

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

6) マウスを用いた飼料混入投与による発癌性試験 (資料 No. 毒 A22)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体純度:

供試動物: C57BL/6NCrIBR (VAF) マウス、1 群雌雄各 50 匹、開始時 7 週齢 (個別飼育)

投与期間: 18 カ月 (1993 年 9 月 6 日 ~ 1995 年 3 月 30 日)

投与方法: 検体を、0、200、1800、5000 ppm の濃度で飼料に混入し、18 カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠:

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少なくとも毎日 1 回 (休日以外は 2 回) 観察した。週に 1 回、総合的な臨床症状観察 (触診を含む) を追加実施した。

試験を通してみられた全ての所見 (腫瘍を含む) は投与群と対照群の間で等しく分布しており、従って偶発的と判断される。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	200	1800	5000
死亡率 (%)	雄	14	8	8	8
	雌	10	18	10	8

Fisher's exact test、有意水準  $P \leq 0.05$  で有意差なし

投与群における死亡率が対照群に比べ増加する傾向はみられなかった。

体重変化; 投与開始時および投与期間の最初の 13 週間は週 1 回、その後は 4 週おきにすべての動物の体重を測定した。

1800 ppm 群の雄および 5000 ppm 群の雌雄の体重は試験を通して対照群に比べて統計学的に有意に低かった。試験終了時の値 (次頁の表) も対照群と比べて有意に低く、投与に関連するものと判断された。一方、200 ppm および 1800 ppm 群の雌の体重にも試験期間中に有意な低値がみられたが、投与量と反応に関連がない (1800 ppm 群の体重は 200 ppm 群の体重より重い) ことから、偶発的と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与量 (ppm)		0	200	1800	5000
平均体重 (g)	雄	36.4	34.9 (96)	↓30.3 (83)	↓25.6 (70)
	雌	31.2	↓27.9 (89)	29.3 (94)	↓24.1 (77)

多重比較法 ↓:  $P \leq 0.01$  括弧内の数値は対照群を 100 とした場合の値

摂餌量および摂餌効率; 投与期間の最初の 13 週間は週 1 回、その後は 4 週おきにすべての動物の摂餌量を測定し、摂餌効率を計算した。

試験期間を通して全ての投与群の摂餌量は対照群に比べて、総体的には異ならなかった。雌雄の各投与群で散発的、断続的にみられた有意な変化は、それらの変動の弱いことおよび投与量相関性を欠くことから、偶発的と判断された。摂餌効率に影響は認められなかった。

検体摂取量; 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		200	1800	5000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	37	332	1035
	雌	52	490	1456

血液学的検査; 投与 12 カ月後に絶食していない、非麻酔下の動物の尾静脈から採血し、また投与終了時には、絶食した、麻酔下の動物から断頭により採血し、百分比のための血液塗沫を作製した。雄動物では対照群と 5000 ppm 群の血液塗沫を検査したが、雌では対照群、1800 および 5000 ppm 群の血液塗沫を検査した。さらに、試験期間中に切迫屠殺した全ての動物について血液塗沫を作製し、検査した。以下の項目の測定を行った。

白血球百分比、赤血球形態

性別	雄			雌		
	200	1800	5000	200	1800	5000
リンパ球 (%) 12M	NE	NE	92	NE	NE	↑115
リンパ球 (%) 18M	NE	NE	107	NE	↑114	↑129
好中球 (%) 12M	NE	NE	145	NE	NE	↓70
好中球 (%) 18M	NE	NE	98	NE	92	↓70

Aspin-Welch t-test ↑↓:  $P \leq 0.01$  表中の数値は対照群を 100 とした場合の値  
NE: 測定せず また、有意差の無い場合も参考のために値を示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

雄の百分比には投与と関連した変化はみられなかった。雌の百分比では 5000 ppm 群にリンパ球の増加と好中球の減少が 12 カ月後および終了時に、1800 ppm 群にリンパ球の増加が終了時に認められた（終了時のリンパ球は対照で 57.51%、1800 ppm 群で 65.84%、5000 ppm 群で 74.30%）。今回の試験では総白血球を測定していないので、これらの変化の原因を説明することは難しい。しかし、雌の 1800 ppm 群については、値が正常範囲内（56.84~75.91%）にあることから投与と関連しているとはみなせない。赤血球形態には投与と関連した変化を雌雄ともに認めなかった。切迫屠殺動物に、投与と関連した変化はみられなかった。

臓器重量；投与終了時の全動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、脳

以下に統計学的有意差の認められた項目を表に示す。

性別	雄			雌		
	200	1800	5000	200	1800	5000
最終体重		↓87	↓74	↓89		↓78
肝臓重量				↓85		↓88
肝臓 対体重比		↑110	↑132			↑112
腎臓重量		↓88	↓78	↓86	↓79	↓71
腎臓 対体重比					↓84	↓91
精巣重量			↓94	-	-	-
精巣 対体重比		↑113	↑124	-	-	-
脳重量		↓98	↓96	↓95	↓91	↓94
脳 対体重比		↑111	↑127			↑118
副腎重量			↑114			↓89
副腎 対体重比		↑131	↑156			

Dunnett-test ↑ ↓ :  $P \leq 0.05$ 、↑ ↓ :  $P \leq 0.01$  表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

最終体重の有意な減少が雄の 1800 ppm 以上および雌の 5000 ppm 群にみられた。雌の 200 ppm 群における最終体重の減少は、投与量との関連がないことから偶発的と考えられる。

肝臓重量は雌の 200 および 5000 ppm 群で減少したが、その動物の最終体重が減少した結果にすぎない。対体重比は 1800 ppm 群の雄および 5000 ppm 群の雌雄で増加し、投与による影響と考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

腎臓重量は雄の 1800 ppm 以上の群および雌の全投与群で有意に減少し、投与量と反応に相関性を示した。しかし対体重比では、雌の 1800 および 5000 ppm 群のみに有意な減少がみられたが、この減少は投与量と関連していなかった。さらに、投与と関連した組織学的変化もないことから、これらの変化は最終体重の減少によるとみなされる。

精巣重量は 5000 ppm 群で減少し、同群の最終体重が減少した結果と考えられた。対体重比は 1800 ppm 以上の群で投与量と相関して増加したが、投与の影響を示すものではなく、これらの群の最終体重が減少した結果である。

雄マウスの脳重量は 1800 ppm 以上の群で投与量と相関して減少した。雌では、脳重量は全投与群で有意に減少したが、投与量と反応に相関性はなかった。対体重比は雄の 1800 ppm 以上の群で投与量と相関して増加し、雌では 5000 ppm 群で増加した。対体重比の増加は投与と関連した影響を示すものではなく、単にこれらの群の最終体重が減少した結果である。

副腎重量は 5000 ppm 群の雄で増加し、雌で減少した。この重量変化は偶発的と考えられた。対体重比では雄の 1800 ppm 以上の群で投与量と相関して増加したが、単にこれらの群の最終体重が減少した結果である。

その他の臓器の重量および対体重比は対照群と比べて有意な差を示さなかった。

肉眼的病理検査;途中死亡、切迫屠殺および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

次頁以降に統計学的有意差の認められた病変および比較的高頻度に見られた病変を表に示す。なお、統計は申請者が実施した。

肝臓の腫瘍が雄の 200 と 1800 ppm 群に各 3 匹、5000 ppm 群に 1 匹、雌の 200 ppm 群に 1 匹、1800 ppm 群に 2 匹、5000 ppm 群に 6 匹にみられた。5000 ppm 群の雄に肝臓の変色（暗褐色または黄褐色化）が 5 匹にみられた。

精嚢の腫大は雄の対照群および 200 ppm 群に各 36 匹、1800 ppm 群に 17 匹、5000 ppm 群に 1 匹みられた。

包皮腺の腫大は雄の対照群に 13 匹、200 および 1800 ppm 群に各 10 匹みられた。

脾臓の腫大は雄の対照群および 200 ppm 群に各 4 匹、1800 ppm 群に 2 匹、雌の対照群に 7 匹、200 ppm 群に 13 匹、1800 ppm 群に 6 匹、5000 ppm 群に 1 匹みられた。

その他の全ての肉眼病変は単発であるか、または投与群と対照群の間で生物学的に同等の発生率で分布していた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

肉眼的病理検査 (雄)

性別 投与量 (ppm)	検査動物数 所見	雄 (死亡・切迫屠殺)				雄 (計画屠殺)			
		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
臓器	検査動物数	8	4	5	4	42	46	45	46
前胃	腫瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	2 (4)
腺胃	びらん/潰瘍	2 (25)	1 (25)	4 (80)	2 (50)	4 (10)	2 (4)	0 (0)	1 (2)
	腫瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	1 (2)	0 (0)
肝臓	変色	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (11)
	病巣 (Focus)	1 (13)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	6 (14)	14 (30)	10 (22)	13 (28)
	腫瘤	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	3 (7)	2 (4)	1 (2)
精巣	病巣 (Focus)	1 (13)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	6 (14)	10 (22)	10 (22)	10 (22)
精囊	腫大	3 (38)	2 (50)	1 (20)	0 (0)	33 (79)	34 (74)	↓16 (36)	↓1 (2)
包皮腺	腫大	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	13 (31)	10 (22)	10 (22)	↓0 (0)
脾臓	腫大	2 (25)	0 (0)	2 (40)	0 (0)	2 (5)	4 (9)	0 (0)	0 (0)
肝リンパ節	腫大	1 (13)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (4)	3 (7)	0 (0)
腸間膜リンパ節	腫大	1 (13)	0 (0)	1 (20)	1 (25)	8 (19)	5 (11)	10 (22)	4 (9)
胸骨	変形	7 (88)	1 (25)	4 (80)	2 (50)	37 (88)	36 (78)	38 (84)	↓29 (63)
皮膚	腫瘤	0 (0)	0 (0)	2 (40)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Fisher's exact test ↓ :  $P \leq 0.05$ , ↓↓ :  $P \leq 0.01$

