく、観察された臓器・組織の種類は対照群と同様であった。また、当研究所の背景データと比較して稀な腫瘍の発生の増加もみられなかった。

[非腫瘍性病変]

対照群と比べ発生頻度に統計学的有意差の認められた非腫瘍性病変を次表に示す。

最終計画殺動物

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
心臓： 動脈炎(大動脈) [N=]	37	39	35	42	42	42	39	38
	4	1	3	↑17	2	7	5	↑19
肝臓： 小葉中心性肝細胞脂肪化 [N=]	37	39	35	42	42	42	39	38
	7	5	2	↓1	1	0	0	0
膀胱： 粘膜上皮細胞質空胞化 [N=]	37	39	35	42	42	42	39	38
	1	1	2	↑9	6	2	6	↑31
粘膜上皮過形成	0	0	0	3	0	0	0	↑20
粘膜固有層単核細胞集簇	1	1	3	↑11	11	9	15	↑29

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]検査動物数、表中の数値は所見発生数

途中死亡・切迫殺動物

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
脾臓： チモーゲン顆粒減少 [N=]	15	13	17	10	10	10	13	14
	0	↑4	↑5	1	1	0	0	2
心臓： 動脈炎(大動脈) [N=]	15	13	17	10	10	10	13	14
	1	0	0	1	0	0	0	↑10
膀胱： 粘膜上皮細胞質空胞化 [N=]	15	13	17	10	10	10	13	14
	1	1	0	3	0	0	3	↑7
粘膜固有層単核細胞集簇	0	0	0	1	0	1	2	↑6
腔拡張	10	10	11	↓2	0	0	0	0

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]検査動物数、表中の数値は所見発生数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

全動物

部位：所見	性および用量(ppm)							
	雄				雌			
	0	50	250	1250	0	50	250	1250
脾臓： [N=]	52	16#	22#	52	52	15#	18#	52
リンパ球系細胞過形成	4	0	0	2	11	1	2	↓4
心臓： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
動脈炎(大動脈)	5	1	3	↑18	2	7	5	↑29
肝臓： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
小葉中心性肝細胞脂肪化	10	6	↓2	↓1	1	0	0	0
腎臓： [N=]	52	23#	28#	52	52	16#	18#	52
尿細管腔拡張	7	5	8	↓1	0	1	0	0
腎盂拡張	15	7	6	↓6	0	0	0	1
膀胱： [N=]	52	52	52	52	52	52	52	52
粘膜上皮細胞質空胞化	2	2	2	↑12	6	2	9	↑38
粘膜上皮過形成	0	2	0	4	0	0	0	↑20
粘膜固有層単核細胞集簇	1	1	3	↑12	11	10	17	↑35

#:統計検定実施せず。

Fisherの直接確率計算法： ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

[N=]検査動物数、表中の数値は所見発生数

1250 ppm 群では、動脈炎（大動脈）、膀胱の粘膜上皮細胞質空胞化および粘膜固有層単核細胞集簇の発生頻度が雌雄の最終計画殺動物および全動物において有意に増加した。雄では、動脈炎（大動脈）、膀胱の粘膜上皮細胞質空胞化および粘膜固有層単核細胞集簇の発生頻度が途中死亡・切迫殺動物においても有意に増加し、また、膀胱の粘膜上皮過形成の発生頻度が最終計画殺動物および全動物において有意に増加した。これらの所見は、さきに実施されたマウスにおける90日間反復投与試験で心臓および膀胱に観察された所見と関連する変化と考えられるため、検体投与の影響であると判断した。その他、発生頻度の有意な減少を示す所見として、肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪化（雄、最終計画殺動物および全動物）、膀胱の腔拡張（雄、途中死亡・切迫殺動物）、脾臓のリンパ球系細胞過形成（雌、全動物）、腎臓の尿細管腔拡張および腎盂拡張（雄、全動物）が観察されたがいずれも毒性学的意義のない変化であると考えた。

250 ppm 群では、脾臓のチモーゲン顆粒減少の発生頻度が雄の途中死亡・切迫殺動物で有意に増加したが、この変化には用量との関連性がなかった。また、肝臓の小葉中心性肝細胞脂肪化の発生頻度が雄の全動物で有意に減少したが毒性学的意義のない変化であった。雌では有意な変動を示す所見はなかった。

50 ppm 群では、脾臓のチモーゲン顆粒減少の発生頻度が雄の途中死亡・切迫殺動物で有意に増加したが、この変化は用量との関連性がなかった。雌では有意な変動を示す所見はなかった。

以上から、1250 ppm 群では、雌雄ともに体重および摂餌量減少が観察された。雌雄の13週間の平均食餌効率は低値を示した。病理組織学的検査では、動脈炎（大動脈）、膀胱の粘膜上皮細胞質空胞化および粘膜固有層単核細胞集簇の発生頻度が雌雄の計画

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

殺動物および全検査動物において増加した。雌では、膀胱の粘膜上皮過形成の発生頻度が計画殺動物および全検査動物において増加した。

250 ppm 以下の投与群では、雌雄とも検体投与に関連づけられる明らかな変化はなかった。

いずれの用量群の雌雄においても検体投与による腫瘍性病変の増加は観察されなかった。また、腫瘍発生の早期化、まれな腫瘍の増加、その他、発がん性を示唆するような所見はいずれも観察されなかった。したがって、AF-02 原体は催腫瘍性を示さないものと結論された。

当該試験条件下での AF-02 原体の ICR 系 SPF マウス [Crj:CD1 (ICR)] における無毒性量 (NOAEL) は、雌雄とも 250 ppm (26.6 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及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250
途中死亡・切迫殺	全身性腫瘍	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		悪性リンパ腫(M)	1	0	5	2	3	3	5	3
	皮膚	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性血管周皮腫(M)	1	1	0	1	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳腺	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		腺癌(M)	0	0	1	0	0	2	0	0
	骨髄	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	1	0
		腺癌(M)	1	2	0	0	1	2	0	0
	肝臓	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		肝細胞腺腫(B)	1	1	4	1	0	0	0	0
		肝細胞癌(M)	0	1	1	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
		血管肉腫(M)	1	0	0	0	1	0	1	0
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
	膀胱	所見\検査動物数	15	13	17	10	10	10	13	14
		移行上皮癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査動物数	15	13	17	10				
		間細胞腫(B)	1	0	0	0				
		悪性間細胞腫(M)	0	1	0	0				

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow$ 、 $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$ 、 $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別		雄				雌						
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250				
途中死亡・切迫殺	卵巣	所見\検査動物数	/				10	10	13	14				
		顆粒膜細胞腫(B)					1	0	0	0				
		血管肉腫(M)					0	0	0	1				
	子宮角部	所見\検査動物数					10	10	13	14				
		平滑筋腫(B)					1	0	0	0				
		内膜間質ポリープ(B)					2	0	0	0				
		血管肉腫(M)					0	2	0	1				
	子宮頸部	所見\検査動物数					10	10	13	14				
		内膜間質ポリープ(B)					0	0	1	0				
	下垂体	所見\検査動物数					15	13	17	10	10	10	13	14
		血管肉腫(M)					0	0	0	0	0	1	0	0
	副腎	所見\検査動物数					15	13	17	10	10	10	13	14
		褐色細胞腫(B)					0	0	1	0	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫(B)					0	0	0	0	0	0	0	1
	ハーダー腺	所見\検査動物数					15	13	17	10	10	10	13	14
		腺腫(B)					1	0	1	0	0	0	1	0
	腹腔	所見\検査動物数					0	0#	1#	0#	0	0#	0#	0#
		悪性血管周皮腫(M)					-	-	1	-	-	-	-	-
合計	良性腫瘍数	4	3	6	1	5	0	3	1					
	悪性腫瘍数	5	5	8	4	6	10	10	5					
	腫瘍総数	9	8	14	5	11	10	13	6					
	担良性腫瘍動物数	2	3	5	1	4	0	2	1					
	担悪性腫瘍動物数	5	5	6	4	5	8	9	4					
	担腫瘍動物数	7	6	10	5	7	8	9	5					

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250
最終計 画殺	全身性腫瘍	所見\検査動物数	37	39	35	42	42	42	39	38
		悪性リンパ腫(M)	0	2	1	0	4	2	2	5
	皮膚	所見\検査動物数	37	7#	7#	42	42	20#	15#	38
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		粘液腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	1	0	0	1	0
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	2	0	0	1	0
		所見\検査動物数	37	0#	0#	42	42	1#	2#	38
	乳腺	腺腫(B)	0	-	-	0	1	1	0	1
		腺癌(M)	0	-	-	0	1	0	2	0
		所見\検査動物数	37	3#	5#	42	42	5#	5#	38
	脾臓	血管肉腫(M)	0	0	0	0	2	0	1	2
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		所見\検査動物数	37	1#	2#	42	42	0#	0#	38
	リンパ節	血管腫(B)	0	0	0	1	0	-	-	0
		所見\検査動物数	37	4#	7#	42	42	5#	8#	38
	肺	腺腫(B)	6	3	2	8	2	2	5	4
		腺癌(M)	1	2	3	2	3	1	2	0
		所見\検査動物数	37	39	35	42	42	42	39	38
	心臓	神経鞘腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		所見\検査動物数	37	0#	0#	42	42	0#	0#	38
	前胃	乳頭腫(B)	0	-	-	0	0	-	-	1
		所見\検査動物数	37	39	35	42	42	42	39	38
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	13	↓6	6	14	0	4	1	1
		肝細胞癌(M)	1	0	1	1	0	0	0	1
		血管腫(B)	2	0	0	0	0	0	0	1
		血管肉腫(M)	1	1	1	0	0	1	1	0
所見\検査動物数		37	39	35	42	42	42	39	38	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↑、 $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌																			
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250																
最終計画殺	腎臓	所見\検査動物数	37	10#	11#	42	42	6#	5#	38																
		悪性間葉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0																
	膀胱	所見\検査動物数	37	39	35	42	42	42	39	38																
		粘膜下間葉腫(B)	0	0	0	2	1	2	0	1																
	精巣	所見\検査動物数	37	2#	4#	42	/																			
		間細胞腫(B)	0	1	0	0																				
		悪性間細胞腫(M)	0	0	0	1																				
	卵巢	所見\検査動物数	/								42	18#	19#	38												
		嚢泡状腺腫(B)									1	1	1	1												
		黄体腫(B)									0	0	2	0												
		顆粒膜細胞腫(B)									0	0	1	0												
		血管肉腫(M)									0	0	0	2												
	子宮角部	所見\検査動物数									/				42	13#	12#	38								
		腺腫(B)													0	0	0	1								
		平滑筋腫(B)													0	2	1	0								
		平滑筋肉腫(M)													0	0	0	1								
		内膜間質ポリープ(B)													4	0	1	1								
		血管腫(B)													0	1	0	0								
		血管肉腫(M)													0	1	0	0								
		組織球性肉腫(M)													0	0	1	0								
	子宮頸部	所見\検査動物数													/				42	2#	3#	38				
		平滑筋腫(B)																	0	1	0	2				
		内膜間質ポリープ(B)																	1	0	0	0				
		血管肉腫(M)																	0	0	1	0				
	下垂体	所見\検査動物数																	37	1#	1#	42	42	1#	1#	38
		前葉腺腫(B)																	0	0	0	0	2	0	0	0
中間部腺腫(B)		0																	1	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍
 Fisherの直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$
 # : 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250
最終 計画 殺	上皮小体	所見\検査動物数	35	0#	0#	42	42	0#	0#	38
		腺腫(B)	0	-	-	0	1	-	-	0
	ハーダー 腺	所見\検査動物数	37	1#	0#	42	42	0#	0#	38
		腺腫(B)	2	1	-	4	1	-	-	2
合計	良性腫瘍数	24	12	9	29	14	14	13	16	
	悪性腫瘍数	3	5	7	8	10	5	12	12	
	腫瘍総数	27	17	16	37	24	19	25	28	
	担良性腫瘍動物数	18	11	9	24	13	12	11	14	
	担悪性腫瘍動物数	3	5	7	8	9	5	9	11	
	担腫瘍動物数	19	14	15	27	18	15	17	21	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250
全動物	全身性腫瘍	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		悪性リンパ腫(M)	1	2	6	2	7	5	7	8
	皮膚	所見\検査動物数	52	20#	24#	52	52	30#	28#	52
		腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		粘液腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性血管周皮腫(M)	1	1	0	1	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	1	0	0	2	0
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	2	0	0	1	0
	乳腺	所見\検査動物数	52	13#	17#	52	52	11#	15#	52
		腺腫(B)	0	0	0	0	1	1	0	1
		腺癌(M)	0	0	1	0	1	2	2	0
	骨髄	所見\検査動物数	52	13#	17#	52	52	10#	13#	52
		血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査動物数	52	16#	22#	52	52	15#	18#	52
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	3	0	1	2
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	リンパ節	所見\検査動物数	52	14#	19#	52	52	10#	13#	52
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査動物数	52	17#	24#	52	52	15#	21#	52
		腺腫(B)	6	4	2	8	2	2	6	4
		腺癌(M)	2	4	3	2	4	3	2	0
	心臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52
		神経鞘腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	前胃	所見\検査動物数	52	13#	17#	52	52	10#	13#	52
		乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow$ 、 $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$ 、 $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌							
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250				
全動物	肝臓	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52				
		肝細胞腺腫(B)	14	7	10	15	0	4	1	1				
		肝細胞癌(M)	1	1	2	1	0	0	0	1				
		血管腫(B)	2	0	0	0	1	0	0	1				
		血管肉腫(M)	2	1	1	0	1	1	2	0				
		組織球性肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0				
	腎臓	所見\検査動物数	52	23#	28#	52	52	16#	18#	52				
		腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0				
		悪性間葉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0				
	膀胱	所見\検査動物数	52	52	52	52	52	52	52	52				
		移行上皮癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0				
		粘膜下間葉腫(B)	0	0	0	2	1	2	0	1				
	精巣	所見\検査動物数	52	15#	21#	52	/							
		間細胞腫(B)	1	1	0	0								
		悪性間細胞腫(M)	0	1	0	1								
	卵巢	所見\検査動物数									52	28#	32#	52
		嚢胞状腺腫(B)									1	1	1	1
		黄体腫(B)									0	0	2	0
		顆粒膜細胞腫(B)									1	0	1	0
		血管肉腫(M)									0	0	0	3
	子宮角部	所見\検査動物数									52	23#	25#	52
		腺腫(B)									0	0	0	1
		平滑筋腫(B)									1	2	1	0
		平滑筋肉腫(M)									0	0	0	1
		内膜間質ポリープ(B)									6	0	1	1
		血管腫(B)									0	1	0	0
		血管肉腫(M)									0	3	0	1
		組織球性肉腫(M)									0	0	1	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1. 腫瘍性病変 (続き)