( ) は発生率%を示す

肉眼的病理検査 (雌)

性別 投与量 (ppm)	検査動物数 所見	雌 (死亡・切迫屠殺)				雌 (計画屠殺)			
		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
臓器	検査動物数	5	9	5	4	45	41	45	46
前胃	びらん/潰瘍	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	2 (4)	1 (2)	0 (0)	0 (0)
	腫瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	2 (4)	3 (7)
腺胃	びらん/潰瘍	1 (20)	3 (33)	3 (60)	1 (25)	4 (9)	2 (5)	6 (13)	5 (11)
	腫瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	2 (4)	0 (0)
肝臓	病巣 (Focus)	1 (20)	1 (11)	0 (0)	1 (25)	9 (20)	5 (12)	9 (20)	10 (22)
	腫瘤	0 (0)	1 (11)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	2 (4)	5 (11)
卵巣	嚢胞	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (4)	3 (7)	5 (11)	4 (9)
	病巣 (Focus)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (13)	12 (29)	5 (11)	6 (13)
子宮	嚢胞	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (18)	14 (34)	↑23 (51)	12 (26)
	腫瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	0 (0)
乳腺	腫瘤	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
脾臓	腫大	1 (20)	4 (44)	2 (40)	0 (0)	6 (13)	9 (22)	4 (9)	1 (2)
肝リンパ節	腫大	1 (20)	1 (11)	0 (0)	0 (0)	5 (11)	0 (0)	2 (4)	2 (4)
腸間膜リンパ節	腫大	1 (20)	1 (11)	1 (20)	0 (0)	6 (13)	9 (22)	11 (24)	4 (9)
胸骨	変形	1 (20)	3 (33)	2 (40)	1 (25)	13 (29)	11 (27)	8 (18)	14 (30)
皮膚	腫瘤	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)

Fisher's exact test ↑ :  $P \leq 0.01$

( ) は発生率%を示す

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本（ヘマトキシリン・エオジン染色）を作製し、鏡検した。なお、対照群と 5000 ppm 群は下記の全臓器を観察し、他の群は肺、心臓、肝臓、胆嚢、腎臓、精巣、卵巣、卵管、子宮、胃、膀胱（雌）および肉眼病変を観察した。なお、統計は申請者が実施した。

脳、下垂体、眼球、唾液腺（顎下、舌下）、顎下リンパ節、甲状腺／副甲状腺、胸骨（骨髄を含む）、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、膀胱、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺、卵巣、子宮、膣、卵管、皮膚、食道、胃、十二指腸、膵臓、空腸、回腸、盲腸、結腸、腸間膜リンパ節、直腸、乳腺（雌）、坐骨神経、筋肉、骨髄（大腿骨）、大腿骨と関節、脊髄（頸、胸、腰）および肉眼病変

#### [非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

- 肝臓：好酸性変異肝細胞巣は 5000 ppm 群の雌雄で増加した。同群では小葉中心性肝細胞肥大も雌雄で増加した。
- 卵巣：活性低下（両側の卵巣に卵胞および黄体の数が 4 以下）が 5000 ppm 群で高頻度に見られた。この作用はこれらの動物の最終体重が減少したことの結果とも考えられるが、検体の影響も否定できない。
- 膀胱：上皮表層の細胞質に好酸性小滴（特殊染色の結果セロイドと考えられた）が雌雄とも高頻度に見られた。投与量と沈着の程度に関連はないと考えられる。
- 子宮：内膜間質、筋層の膠原線維の硝子化（硬化）は 1800 および 5000 ppm 群の子宮で有意に増加し、投与に起因した変化と考えられる。
- 精嚢：雄の 5000 ppm 群では嚢胞状拡張の頻度が有意に低く、同群では腺の分泌活性が低下していた。これは、投与に起因すると考えられるが、これらの動物の最終体重が減少したことの結果とも考えられる。
- 包皮腺：肉眼的に包皮腺腫大が 5000 ppm 群を除く各群にみられ、組織学的に腺は嚢胞状を示した。このことは、5000 ppm 群において包皮腺の分泌活性低下があることを示し、精嚢の場合と同様、投与に起因すると考えられるが、これらの動物の最終体重が減少したことの結果とも考えられる。

その他に、脳の巣状石灰化、副腎皮質の巣状萎縮および過形成、いくつかの臓器におけるリンパ球浸潤は対照群の動物に多くみられ、5000 ppm 群では発生頻度が減少した。これらの所見は検体の毒性影響というよりはむしろ有利な影響であり、従って偶発的と考えられる。

他の全ての非腫瘍性病変は単発であるか、または生物学的変動の範囲内と考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<表1> 病理組織学的検査 非腫瘍性病変 死亡/切迫屠殺動物

検査時期	性別		雄				雌				
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000	
	臓器	所見									
死亡/切迫屠殺	顎下腺	リンパ球浸潤	6/8	2/4	1/4	0/3	4/5	7/9	3/5	0/4	
	前胃	びらん/潰瘍	0/8	0/4	0/5	0/4	0/5	0/9	2/5	0/4	
	腺胃	びらん/潰瘍	2/8	0/4	4/5	2/4	0/5	3/9	2/5	0/4	
	肝臓		脂肪浸潤 小葉周辺性	0/8	0/4	0/5	0/4	1/5	0/9	0/5	0/4
			脂肪浸潤 び慢性	2/8	0/4	1/5	0/4	0/5	1/9	1/5	0/4
			肝細胞肥大 小葉中心性	0/8	0/4	0/5	1/4	0/5	0/9	0/5	0/4
			変異肝細胞巣	0/8	0/4	1/5	0/4	1/5	0/9	0/5	0/4
			-変異肝細胞巣、好酸性	0/8	0/4	1/5	0/4	1/5	0/9	0/5	0/4
	脾臓	リンパ球浸潤	2/8	0/4	1/5	0/4	1/5	1/9	0/5	1/4	
	腎臓	リンパ球浸潤	1/8	0/4	1/5	0/4	1/5	1/9	2/5	0/4	
	膀胱		リンパ球浸潤	1/8	0/4	0/5	1/4	1/5	2/9	1/5	0/4
			好酸性小滴	2/8	3/4	1/5	1/4	4/5	5/9	4/5	2/4
	精巣		変性	1/8	1/4	1/5	1/4	-	-	-	-
	精囊		嚢胞状拡張	3/8	2/4	2/5	0/4	-	-	-	-
	卵巣		嚢胞	-	-	-	-	0/5	2/8	2/5	0/4
			活性低下	-	-	-	-	1/5	2/8	1/5	0/4
	子宮		硬化	-	-	-	-	0/5	0/9	2/5	0/4
	脳		石灰化	0/8	1/4	0/5	1/4	1/5	0/9	0/5	0/4
	眼球		角膜石灰化	0/8	0/4	0/5	0/4	1/5	3/9	0/5	0/4
	副腎皮質		脂質性色素沈着	3/8	1/4	3/5	1/4	3/5	4/9	3/5	1/4
巣状萎縮			2/8	0/4	0/5	0/4	0/5	0/9	0/5	0/4	
巣状過形成			0/8	0/4	0/5	0/4	1/5	0/9	0/5	0/4	
皮膚		炎症	1/8	0/4	2/5	1/4	1/5	0/9	2/5	0/4	

表中の分数は、所見が見られた動物数/検査動物数を示す  
Fisher's exact test、有意水準  $P \leq 0.05$  で有意差なし

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<表1> (続き) 病理組織学的検査 非腫瘍性病変 最終屠殺動物

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
	臓器	所見								
18 カ 月	顎下腺	リンパ球浸潤	39/42	0/0	0/0	↓24/46	43/45	0/0	0/0	↓36/46
	前胃	びらん/潰瘍	0/42	1/46	0/45	0/46	3/45	2/41	0/45	1/46
		巣状過形成	0/42	1/46	0/45	4/46	1/45	1/41	0/45	4/46
	腺胃	びらん/潰瘍	5/42	2/46	↓0/45	2/46	8/45	5/41	6/45	6/46
	肝臓	脂肪浸潤 小葉周辺性	0/42	0/46	0/45	5/46	0/45	0/41	0/45	0/46
		脂肪浸潤 び慢性	36/42	41/46	41/45	↓30/46	40/45	39/41	40/45	44/46
		肝細胞肥大 小葉中心性	0/42	0/46	0/45	↑27/46	0/45	0/41	0/45	4/46
		変異肝細胞巣	0/42	3/46	5/45	↑11/46	0/45	1/41	3/45	↑9/46
		-変異肝細胞巣、淡明性	0/42	0/46	0/45	0/46	0/45	0/41	0/45	1/46
	-変異肝細胞巣、好酸性	0/42	1/46	2/45	↑8/46	0/45	0/41	1/45	5/46	
	-変異肝細胞巣、好塩基性	0/42	2/46	3/45	3/46	0/45	1/41	2/45	3/46	
	膵臓	リンパ球浸潤	24/42	0/0	0/1	↓4/46	31/45	0/0	0/0	↓16/46
	肺	リンパ球浸潤	5/42	7/46	1/45	↓0/46	7/45	6/41	2/45	↓0/46
	腎臓	リンパ球浸潤	25/42	34/46	↓12/45	↓7/46	26/45	24/41	20/45	↓12/46
	膀胱	リンパ球浸潤	9/42	0/0	0/1	↓0/46	34/44	33/41	↓24/45	↓18/46
		好酸性小滴	24/42	0/0	0/1	24/46	36/44	↑41/41	↑45/45	44/46
	精巣	変性	12/42	↑8/11	↑9/11	14/46	-	-	-	-
	精嚢	嚢胞状拡張	30/42	29/34	12/17	↓2/46	-	-	-	-
	包皮腺	嚢胞状	12/14	10/10	10/10	0/0	-	-	-	-
	卵巣	嚢胞	-	-	-	-	4/45	9/41	6/45	6/45
		活性低下	-	-	-	-	7/45	7/41	9/45	↑26/45
	子宮	硬化	-	-	-	-	1/44	0/41	↑13/45	↑22/46
	脳	石灰化	31/42	0/0	0/0	↓5/46	4/45	0/0	0/0	1/46
	眼球	角膜石灰化	4/42	0/0	0/0	5/46	13/45	0/2	0/4	6/46
	副腎皮質	脂質性色素沈着	31/42	0/0	0/0	34/46	41/45	0/0	0/0	↓29/46
		巣状萎縮	23/42	0/0	0/0	↓1/46	0/45	0/0	0/0	0/46
巣状過形成		8/42	0/0	0/0	↓1/46	0/45	0/0	0/0	0/46	
下垂体	嚢胞	11/41	0/0	0/0	6/44	2/44	0/4	0/4	0/46	
皮膚	炎症	3/42	1/4	0/1	0/46	1/45	0/4	0/2	0/46	