転帰	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	50	250	1250	0	50	250	1250
全動物	子宮頸部	所見\検査動物数	/				52	12#	16#	52
		平滑筋腫(B)					0	1	0	2
		内膜間質ポリープ(B)					1	0	1	0
		血管肉腫(M)					0	0	1	0
	下垂体	所見\検査動物数	52	14#	18#	52	52	11#	14#	52
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	0	0
		中間部腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	上皮小体	所見\検査動物数	50	13#	16#	51	52	10#	12#	52
		腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	副腎	所見\検査動物数	52	13#	17#	52	52	10#	13#	52
		褐色細胞腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	ハーダー腺	所見\検査動物数	52	14#	17#	52	52	10#	13#	52
		腺腫(B)	3	1	1	4	1	0	1	2
	腹腔	所見\検査動物数	0	0#	1#	0#	0	0#	0#	0#
		悪性血管周皮腫(M)	-	-	1	-	-	-	-	-
	合計	良性腫瘍数	28	15	15	30	19	14	16	17
		悪性腫瘍数	8	10	15	12	16	15	22	17
		腫瘍総数	36	25	30	42	35	29	38	34
担良性腫瘍動物数		20	14	14	25	17	12	13	15	
担悪性腫瘍動物数		8	10	13	12	14	13	18	15	
担腫瘍動物数		26	20	25	32	25	23	26	26	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisherの直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.05$ $\uparrow\downarrow$, $p \leq 0.01$

: 統計検定実施せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

1 2) 繁殖毒性および催奇形性

(資料 毒-14)

(1) AF-02原体のラットにおける繁殖毒性試験

検体純度：

試験動物：SPF Wistar Hannoverラット (BrlHan:WIST@Jcl[GALAS])、1群当り雌雄各24匹

投与開始時週齢 4週齢 (P世代)、3週齢 (F1世代)

投与開始時体重 P世代 雄、106-120 g；雌、91-103 g

F1世代 雄、56-74 g；雌、51-66 g

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳後の剖検までの18~19週間

F1世代；離乳時からF2児離乳後の剖検までの18~19週間

(2007年8月16日～2008年4月25日)

投与方法：検体を0、50、200または1000 ppmの濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお、対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

投与量設定根拠；

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

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
P	育成(10週)		毎日一般状態および死亡の有無確認。 体重、摂餌量を週1回測定。
	交配 (2週)	雌雄1対1で交配。交尾 成立は膣栓又は膣垢中 の精子の存在により確 認(妊娠0日)。	交配前3週間性周期を観察。 交配状況の観察。
	妊娠(3週)		妊娠0、7、14、20日に体重および摂餌量を測 定。毎日妊娠状態および分娩の有無を確 認。
	出産----- 哺育(3週)	----- 哺育4日に各同腹児数を 雄4匹雌4匹に調整(不可 能なら雌雄計8匹)	出産状況の観察(分娩完了日を哺育0日)。 新生児の生死、性別、外表異常、体重測 定(哺育0、4、7、14、21日)、哺育4日に選抜 から外れた児の剖検。 母動物の体重および摂餌量を哺育0、4、7、 14、21日に測定。
F1	離乳----- 育成(10週)	継代用の各群雌雄24匹 ずつを無作為に選抜(原 則各腹から雌雄各1匹)。 (P世代に準ずる)	継代用以外の児動物を屠殺し、臓器重量 測定、剖検、病理組織学的検査(胸腺) を実施。継代用の動物では膣開口および 包皮分離を観察。P世代親動物を剖検し臓 器重量測定、雄親動物の精子検査。生殖 器官、下垂体、副腎を含む病理組織学的 検査。
	交配 (2週)	兄妹交配を避けた。	(P世代に準ずる)
	妊娠(3週) 出産----- 哺育(3週)	----- (P世代に準ずる)	(P世代に準ずる) (P世代に準ずる) (P世代に準ずる)
F2	離乳-----		離乳児を屠殺し、臓器重量測定を含む剖 検を実施。F1親動物はP世代と同様の検 査。病理組織学的検査は生殖器官、下垂 体、副腎を含む臓器について実施。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

一般状態および死亡率；試験期間中、親動物の一般状態および死亡の有無を1日2回（休日は1回）、児動物は1日1回観察した。死亡動物は、発見後速やかに剖検して所見を記録した。

体重および摂餌量；親動物の体重および摂餌量を、雄は週1回および剖検日に、雌については、交配前は週1回、繁殖期間中は妊娠0、7、14、20日と哺育0、4、7、14、21日および剖検日に測定した。児動物の体重を哺育0、4、7、14および21日に測定した。

体重増加量；親動物について、雄は各測定体重と検体投与開始日体重の差として増加量を求めた。雌は、育成期間、妊娠期間および哺育期間の各測定体重とそれぞれの期間開始日（投与開始日、妊娠0日および哺育0日）の体重の差として、剖検日は検体投与開始日体重を基準として増加量を求めた。

交配および妊娠の確認；交配は雌の発情周期を3週間以上膣垢像で確かめ、発情前期の日の夕刻に同群内の雄と1対1で同居させた（2週間以内）。交尾成立は膣栓又は膣垢中の精子の存在により確認した。交尾を確認した日を妊娠0日とした。妊娠は分娩および子宮内の着床痕の存在によって確認した。

繁殖性に関する指標；育成、交配、妊娠および哺育の各期間と剖検時の観察に基づき、次の指標を算出した。

親動物

性成熟 = 雄の包皮分離と雌の膣開口の日齢（F1親動物について）

発情周期長 = 交配前の3週間発情周期を観察し、発情周期の平均日数を算出

雄の交尾率（%） = $(\text{交尾を認めた雄数} / \text{交配に用いた雄数}) \times 100$

雌の交尾率（%） = $(\text{交尾を認めた雌数} / \text{交配に用いた雌数}) \times 100$

交尾成立までの日数 = 雌雄を同居後、交尾が確認されるまでの日数

受胎率（%） = $(\text{妊娠雌数} / \text{交尾を認めた雌数}) \times 100$

出産率（%） = $(\text{正常出産雌数} / \text{妊娠雌数}) \times 100$

妊娠期間 = 交尾確認日（妊娠0日）から分娩完了日（哺育0日）までの日数

着床数 = 剖検時に肉眼的に数えた子宮内の着床痕数

精子検査 = 精巢上体尾部精子の運動性、数および形態と精巢の精子頭部数

児動物

産児数 = 哺育0日における生存児と死亡児の合計

性比 = 総雄産児数/総産児数

哺育0日の生存率（%） = $(\text{哺育0日の生存児数} / \text{産児数}) \times 100$

哺育4日の生存率（%） = $(\text{哺育4日の生存児数} / \text{哺育0日の生存児数}) \times 100$

哺育7、14、21日の生存率（%） = $(\text{哺育7、14、21日の生存児数} / \text{哺育4日に選ばれた児数}) \times 100$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

病理学的検査；

剖検所見；親動物は児動物の離乳後に剖検し、所見を記録した。死亡児動物、哺育4日に選抜されなかった新生児、F1親動物に選抜されなかったF1離乳児およびすべてのF2離乳児についても全例剖検し、所見を記録した。

臓器重量；親動物の脳、下垂体、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子宮（頸部と卵管を含む）、精巣、精巣上部、精囊（凝固腺を含む）および前立腺（腹側葉）の重量を測定した。児動物については、各群各腹の雌雄1匹ずつの脳、脾臓、胸腺および子宮の重量を測定した。

病理組織学的検査；対照群と高用量群の繁殖成績正常の雌雄親動物10組および交尾不成立、妊娠不成立の雌雄親動物の組ならびに異常出産または全哺育児死亡の雌親動物について、卵巣、卵管、子宮（角部および頸部）、腔、精巣、精巣上部、精囊、凝固腺、前立腺、下垂体および副腎を病理組織学的に検査した（P雌親動物の卵巣と副腎については、対照群と高用量群の全例）。対照群と高用量群のF1雌親動物の卵巣については、原始卵胞数も計測した。その他に肝臓について、対照群と中間および高用量群のPおよびF1雌親動物全例ならびに対照群と高用量群のF1雄親動物各10例、脾臓について対照群と中間および高用量群のPおよびF1雌雄親動物全例、甲状腺について対照群と高用量群のP雌雄親動物各10例、皮膚（腰背部と脱毛部）について対照群と高用量群のP雌親動物全例の病理組織学的検査を行った。児動物については、対照群と高用量群の臓器重量測定、F1およびF2雌雄離乳児の胸腺を病理組織学的に検査した。

結 果：概要を表2に示す。

親動物

一般状態および死亡率；1000 ppm投与群のP世代の雌に脱毛が有意に高頻度でみられたが、F1世代では2例のみであり、病理組織学的検査でも異常は認められなかったことから、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。死亡動物はなかった。

体 重；50 ppm投与群のF1雌において投与第6週の体重が対照群と比較して有意に高かったが、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。1000 ppm投与群では、PおよびF1世代とも雌雄の体重は殆どの投与週で有意に低かった。

体重増加量；50 ppm投与群で投与第0-6週のF1雌の体重増加量が対照群と比較して有意に高く、200 ppm投与群で投与第0-1週のP雌の体重増加量が有意に低かったが、単発的な変化であり、毒性学的に意味のない変動と考えられた。1000 ppm投与群では、PおよびF1世代の雌雄とも大部分の投与週で体重増加量は対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

照群より有意に低かった。

摂餌量；1000 ppm投与群で、PおよびF1世代とも育成期間中の雄、育成期間および哺育期間中の雌の摂餌量に対照群より有意に低い値がみられた。

性成熟；F1世代の親動物について行った性成熟の観察では、雄の包皮分離および雌の膣開口の完了日齢に有意な差はみられなかった。1000 ppm投与群で、雄の包皮分離完了日齢時の体重が対照群より有意に低かったが、体重増加の抑制に伴う二次的な変動と考えられた。

繁殖成績；発情周期長、正常発情周期を示す雌の頻度、同居開始から交尾までの日数、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間、着床数および精子検査結果に検体投与に関連する変化はみられなかった。

臓器重量；200 ppm投与群で、F1世代雄の甲状腺とF1世代雌の肝臓の絶対および相対重量が対照群より有意に高かった。F1雄の甲状腺については、1000 ppm投与群では重量に有意な高値は認められていないことから、検体投与とは関連のない偶発的な変動と考えられた。1000 ppm投与群では、P世代雌とF1世代雌雄の肝臓の絶対および相対重量が対照群より高く、相対重量には有意差がみられた。1000 ppm投与群の病理組織学的検査においても肝機能障害を示す所見は観察されなかったことから、これらの肝臓重量の変化は毒性を示すものではなく薬物代謝等に伴った生理的な反応と考えられた。両世代の雌雄の脾臓の相対重量が有意に高かった。両世代の雌の副腎の絶対重量およびP世代雌の副腎の相対重量ならびに卵巣の絶対重量が有意に低かった。両世代の雌雄の甲状腺重量に高値または高い傾向がみられたが、統計学的な有意差はP世代雌とF1世代雌の相対重量にみられたに過ぎなかった。その他、雌雄の脳と腎臓、雄の精巣上体と精囊・凝固腺、雌の下垂体の絶対重量または相対重量に対照群との間で有意な差がみられたが、いずれも低体重に起因する変動と考えられた。

剖 検；50 ppm投与群のP世代雌に甲状腺の腫大が有意に高頻度でみられたが、検体投与に関連する変化とは考えられなかった。1000 ppm投与群で、PおよびF1世代の雌に肝臓の暗調化が対照群より有意に高い頻度でみられた。またP世代の雌に脱毛が6例（有意差あり）と脾臓の暗調化が3例（有意差なし）観察された。

病理組織学的所見；生殖器官、下垂体および副腎には、検体投与によると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。剖検および臓器重量測定で変化のみられた臓器の病理組織学的検査の結果、脱毛部皮膚には検体投与に起因すると考えられる異常は観察されなかった。肝臓については、対照群を含む検査した各群の雌雄に小肉芽腫、肝細胞壊死または肝横隔膜結節が観察されたものの、いず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

れも0-1例に過ぎなかった。甲状腺については、濾胞上皮細胞の水腫性変性が数例観察されたが、検体投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。脾臓に関しては、1000 ppm投与群で両世代の雌雄にうっ血または髓外造血亢進が有意に高い頻度で認められ、検体投与による溶血性貧血の発症が示唆された。また、剖検時に1000 ppm投与群のP世代雌にみられた脾臓の暗調化は、低頻度であるものの溶血性貧血に関連した変化であると推察された。

卵胞数；F1世代の雌親動物について検査した原始卵胞数には、対照群と1000 ppm投与群の間で有意差はみられなかった。

児動物

産児数、性比、生存率および一般状態；F1およびF2哺育児のいずれにも検体投与の影響はみられなかった。

体重；200 ppm投与群で、F1哺育児の哺育21日の体重が雌雄とも対照群と比較して有意に低かったが、F2哺育児では雌雄とも対照群の値とほぼ同じであった。一方、1000 ppm投与群では、F1およびF2哺育児とも哺育4日以降の雌雄の体重は対照群より低く推移し、哺育4日以降のF1哺育児および哺育7日以降のF2哺育児の体重に雌雄とも有意な差がみられた。

臓器重量；1000 ppm投与群で、F1およびF2雌雄離乳児の胸腺が絶対および相対重量とも対照群より有意に低かった。F1およびF2雌雄離乳児の脳と脾臓の絶対重量に有意な低値ならびに脳と子宮の相対重量に有意な高値がみられたが、F1およびF2雌雄離乳児とも体重が著しく減少していることから、いずれも低体重に伴う見かけ上の変動と考えられた。

剖検；F1およびF2児動物とも検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的所見；1000 ppm投与群のF1およびF2雌雄離乳児の胸腺には、病理組織学的異常は認められなかった。

以上の結果から、1000 ppm投与群では、PおよびF1親動物の雌雄に体重増加の抑制および摂餌量の低値が観察された。その他、雌雄とも世代を通じて脾臓重量に高値がみられ、病理組織学的検査では脾臓のうっ血または髓外造血亢進の出現頻度が両世代の雌雄とも上昇した。いずれの世代も雌雄の哺育児に明らかな体重増加抑制が観察された。200 および50 ppm投与群には、検体投与の影響は認められなかった。従って、本検体の無毒性量は200 ppm (P世代の雄で12.0 mg/kg/day、雌で18.4 mg/kg/day、F1世代の雄で12.5 mg/kg/day、雌で18.7 mg/kg/day) ^(註1)と考えられた。また、親動物の繁殖能力に関しては、検体の一般毒性的影響が明らかに認められた1000 ppmの用量においても機能的異常を伴う悪影響

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

はないと結論された。

注1：上記の検体摂取量は生存期間を通じた平均値である。各世代の雌雄の生育期間の検体摂取量はP世代の雄で13.7 mg/kg/day、雌で15.9 mg/kg/day、F1世代の雄で14.8 mg/kg/day、雌で16.9 mg/kg/dayであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表2. 結果の概要

親動物の一般状態、体重、摂餌量

世代		親：P				親：F1			
投与量 (ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24
一般状態	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	検体投与に起因する異常なし			脱毛↑	検体投与に起因する異常なし			
死亡	雄	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	雄	—	有意差なし	有意差なし	第1-18週↓	—	有意差なし	有意差なし	第0-11, 14週↓ 第12, 13, 15-18週↓
	雌	—	有意差なし	有意差なし	第1-8, 10週↓ 第9週↓ 妊娠0日↓ 妊娠7-20日↓ 哺育0-21日↓	—	第6週↑	有意差なし	第0-8週↓ 第9週↓ 妊娠7, 14日↓ 哺育0日↓, 4-21日↓
体重増加量	雄	—	有意差なし	有意差なし	第1-18週↓	—	有意差なし	有意差なし	第1-8週↓ 第9週↓
	雌	—	有意差なし	第1週↓	第1-8, 10週↓ 第9週↓ 妊娠7日↓ 妊娠14, 20日↓ 哺育4, 7, 14日↓	—	第6週↑	有意差なし	第1, 2週↓ 哺育4, 7, 14日↓
摂餌量	雄	—	有意差なし	有意差なし	第1週↓	—	有意差なし	有意差なし	第1-4週↓ 第5週↓
	雌	—	有意差なし	有意差なし	第1-5, 7週↓ 第6週↓ 妊娠14-20日↓ 哺育0-7, 7-14日↓	—	有意差なし	有意差なし	第5週↓ 哺育0-7, 7-14日↓ 哺育14-21日↓
a 検体摂取量	雄	—	3.02 (3.43) ^b	12.0 (13.7)	61.5 (69.2)	—	3.18 (3.75)	12.5 (14.8)	66.8 (78.2)
	雌	—	4.61 (3.94)	18.4 (15.9)	92.5 (78.3)	—	4.54 (4.13)	18.7 (16.9)	93.9 (85.7)

a: mg/kg体重/日

b: 括弧内の検体摂取量は生育期間の平均値を用いて算出した。

Dunnett多重比較検定: 体重、体重増加量、摂餌量 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

Fisherの直接確率計算法: 一般状態 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表2. 結果の概要 (つづき)

親動物の性成熟、交配結果、精子検査

世代		親 : P				親 : F1				
投与量 (ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000	
親動物	雄	包皮分離日齢(日) ^a	—	—	—	—	42.5	42.0	42.5	43.9
		包皮分離時体重(g) ^a	—	—	—	—	189	187	183	↓171
		交尾率<%>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>
		精子頭部数/精巢(x10 ⁶) ^{a,b}	218	219	220	219	212	227	223	218
			138	136	138	142	124	130	128	127
		精子数/精巢上体尾部(x10 ⁶) ^{a,b}	111	121	116	123	123	121	129	121
			512	547	537	564	527	516	531	534
	運動性精子率(%) ^a	88.9	91.1	92.3	89.9	90.8	93.8	94.4	94.8	
	正常形態精子率(%) ^a	97.7	98.1	97.5	97.9	96.9	97.1	97.2	97.6	
	雌	陰開口日齢(日) ^a	—	—	—	—	31.9	32.2	32.7	32.9
		陰開口時体重(g) ^a	—	—	—	—	102	105	103	93
		発情周期長(日) ^a	4.0	4.0	4.1	4.2	4.2	4.0	4.0	4.2
		正常性周期雌率<%>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	21/24<87.5>	24/24<100.0>	23/24<95.8>
		交尾成立までの日数 ^a	1.1	1.5	1.1	1.5	1.7	1.0	1.1	1.1
交尾率<%>		24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	
受胎率<%>		24/24<100.0>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	23/24<95.8>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	24/24<100.0>	
出産率<%>	24/24<100.0>	23/23<100.0>	24/24<100.0>	23/23<100.0>	22/23<95.7>	24/24<100.0>	23/24<95.8>	24/24<100.0>		
妊娠期間(日) ^a	22.1	22.0	22.0	22.3	22.0	22.0	22.1	22.0		
着床数 ^a	12.5	12.6	12.0	12.1	11.2	11.8	10.9	11.6		

a: 平均値

b: 上段は平均全精子(頭部)数、下段は精巢または精巢上体尾部1g当りの精子(頭部)数
Dunnett多重比較検定: 性成熟(包皮分離および陰開口)、体重、精子(頭部)数、運動性精子率、正常形態精子率、発情周期長、交尾成立までの日数、妊娠期間、着床数

↑↓、p≤0.05 ↑↓、p≤0.01

Fisherの直接確率計算法: 交尾率、正常性周期雌率、受胎率、出産率 ↑↓、p≤0.05

↑↓、p≤0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表2. 結果の概要 (つづき)
親動物の臓器重量

世代		親 : P				親 : F1			
投与量(ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000
雄・ 親動物	雄体重(g)	426	413	429	↓385	471	462	463	↓437
	脳 :								
	A(mg)	2040	2018	2051	2007	2106	2106	2139	↓2035
	R(%)	0.483	0.491	0.480	↑0.526	0.451	0.457	0.466	0.469
	下垂体 :								
	A(mg)	9.7	9.7	9.8	9.1	10.3	10.1	10.4	9.9
	R(%)	0.00229	0.00236	0.00228	0.00237	0.00220	0.00219	0.00225	0.00226
	甲状腺 :								
	A(mg)	21.0	26.5	23.7	25.7	23.6	25.8	↑30.0	26.6
	R(%)	0.00498	0.00646	0.00555	↑0.00669	0.00503	0.00560	↑0.00650	0.00621
	肝臓 :								
	A(mg)	12991	12524	13370	12087	14957	14566	14945	15478
	R(%)	3.04	3.03	3.12	3.15	3.16	3.15	3.22	↑3.53
	脾臓 :								
	A(mg)	692	688	733	692	769	740	799	792
	R(%)	0.163	0.168	0.171	↑0.180	0.164	0.161	0.173	↑0.181
	腎臓 :								
	A(mg)	1209	1192	1222	1165	1279	1297	1267	1252
	R(%)	0.284	0.290	0.286	↑0.303	0.272	0.281	0.274	0.287
	副腎 :								
A(mg)	29.7	29.5	29.6	27.4	32.7	32.1	32.7	31.2	
R(%)	0.00697	0.00718	0.00690	0.00715	0.00699	0.00696	0.00706	0.00714	
精巣上体 :									
A(mg)	613	620	609	595	622	644	635	606	
R(%)	0.145	0.151	0.142	↑0.156	0.133	0.140	0.138	0.139	
精囊 :									
A(mg)	1913	1758	1774	1843	1807	1860	1804	1853	
R(%)	0.450	0.429	0.415	0.482	0.386	0.404	0.391	↑0.424	
雌・ 親動物	雌体重(g)	256	260	251	↓240	263	272	265	252
	脳 :								
	A(mg)	1895	1912	1871	1863	1906	1900	1912	↓1842
	R(%)	0.744	0.736	0.749	0.781	0.727	0.700	0.726	0.735
	下垂体 :								
	A(mg)	13.8	14.2	13.1	12.8	13.7	13.4	13.1	↓12.5
	R(%)	0.00541	0.00549	0.00524	0.00534	0.00522	0.00493	0.00500	0.00496
	甲状腺 :								
	A(mg)	20.8	20.6	21.7	23.1	20.1	20.1	20.7	23.6
	R(%)	0.00814	0.00792	0.00866	0.00973	0.00766	0.00738	0.00785	↑0.00944
肝臓 :									
A(mg)	10853	11486	11589	11952	11162	11682	↑12446	↑13102	
R(%)	4.23	4.40	4.62	↑4.96	4.23	4.29	↑4.70	↑5.21	
脾臓 :									
A(mg)	567	582	572	601	617	614	632	660	
R(%)	0.223	0.224	0.228	↑0.251	0.235	0.226	0.239	↑0.263	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

親動物の臓器重量 (つづき)

世代		親 : P				親 : F1			
投与量(ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000
雌・親動物	腎臓 :								
	A(mg)	939	964	906	↓875	984	983	971	↓886
	R(%)	0.368	0.370	0.362	0.365	0.374	0.361	0.368	↓0.352
	副腎 :								
	A(mg)	41.3	40.7	41.4	↓35.0	41.5	41.7	42.7	↓37.7
	R(%)	0.01621	0.01571	0.01656	↓0.01455	0.01579	0.01536	0.01618	0.01500
卵巣 :									
A(mg)	56.2	58.1	54.7	↓49.7	57.1	58.6	53.6	52.7	
R(%)	0.0221	0.0224	0.0219	0.0208	0.0217	0.0216	0.0204	0.0210	

表中の値は平均値

A : 絶対重量 R : 相対重量 (体重比)

Dunnett多重比較検定 : 臓器重量 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

表2. 結果の概要 (つづき)

親動物の肉眼的病理所見、病理組織学的所見、卵胞数

世代		親 : P				親 : F1				
投与量(ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000	
親動物	剖検所見	皮膚 ; 脱毛								
		雄	0/24	0/23	3/24	2/23	1/22	0/24	0/24	0/24
		雌	0/24	0/23	0/24	↑6/23	0/22	0/24	0/23	0/24
		甲状腺 ; 腫大								
		雄	0/24	↑4/23	1/24	2/23	0/22	1/24	2/24	1/24
		雌	2/24	1/23	2/24	1/23	0/22	1/24	1/23	2/24
	肝臓 ; 暗調化									
	雄	0/24	0/23	0/24	0/23	0/22	0/24	0/24	0/24	
	雌	0/24	0/23	0/24	↑7/23	0/22	0/24	0/23	↑5/24	
	病理組織学的所見	脾臓 ; うっ血								
		雄	1/24	—	1/24	↑6/23	1/22	—	0/24	0/24
		雌	1/24	—	0/24	↑6/23	1/22	—	0/23	↑7/24
脾臓 ; 髓外造血亢進										
雄		1/24	—	2/24	1/23	1/22	—	3/24	↑7/24	
雌		0/24	—	0/24	1/23	0/22	—	0/23	3/24	
原始卵胞数 ^a		—	—	—	—	302	—	—	270	

a: 平均値

Fisherの直接確率計算法 : 剖検所見、病理組織学的所見 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