表中の分数は、所見が見られた動物数/検査動物数を示す

Fisher's exact test ↑↓:  $P \leq 0.05$ , ↑↓:  $P \leq 0.01$



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<表1> (続き) 病理組織学的検査 非腫瘍性病変 全動物

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
	臓器	所見								
全動物	顎下腺	リンパ球浸潤	45/50	2/4	↓1/4	↓24/49	47/50	7/9	3/5	↓36/50
	前胃	びらん/潰瘍	0/50	1/50	0/50	0/50	3/50	2/50	2/50	1/50
		巣状過形成	0/50	1/50	0/50	4/50	1/50	1/50	0/50	4/50
	腺胃	びらん/潰瘍	7/50	2/50	4/50	4/50	8/50	8/50	8/50	6/50
	肝臓	脂肪浸潤 小葉周辺性	0/50	0/50	0/50	5/50	1/50	0/50	0/50	0/50
		脂肪浸潤 び慢性	38/50	41/50	42/50	30/50	40/50	40/50	41/50	44/50
		肝細胞肥大 小葉中心性	0/50	0/50	0/50	↑28/50	0/50	0/50	0/50	4/50
		変異肝細胞巣	0/50	3/50	↑6/50	↑11/50	1/50	1/50	3/50	↑9/50
		-変異肝細胞巣、淡明性	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50
	-変異肝細胞巣、好酸性	0/50	1/50	3/50	↑8/50	1/50	0/50	1/50	5/50	
	-変異肝細胞巣、好塩基性	0/50	2/50	3/50	3/50	0/50	1/50	2/50	3/50	
	膵臓	リンパ球浸潤	26/50	0/4	1/6	↓4/50	32/50	↓1/9	↓0/5	↓17/50
	肺	リンパ球浸潤	5/50	7/50	1/50	0/50	7/50	6/50	2/50	↓0/50
	腎臓	リンパ球浸潤	26/50	34/50	↓13/50	↓7/50	27/50	25/50	22/50	↓12/50
	膀胱	リンパ球浸潤	9/50	0/4	0/6	↓0/50	35/49	35/50	↓25/50	↓18/50
		好酸性小滴	26/50	3/4	1/6	25/50	40/49	46/50	↑49/50	46/50
	精巣	変性	13/50	↑9/15	↑10/16	15/50	-	-	-	-
	精囊	嚢胞状拡張	33/50	31/38	14/22	↓2/50	-	-	-	-
	包皮腺	嚢胞状	12/14	10/10	10/10	0/0	-	-	-	-
	卵巢	嚢胞	-	-	-	-	4/50	11/49	8/50	6/49
		活性低下	-	-	-	-	8/50	9/49	10/50	↑26/49
	子宮	硬化	-	-	-	-	1/49	0/50	↑15/50	↑22/50
	脳	石灰化	31/50	1/4	↓0/5	↓6/50	5/50	0/9	0/5	1/50
	眼球	角膜石灰化	4/50	0/4	0/5	5/50	14/50	3/11	0/9	6/50
	副腎皮質	脂質性色素沈着	34/50	1/4	3/5	35/50	44/50	↓4/9	3/5	↓30/50
		巣状萎縮	25/50	0/4	0/5	↓1/50	0/50	0/9	0/5	0/50
		巣状過形成	8/50	0/4	0/5	↓1/50	1/50	0/9	0/5	0/50
下垂体	嚢胞	11/48	0/4	0/5	6/48	2/49	0/13	0/9	0/50	
皮膚	炎症	4/50	1/8	2/6	1/50	2/50	0/13	2/7	0/50	

表中の分数は、所見が見られた動物数/検査動物数を示す

Fisher's exact test ↑ ↓ :  $P \leq 0.05$ , ↑↓ :  $P \leq 0.01$

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表2に、総腫瘍数および担腫瘍動物数のまとめを表3にそれぞれ示す。

肝細胞腫瘍を有する動物数は次の通りであった：肝細胞腺腫は雄の5000 ppm群に2匹、雌の1800 ppm群に1匹、5000 ppm群に4匹みられた。肝細胞癌は雄の200 ppm群に2匹、1800および5000 ppm群に各1匹、雌の5000 ppm群に3匹みられた。これらの動物の全ては最終屠殺動物であった。従って肝細胞腫瘍の数は雌の5000 ppm群で軽度に増加した。

観察された腫瘍の多くは血液リンパ系および下垂体の腫瘍であった。組織球性肉腫を有する動物数は5000 ppm群の雌雄で減少した。下垂体の腺腫は雌マウスのみみられた：対照群に8匹、200 ppm群に4匹、1800 ppm群に3匹みられたが、5000 ppm群に発生は無かった。5000 ppm群の雌雄における組織球性肉腫の減少および雌における下垂体腺腫の発生がないことは、この群の動物の最終体重が減っていることの結果と考えられる。

他の全ての腫瘍は投与群と対照群の間で生物学的に同等の発生率で分布していたか、または自然発生性とみなされた。

腫瘍を有する雄の動物数および原発腫瘍の総数は、対照および処置動物の間で変わりなかった。雄において、良性腫瘍を有する動物数が5000 ppm群で増加した（対照群に1匹、5000 ppm群に10匹）が、悪性腫瘍を有する動物数は5000 ppm群で有意に減少した（対照群に20匹、5000 ppm群に10匹）。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<表2> 病理組織学的検査 腫瘍性病変 死亡/切迫屠殺動物

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
	臓器	所見								
死亡/切迫屠殺	前胃	乳頭腫 扁平上皮 (B)	0/8	0/4	0/5	1/4	0/5	0/9	0/5	0/4
	直腸	腺癌 (M)	0/8	1/4	0/5	0/4	0/5	0/9	0/5	0/4
	精巣上体	腫瘍 未分類 (B)	1/8	0/4	0/5	0/4	-	-	-	-
	血液リンパ系	悪性リンパ腫 (M)	0/8	0/4	0/5	0/4	0/5	1/9	1/5	0/4
		組織球性肉腫 (M)	2/8	1/4	2/5	1/4	2/5	4/9	1/5	0/4
		肥満細胞腫 (B)	1/8	0/4	0/5	0/4	0/5	0/9	0/5	0/4
	ハタゲ腺	腺腫 (B)	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	骨	骨肉腫 (M)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	胸骨	骨肉腫 (M)	0/8	0/4	0/5	0/4	0/5	1/9	0/5	0/4
	骨格筋	線維性組織球腫 (B)	0/8	1/4	0/5	0/4	0/5	0/9	0/5	0/4

表中の分数は所見が見られた動物数/検査動物数を、(B)は良性腫瘍、(M)は悪性腫瘍を示す  
Fisher's exact test、有意水準  $P \leq 0.05$  で有意差なし

<表2> (続き) 病理組織学的検査 腫瘍性病変 最終屠殺動物

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
	臓器	所見								
18カ月	前胃	乳頭腫 扁平上皮 (B)	0/42	0/46	3/45	1/46	0/45	1/41	2/45	1/46
	腺胃	腺腫 (B)	0/42	0/46	1/45	0/46	1/45	0/41	2/45	0/46
		腺癌 (M)	0/42	0/46	0/45	0/46	0/45	0/41	0/45	1/46
	十二指腸	腺腫 (B)	0/42	0/46	0/45	0/46	2/45	1/40	0/43	0/46
		腺癌 (M)	0/42	0/46	1/45	0/46	0/45	0/40	0/43	0/46
	直腸	腺腫 (B)	0/42	0/0	0/0	1/46	0/45	0/0	0/0	0/46
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0/42	0/46	0/45	2/46	0/45	0/41	1/45	4/46
		血管腫 (B)	0/42	1/46	0/45	0/46	0/45	0/41	1/45	0/46
		肝細胞癌 (M)	0/42	2/46	1/45	1/46	0/45	0/41	0/45	3/46
	肺	腺腫 (B)	0/42	1/46	1/45	1/46	0/45	0/41	1/45	1/46
	精囊	神経鞘腫 (B)	1/42	0/34	0/17	0/46	-	-	-	-
	卵巣	管状間質腺腫 (B)	-	-	-	-	1/45	0/41	0/45	0/45
		血管腫 (B)	-	-	-	-	0/45	0/41	0/45	1/45
		子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0/44	0/41	0/45
	脾臓	血管腫 (B)	-	-	-	-	0/44	0/41	1/45	0/46
		腺腫 (B)	-	-	-	-	1/44	0/41	0/45	0/46
		血管肉腫 (M)	1/42	0/4	0/2	0/46	0/45	0/9	0/4	0/46
	血液リンパ系	悪性リンパ腫 (M)	0/42	1/8	0/10	0/46	2/45	0/13	1/13	4/46
		組織球性肉腫 (M)	14/42	↑ 7/8	↑ 10/10	7/46	17/45	↑ 13/13	↑ 12/13	↓ 7/46
		肥満細胞腫 (B)	0/42	0/8	0/10	1/46	0/45	0/13	0/13	0/46
	ハタゲ腺	腺腫 (B)	1/1	1/1	4/4	3/3	0/0	0/0	3/3	1/1
	副腎皮質	皮質腺腫 (B)	0/42	0/0	0/0	1/46	0/45	0/0	0/0	0/46
	副腎髄質	褐色細胞腫 (B)	0/42	0/0	0/0	0/46	1/45	0/0	0/0	0/46
	下垂体	腺腫 (B)	0/41	0/0	0/0	0/44	8/44	↑ 4/4	3/4	↓ 0/46
	脂肪組織	脂肪腫 (B)	0/2	0/2	0/0	0/1	1/5	0/1	0/0	0/0
	皮膚	肥満細胞腫 (B)	0/42	0/4	0/1	0/46	0/45	0/4	0/2	1/46
乳頭腫、扁平上皮 (B)		0/42	0/4	0/1	0/46	0/45	1/4	0/2	0/46	