F検定後のStudent *t* 検定またはAspin-Welch検定 : 卵胞数 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表2. 結果の概要 (つづき)

児動物の産児数、性比、一般状態、肛門生殖突起間距離、生存率、体重

世代		児 : F1				児 : F2				
投与量 (ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000	
児動物	産児数 ^a	11.3	11.7	11.2	11.1	10.7	10.9	10.7	10.5	
	性比 (雄数/産児数)	0.478	0.468	0.493	0.471	0.475	0.487	0.462	0.514	
	一般状態	—	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			
	生存率 (%) ^a	哺育0日	100.0	98.8	96.1	99.7	100.0	99.6	100.0	100.0
		哺育4日	99.3	99.7	99.7	99.6	99.5	99.2	99.0	99.6
		哺育7日	99.5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
		哺育14日	99.5	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.5
		哺育21日	99.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	99.0
	体重(g) ^a									
	雄	生後0日	6.1	6.0	5.9	5.8	6.0	6.1	6.1	6.0
		生後4日 ^b	11.0	10.7	10.5	↓9.7	10.8	10.9	11.0	10.4
		生後7日	17.8	17.4	17.2	↓14.9	17.3	17.2	17.7	↓15.8
生後14日		36.3	35.8	35.2	↓29.1	34.6	34.1	35.2	↓30.0	
生後21日		57.3	56.1	↓54.8	↓45.5	54.1	53.8	54.0	↓46.1	
雌	生後0日	5.7	5.6	5.5	5.6	5.7	5.7	5.8	5.8	
	生後4日 ^b	10.5	10.3	10.0	↓9.4	10.5	10.6	10.6	10.1	
	生後7日	17.1	16.8	16.2	↓14.5	16.8	16.9	17.0	↓15.4	
	生後14日	35.1	34.9	33.4	↓28.6	33.4	33.9	34.1	↓29.3	
	生後21日	54.6	53.8	↓51.6	↓43.9	52.0	52.7	51.9	↓44.5	

a : 平均値

b : 児数調整後

Dunnett多重比較検定 : 生存率、体重 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

Fisherの直接確率計算法 : 性比 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

Mann-Whitney U 検定 : 一般状態観察所見 ↑↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表2. 結果の概要 (つづき)
 児動物の臓器重量、肉眼的病理所見

世代		児 : F1				児 : F2					
投与量(ppm)		0	50	200	1000	0	50	200	1000		
児動物	雄	雄体重(g)	82	80	80	↓66	78	79	77	↓65	
	脳 :	A(mg)	1568	1554	1553	↓1498	1549	1560	1569	↓1470	
		R(%)	1.91	1.96	1.96	↑2.28	2.00	1.99	2.03	↑2.27	
		脾臓 :	A(mg)	329	317	308	↓253	288	297	298	↓240
		R(%)	0.402	0.399	0.386	0.383	0.369	0.377	0.385	0.371	
	胸腺 :	A(mg)	298	275	277	↓216	282	282	277	↓197	
		R(%)	0.363	0.345	0.349	↓0.328	0.362	0.359	0.358	↓0.302	
		雌	雌体重(g)	76	74	73	↓61	72	72	72	↓61
	脳 :	A(mg)	1496	1503	1494	↓1423	1479	1480	1507	↓1442	
		R(%)	1.99	2.03	2.06	↑2.34	2.07	2.08	2.11	↑2.36	
		脾臓 :	A(mg)	279	275	263	↓219	265	258	263	↓218
		R(%)	0.371	0.371	0.360	0.357	0.369	0.358	0.366	0.356	
	胸腺 :	A(mg)	282	271	268	↓206	275	264	268	↓202	
		R(%)	0.374	0.365	0.366	↓0.337	0.383	0.369	0.375	↓0.328	
子宮 :		A(mg)	65.6	69.8	63.9	63.5	60.8	64.0	61.5	64.9	
	R(%)	0.0869	0.0942	0.0876	↑0.1047	0.0849	0.0887	0.0856	↑0.1063		
剖検所見		—	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			
病理組織学的所見		—	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			

表中の値は平均値

A : 絶対重量。 R : 相対重量 (体重比)

Dunnett多重比較検定 : 体重、臓器重量 ↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

Mann-Whitney U 検定 : 剖検所見、病理組織学的所見 ↓、 $p \leq 0.05$ ↑↓、 $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-15)

(2) AF-02 原体のラットを用いる催奇形性試験

検体純度：

供試動物：SPF Wistar Hannover (BrlHan:WIST@Jcl[GALAS]) ラット、
交配開始時 雌雄 13 週齢、1 群当り交尾成立雌 24 匹

投与期間：妊娠 6 日から妊娠 19 日までの 14 日間 (2007 年 7 月 16 日～8 月 1 日)

投与方法：検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 水溶液に懸濁し、0 (対照群)、5、20 および 80 mg/kg/day の投与用量で、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間毎日 1 回、10 mL/kg の容量で強制経口投与した (膣栓または膣垢中の精子の確認日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群の動物には 1%CMC 水溶液を同様に投与した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

母動物；一般状態および死亡の有無を、試験期間中 (妊娠 0～20 日)、毎日 1 回 (投与期間中は 2 回) 観察して記録した。体重測定時には一般状態を詳細に観察した。雌の体重を妊娠 0 日、6 日、9 日、12 日、15 日、18 日および 20 日に測定し、妊娠 20 日の体重から妊娠子宮重量を減じて補正体重を求めた。また、各測定日の体重値より妊娠 6 日の体重値を減じて体重増加量を求めた。飼料の給与量または残量を妊娠 0 日、6 日、9 日、12 日、15 日、18 日および 20 日に測定し、各個体の 1 日当りの摂餌量 (g/動物/日) を求めた。妊娠 20 日に雌を安楽死させ、剖検して所見を記録した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

剖検時に卵巣および子宮を詳細に観察して、妊娠子宮重量、黄体数および着床数を記録した。

胎児；生存胎児および死亡胚・胎児の数を数え、これらの子宮内の位置を記録した。

生存胎児の体重および胎盤重量を測定し、群ごとに性比を求めた。

胎児を安楽死させた後、外表および体孔を異常・変異について検査した。

各腹より約半数の胎児を選抜して、内臓を奇形学的に検査した。胸部と腹部の軟組織については、StuckhardtとPoppeの未固定内臓検査法に従って検査を実施した。頭部については、ブアン液で固定した後、Wilson法に準じて粗大切片を作製して、眼球、脳および舌を観察した。

各腹の残りの約半数の胎児は、70%アルコールで固定後にアリザリン・レッド S とアルシアン・ブルーで染色し、骨格の異常および変異について検査した。

試験結果：概要を次頁以降の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

母動物；

投与量 (mg/kg/day)		対照 (0)	5	20	80
交配成立雌動物数		24	24	24	24
1群当り妊娠雌動物数		23	21	24	22
死亡雌動物数		0	0	0	0
一般状態	脱毛 (例数/検査数)	2/23	3/21	5/24	12/22 ↑
体重		—	有意差なし	有意差なし	有意な低値 (妊娠 9-20 日 ↓)
補正体重(g) ^a		258	258	255	233 ↓
体重増加量		—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 6-9 日 ↓, 6-12, 6-15, 6-18, 6-20 日 ↓)	有意な低値 (妊娠 6-9*, 6-12, 6-15, 6-18, 6-20 日 ↓) * 雌の半数以上で体重減少
摂餌量		—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 6-9 日 ↓, 9-12 日 ↓)	有意な低値 (妊娠 6-9, 9-12, 12-15, 15-18, 18-20 日 ↓)
剖検所見	脱毛 (例数/検査数)	2/23	3/21	5/24	12/22 ↑
	甲状腺腫大 (例数/検査数)	2/23	0/21	0/24	1/22
	腎盂拡張 (例数/検査数)	0/23	1/21	1/24	0/22
着床所見	生存妊娠雌動物数	23	21	24	22
	全胚吸収の腹数	0	0	0	0
	生存胎児を有する腹数	23	21	24	22
	黄体数 ^a	13.9	13.4	13.7	14.2
	着床数 ^a	12.5	11.4	12.1	12.9
	着床前胚死亡率 ^a (%)	10.6	14.2	12.0	8.5
	生存胎児数 ^a	12.0	10.4	10.7	12.0
	胚・胎児死亡率 ^a (%)	3.7	9.4 ↑	13.6 ↑	6.9
	胎児性比 ^a	0.453	0.477	0.473	0.470
	胎児体重 ^a (mg)	雄 雌	3535 3362	3656 3450	3527 3342
妊娠子宮重量 ^a (g)		65	58	58	59
胎盤重量 ^a (mg)		435	465	447	409

^a 平均値、補正体重＝妊娠 20 日の体重－妊娠子宮重量、性比＝総雄生存胎児数/総生存胎児数、
着床前胚死亡率 (%) = [(黄体数－着床数)/黄体数] × 100、および
胚・胎児死亡率 (%) = [死亡胚・胎児数 (着床痕、胎盤遺残および浸軟胎児の合計) / 着床数] × 100

Dunnnett 検定法または Dunnnett 型検定法：体重、補正体重、体重増加量、摂餌量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児体重、胎盤重量

Dunnnett 型検定法：着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法：母動物の臨床所見と剖検所見の出現頻度および生存胎児の性比

↑↓: P≤0.05、↑↓: P≤0.01 で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

胎児；

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	5	20	80
外表検査：				
検査胎児（腹）数	276 (23)	218 (21)	256 (24)	264 (22)
外表奇形のある胎児（腹）数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓検査：				
検査胎児（腹）数	133 (23)	104 (21)	121 (24)	127 (22)
内臓奇形のある胎児（腹）数	0 (0)	2 (2)	2 (2)	0 (0)
精巣小型化	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
内臓逆位	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
右大動脈弓	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
心室中隔欠損	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
肺葉分葉異常	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
精巣位置異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
内臓変異のある胎児（腹）数	19 (12)	22 (12)	22 (14)	34↑ (17)
左側臍動脈	19 (12)	21 (12)	22 (14)	31 (17) 24.4% ^a
腎盂拡張	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胸腺頸部残留	0 (0)	1 (1)	0 (0)	2 (1)
骨格検査：				
検査胎児（腹）数	143 (23)	114 (21)	135 (24)	137 (22)
骨格奇形のある胎児（腹）数	8 (8)	7 (7)	6 (6)	10 (8)
肋軟骨の分岐	7 (7)	5 (5)	6 (6)	8 (6)
肋軟骨の屈曲	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
肋骨の形態異常	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
骨格変異のある胎児（腹）数	94 (23)	88 (21)	93 (24)	119↑ (22)
頸肋	3 (3)	2 (2)	3 (3)	0 (0)
過剰肋骨	54 (19) 37.8% ^a	65↑ (20) 57.0% ^a	58 (20) 43.0% ^a	99↑ (20) 72.3% ^a
肋軟骨の不連続	64 (20)	59 (20)	63 (24)	78 (22)
胸骨分節配列異常	5 (5)	4 (4)	1 (1)	2 (2)
腰仙移行椎	5 (4)	2 (2)	1 (1)	10 (8)
仙椎前椎骨数 27	5 (3)	7 (3)	4 (3)	18↑ (9)
波状肋骨	1 (1)	0 (0)	3 (1)	5 (3)
胸骨分節二分骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
胸椎体ダンベル状骨化	1 (1)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
胸椎体二分骨化	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
胸椎体不完全骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腰椎体二分骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
尾椎体不完全骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法：奇形または変異のみられた胎児を持つ母動物の頻度、奇形または変異を認めた胎児（腹）の出現頻度

↑↓: $P \leq 0.05$ 、↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり

^a 変異のみられた胎児の出現率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

母動物に対する検体投与の影響：

5 mg/kg投与群では、影響は何も認められなかった。

20 mg/kg投与群では、投与期間を通じて体重増加抑制がみられ、投与開始から6日間にわたって摂餌量が有意に低下した。

80 mg/kg投与群では、投与開始直後に体重の減少が観察されたほか、投与期間を通じて体重増加抑制や摂餌量の低値が認められた。また、脱毛の出現頻度が対照群と比較して有意に高かった。

卵巣および子宮の観察では、妊娠子宮重量、黄体数、着床数および着床前胚死亡率には、いずれの投与群においても検体の投与による影響は認められなかった。その他、5および20 mg/kg投与群における胚・胎児死亡率に有意な高値が観察されたが、用量との関連がないことから、偶発的な変動と考えられた。

胎児に対する検体投与の影響：

5および20 mg/kg投与群では、影響は認められなかった。

80 mg/kg投与群では、雌雄の胎児体重が対照群より有意に低く、検体投与の影響であると考えられた。また、この投与群では、生存胎児の骨格検査において変異に分類される過剰肋骨と仙椎前椎骨数27の出現頻度が対照群と比較して有意に高く、検体の投与による椎骨数の増加が示唆された。しかし、外表、内臓および骨格検査の結果、いずれの投与群においても検体の投与に起因する奇形は認められなかった。