表中の分数は所見が見られた動物数/検査動物数を、(B)は良性腫瘍、(M)は悪性腫瘍を示す  
Fisher's exact test ↑ ↓ :  $P \leq 0.05$ , ↑↑ :  $P \leq 0.01$

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<表2> (続き) 病理組織学的検査 腫瘍性病変 全動物

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
	臓器	所見								
全動物	前胃	乳頭腫 扁平上皮 (B)	0/50	0/50	3/50	2/50	0/50	1/50	2/50	1/50
	腺胃	腺腫 (B)	0/50	0/50	1/50	0/50	1/50	0/50	2/50	0/50
		腺癌 (M)	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50
	十二指腸	腺腫 (B)	0/50	0/50	0/50	0/50	2/50	1/50	0/50	0/50
		腺癌 (M)	0/50	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50
	直腸	腺腫 (B)	0/50	0/4	0/5	1/50	0/50	0/9	0/5	0/50
		腺癌 (M)	0/50	1/4	0/5	0/50	0/50	0/9	0/5	0/50
	肝臓	肝細胞腺腫 (B)	0/50	0/50	0/50	2/50	0/50	0/50	1/50	4/50
		血管腫 (B)	0/50	1/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50	0/50
		肝細胞癌 (M)	0/50	2/50	1/50	1/50	0/50	0/50	0/50	3/50
	肺	腺腫 (B)	0/50	1/50	1/50	1/50	0/50	0/50	1/50	1/50
	精巣上体	腫瘍 未分類 (B)	1/50	0/9	0/7	0/50	-	-	-	-
	精囊	神経鞘腫 (B)	1/50	0/38	0/22	0/50	-	-	-	-
	卵巣	管状間質腺腫 (B)	-	-	-	-	1/50	0/49	0/50	0/49
		血管腫 (B)	-	-	-	-	0/50	0/49	0/50	1/49
	子宮	平滑筋腫 (B)	-	-	-	-	0/49	0/50	0/50	1/50
		血管腫 (B)	-	-	-	-	0/49	0/50	1/50	0/50
		腺腫 (B)	-	-	-	-	1/49	0/50	0/50	0/50
	脾臓	血管肉腫 (M)	1/50	0/8	0/7	0/50	0/50	0/18	0/9	0/50
	血液リンパ系	悪性リンパ腫 (M)	0/50	1/12	0/15	0/50	2/50	1/22	2/18	4/50
		組織球性肉腫 (M)	16/50	8/12	↑12/15	8/50	19/50	↑17/22	↑13/18	↓7/50
		肥満細胞腫 (B)	1/50	0/12	0/15	1/50	0/50	0/22	0/18	0/50
	ハタ-腺	腺腫 (B)	1/1	1/1	5/5	3/3	0/0	0/0	3/3	1/1
	副腎皮質	皮質腺腫 (B)	0/50	0/4	0/5	1/50	0/50	0/9	0/5	0/50
	副腎髄質	褐色細胞腫 (B)	0/50	0/4	0/5	0/50	1/50	0/9	0/5	0/50
	下垂体	腺腫 (B)	0/48	0/4	0/5	0/48	8/49	4/13	3/9	↓0/50
	骨	骨肉腫 (M)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	胸骨	骨肉腫 (M)	0/50	0/40	0/43	0/50	0/50	1/20	0/13	0/50
	骨格筋	線維性組織球腫 (B)	0/50	1/4	0/5	0/50	0/50	0/9	0/5	0/50
	脂肪組織	脂肪腫 (B)	0/2	0/2	0/0	0/1	1/5	0/2	0/0	0/0
皮膚	肥満細胞腫 (B)	0/50	0/8	0/6	0/50	0/50	0/13	0/7	1/50	
	乳頭腫、扁平上皮 (B)	0/50	0/8	0/6	0/50	0/50	1/13	0/7	0/50	

表中の分数は所見が見られた動物数/検査動物数を、(B)は良性腫瘍、(M)は悪性腫瘍を示す  
Fisher's exact test ↑↓: P ≤ 0.05、↑↑: P ≤ 0.01

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<表 3> 病理組織学的検査 腫瘍発生数および担腫瘍動物数

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	200	1800	5000	0	200	1800	5000
合計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	腫瘍数	(B)	1	3	10	10	15	7	14	9
		(M)	20	13	14	10	21	19	15	17
	腫瘍総数		21	16	24	20	36	26	29	26
	担腫瘍動物数 <sup>S</sup>	(B)	1	3	↑9	↑10	14	7	14	8
		(M)	20	12	13	↓10	21	19	15	17
	担腫瘍動物数 <sup>S</sup>		21	15	22	17	30	22	24	20

§ Fisher's exact test ↑ ↓ :  $P \leq 0.05$ , ↑↑ :  $P \leq 0.01$  で有意差なし

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

以上のように、検体の 18 カ月間飼料混入投与による影響として、5000 ppm 群の雌雄に体重増加抑制が認められた。投与期間終了時の同群の体重は、対照より雄で 30%、雌で 23% 低く、これは最大耐量 (MTD) の基準を明らかに満たしていた。体重増加抑制は 1800 ppm 群の雄にも認められた。塗抹標本観察では雌の 5000 ppm 群に投与に関連した白血球百分比の変化がみられ、リンパ球の増加と好中球の減少がみられた。病理学的には 1800 ppm 以上の雄および 5000 ppm の雌に肝臓の対体重比の有意な増加、1800 ppm 以上の雌に子宮硬化の増加、5000 ppm 群の雌雄に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大と好酸性変異肝細胞巢の増加、5000 ppm 群の雄に精囊および包皮腺の分泌活性低下、5000 ppm 群の雌に肝細胞腫瘍の軽度な増加 (腺腫または癌) と卵巣の活性低下がみられた。200 ppm 群には検体の投与に関連した影響はみられなかった。従って、無毒性量は雌雄とも 200 ppm (雄 : 37 mg/kg/day、雌 : 52 mg/kg/day) と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

⑮ 繁殖性試験

ラットを用いた繁殖試験

(資料No.毒A23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997年

検体の純度：

供試動物：Wistar系 (Chbb：THOM(SPF)) ラット、1群雌雄各25匹、投与開始時7週齢

投与期間：P世代；投与開始からF1b児離乳までの約33週間、

F1世代；離乳時からF2児離乳時まで約26週間、

F2世代；離乳時まで（離乳時に屠殺）

(1994年6月09日～1995年4月11日)

投与方法：検体を0、100、500、2500 ppm含有した飼料を自由に摂取させた。

投与量設定根拠：

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

一般状態および死亡率；全動物の全検査期間にわたり一般状態および生死を毎日観察した。

交配および妊娠の確認；交配は、雄雌1対1で同居させ、翌日の膣栓あるいは精子により交尾を確認し、この日を妊娠0日とした。妊娠の確認は出産をもって行った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

世代		期間 (週間)	作業手順	試験項目	
親	児				
P	F1a	生育 (10 週)	雌雄 1 : 1 で交配。交配は出産で確認 (妊娠 0 日)	体重、餌を週 1 回測定	
		交配 (最大 3 週)		交配状況の観察	
		妊娠 (3 週)		妊娠 0、7、14、20 日目に体重を測定 餌を妊娠 0~20 日まで毎日測定	
		出産 ----- 哺育 (3 週)		出産状況の観察 新生児数、死産児数、外表異常、性別および同腹生存児体重測定。 母動物の出産後 1、4、7、14、21 日目に 体重、出産後 1~14 日目に餌を毎日測定。 出生後 0、4、7、14、21 日目に生存児数、 児動物体重測定。 なお、途中死亡および 4 日目屠殺の新生 児について異常の検査 児動物の肉体的発育および反射に関する 検査を随時実施	
		離乳 -----	F1 親のための継代用に各群雌雄 25 匹ずつ を 25 腹から無作為に選抜	継代用以外の児動物は屠殺後、肉眼的病 理検査	
	F1	F1b	交配 (最大 3 週)	(F1a に準ずる)	(F1a に準ずる)
			妊娠 (3 週)		
			出産 ----- 哺育 (3 週)		
			離乳 -----	各群雌雄 12 匹の親動物について血液検 査、生化学検査を実施。全親動物の肉眼 的病理検査、対照群と高用量群について 主要組織の組織学的検査 (肝臓と腎臓は 全群)。 全ての児動物を屠殺し、肉眼的病理検査	
	F2	F2	生育 (14 週)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
交配 (最大 3 週)					
		妊娠 (3 週)	(P 世代に準ずる)		
		出産 ----- 哺育 (3 週)			
		離乳 -----	(F1 世代に準ずる)	(F1 世代に準ずる)	
			(F1 世代に準ずる)		