その他、いくつかの指標において、偶発的であると考えられる値の変動が対照群と各投与群との間で統計学的有意差として散見された。80 mg/kg投与群では、何らかの内臓変異を認めた胎児の頻度に有意な高値が観察されたが、このうちの大多数を占める左側臍動脈の頻度(24.4%)は当該試験施設における背景値の範囲内(5.6%~26.6%)にあったことから、検体の投与との関連性は低いと考えられた。5 mg/kg投与群では、過剰肋骨の出現頻度にやや高い値(57.0%)が観察されたが、20 mg/kg投与群における過剰肋骨の出現頻度(43.0%)は対照群の頻度(37.8%)とほぼ同じであり、いずれの投与群も仙椎前椎骨数27の出現頻度に増加傾向は認められなかったことから、5 mg/kg投与群にみられた過剰肋骨の出現頻度の高値は偶発的な変動によるものと判断した。

次頁に残留農薬研究所における左側臍動脈の背景出現頻度を表に示す。残留農薬研究所における左側臍動脈の背景出現頻度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-16)

(3) AF-02 原体のウサギを用いる催奇形性試験

検体純度

供試動物：SPF 日本白色種ウサギ (Kbl:JW)、

人工授精開始時 雌 18 週齢、雄 14-38 ヶ月齢、1 群当り人工授精雌 25 匹

投与期間：妊娠 6 日から妊娠 27 日までの 22 日間 (2007 年 10 月 7 日～11 月 1 日)

投与方法：検体を 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC) 水溶液に懸濁し、0 (対照群)、5、25 および 150 mg/kg/day の投与用量で、妊娠 6 日から 27 日までの 22 日間毎日 1 回、5 mL/kg の容量で強制経口投与した (人工授精日を妊娠 0 日とした)。なお、対照群の動物には 1%CMC 水溶液を同様に投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

母動物；一般状態および死亡について試験期間中 (妊娠 0～28 日)、毎日 1 回 (投与期間中は投与前と投与後の 2 回) 観察して記録した。また体重測定時に詳細な観察を行った。

雌の体重は妊娠 0 日、6 日、9 日、12 日、15 日、18 日、21 日、24 日、27 日および 28 日に測定して記録した。また、妊娠 28 日の体重から妊娠子宮重量を減じた重量を補正体重とした。さらに妊娠 9 日、12 日、15 日、18 日、21 日、24 日、27 日および 28 日の体重値から妊娠 6 日の体重値を減じて、体重増加量を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

飼料の給与量または残量を妊娠0日、3日、6日、9日、12日、15日、18日、21日、24日、27日および28日に測定し、各個体の1日当りの摂餌量 (g/動物/日) を算出した。

雌を妊娠28日に安楽死させて剖検し、所見を記録した。

卵巣と子宮については、妊娠子宮重量と黄体数および着床数を記録して着床前胚死亡率を求めた。

胎児；生存胎児と死亡胚・胎児の数ならびに子宮内の位置を記録し、死亡胚・胎児は、発生上の死亡時期の早い順に着床痕、胎盤遺残および浸軟胎児 (死亡胎児を含む) に分類して記録した。

生存胎児の性比、体重と胎盤重量を求め、安楽死させた後、胎児の外表および体孔を検査した。

胎児の胸部と腹部の軟組織をStuckhardtとPoppeの未固定内臓検査法に従って検査した。

各腹で約半数の胎児は眼球を検査後、頭部に割を入れ、脳を観察した。残りの約半数の胎児の頭部は切断後、ブアン液で固定し、Wilson法に準じて頭部の粗大切片を作製し、眼球、脳、鼻腔および舌を観察した。

胎児の骨格部分は、70%イソプロピルアルコールで固定した後アリザリン・レッドSで染色し、70%グリセリン水溶液に浸漬して透明骨格標本作製し、骨格の異常・変異について検査した。

試験結果：概要を次頁以降の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

母動物；

投与量 (mg/kg/day)		対照 (0)	5	25	150	
人工授精雌動物数		25	24 ^a	25	25	
死亡雌動物数		0	0	0	0	
流産雌動物数		0	0	0	1	
帝王切開時に生存した妊娠雌動物数		25	24	25	24	
肉眼的に受胎産物が認められなかった雌動物数 ^a		1	2	1	2	
生存胎児が得られた雌動物数		24	22	24	22	
一般 状態	軟便 (例数/投与期間中の検査数)	1/24	1/22	0/24	0/23	
	トレー上の赤色排泄物 (例数/投与期間中の検査数)	0/24	0/22	1/24	0/23	
	流産 (例数/投与期間中の検査数)	0/24	0/22	0/24	1/23 (妊娠 23 日)	
体重		—	有意差なし	有意差なし 低値(妊娠 9-24 日)	有意差なし 低値(妊娠 9-28 日)	
補正体重(g) ^c		3491	3476	3470	3383	
体重増加量		—	有意差なし	有意な低値 (妊娠 6-9 日↓; 6-12 日↓)	有意な低値 (妊娠 6-9 日↓; 6-12, 6-15, 6-18, 6-21, 6-24 日↓; 6-27 日↓)	
摂餌量		—	有意差なし	有意差なし	有意な低値 (妊娠 12-15, 15-18, 18-21 日↓)	
剖 検 所 見	肺の褐色斑 (例数/検査数)	0/24	1/22	0/24	0/23	
	肝臓の小葉線明瞭(例数/検査数)	0/24	1/22	0/24	0/23	
	片側の子宮角内に茶褐色物の沈着 (例数/検査数)	0/24	0/22	1/24	0/23	
着 床 所 見	検査雌動物数	24	22	24	22	
	黄体数 ^c	10.2	10.6	9.8	10.5	
	着床数 ^c	7.8	9.1	8.4	9.0	
	着床前胚死亡率 ^c (%)	23.4	15.1	15.5	14.5	
	生存胎児数 ^c	7.1	8.5	7.5	8.3	
	胚・胎児死亡率 ^c (%)	9.2	6.2	9.9	7.8	
	胎児性比 ^c	0.482	0.505	0.517	0.505	
	胎児体重 ^c (g)	雄 雌	38.9 37.6	35.7 35.4	38.0 37.2	34.6↓ 34.1
	妊娠子宮重量 ^c (g)		397	440	428	417
胎盤重量 ^c (mg)		5484	4912	5415	5013	

^a 5 mg/kg/day 群の 1 例 (動物番号: 48) は、投与時の挿管法の誤り (カテーテルの気管への誤挿入) によって投与期間中 (妊娠 15 日) に死亡した。この動物は試験の評価から除外するのが妥当と判断されたので、得られたすべてのデータを評価の対象から除いた。従って、同投与群の動物数は 24 匹となった。

^b 子宮を 10% 硫化アンモニウム水溶液で染色することによって着床痕の存在が確認されたが、子宮内に受胎産物が肉眼的に認められなかったため、これらの雌に関するすべてのデータを統計学的評価から除外した。

^c 平均値、補正体重 = 妊娠 28 日の体重 - 妊娠子宮重量、性比 = 総雄生存胎児数 / 総生存胎児数、

着床前胚死亡率 (%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100、および

胚・胎児死亡率 (%) = [死亡胚・胎児数 (着床痕、胎盤遺残および浸軟胎児の合計) / 着床数] × 100。

Dunnett の多重比較検定法または Dunnett 型のノンパラメトリック多重比較検定法: 体重、補正体重、体重増加量、

摂餌量、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、胎児体重、胎盤重量

Dunnett 型のノンパラメトリック多重比較検定法: 着床前胚死亡率、胚・胎児死亡率

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法: 母動物の臨床所見と剖検所見の出現頻度、および生存胎児の性比

↑↓: $p \leq 0.05$ 、↑↓: $p \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

胎児；

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	5	25	150
外表検査：				
検査胎児（腹）数	170 (24)	186 (22)	180 (24)	182 (22)
外表奇形のある胎児（腹）数	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
口唇裂	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
爪欠損（左前肢，第一指）	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓検査：				
頭部（固定標本）；				
検査胎児（腹）数	93 (24)	95 (22)	97 (24)	98 (22)
内臓奇形のある胎児（腹）数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓変異のある胎児（腹）数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
頭部（未固定新鮮標本）；				
検査胎児（腹）数	77 (23)	91 (22)	83 (24)	84 (22)
内臓奇形のある胎児（腹）数	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
水頭症	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
内臓変異のある胎児（腹）数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
体幹部；				
検査胎児（腹）数	170 (24)	186 (22)	180 (24)	182 (22)
内臓奇形のある胎児（腹）数	4 (3)	4 (4)	4 (4)	1 (1)
肺葉（副葉）低形成	0(0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
肺葉癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
大動脈弓離断	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
大動脈弓狭窄	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
左総頸動脈狭窄	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
心室中隔欠損	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
胆嚢小型	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
脾臓小型	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
精巣位置異常	2 (2)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
内臓変異のある胎児（腹）数	27 (10)	23 (14)	30 (12)	15↓ (8)
胸腺頸部残留	3 (3)	5 (5)	2 (2)	1 (1)
左総頸動脈起始異常	24 (9)	18 (11)	28 (11)	14 (7)

χ^2 検定法またはFisherの直接確率計算法：奇形または変異を認めた胎児（腹）の出現頻度
 ↓: $P \leq 0.05$, ↑↓: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

胎児；(続き)

投与量 (mg/kg/day)	対照 (0)	5	25	150
骨格検査：				
頭部；				
検査胎児（腹）数	77 (23)	91 (22)	83 (24)	84 (22)
骨格奇形のある胎児（腹）数	2 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頭頂骨と頭頂間骨の癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
前頭骨癒合	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頭頂骨癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
切歯骨小型	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格変異のある胎児（腹）数	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
体幹部；				
検査胎児（腹）数	170 (24)	186 (22)	180 (24)	182 (22)
骨格奇形のある胎児（腹）数	6 (5)	5 (5)	6 (6)	4 (4)
舌骨不完全骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頸椎弓癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頸椎弓位置異常	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
頸椎体癒合	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頸椎体半椎体	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
頸椎体と胸椎体の癒合	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
胸椎弓位置異常	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
胸椎弓小型	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
胸椎体半椎体	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胸椎半椎	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
腰椎半椎	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
肋骨短小	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
肋骨分岐	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
胸骨分節癒合	4 (4)	1 (1)	3 (3)	3 (3)
指節骨欠損（左前肢，第一指）	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
指節骨小型（右前肢，第一指）	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
骨格変異のある胎児（腹）数	33 (16)	41 (18)	50 (17)	30 (15)
頸椎体二分骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
頸椎体ダンベル状骨化	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
胸椎体二分骨化	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腰仙移行椎	0 (0)	0 (0)	3 (2)	0 (0)
仙椎前椎骨数 25	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
仙椎前椎骨数 27	6 (5)	9 (8)	10 (7)	4 (4)
頸肋	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
ノブ状肋骨	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
過剰肋骨	31 (16)	38 (17)	39 (16)	28 (14)
胸骨分節二分骨化	0 (0)	1 (1)	1 (1)	1 (1)

χ^2 検定法または Fisher の直接確率計算法：奇形または変異を認めた胎児（腹）の出現頻度
 $\uparrow\downarrow$: $P \leq 0.05$ 、 $\uparrow\downarrow$: $P \leq 0.01$ で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

母動物に対する検体投与の影響：

5 mg/kg投与群では、臨床症状、体重、補正体重、体重増加量、摂餌量、帝王切開時の剖検所見、ならびに卵巣および子宮の検査結果のいずれの指標においても影響は認められなかった。

25 mg/kg 投与群では、投与期間初期（妊娠 6-9 日と妊娠 6-12 日）の体重増加量に有意な低値がみられた。

150 mg/kg 投与群では、妊娠 6 日の投与開始以降、体重増加量が有意に低く、摂餌量も妊娠 12 日から妊娠 21 日にかけて有意に低下した。また、検体投与の影響によると考えられる体重減少および摂餌の停止を呈した母動物 1 匹が妊娠 23 日に流産した。

胎児に対する検体投与の影響：

5 および 25 mg/kg 投与群では、生存胎児数、胚・胎児死亡率、生存胎児の性比、胎児体重および胎盤重量に検体投与と関連すると思われる変化や異常はみられなかった。

150 mg/kg 投与群では、雌雄の胎児体重が対照群と比較して低く、雄の胎児体重では統計学的に有意な差が認められ、検体投与の影響と考えられた。

さらに、全動物において生存胎児の外表、内臓および骨格検査結果に検体投与と関連すると思われる変化や異常はみられなかった。

母動物において 150 mg/kg 投与群では、体重増加量が低値を示し、摂餌量も低下した。また、母動物 1 匹が体重減少および摂餌の停止を呈した後、妊娠 23 日に流産した。25 mg/kg 投与群では、投与期間初期の体重増加量に低値がみられた。5 mg/kg 投与群では検体投与の影響は認められなかった。

胎児において 150 mg/kg 投与群では、雌雄の胎児体重が対照群と比較して低値を示したが、この投与群における生存胎児の外表、内臓および骨格の奇形学的検査では、検体投与に関連すると思われる異常は観察されなかった。25 および 5 mg/kg 投与群では認められなかった。

以上の結果から、AF-02 原体のウサギの母動物に対する無毒性量は 5 mg/kg/day であり、胎児に対する無毒性量は 25 mg/kg/day であると考えられた。当該試験条件下で、AF-02 原体のウサギの胎児に対する催奇形性は陰性であると結論された。

1.3) 変異原性試験

(資料 毒-17)

(1) AF-02 原体の細菌を用いた復帰突然変異試験

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* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) と、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 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) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、1 回目は 0.76~5000 µg/プレート、2 回目は 4.9~5000 µg/プレートの範囲の 7 濃度で実施した。試験は 1 濃度につき 3 枚のプレートを用いて行った。

用量設定根拠；

最高用量 (µg/プレート)

試験	代謝活性化の有無	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	公比	用量段階
1 回目	無	5000	556	5000	556	556	3	7
	有	1667	556	5000	556	556	3	7
2 回目	無	5000	313	5000	313	313	2	7
	有	1250	313	5000	313	313	2	7

試験結果：結果を表 1 および 2 に示す。

2 回の試験において、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照 (表 1 および 2 に示す) は溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下における本剤の細菌に対する突然変異誘発性は、陰性であると結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表1 1回目試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート (平均 \pm SD)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	121 \pm 12	6 \pm 0	23 \pm 5	16 \pm 1	11 \pm 6
検体	0.76	-	/	6 \pm 1	/	18 \pm 7	8 \pm 2
	2.3	-	/	7 \pm 3	/	15 \pm 6	9 \pm 4
	6.9	-	111 \pm 12	6 \pm 2	22 \pm 4	12 \pm 5	10 \pm 5
	20.6	-	118 \pm 8	5 \pm 1	22 \pm 5	13 \pm 6	9 \pm 4
	61.7	-	115 \pm 5	7 \pm 1	25 \pm 2	12 \pm 2	7 \pm 3
	185	-	102 \pm 20	7 \pm 2*	29 \pm 6	12 \pm 3*	6 \pm 2*
	556	-	99 \pm 15	4 \pm 4*	20 \pm 2	12 \pm 3*	5 \pm 3*
	1667	-	88 \pm 20*	/	25 \pm 6	/	/
	5000 [†]	-	84 \pm 9*	/	24 \pm 7	/	/
陽性 対照	AF-2	0.01	-	525 \pm 24	/	246 \pm 7	/
		0.1	-	/	/	297 \pm 38	/
	NaN ₃	0.5	-	/	456 \pm 13	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	410 \pm 64
溶媒対照 (DMSO)	-	+	125 \pm 12	10 \pm 3	29 \pm 4	17 \pm 3	14 \pm 1
検体	0.76	+	/	6 \pm 3	/	21 \pm 2	12 \pm 2
	2.3	+	113 \pm 3	8 \pm 2	/	22 \pm 5	17 \pm 2
	6.9	+	113 \pm 13	5 \pm 2	31 \pm 3	17 \pm 3	13 \pm 1
	20.6	+	120 \pm 6	7 \pm 3	26 \pm 3	24 \pm 4	13 \pm 1
	61.7	+	108 \pm 6	10 \pm 2	26 \pm 7	25 \pm 6	11 \pm 6
	185	+	115 \pm 6	3 \pm 2*	26 \pm 4	20 \pm 3*	12 \pm 5*
	556	+	112 \pm 13*	4 \pm 1*	31 \pm 6	22 \pm 4*	6 \pm 3*
	1667	+	85 \pm 8*	/	27 \pm 5	/	/
	5000 [†]	+	/	/	20 \pm 6	/	/
陽性 対照	2-AA	0.5	+	/	/	183 \pm 1	/
		1	+	551 \pm 28	/	/	/
		2	+	/	78 \pm 5	/	97 \pm 14
		10	+	/	/	141 \pm 23	/

[†]: 検体の析出がみられた。

*: 試験株に対し毒性が認められた。

DMSO: ジメチルスルホキシド

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

NaN₃: アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表2 2回目試験

(表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (平均 \pm SD)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	126 \pm 16	7 \pm 1	18 \pm 6	10 \pm 4	8 \pm 1
検体	4.9	-	/	5 \pm 1	/	11 \pm 6	8 \pm 3
	9.8	-	/	9 \pm 5	/	14 \pm 3	7 \pm 1
	19.5	-	/	7 \pm 3	/	11 \pm 1	4 \pm 1
	39.1	-	/	6 \pm 3	/	12 \pm 2	7 \pm 4
	78.1	-	/	119 \pm 15	7 \pm 5	24 \pm 8	15 \pm 2
	156	-	/	115 \pm 11	7 \pm 4*	25 \pm 5	12 \pm 1*
	313	-	/	93 \pm 5	8 \pm 2*	25 \pm 5	9 \pm 7*
	625	-	/	109 \pm 20	/	18 \pm 1	/
	1250	-	/	90 \pm 16	/	19 \pm 3	/
	2500 [†]	-	/	89 \pm 4*	/	19 \pm 4	/
5000 [†]	-	/	102 \pm 6*	/	22 \pm 5	/	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	505 \pm 23	/	258 \pm 12	/
		0.1	-	/	/	364 \pm 44	/
	NaN ₃	0.5	-	/	445 \pm 19	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	370 \pm 56
溶媒対照 (DMSO)	-	-	111 \pm 4	6 \pm 1	24 \pm 6	19 \pm 5	10 \pm 1
検体	4.9	+	/	10 \pm 2	/	22 \pm 6	8 \pm 4
	9.8	+	/	6 \pm 1	/	25 \pm 8	10 \pm 3
	19.5	+	/	126 \pm 8	9 \pm 3	/	17 \pm 3
	39.1	+	/	118 \pm 8	7 \pm 3	/	21 \pm 7
	78.1	+	/	114 \pm 12	9 \pm 4	25 \pm 7	20 \pm 4
	156	+	/	124 \pm 15	6 \pm 4*	26 \pm 3	26 \pm 1
	313	+	/	114 \pm 15	9 \pm 4*	26 \pm 8	17 \pm 4*
	625	+	/	98 \pm 23*	/	20 \pm 7	/
	1250	+	/	89 \pm 15*	/	26 \pm 6	/
	2500 [†]	+	/	/	/	16 \pm 4	/
5000 [†]	+	/	/	/	16 \pm 2	/	
陽性 対照	2-AA	0.5	+	/	/	/	241 \pm 19
		1	+	614 \pm 17	/	/	/
		2	+	/	76 \pm 2	/	/
		10	+	/	/	133 \pm 25	/

[†]: 検体の析出がみられた。

*: 試験株に対し毒性が認められた。

DMSO: ジメチルスルホキシド

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

NaN₃: アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA: 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-18)

(2) AF-02 原体のチャイニーズハムスター培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来細胞株 CHL/TU 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における染色体異常誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して用いた。各用量当たり 200 個の分裂中期像について観察した。次の 2 種類の試験 (短時間処理法及び連続処理法) を実施した。

短時間処理法	処理 6 時間、回復 18 時間 (S9 mix 存在下及び非存在下)
連続処理法	24 及び 48 時間連続処理 (S9 mix 非存在下)

溶媒対照は 1% (v/v) ジメチルスルホキシド (DMSO) とし、陽性対照は S9 mix 非存在下ではマイトマイシン C (MMC)、S9 mix 存在下ではベンツ[a]ピレン (B[a]P) を用いた。

用量設定根拠：

以上の結果に基づき、次表に示す試験濃度を設定した。

試験の種類	代謝活性化の有無	用量 (µg/mL)	公比	用量段階	
短時間処理法	無	59.0, 73.7, 92.1, 115, 144	1.25	5	
	有	73.7, 92.1, 115, 144, 180	1.25	5	
連続処理法	24 時間	無	11.3, 22.5, 45, 90	2	4
	48 時間	無	5.6, 11.3, 22.5, 45	2	4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

試験結果：

短時間処理法；結果を表1に示した。

代謝活性化系非存在下の最高用量 144 µg/mL 群及び代謝活性化系存在下の最高用量 180 µg/mL 群で、溶媒対照群に比べて染色体異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加が認められたが、当該濃度において細胞増殖率は 30%以下であり、強い毒性が認められたこと、及び染色体異常を有する細胞の出現頻度は 10%以下であったことなどから、これらの染色体異常誘発は検体の細胞毒性に起因する二次的な作用を反映したものと考えられた。倍数体の出現頻度には有意な増加は認められなかった。

一方、MMC または B[a]P を処理した陽性対照群では、染色体異常を有する細胞が有意に高い頻度で認められた。

連続処理法；結果を表2に示した。

24 及び 48 時間の連続処理において、構造的染色体異常を有する細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。また、倍数体の出現頻度にも有意な増加は認められなかった。

一方、MMC を処理した陽性対照群では、染色体異常を有する細胞が有意に高い頻度で認められた。

以上の結果から、チャイニーズハムスター肺由来の CHL/IU 細胞株を用いた本実験条件下において、本検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、染色体異常誘発性はないと結論付けられた。

表 1. 短時間処理法の結果—分裂中期像解析データ

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理 時間 (hr)	回復 時間 (hr)	観察 細胞 数	S9 mix の有無	倍 数 体 細胞 数	構造的染色体異常を有する細胞数								平均 相対 細胞 増殖 率 (%)		
							キ ャ プ	染色 分 体 型		染色 体 型		断 片 化	そ の 他	合計			
								切 断	交 換	切 断	交 換			キ ャ プ を 含 む (%)		キ ャ プ を 除 く (%)	
溶媒 対照 (DMSO)	-	6	18	100x2	-	0	1	2	0	0	0	0	0	0	3 (1.5)	2 (1.0)	100
検体	59.0	6	18	100x2	-	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	76
	73.7	6	18	100x2	-	1	2	0	0	0	0	0	0	0	2 (1.0)	0 (0)	67
	92.1	6	18	100x2	-	3	0	1	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	65
	115	6	18	100x2	-	2	3	1	0	0	0	0	0	0	4 (2.0)	1 (0.5)	65
	144	6	18	100x2	-	2	3	5	12	2	0	0	0	0	18 (9.0)	17 ^{***} (8.5)	27
陽性 対照 (MMC)	0.1	6	18	100x2	-	2	3	29	52	0	0	0	0	0	70 (35.0)	69 ^{***} (34.5)	94
溶媒 対照 (DMSO)	-	6	18	100x2	+	0	5	1	0	0	1	0	0	0	7 (3.5)	2 (1.0)	100
検体	73.7	6	18	100x2	+	0	2	0	0	1	0	0	0	0	3 (1.5)	1 (0.5)	90
	92.1	6	18	100x2	+	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	98
	115	6	18	100x2	+	1	0	2	1	0	0	0	0	0	3 (1.5)	3 (1.5)	94
	144	6	18	100x2	+	0	2	0	1	0	0	0	0	0	3 (1.5)	1 (0.5)	83
	180	6	18	100x2	+	0	5	3	12	1	0	0	0	0	17 (8.5)	15 ^{**} (7.5)	26
陽性 対照 B[a]P	40	6	18	100x2	+	1	5	9	42	0	1	0	1	53 (26.5)	49 ^{***} (24.5)	77	

カイ二乗検定：*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$

DMSO：ジメチルスルホキシド

MMC：マイトマイシン C

B[a]P：ベンツ[a]ピレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 2. 連続処理法の結果—分裂中期像解析データ

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理 時間 (hr)	回復 時間 (hr)	観察 細胞 数	S9 mix の有無	倍 数 体 細 胞 数	構造的染色体異常を有する細胞数								平均 相 対 細 胞 増 殖 率 (%)	
							ギ ャ ッ プ	染 色 分 体 型		染 色 体 型		断 片 化	そ の 他	合 計		
								切 断	交 換	切 断	交 換			ギ ャ ッ プ を 含 む (%)		ギ ャ ッ プ を 除 く (%)
溶媒 対照 (DMSO)	-	24	0	100x2	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
検 体	11.3	24	0	100x2	-	0	0	1	1	0	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	88
	22.5	24	0	100x2	-	0	2	1	0	0	1	0	0	4 (2.0)	2 (1.0)	64
	45	24	0	100x2	-	1	1	1	0	0	0	0	0	2 (1.0)	1 (0.5)	52
	90	24	0	100x2	-	2	1	1	0	0	0	0	0	2 (1.0)	1 (0.5)	42
陽性 対照 (MMC)	0.1	24	0	100x2	-	0	7	39	108	3	1	0	0	129 (64.5)	129*** (64.5)	90
溶媒 対照 (DMSO)	-	48	0	100x2	-	0	4	1	1	0	1	0	0	5 (2.5)	2 (1.0)	100
検 体	5.6	48	0	100x2	-	0	0	1	0	0	0	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	85
	11.3	48	0	100x2	-	2	1	0	0	0	0	0	0	1 (0.5)	0 (0)	66
	22.5	48	0	100x2	-	1	0	0	0	0	1	0	0	1 (0.5)	1 (0.5)	52
	45	48	0	100x2	-	0	0	0	1	1	0	0	0	2 (1.0)	2 (1.0)	24
陽性 対照 (MMC)	0.05	48	0	100x2	-	3	13	57	98	9	8	0	2	139 (69.5)	135*** (67.5)	90

カイ二乗検定：*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$

DMSO : ジメチルスルホキシド

MMC : マイトマイシン C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-19)

(3) AF-02 原体のマウスを用いた小核試験

検体純度：-

供試動物：ICR系SPFマウス(Crlj:CD1) 一群雄5匹

投与時週齢；7週齢、投与時体重；26.9~36.3g(平均31.9g)