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠および哺育期間の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{雄（雌）の交配率（\%）} = \frac{\text{交配が確認された雄（雌）の数}}{\text{雌（雄）と同居させた雄（雌）の数}} \times 100$$

$$\text{雄の生殖率（\%）} = \frac{\text{生殖能が証明された雄の数}}{\text{雌と同居させた雄の数}} \times 100$$

$$\text{雌の生殖率（\%）} = \frac{\text{妊娠した雌の数}}{\text{交配した雌の数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率（\%）} = \frac{\text{出産日に生存仔を持っていた雌の数}}{\text{妊娠した雌の数}} \times 100$$

$$\text{生存出産率（\%）} = \frac{\text{出産日における生存仔の数}}{\text{誕生した仔動物の総数}} \times 100$$

$$\text{生存率（\%）} = \frac{\text{生後4日目（調整前）における生存仔数}}{\text{誕生の日における生存仔数}} \times 100$$

$$\text{哺育率（\%）} = \frac{\text{生後21日目における生存数}}{\text{生後4日目（調整後）における生存仔数}} \times 100$$

$$\text{性比} = \frac{\text{生後0または21日目に生存雄または雌の数}}{\text{生後0または21日目における雌雄の生存仔数}} \times 100$$

病理組織学的検査；各世代の雌雄の親動物を対象にして、肝臓および腎臓は、全群の全動物について、膈、子宮頸管、子宮、卵巣、卵管、下垂体、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、凝固腺は、対照群と高用量（2500 ppm）群について病理組織学的観察を行った。尚、肉眼的異常の見られた組織／臓器についても標本を作製し同様に鏡検した。更に、不妊の動物も、上記の全ての臓器について病理組織検査を行った。

結果：概要を次々頁以降の表に示した。

[親世代の死亡／症状] 検体投与に起因した臨床症状および死亡は、P 世代および F1 世代の親動物におけるいずれの投与群にも観察されなかった。

[親世代の体重] P および F1 親世代の生育期間および妊娠期間で有意な体重増加抑制が 2500 ppm 群で認められた。F1 児のための P 世代の妊娠期間において、低および中用量群（100 および 500 ppm）で統計学的に有意な体重増加抑制が認め

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

られたが、生物学的変動の範囲内であり、検体投与に起因するものではないと考えられる。

[摂餌量] 摂餌量では、2500 ppm 群において P 世代の交配前、妊娠期間および哺育期間で、軽度に減少し、時折統計学的有意差が認められた。F1 世代の親動物でも 2500 ppm 群の交配前で雌雄ともに、また妊娠・哺育期間で軽度に減少した。100 および 500 ppm 群で散見された摂餌量の統計学的有意差は、この摂餌量の変化が体重に影響を及ぼしていないことから、全て偶発的なものと考えられる。

[臨床検査] F1 親動物の 2500 ppm 群の雌雄と 500 ppm 群の雌で軽度であるが、有意な総白血球数の増加が認められた。この変化の機序を説明する他の所見はみられなかったが、投与に関連するものと判断される。

P 世代の親動物で、ALT の有意な減少が全投与群の雌雄に、クレアチニンの有意な増加が全投与群の雄と 2500 ppm の雌で認められた。また、2500 ppm 群の雄でアルブミンが有意に増加し、雌で総ビリルビンと総コレステロールが有意に増加した。また、F1 親動物では、クレアチニンの増加が 500 と 2500 ppm 群の雄と 2500 ppm 群の雌でみられ、アルブミンの増加が 2500 ppm 群の雄で、ALT と総ビリルビンの増加が 2500 ppm 群の雌で認められた。

P 世代の ALT の変化は、投与量との関係が明確でないことと、対応する変化が F1 親に見られないこと、更に全て背景データ（8 試験での範囲は雄で 0.92-1.26、雌で 0.80-0.98  $\mu$  kat/L）の範囲内であって、全て軽微で一貫性がないことから、偶発的なものと考えられる。クレアチニンおよび総ビリルビンの変化は、別分析法（それぞれ、酵素 UV 法；酵素比色法と HPLC 法）により、これらの変化が、検体またはその代謝物による分析上の妨害に起因するものであることが判明し、毒性学的／生物学的に意味のないものであった。2500 ppm 群の P および F1 親動物の雄におけるアルブミン値の増加は、投与に関連するものと考えられる。P 世代の雌の 2500 ppm 群における総コレステロール値の増加は、肝機能の弱い傷害を示すもので、トリグリセリドの減少とともに、検体投与によるものと考えられる。その他の項目における統計学的に有意な変化は、変化がごく軽度であることと、他の性には見られず一貫性がないことから、毒性学的に意味のないものと考えられる。

[病理所見] 2500 ppm 群でみられた腎臓（雌雄）と肝臓（雌）の平均重量の有意な減少、精巣および精巣上体の有意な対体重比の増加に対し、これに関連した病理組織学的所見は認められなかった。最終体重に影響があった動物において、雌雄の最終体重の有意な減少が、これらの重量を直接的（腎臓の重量）に、または間接的（精巣、精巣上体の対体重比）に影響したものと考えられる。その他の統計学的な有意差は、投与量との関係がないことから偶発的なものと判断された。生殖系臓器を含むいずれの臓器にも、検体投与に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

[繁殖成績] 親動物の交配能力および生殖能力では、各世代、各交配で一定した変化はみられず、検体投与による影響はないと考えられる。

[児動物への影響] P 世代の母動物から出産された F1a 児数の平均値に、2500 ppm 群において統計学的に有意な低下が認められた（対照群の 14.5 に対して 11.5）。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

これに関しては、以下の理由から検体投与の関連性が否定された：(1) 平均値の低下は、主に3匹だけの母動物に起因するものであり、また、値は背景データ(11.1~16.4)の範囲内である。(2) 同じ母動物の2回目の出産(F1b)で、同様の変化がみられていない。(3) 2代目の親動物(F1)においても、2500 ppm群で統計学的に有意な減少は認められていない。(4) 以前に実施した用量設定試験で、本試験の高用量に類似した2000 ppmで、出産児数の減少はみられなかった。

F1a、F1bおよびF2児の雌雄における体重/体重増加量が、2500 ppm群で有意に減少した。これに対応する変化として、F2児で発育の遅れ(眼瞼開裂の遅れ)が、観察された。F1b児の耳管開口の時期が500と2500 ppm群で有意な遅れとして示されたが、用量相関がなく(Cochran-Armitage test:  $p = 0.255$ )、また、全く背景データ(81~100%)の範囲内であったことから偶発的なものと判断される。

新生児の外表観察および剖検では、投与に関連する一定した変化は認められず、発生した全ての異常は、偶発的なものと考えられる。

児動物の生存率において、F1aとF2児のそれぞれ500 ppmと100 ppmの生存率が有意に低下したが、いずれも生物学的変動の範囲内であり用量相関もない(Cochran-Armitage test、F1a:  $p = 0.415$ 、F2:  $p = 0.698$ )ことから検体投与とは関連はなく、偶発的なものと考えられる。

以上の結果より、2世代にわたって本剤を飼料に混入して投与した場合、P世代の2500 ppm群の雌雄とF1世代の2500 ppm群の雄およびF1世代の500 ppm群の雌に体重増加抑制が、また、F1a、F1bおよびF2児動物に対しては、2500 ppm群で体重増加抑制が認められた。繁殖能に対しては何ら影響はなかった。

したがって、P世親動物および児動物の無毒性量(NOEL)は、雌雄500 ppm(雄50.9 mg/kg、雌54.7 mg/kg)、F1世親動物および児動物の無毒性量(NOEL)は、雄500 ppm(50.3 mg/kg)、雌100 ppm(11.0 mg/kg)と判断される。繁殖機能については、いずれの世代の動物にも毒性的影響が認められなかったことから、無毒性量(NOEL)は2500 ppm(約268 mg/kg)と判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

世代		親 : P				親 : P				親 : F1			
		児 : F1a		児 : F1b		児 : F2							
投与量 (ppm)		対照群	100	500	2500	対照群	100	500	2500	対照群	100	500	2500
動物数	♂	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
	♀	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
親動物	一般状態												
	死亡数					♂1							
	体重 (g) *												
	(生育期間) ♂1週	185.9	188.3	184.8	↓177.2	—	—	—	—	146.7	151.7	147.0	↓130.2
	10週	430.7	↑452.9	442.2	↓405.8	—	—	—	—	420.6	429.9	432.0	↓373.7
	20週	—	—	—	—	497.0	523.2	508.0	↓463.0	506.8	519.7	525.1	↓450.4
	29週	—	—	—	—	545.3	572.4	555.0	↓507.8	—	—	—	—
	♀1週	145.0	144.2	145.8	140.8	—	—	—	—	125.0	126.8	127.5	120.4
	10週	260.6	260.5	263.9	↓245.6	—	—	—	—	261.8	261.9	267.7	↓244.2
	19週	—	—	—	—	301.9	303.1	305.7	↓280.2	—	—	—	—
	(妊娠期間) 0-20日	131.6	119.7	119.9	↓105.3	134.6	↓120.2	↓121.1	↓110.5	112.7	110.6	109.8	↓90.1
	(哺育期間) 1-21日	17.0	14.3	9.5	18.7	5.2	-1.2	3.7	8.7	7.5	3.9	4.2	12.3
	摂餌量 (g) *									生育期間 : 14週間 (0-14週)			
	(生育期間) ♂0-10週	27.9	28.8	28.3	26.7	—	—	—	—	27.9	28.6	28.6	26.5
	♀0-10週	20.8	21.2	21.0	20.0	—	—	—	—	21.8	21.5	22.0	20.3
	(妊娠期間) 0-20日	25.9	26.0	25.9	24.6	26.4	26.7	26.1	24.6	25.9	25.6	26.2	24.1
	(哺育期間) 1-14日	51.8	48.1	48.7	46.3	54.3	49.6	50.6	49.9	49.4	46.2	47.1	40.0
	検体摂取量 (mg/kg)												
	♂	0.0	10.2	50.9	253.1	—	—	—	—	0.0	10.0	50.3	266.9
	♀	0.0	11.2	54.7	273.8	—	—	—	—	0.0	11.0	55.3	278.0
血液検査 *													
白血球数 (♂)	—	—	—	—								↑(121)	
(♀)	—	—	—	—								↑(122) ↑(123)	
血液化学検査 *													
ALT (♂)	—	—	—	—		↓(84)	↓(84)	↓(81)					
(♀)	—	—	—	—		↓(88)	↓(79)	↓(85)				↑(121)	
クレアチニン (♂)	—	—	—	—		↑(107)	↑(113)	↑(118)			↑(111)	↑(119)	
(♀)	—	—	—	—				↑(110)				↑(111)	
アミノアシム (♂)	—	—	—	—				↑(105)				↑(108)	
マグネシウム (♂)	—	—	—	—				↑(111)					
カルシウム (♀)	—	—	—	—						↑(104)		↑(103)	
総ビリルビン (♀)	—	—	—	—				↑(145)				↑(163)	
トリグリセリド (♀)	—	—	—	—				↓(48)					
総コレステロール (♀)	—	—	—	—				↑(127)					
臓器重量 *													
腎臓 (♂) 重量	—	—	—	—				↓(94)				↓(88)	
体重比	—	—	—	—							↓(94)	↓(83)	
腎臓 (♀) 重量	—	—	—	—				↓(89)				↓(83)	
体重比	—	—	—	—			↓(95)	↓(96)				↓(89)	
肝臓 (♀) 重量	—	—	—	—						↓(92)		↓(89)	
体重比	—	—	—	—						↓(95)		↑(110)	
精巣 体重比	—	—	—	—								↑(110)	
精巣上体 重量	—	—	—	—						↑(106)			
体重比	—	—	—	—								↑(112)	