試験方法：0.5%メチルセルロース(MC)に懸濁させた検体を0(陰性対照群)、125、250及び500mg/kgの用量で1回強制経口投与し、投与24時間後に骨髓標本を作製した。また、0及び500mg/kg投与群では48時間後の骨髓標本も作製した。なお陽性対照群として、マイトマイシンC(MMC)10mg/kgを1回強制経口投与し、24時間後に骨髓標本を作製した。

標本の作製及び観察；両側大腿骨より骨髓を採取し、塗抹標本を作製した。メタノールで固定後ギムザ液で染色し、動物あたり多染性赤血球を2000個観察して小核出現頻度を求め、多染性赤血球と正染性赤血球を合計1000個観察して多染性赤血球の割合を求めた。

用量設定根拠；雌雄のマウスに対し250、500、1000及び2000mg/kgの4用量(雌雄各群3匹)で実施した毒性試験の結果、雄の1000及び2000mg/kgで1例ずつ、雌の2000mg/kgで2例の死亡が確認された。毒性の程度に大きな性差はなく、雄動物に対する最大耐量が500mg/kgであったことから、小核試験は最高用量を500mg/kgに設定し、片性(雄)を用いて実施した。

試験結果：

死亡率及び一般状態：

すべての投与群において、試験期間中に死亡例は認められなかった。一般状態の観察において、125mg/kg群に異常は認められなかったが、250mg/kg群に自発運動低下が、500mg/kg群に自発運動低下及び立毛が認められた。

小核試験；結果を表1に示す。

投与24時間後；いずれの用量群においても小核出現頻度に陰性対照群と比べて有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群(MMC)の小核出現頻度に統計学的に有意な増加が認められた。

投与48時間後；小核出現頻度に陰性対照群と比べて有意な増加は認められなかった。なお、多染性赤血球の割合に陰性対照群と比べて有意な減少、すなわち骨髓抑制が認められたことから、十分に高い用量で実施されたと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表1 小核試験の結果

採取時間	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物	MNPCE/PCE(%)		PCE/(PCE+NCE)(%)	
				平均値±SD	S ^{KC}	平均値±SD	S ^W
24	陰性対照 (MC)	0	5	0.20±0.15	-	59.0±5.9	-
	検体	125	5	0.17±0.12	N.S.	50.2±3.7	N.S.
		250	5	0.27±0.07	N.S.	54.0±4.4	N.S.
		500	5	0.23±0.14	N.S.	58.7±4.2	N.S.
	陽性対照 (MMC)	10	5	6.10±2.46	***	40.5±12.8	N.S.
48	陰性対照 (MC)	0	5	0.15±0.04	-	54.1±6.2	-
	検体	500	5	0.22±0.12	N.S.	42.0±7.9	*

MNPCE:小核を有する多染性赤血球数

PCE:多染性赤血球数

NCE:正染性赤血球数

SD: 標準偏差

S^{KC}: Kastenbaum-Bowman の数表を用いた統計解析またはカイ二乗検定

S^W: Wilcoxon の順位和検定

N.S.:陰性対照群に対し有意差なし (p>0.05)

陰性対照群に対する有意差: *, p≤0.05、***, p≤0.001

MC:メチルセルロース、MMC:マイトマイシンC

以上の結果より、ICR系 (Crj:CD1) マウスの骨髄細胞を用いた本実験条件下において、検体の小核誘発性は陰性と結論した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

1 4) 生体機能影響

(資料-毒-20)

(1) AF-02 原体の生体機能への影響に関する試験

検体純度：

1 一般状態に対する作用

1) マウス及びラットの一般症状に及ぼす影響

供試動物：ICR系マウス、投与時8週齢、投与時体重；雄，30.5～34.0 g；雌，23.9～28.9 g、1群雄雌3匹、

Wistar系ラット、投与時8週齢、投与時体重；242.0～265.8 g、1群雄5匹

投与及び検査方法：マウス；検体を0.5w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、200、600及び2000 mg/kgの投与量で経口投与し、投与1、2、4、6及び24時間後にIrwinの多次元観察法(Irwin, S., 1968)に従って一般症状を観察した。24時間後の一般状態観察で症状がみられたため、症状が消失した2日後まで1日1回一般状態観察を行った。

ラット；検体を0.5w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、80、240及び800 mg/kgの投与量で経口投与し、機能観察総合評価法(FOB, Mattson, J.L. et al., 1996)に準じた方法で行動変化、神経症状及び中毒症状を評価し、併せて、体温及び瞳孔径も測定した。投与1、2、4、6及び24時間後に一般症状を観察した。24時間後の一般状態観察で症状がみられたため、症状が消失した2日後まで1日1回一般状態観察を行った。

結 果：マウス；雌雄ともに200 mg/kg群では影響を及ぼさなかった。600 mg/kg群では体重の増加抑制傾向が認められた。2000 mg/kg群では、雌雄それぞれ3例中2例が死亡し、警戒性の鈍化、腹臥位、針金の後肢把握の低下、低体温、視覚位置の反応の低下、受動性の低下、疼痛反応の鈍化、歩行失調、歩行不能、正向反射の着地不全、肢筋緊張度の低下などが認められた。加えて雄では間代性痙攣、身もだえ、呼吸促拍などの興奮を示す例がいた。なお、生存例の雄では投与6時間後、雌では投与2日後迄に症状が回復した。

ラット；80 mg/kg群では影響を及ぼさなかった。240及び800 mg/kg群では、体重の減少又は増加抑制が認められ、800 mg/kg群では5例中4例が死亡した。症状は、腹臥位又は横臥位、体温低下、呼吸不全、ケージからの取り出し易さ及び扱い易さが容易、歩行失調、移動性の減少、接近反応の鈍化、正向反射の着地不全、腹筋及び肢筋緊張度の低下、前肢及び後肢の握力低下、覚醒状態の低下、接触反応の鈍化、着地時後肢開脚測定値の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

低下などが認められ、生存例では投与後2日迄に回復した。

2. 中枢神経系に対する作用

1) ラット自発運動に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、投与時8週齢、投与時体重；210.4～233.7g、1群雄5匹
投与及び検査方法：検体を0.5w/v%メチルセルローズ水溶液に懸濁し、0、8、24、80、240及び800mg/kgの投与量で経口投与し、投与1、2、4、6及び24時間後に各々3分間のケージ内の自発運動量を受動型赤外線センサー方式の測定システムで測定した。

結果：8及び24mg/kg群では影響を及ぼさなかった。80及び240mg/kg群では抑制作用が認められ、投与2時間後迄に回復した。5例中2例が死亡した800mg/kg群でも抑制作用が認められ、生存例では投与24時間後迄に回復した。

自発運動量の有意差検定結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	投与後時間					
	投与前	1	2	4	6	24
80		↓71				
240		↓65				
800		↓71			↓58	

表中の数値は対照群に対する割合(%)

Dunnettの多重比較検定：↑↓、 $p < 0.05$ ↑↓、 $p < 0.01$

2) マウスの電撃痙攣に対する作用

供試動物：ICR系マウス、投与時8週齢、投与時体重；30.9～35.2g、1群雄8匹

投与及び検査方法：検体を0.5w/v%メチルセルローズ水溶液に懸濁し、0、200、600及び2000mg/kgの投与量で経口投与し、投与3時間後に、マウスの両眼瞼に電気ショックを与えた。電気ショックの刺激条件は、パルス幅5msec、周波数100Hzとし、1秒間に0.5mAずつ電流を段階的に上昇させ、間代性痙攣(CI)及び強直性伸展痙攣(T.E.)が発現する時の電流値を読み取った。

結果：200mg/kg群では影響を及ぼさなかった。600mg/kg群では強直性伸展痙攣の抑制が、2000mg/kg群では間代性痙攣及び強直性伸展痙攣の抑制が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

電撃痙攣の有意差検定結果を下表に示す。

投与量(mg/kg)	間代性痙攣	強直性伸展痙攣
600		↑119
2000	↑117	↑132

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

Dunnettの多重比較検定：↑↓、 $p < 0.05$ ↑↓、 $p < 0.01$

3 循環器系に対する作用

1) 無麻酔ラットの血圧、心拍数に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、投与時8~9週齢、投与時体重；241.7~269.7 g、1群雄5匹

投与及び検査方法：検体を0.5w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、8、24、80、240及び800 mg/kgの投与量で経口投与し、投与1、2、4、6及び24時間後に血圧及び心拍数を測定した。

結果：8 mg/kg群では影響を及ぼさなかった。24 mg/kg群では、心拍数の減少が認められ、投与後4時間迄に回復した。80及び240群でも、心拍数の減少が認められ、投与後24時間迄には回復した。5例中2例が死亡した800 mg/kg群では、血圧の上昇及び心拍数の減少が認められ、生存例では投与後24時間迄に回復した。

血圧の有意差検定結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	投与後時間					
	投与前	1	2	4	6	24
800				↑127	↑139	

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

Dunnettの多重比較検定：↑↓、 $p < 0.05$ ↑↓、 $p < 0.01$

心拍数の有意差検定結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	投与後時間					
	投与前	1	2	4	6	24
24		↓84	↓86			
80		↓84	↓78		↓87	
240		↓73	↓62	↓60	↓55	
800		↓67	↓58	↓53	↓53	

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

Dunnettの多重比較検定：↑↓、 $p < 0.05$ ↑↓、 $p < 0.01$

4 腎機能に対する作用

1) ラットの尿量及び尿中電解質に対する作用

供試動物：Wistar系ラット、投与時8週齢、投与時体重；223.6～234.0 g、1群雄5匹
 投与方法：検体を0.5w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、80、240及び800 mg/kgの投与量で経口投与し、その直後に生理食塩液を2.5 mL/100 g体重の割合で経口負荷し、1匹ずつ採尿ケージに入れた。媒体又は被験液投与直後から6時間後まで及び6から24時間後までのそれぞれの尿を採取し、遠心分離（4℃、1500 rpm、10分間）して上清を採取するとともに尿量を測定した。また、尿中のNa⁺、K⁺及びCl⁻濃度及び浸透圧を測定した。得られた尿量、Na⁺、K⁺及びCl⁻濃度値から体重100 g当りの排泄量を求めた。また、Na⁺及びK⁺濃度値からNa⁺/K⁺比を求めた。0-6及び6-24時間後の尿量、Na⁺、K⁺及びCl⁻の排泄量は合計して、Na⁺/K⁺比及び浸透圧値は平均して0-24時間後の値を求めた。

結 果：0-6hrと6-24hr採尿を集計した0-24hr尿において、80 mg/kg群では影響を及ぼさなかった。240 mg/kg群では尿量の増加、各電解質排泄量及び浸透圧の減少が認められた。800 mg/kg群ではNa⁺排泄の増加、K⁺排泄の減少、Na⁺/K⁺比上昇が認められた。800 mg/kg群において投与24時間後に1例の死亡例がみられた。

尿量及び尿中電解質(24時間)の有意差検定結果を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	全尿量	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺ /K ⁺ 比	Cl ⁻	浸透圧
240	↑153	↓82	↓75		↓65	↓68
800		↑137	↓43	↑213		

表中の数値は対照群に対する割合（%）

Dunnettの多重比較検定：↑↓、p<0.05 ↑↓、p<0.01

5 血液系に対する作用

1) ラットの血液学的検査

供試動物：Wistar系ラット、投与時8週齢、投与時体重；211.2～229.7 g、1群雄5匹
 投与方法：検体を0.5w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、8、24、80、240及び800 mg/kgの投与量で経口投与し、3又は24時間（0、8、24及び80 mg/kgでの追加実験）後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で開腹し、後大静脈から採血した。採取した血液について、赤血球数、赤色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球色素量、平均赤血球色素濃度、白血球数（WBC）、血小板数及び白血球のディファレンシャルカウント（Differential WBC count）を測定した。また、プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果：投与3時間後の採血においては、24から800 mg/kg群の白血球が有意に低値を示したが、24 mg/kg群の白血球数(WBC)については、背景データの範

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

囲内であることから、検体投与の影響ではないと判断された。80、240 及び 800 mg/kg 群の白血球数の減少については検体投与との関連性が認められた。24 および 80 mg/kg/群において好中球(Neut)の増加およびリンパ球(Lym)の減少がみられ、80 および 240 mg/kg/群において、ペルオキシダーゼ非染色性大型細胞数(LUC)の減少がみられたが、いずれも背景データの範囲の変化あるいは投与用量との対応がみられない変化であることから、検体投与との影響ではないと判断された。さらに、24 時間後の検査で 80 mg/kg/群に赤血球数(RBC)、ヘモグロビン(Hb)およびヘマトクリット(Ht)の有意な増加がみられ、24 mg/kg/群において平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)が有意に減少したが、概ね背景データの範囲内の変化ならびに投与用量との対応がみられない変化であることから、検体投与の影響ではないと判断された。

血液学的検査(3 時間及び 24 時間)の有意差が認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査時期 (時間)	投与量 (mg/kg)				
		8	24	80	240	800
WBC	3		↓81	↓72	↓61	↓50
Neut	3		↑156	↑211		
Lym	3		↓93	↓86		
LUC	3			↓47	↓60	
RBC	24			↑106		
Hb	24			↑104		
Ht	24			↑105		
MCH	24		↓95			
MCHC	24		↓97			