有意差あり、↑↓ :  $p \leq 0.05$ 、↑↑↓↓ :  $p \leq 0.01$ 、\* : Dunnett's test

( ) 内の数値は、対照群を 100 とした場合の値。空白は、0 (ゼロ) か異常なしを示す。— : 測定せず/該当するデータなし。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

世代		親 : P				児 : F1a				親 : P				児 : F1b				親 : F1				児 : F2			
投与量(ppm)		対照群	100	500	2500	対照群	100	500	2500	対照群	100	500	2500	対照群	100	500	2500	対照群	100	500	2500				
動物数	♂	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25			
	♀	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25			
親動物	肉眼的病理検査																								
	病理組織学的検査																								
	交尾率 (%) <sup>1</sup>																								
	♂	100	100	100	100	96	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
	♀	100	100	100	100	96	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100			
	生殖率 (%) <sup>2</sup>																								
	♂	92	92	92	100	92	100	96	100	92	96	96	100	92	96	96	96	92	96	96	96	96			
	♀	92	92	92	100	96	100	96	100	92	96	96	100	92	96	96	96	92	96	96	96	96			
妊娠率 (%) <sup>3</sup>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100				
生存児出産率 (%) <sup>3</sup>	94	97	98	98	96	96	94	98	99	97	97	97	97	99	97	97	97	97	97	97	97				
妊娠期間 (日) <sup>*</sup>	21.9	21.9	22.1	22.0	21.9	22.0	22.0	22.0	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1	22.1				
検査動物数 (腹数)		23	23	23	25	23	25	24	25	23	24	24	24	23	24	24	24	23	24	24	24	24			
親動物	新生児総数	334	290	291	287	346	324	332	350	286	285	291	238												
	(平均値) <sup>*</sup>	(14.5)	(12.6)	(12.7)	↓(11.5)	(15.0)	(13.0)	(13.8)	(14.0)	(12.4)	(11.9)	(12.1)	(9.9)												
	死産児数	20	9	6	7	15	14	20	8	4	9	10	8												
	性比 (♂%) <sup>1</sup>	53.5	48.0	49.1	56.8	50.2	56.5	50.3	51.5	58.2	52.5	49.5	49.6												
	外表異常 (%) <sup>1</sup>																								
	切歯の傾斜	1.8	1.7	1.7		1.2	0.6	0.6		0.4	0.7	2.1	0.4												
	切歯の癒合								0.3																
	臍帯ヘルニア	0.4		0.4	0.4						0.4	0.3	0.9												
	無眼球症					0.3																			
	小眼球症										0.4														
	曲尾																					0.4			
	全身水腫																					0.3			
	同腹生存児体重 (g)																								
	* (♂)																								
	1日	6.5	6.7	6.6	6.6	6.7	6.8	6.6	6.4	6.6	6.5	6.6	6.4												
4日 (調整後)	9.2	9.8	9.4	9.6	9.5	9.7	9.5	9.0	9.7	9.5	9.6	9.3													
7日	15.0	15.9	15.2	15.2	15.3	15.4	15.3	14.6	15.3	14.9	15.4	14.3													
14日	31.3	31.2	31.2	30.2	31.3	30.6	30.5	↓29.3	30.7	29.2	30.1	↓27.5													
21日	52.2	51.9	51.8	↓48.3	50.6	49.5	49.7	↓46.3	50.4	48.3	49.8	↓44.9													
(♀)																									
1日	6.2	6.3	6.2	6.3	6.3	6.5	6.2	6.1	6.2	6.3	6.3	6.1													
4日 (調整後)	8.8	9.3	9.0	9.3	9.1	9.4	8.9	8.5	9.1	9.3	9.3	8.7													
7日	14.6	15.0	14.7	14.8	14.7	14.8	14.4	13.8	14.4	14.5	14.9	13.3													
14日	30.9	30.2	30.4	29.5	30.4	29.7	29.2	↓27.9	29.3	28.5	29.6	↓26.5													
21日	50.4	48.9	49.3	↓46.5	48.5	47.2	46.6	↓43.8	47.5	46.3	47.7	↓42.5													
生存率 (%) <sup>1</sup> 0-4日	96	93	↓90	96	97	98	96	97	95	↓90	96	94													
4-21日	99	100	99	100	99	99	99	99	100	99	99	99													
(哺育率)																									
生存児発育検査 (%) <sup>5</sup>																									
耳介開展	89.2	94.9	94.8	97.9	97.1	95.5	95.7	88.8	98.5	98.7	97.7	94.5													
耳管開口	95.7	100	96.3	98.5	100	97.5	↓96.9	↓98.5	99.5	99.0	97.9	93.8													
眼瞼開裂	95.1	95.1	98.8	91.5	93.5	98.0	97.4	94.0	97.8	99.5	99.5	↓82.3													
肉眼的病理検査 (%) <sup>1</sup>																									
水尿管	1.1		0.4																						
腎盂拡張	3.2	1.3	2.2	0.4	0.9	0.9	1.2	0.9				0.3													
病理組織学的検査																									

有意差あり、↓ : p ≤ 0.05、↓↓ : p ≤ 0.01、↑ : Fisher's test、\$ : Wilcoxon test、\* : Dunnett's test  
空白は、0 (ゼロ) か異常なしを示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

⑩ 催奇形性試験

1) ラットにおける催奇形性試験

(資料 No. 毒 A24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

供試動物：Wistar 系 (Chbb : THOM (SPF)) 妊娠ラット (11 から 12 週齢)、1 群 25 匹

試験期間：器官形成期間 10 日間投与

(1993 年 10 月 13 日実験開始～11 月 4 日解剖終了)

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、40、120、360 mg/kg/day の投与レベルで、妊娠 6 日から 15 日目 (臆内に精子を確認した日を妊娠 0 日) までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様にして投与した。

試験を開始する前に、使用した検体懸濁液分析を行い、室温での 14 日間の安定性および懸濁液中での均一性を確認した。

投与量設定の根拠：

観察・検査項目：

親動物；一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、1、3、6、8、10、13、15、17、20 日に体重を測定した。摂餌量は、妊娠 0 日を除いて体重測定と同日に測定した。妊娠 20 日目に屠殺して帝王切開し、妊娠子宮、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を記録した。

生存胎児；性別の判定、体重測定および外表異常の観察を行った。各同腹仔群の約 1/2 の生存胎児については骨格標本作製し、骨格の異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

結 果：概要を次頁以降に示した。

高用量群 (360 mg/kg/day) で、対照群に比べ母獣の明らかな体重増加抑制、摂餌量の減少および妊娠子宮重量の低下がみられ、また有意な死亡・吸収胚数の増加、生存胎児数の減少、平均胎児重量の低下が認められた。120 および 40 mg/kg/day 群では、母獣および着床所見に有意な検体投与による影響は認められなかった。

胎児観察においては、外表奇形として 360 mg/kg/day 群で 2 例のひも状の尾を持つ胎児が観察された。同様の奇形 (無尾) が生産所において低頻度で認められるが、異なった母獣から 2 例みられたことと、試験実施施設の背景データにない異常であることから、検体投与による異常であることは否定できない。また、内臓観察で、投与群の数例に心臓の奇形が観察された。低用量 (40 mg/kg) 群と中用量 (120 mg/kg) 群の発生率 (各 0.6%) は、明らかに背景データ [0.08% (0~1.2%)] の範囲内であったが、360 mg/kg/day 群における左右心室の拡張 (球状心) の発生率 2.0% は、背景データの範囲外であり、検体投与との関連性について確実性をもって否定することはできない。内臓変異として、水尿管の発生が 120 と 360 mg/kg/day 群で有意に増加した (それぞれ 5.6 と 6.7%)。しかし、これらの発生率が背景データ [4.9% (0~17.9%)] の範囲内であり、また総内臓変異発生率に用量相関がみられなかった (Cochran-Armitage 検定、 $p=0.331$ ) ことから、これらの有意な増加は、対照群の比較的 low 発生によるもので検体投与とは関連しないものと考えられる。骨格観察においては、胸骨、脊柱、肩甲骨あるいは頭蓋骨の各種の奇形が各群に観察された。これらの発生率に統計学的有意差はみられなかったが、360 mg/kg/day 群における総骨格奇形の母獣発生率 (46%) が、背景データ (4.3~43%) をわずかに上回っている。したがって、このわずかな骨格奇形の増加は検体投与に起因する可能性が考えられる。また、骨格変異として、頸肋骨の有意な増加が、3 つの全ての投与群で有意に増加した。40 および 120 mg/kg/day 群の発生率 (2.4 および 4.5%) は、対応する背景データ [2.6% (0~6.3%)] から、明らかに偶発的と考えられるが、360 mg/kg/day 群における発生率 14.0% は、検体投与に起因するものと考えられる。更に、胎児骨格の化骨遅延が、各群において頭蓋骨、胸骨および脊柱で観察された。360 mg/kg/day 群においては明確に、120 mg/kg/day 群でも胸骨に有意な化骨遅延が示され、両群の平均胎児重量減少を反映する結果であった。40 mg/kg/day 群における胸骨の化骨遅延における有意差には、生物学的な意味はないものと判断される。

以上の結果から、母獣に対する無毒性量 (NOAEL) は 120 mg/kg/day、胎児に対しての無毒性量 (NOAEL) は 40 mg/kg/day である。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	40	120	360
1群当たりの動物数		25	25	25	25
親動物	一般状態				
	死亡数 (率)				
	体重変化 (g) 0 - 6日	29.5	31.0	29.1	28.7
	6 - 15日	46.9	45.4	45.5	↓ 39.9
	15 - 20日	72.6	71.2	73.8	66.8
	0 - 20日	149.0	147.6	148.4	135.4
	摂餌量(g) 6-8日	25.9	25.7	25.2	↓ 23.6
	妊娠数 (%)	23 (92)	24 (96)	23 (92)	24 (96)
	剖検所見 肺：浮腫 (%)	2 (8.0)	3 (12.0)	2 (8.0)	
	子宮留水症 (%)		1 (4.0)	1 (4.0)	1 (4.0)
着床所見	検査動物数 <sup>s</sup>	23	24	23	24
	平均黄体数	16.7	15.9	17.1	16.2
	平均生存胎児数 (%)	13.7 (92.4)	14.3 (91.4)	14.6 (91.8)	↓ 13.1 (84.2)
	平均吸収胚数 (%)	1.0 (7.6)	1.4 (12.4)	1.2 (7.9)	↑ 2.5 (15.8)
	平均着床前胚死亡率%	11.9	1.4	7.6	3.5
	平均着床後胚死亡率%	7.6	12.4	8.2	15.8
	平均胎児重量 (g) <sup>s</sup> ♂	3.9	3.9	3.7	↓ 3.5
♀	3.7	3.7	3.6	↓ 3.3	
平均胎盤重量 <sup>s</sup>		0.43	0.43	0.41	↓ 0.39
性比% (♂)		51.6	50.2	50.0	50.3
外表所見	検査胎児数	316	329	336	314
	ひも状の尾				2 (0.6)
	胎盤の癒合	1 (0.3)	1 (0.3)		1 (0.3)
内臓所見	検査胎児数	152	162	161	149
	[奇形]				
	左右心室の拡張			1 (0.6)	3 (2.0)
	右心室の拡張		1 (0.6)		
	右胸心			1 (0.6)	
	[変異]				
	腎盂の拡張	43 (28)	60 (37)	61 (38)	50 (34)
	水尿管	1 (0.7)	4 (2.5)	↑ 9 (5.6)	↑ 10 (6.7)
《総変異胎児数》 <sup>†</sup>		43 (28)	60 (37)	61 (38)	50 (34)

<sup>s</sup> Dunnett-test、↑↓ :  $p \leq 0.05$ 、↓ :  $p \leq 0.01$  胎児異常は Wilcoxon-test、↑ :  $p \leq 0.05$

<sup>†</sup> Chochran-Armitage 傾向検定で有意差なし

空欄は正常あるいは該当する動物なしを意味する。( ) 内の数値は全体数に対する%



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	40	120	360
1群当たりの母動物数		23	24	23	24
胎 仔 動 物 見	検査胎児数	164	167	175	165
	[奇形]				
	上顎骨の変形		1 (0.6)		
	胸椎椎体亜鈴型 (非対称性)	8 (4.9)	7 (4.2)	9 (5.1)	10 (6.1)
	胸椎椎体の分離 (非対称性)	2 (1.2)			3 (1.8)
	腰椎椎体亜鈴型 (非対称性)				1 (0.6)
	腰椎椎体の分離 (非対称性)				1 (0.6)
	腰椎癒合と変形		1 (0.6)		
	腰椎椎骨欠損			1 (0.6)	
	仙椎椎骨欠損				2 (1.2)
	尾椎椎弓欠損			1 (0.6)	
	尾椎椎骨欠損				2 (1.2)
	肩甲骨変形		1 (0.6)		
	胸骨分節の分離、変位			2 (1.1)	
	腸骨の変形		1 (0.6)		
	《総骨格奇形胎児数》	9 (5.5)	8 (4.8)	12 (6.8)	14 (8.5)
	《総骨格奇形母獣数》	8 (35)	7 (30)	10 (43)	11 (46)
	[変異]				
	胸骨変形	63 (38)	78 (47)	76 (43)	70 (42)
	13肋骨の短小	18 (11)	26 (16)	26 (15)	8 (4.8)
	痕跡頸肋骨		↑ 4 (2.4)	↑ 8 (4.5)	↑ 23 (14.0)
	《総骨格変異胎児数》	80 (49)	93 (56)	96 (55)	83 (50)
	[化骨遅延]				
	頭蓋骨の不完全化骨	1 (0.6)	2 (1.2)	2 (1.1)	↑ 8 (4.8)
	舌骨の未化骨		↑ 3 (1.8)		
	胸椎椎体の不完全化骨	18 (11)	18 (11)	27 (15)	↑ 34 (21)
	胸骨分節の未化骨	8 (4.9)	↑ 23 (14)	↑ 38 (22)	↑ 83 (50)
胸骨分節の不完全化骨 または矮小化	51 (31)	61 (37)	↑ 86 (49)	↑ 98 (59)	
胸骨分節中心の単一化骨	23 (14)	22 (13)	24 (14)	↑ 48 (29)	
《総化骨遅延胎児数》	103 (63)	110 (66)	134 (76)	↑ 158 (96)	

Wilcoxon-test、↑ :  $p \leq 0.05$ 、↑↑ :  $p \leq 0.01$

空欄は該当する動物なしを意味する。( ) 内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

2) ラットにおける催奇形性試験 (追加試験)

(資料 No. 毒 A25)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体の純度:

供試動物: Wistar 系 (Chbb: THOM (SPF)) 妊娠ラット (約 13 週齢)、1 群 25 匹

投与期間: 器官形成期間 10 日間投与

(1996 年 4 月 16 日実験開始~5 月 9 日解剖終了)

試験の目的: 先に実施したラットの催奇形性試験 (投与量: 0、40、120、360 mg/kg/day) での NOAEL (40 mg/kg/day) をより確実なものとするために実施。

投与方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、10、20、40 mg/kg/day の投与レベルで、妊娠 6 日から 15 日目 (膈内に精子を確認した日を妊娠 0 日) までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様にして投与した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

親動物: 一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、1、3、6、8、10、13、15、17、20 日に体重を測定した。摂餌量は、妊娠 0 日を除いて体重測定と同日に測定した。妊娠 20 日目に屠殺して帝王切開し、妊娠子宮、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を記録した。

生存胎児: 性別の判定、体重測定および外表異常の観察を行った。各同腹仔群の約 1/2 の生存胎児については骨格標本作製し、骨格の異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

結果: 概要を次々頁以降に示した。

投与に関係のない対照群の母獣が 1 匹、妊娠 11 日目に死亡した。剖検時に膀胱炎の徴候を示したが、確かな死因は不明である。

高用量群 (40 mg/kg/day) の妊娠 6 日から 15 日目までの投与期間における体重増加量で、対照群に比べて統計学的に有意な減少が認められた。しかし、この減少は、この群の 1 匹の母獣が 1 例のみの生存胎児を有していたために起きたものであり、また、前回の試験において 120 mg/kg/day 投与群でも投与に関係

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

した体重への影響は見られなかった。したがって、今回のこの体重増加量における統計学的有意差は、検体投与に関連するものではないと考えられる。

各投与群間に、生存胎児数、胎児重量、胎盤重量、性比において、検体投与による変化は認められなかった。生存胎児の外表観察では、胎児の奇形あるいは変異は、対照群を含め全く観察されなかった。内臓観察では、3例の奇形（対照群の1匹に球状心と単葉肺、40 mg/kg/day 群に大動脈位置異常）が観察されたが、いずれも投与に関連するものではなかった。また、内臓変異として、腎盂拡張と水尿管が各投与群で比較的多数発生したが、いずれの群にも統計学的有意差は認められなかった。

骨格観察において、胸骨、後肢および脊柱に数種の奇形が観察されたが、検体投与と関連するものは認められなかった。ただし、10 mg/kg/day 群で総骨格奇形数（比と腹当たりの異常胎児数）の統計学的な有意な増加がみられた。しかし、この増加は、10 mg/kg/day 群のみで20 mg/kg/day 群および40 mg/kg/day 群ではみられないことと、試験施設の背景データの範囲内（0.0～8.7%）であったことから、偶発的なものと考えられる。骨格変異および化骨遅延が、対照群を含め各投与群で観察されたが、投与に関連する発生の増加はみられなかった。