表中の数値は対照群に対する割合 (%)

Dunnett の多重比較検定：↑↓、 $p < 0.05$ ↑↓、 $p < 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

ラット血液学的検査背景データとの比較を下表に示す。

試験		WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	ディファレンシャルカウント(%)			
			Neut	Lym	LUC	
背景データ*1 (絶食データ)	平均値	5.36	14.9	80.0	0.9	
	最小値	4.54	10.9	68.5	0.6	
	最大値	6.49	25.5	84.6	1.0	
当該試験 3時間後	24 mg/kg	平均値	↓5.56 a	↑15.6 a	↓81.0 a	
		最小値	4.49	13.9	77.6	
		最大値	6.33	18.6	83.3	
	80 mg/kg	平均値	↓4.29	↑24.7 a	↓71.9 a	↓0.7 a
		最小値	2.96	12.6	53.0	0.5
		最大値	5.65	43.8	83.2	1.0
	240 mg/kg	平均値	↓3.66			↓0.9 a
		最小値	2.85			0.6
		最大値	4.58			1.3
	800 mg/kg	平均値	↓2.99			
		最小値	2.56			
		最大値	3.77			

Dunnett の多重比較検定：↓、 $p<0.05$ ↑↓、 $p<0.01$

a: 背景データの範囲内あるいは投与用量との対応がみられないため影響なしと判断。

*1: 当該試験の投与処置と同様に、一晩絶食後に媒体を投与し、3 時間後の採血まで絶食を継続した。

試験		RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	
							背景データ (非絶食データ)*1
	最小値	6.23	12.8	37.2	20.0	34.0	
	最大値	6.60	14.2	41.7	21.5	35.3	
24時間後 当該試験	24 mg/kg	平均値			↓20.5 a	↓33.1 a	
		最小値			19.8	32.8	
		最大値			21.3	33.4	
	80 mg/kg	平均値	↑6.54 a	↑13.7 a	↑40.7 a		
		最小値	6.17	13.3	39.1		
		最大値	6.85	14.1	43.0		

Dunnett の多重比較検定：↓、 $p<0.05$ ↑↓、 $p<0.01$

a: 概ね背景データの範囲内あるいは投与用量との対応がみられないため影響なしと判断。

*1: 当該試験の投与処置と同様に、一晩絶食後に媒体を投与し、投与 6 時間後に給餌を再開した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

以上、ラットあるいはマウスを用いて検討した本検体の生体機能に及ぼす試験の結果、一般状態において、マウスの雄雌のいずれも 2000 mg/kg 群で、ラットでは 240 mg/kg 群以上で、全身状態の悪化に起因する非特異的な抑制作用と考えられる症状が認められ、マウスは 2000 mg/kg 群で、ラットでは 800 mg/kg 群で死亡が認められた。また、ラットでは 24 mg/kg 群以上で心拍数の減少、80 mg/kg 群以上で自発運動の減少、白血球数の減少が認められた。これらの変化はいずれも 24 時間以内に回復がみられたことから、一過性の作用と考えられた。さらにラットでは、240 mg/kg 群以上で尿量、尿中電解質排泄と尿浸透圧に影響がみられ、800 mg/kg 群では血圧の上昇が認められた。マウスでは 600 mg/kg 群以上で痙攣抑制が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

AF-02 原体の「生体機能への影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種 (動物数 /群)	投与経路 媒体	投与量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果
一般状態 観察	マウス 雄(3) 雌(3)	経口 0.5%MC	0、 200、 600、 2000	600	200	600 mg/kg: 雄、雌とも体重の増加抑制傾向 2000 mg/kg: (雄雌各 2 例死亡) 雄、雌とも警戒性鈍化、腹臥位、針金の後肢把握低下、低体温、視覚位置反応低下、受動性低下、疼痛反応鈍化、歩行失調、歩行不能、正向反射着地不全、肢筋緊張度低下など 雄: 間代性痙攣、身もだえ、呼吸促拍など 雌は 6 時間後、雄は 2 日後迄に回復
	ラット 雄(5)	経口 0.5%MC	0、 80、 240、 800	240	80	240、800 mg/kg: (800 mg/kg は 4 例死亡) 体重減少又は増加抑制 腹臥位又は横臥位、体温低下、呼吸不全、ケージからの取り出し易さ及び扱い易さが容易、歩行失調、移動性減少、接近反応鈍化、正向反射着地不全、腹筋及び肢筋緊張度低下、前肢及び後肢握力低下、覚醒状態低下、接触反応鈍化、着地時後肢開脚測定値低下など 2 日後迄に回復
自発 運動量	ラット 雄(5)	経口 0.5%MC	0、 8、 24、 80、 240、 800	80	24	80、240: 減少、2 時間後迄に回復 800 mg/kg: (2 例死亡) 減少、24 時間後迄に回復
電撃痙攣	マウス 雄(8)	経口 0.5%MC	0、 200、 600、 2000	600	200	600 mg/kg: 強直性伸展痙攣抑制 2000 mg/kg: 間代性痙攣、強直性伸展痙攣抑制
血圧・ 心拍数	ラット 雄(5)	経口 0.5%MC	0、 8、 24、 80、 240、 800	24	8	24 mg/kg: 心拍数減少、4 時間後迄に回復 80、240mg/kg: 心拍数減少、24 時間後迄に回復 800 mg/kg: (2 例死亡) 血圧上昇、心拍数減少、24 時間後迄に回復
尿量・電解質・浸透圧	ラット 雄(5)	経口 0.5%MC	0、 80、 240、 800	240	80	240 mg/kg: 尿量増加、Na ⁺ 、K ⁺ 、Cl ⁻ 減少、浸透圧減少 800 mg/kg: 死亡(1 例)、Na ⁺ 増加、K ⁺ 減少、Na ⁺ /K ⁺ 比上昇
血液学的 検査	3 時間 採血 ラット 雄(5)	経口 0.5%MC	0、 8、 24、 80、 240、 800	80	24	80、240、800 mg/kg: 白血球数減少
	24 時間 採血 ラット 雄(5)	経口 0.5%MC	0、 8、 24、 80	—	80	80 mg/kg まで作用なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

2. 原体混在物及び代謝物

(資料 毒-21)

1) 原体混在物 のマウスにおける急性経口毒性試験

検体純度

供試動物：ICR系 SPF マウス[Crj:CD1 (ICR)]、雌、投与時 8 週齢、
投与時体重 25.9~29.7 g、一群各 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体をコーン油に懸濁して、約 3 時間前より絶食させたマウスに 10 mL/kg 容量で 1 回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間および 6 時間後に、1 日後から 14 日後までは 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7 日、14 日あるいは死亡発見時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147 号、2-1-1、2000 年）により評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300、300、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	300 < LD ₅₀ ≤ 2000 (GHS カテゴリー 4)
死亡開始時間および終了時間	2000 mg/kg : 投与後 30 分から発現 投与後 3 時間までに全例死亡 300 mg/kg : 死亡なし
症状発現時間および消失時間	2000 mg/kg : 投与後 3 時間までに全例死亡 300 mg/kg : 投与後 30 分から発現 投与後 1 日までに消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

一般状態の観察において、300 mg/kg 用量では腹臥位、はいずり姿勢、横臥位、鎮静、昏迷、よろめき歩行および呼吸深大が認められた。2000 mg/kg 用量では腹臥位、昏睡および努力性呼吸が観察された。体重は全生存動物で投与前の値と比べ増加した。剖検所見においては異常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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-22)

2) 原体混在物 のマウスにおける急性経口毒性試験

検体純度

供試動物：ICR系 SPF マウス[CrIj:CD1 (ICR)]、雌、投与時 8 週齢、
投与時体重 26.0~30.3 g、一群各 3 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体をコーン油に懸濁して、約 3 時間前より絶食させたマウスに 10 mL/kg 容量
で 1 回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態および死亡の有無を投与当日は投与 30 分、3 時間および 6 時間
後に、1 日後から 14 日後までは 1 日 1 回観察した。体重は投与直前、投与後 7
日、14 日あるいは死亡発見時に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存
動物を剖検した。急性毒性の程度は、毒性等級法（農林水産省、12 農産第 8147
号、2-1-1、2000 年）により評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300、300、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	300 < LD ₅₀ ≤ 2000 (GHS カテゴリー 4)
死亡開始時間および終了時間	2000 mg/kg : 投与後 30 分までに全例死亡 300 mg/kg : 死亡なし
症状発現時間および消失時間	2000 mg/kg : 投与後 30 分までに全例死亡 300 mg/kg : 投与後 30 分から発現 投与後 3 時間までに消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

一般状態の観察において、300 mg/kg 用量では腹臥位および鎮静が認められた。2000 mg/kg 用量では、投与後 30 分までに全例が死亡したため一般状態を観察することができなかった。体重は投与後 7 日に 300 mg/kg 用量の 1 例が減少したが、投与後 14 日は全動物で投与前の値と比べ増加した。剖検所見においては、全動物において異常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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

(資料 毒-23)

3) 原体混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

検体：原体混在物

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* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) と、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 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) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、代謝活性化系を用いない場合においては 9.8~5000 µg/プレート、代謝活性化系を用いる場合においては 39.1~5000 µg/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は各濃度 2 プレートを用いて評価した。

用量設定根拠：

代謝活性化の有無	最高用量 (µg/プレート)						公比	用量段階
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	公比		
無	1250	313	5000	1250	313	2	6	
有	1250	1250	5000	1250	1250	2	6	

試験結果：結果を表 1 に示す。

検体は本試験および追加試験の検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株で溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照群は溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下における本剤の細菌に対する突然変異誘発性は、陰性であると結論付けられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1

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 (平均)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	127	14	21	15	6
検体	9.8	-	/	10	/	/	8
	19.5	-	/	14	/	/	4
	39.1	-	116	10	/	16	6
	78.1	-	114	10	/	11	6
	156	-	120	5*	19	19	2*
	313	-	92	4*	16	14	1*
	625	-	50*	/	13	10*	/
	1250	-	0*	/	16	10*	/
	2500	-	/	/	15	/	/
	5000	-	/	/	17	/	/
陽性 対照	AF-2	0.01	-	578	/	144	/
		0.1	-	/	/	509	/
	NaN ₃	0.5	-	/	522	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	826
溶媒対照 (DMSO)	-	+	124	12	22	17	8
検体	39.1	+	142	17	/	19	8
	78.1	+	150	19	/	23	6
	156	+	148	8	22	25	7
	313	+	138	6	15	25	9
	625	+	116	5*	17	17	2*
	1250	+	87*	1*	16	16*	0*
	2500	+	/	/	19	/	/
	5000 [†]	+	/	/	14	/	/
陽性 対照	2-AA	0.5	+	/	/	333	/
		1	+	890	/	/	/
		2	+	/	171	/	133
		10	+	/	/	385	/

[†] : 検体の析出がみられた。

* : 試験菌株に対し生育阻害が認められた。

DMSO : ジメチルスルホキシド

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA : 2-アミノアントラセン

(資料 毒-24)

4) 原体混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

検体:

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* (TA100、TA1535、TA98、TA1537 株) と、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 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) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法による復帰突然変異試験を行った。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、9.8~5000 µg/プレート の範囲の 6 濃度で実施した。試験は各濃度につき 2 プレートを用いて評価した。

用量設定根拠:

代謝活性化の有無	最高用量 (µg/プレート)						用量段階
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	公比	
無	1250	313	5000	313	313	2	6
有	1250	313	5000	1250	313	2	6

試験結果: 結果を表 1 に示す。

検体は本試験および追加試験の検体処理群において、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株で溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照群は溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本試験条件下における本剤の細菌に対する突然変異誘発性は、陰性であると結論付けられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

表 1

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 (平均)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	-	-	106	6	25	13	6
検体	9.8	-	/	8	/	13	7
	19.5	-	/	5	/	15	5
	39.1	-	111	5	/	8	7
	78.1	-	95	7	/	13	5
	156	-	112	8	18	13	2
	313	-	92	6*	20	12*	3*
	625	-	102	/	15	/	/
	1250 [†]	-	86*	/	24	/	/
	2500 [†]	-	/	/	14	/	/
5000 [†]	-	/	/	23	/	/	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	544	/	149	/
		0.1	-	/	/	431	/
	NaN ₃	0.5	-	/	429	/	/
	9-AA	80	-	/	/	/	725
溶媒対照 (DMSO)	-	+	134	5	26	16	10
検体	9.8	+	/	4	/	/	7
	19.5	+	/	5	/	/	9
	39.1	+	122	8	/	14	6
	78.1	+	108	7	/	20	11
	156	+	135	6	18	14	8
	313	+	115	4*	23	20	6*
	625	+	121	/	23	13	/
	1250 [†]	+	127*	/	27	15*	/
	2500 [†]	+	/	/	27	/	/
5000 [†]	+	/	/	16	/	/	
陽性 対照	2-AA	0.5	+	/	/	/	375
		1	+	893	/	/	/
		2	+	/	159	/	138
		10	+	/	/	358	/

[†] : 検体の析出がみられた。

* : 試験菌株に対し生育阻害が認められた。

DMSO : ジメチルスルホキシド

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

NaN₃ : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2-AA : 2-アミノアントラセン