以上の結果から、本試験の条件下では母獣および胎児に対する無毒性量（NOAEL）は、40 mg/kg/day であり、前回の試験における胎児の変化が、自然発生的なものであることが確認された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	10	20	40	
1群当たりの動物数		25	25	25	25	
親	一般状態					
	死亡数 (率)	1 (4.0)				
	体重変化 (g) 0 - 6日	31.4	30.0	29.1	31.2	
	6 - 15日	44.6	44.6	45.2	↓39.5	
	15 - 20日	69.9	72.8	77.0	71.1	
	0 - 20日	146.4	147.4	151.2	141.7	
	摂餌量					
	妊娠数 (%)	24 (96)	23 (92)	23 (92)	25 (100)	
	動物	剖検所見 (%) 死後融解	1 (4.0)			
		膀胱拡張、血様内容	1 (4.0)			
物	検査動物数	23	23	23	25	
	着 <sup>S</sup> 平均黄体数	16.4	16.1	16.8	16.0	
	床 平均生存胎児数 (%)	14.4 (91.9)	14.3 (93.8)	14.8 (93.4)	13.5 (93.0)	
	所見 平均吸収胚数 (%)	1.2 (8.1)	0.9 (6.0)	1.0 (6.6)	1.0 (7.0)	
	平均着床前胚死亡率%	4.7	5.1	6.2	11.0	
	平均着床後胚死亡率%	8.1	6.2	6.6	7.0	
胎	平均胎児重量 (g) <sup>S</sup> ♂	3.8	3.8	3.8	3.7	
	♀	3.5	3.5	3.6	3.6	
	平均胎盤重量 <sup>S</sup>	0.42	0.43	0.42	0.43	
	性比% (♂)	55.4	51.8	51.8	53.3	
	外	検査胎児数	332	330	340	338
		胎盤の癒合	1 (0.3)		2 (0.6)	2 (0.6)
		胎盤:生理的組織変性		1 (0.3)		
	仔	検査胎児数	159	158	166	161
		[奇形]				
		大動脈位置異常				1 (0.6)
球状心		1 (0.6)				
単葉肺		1 (0.6)				
《総内臓奇形胎児数》		1 (0.6)			1 (0.6)	
[変異]						
腎盂の拡張		14 (8.8)	11 (6.9)	14 (8.4)	14 (8.7)	
水尿管	1 (0.6)	2 (1.3)		1 (0.6)		
動	物					

S : Dunnett-test、↓ :  $p \leq 0.05$ 、胎児異常は Wilcoxon 検定で、有意水準は  $p \leq 0.05$   
 空欄は正常あるいは該当する動物なしを意味する。( ) 内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	10	20	40
1群当たりの検査母動物数		23	23	23	25
胎 仔 動 物	検査胎児数	173	172	174	177
	[奇形]				
	頸椎椎体欠損		1 (0.6)		
	仙椎の癒合・変形		1 (0.6)		
	仙椎椎骨欠損		1 (0.6)		
	尾椎の癒合・変形		1 (0.6)		
	胸骨分節の分離、変位	1 (0.6)	4 (2.3)		
	指骨の欠損 (後肢)				1 (0.6)
	《総骨格奇形胎児数》	1 (0.6)	6 (3.5)		1 (0.6)
	《平均骨格奇形胎児数》	0.7	↑ 3.4		0.5
	[変異]				
	頭頂骨・頭頂間骨間の 過剰骨		2 (1.2)		1 (0.6)
	過剰腰椎				1 (0.6)
	胸椎の変形	59 (34)	↑ 77 (45)	61 (35)	49 (28)
	胸椎分節の分離	4 (2.3)	4 (2.3)	3 (1.7)	3 (1.7)
	13 肋骨の短小	31 (18)	21 (12)	21 (12)	35 (20)
	痕跡頸肋	4 (2.3)	8 (4.7)	3 (1.7)	3 (1.7)
	過剰 14 肋骨	2 (1.2)	2 (1.2)	1 (0.6)	
	《総骨格変異胎児数》	83 (48)	96 (56)	79 (45)	75 (42)
	[化骨遅延]				
	頭頂骨・頭頂間骨の 不完全化骨	13 (7.5)	9 (5.2)	15 (8.6)	7 (4.0)
	舌骨の不完全化骨	4 (2.3)		3 (1.7)	2 (1.1)
	胸椎椎体の垂鈴型	47 (27)	35 (20)	35 (20)	39 (22)
	胸椎椎体の分離	1 (0.6)	2 (1.2)	2 (1.1)	1 (0.6)
	胸椎椎体の不完全化骨	26 (15)	23 (13)	22 (13)	19 (11)
	胸骨の未化骨	22 (13)	21 (12)	26 (15)	24 (14)
胸骨分節の不完全化骨	52 (30)	59 (34)	66 (38)	67 (38)	
《総化骨遅延胎児数》	116 (67)	105 (61)	127 (73)	125 (71)	

Wilcoxon-test、↑ :  $p \leq 0.05$

空欄は該当する動物なしを意味する。( ) 内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

3) 本試験と追加試験のまとめと結論

(資料 No. 毒 A26)

報告書作成年：1997年

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

4) ラットにおける催奇形性試験 (再試験)

(資料 No. 毒 A27)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体の純度:

供試動物: Crj: Wistar 系 (SPF) 妊娠ラット (12 から 13 週齢)、1 群 25 匹

投与期間: 器官形成期間 10 日間投与

(1999 年 1 月 4 日実験開始~2 月 11 日解剖終了)

試験の目的: 既に実施したラットの催奇形性試験で認められた胎児の異常 (尾の異常、頸肋骨) を再確認するために、前回と同様な試験設計にて再試験を実施した。

投与方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、40、120、360 mg/kg/day の投与レベルで、妊娠 6 日から 15 日目 (臍内に精子を確認した日を妊娠 0 日) までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様にして投与した。

試験開始時に、使用した検体懸濁液の分析を行い、22 日間の冷蔵保存安定性と懸濁液中での均一性を得た。

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

親動物: 一般症状および生死を毎日観察し、体重を妊娠 0、6、9、12、15、18、20 日に測定した。摂餌量は、妊娠 0 日を除いて体重測定と同日に測定した。妊娠 20 日目に屠殺し、妊娠子宮、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を記録した。

生存胎児: 性別の判定、体重測定および外表観察を行った。同腹の生存胎児を 2 群に分け、1 群を骨格の検査に、残りの 1 群を内臓検査に供した。

結果: 概要を後述以降に示した。

[母獣への影響]

高用量群 (360 mg/kg/day) に、体重増加抑制、摂餌量の減少、妊娠子宮重量の低下と平均胎児重量および平均胎盤重量の低下が対照群に比べて認められた。また、120 mg/kg/day 群に、平均胎児重量および平均胎盤重量の低下が認められた。しかし 40 mg/kg/day 群には、母獣および着床所見に検体投与による有意な影響は認められなかった。これらの影響は、前回実施した試験結果と同様な成績であった。

[胎児への影響]

外表所見

外表奇形として、尾に異常 (鎖肛を合併したひも状の尾または痕跡尾) が 360 mg/kg/day 群の 2 例 (0.6%) に観察され、前回の試験成績が再現された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

#### 内臓所見

内臓奇形として、肺の形成不全が 120 mg/kg/day 群の 1 例 (0.5%) に、内臓変異として、第三脳室拡張、胸腺頸部残留、腎盂拡張が各群に観察されたが、いずれも統計学的に有意な発生率ではなかった。

#### 骨格所見

骨格奇形として、肋骨の癒合と腰椎および仙・尾椎骨の欠損が 360 mg/kg/day 投与群に 1 例 (0.5%) ずつ観察された。腰椎および仙・尾椎骨の欠損は、外表観察で鎖肛と痕跡尾の合併を認めた胎児にみられた。

骨格変異では、総骨格変異発生率の増加が 360 mg/kg/day 投与群にみられた。胸椎々体分離と頸肋骨が同群にそれぞれ 3.3%と 24.7%みられたことによる増加であった。

頸肋骨は、40 および 120 mg/kg/day 投与群の母獣および胎児発生率には統計学的な有意差は認められなかったが、360 mg/kg/day 投与群で有意な増加を示したことから、投与に関連した変化と考えられた。

40 および 360 mg/kg/day 投与群の腰肋骨の発生率は、対照群の発生率と比較して有意な減少であった。これは、検体投与による何らかの影響とも考えられるが、腰肋骨という変異の発生が投与により減少する傾向にあり、360 mg/kg/day 投与群では一般に報告されている自然発生率の範囲内 (2.31%~4.70%) にあることから、毒性的には意味のないものと考えられた。なお、本試験における対照群および並行して実施した背景データのための試験における腰肋骨発生率 (23.6%および 23.2%) が、一般の背景データに比べ極めて高率であったことから、購入した動物が腰肋骨を高率に発生するコロニーであったものと推察された。

化骨遅延の所見として、胸骨の痕跡が、40 および 360 mg/kg/day 投与群で対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められたが、その発生率には、用量相関がみられなかった (Cochran-Armitage 検定、 $P = 0.199$ )。剣状突起の分岐にも、40 mg/kg/day 投与群に対照群と比較して統計学的に有意に増加したが、その発生率に、用量相関はみられなかった (Cochran-Armitage 検定、 $P = 0.170$ )。両所見ともに用量相関が認められなかったことから検体投与とは関連ないものと考えられた。

360 mg/kg/day 投与群の頸椎々体、胸骨、中手骨、前肢基節骨、中足骨、後肢末節骨、仙・尾椎骨の化骨数に、対照群と比較して統計学的な有意な減少が認められた。これらの化骨数の減少は、同群の胎児重量減少と一致した結果であり、検体投与による影響と考えられた。

360 mg/kg/day 投与群において、体重の増加抑制、摂餌量の減少、子宮重量の減少等の明らかな母獣への影響が認められた。これら母獣に対する影響は、前回試験と同様な成績であり再現性が確認された。

胎児への影響については、120 mg/kg/day 以上の投与群に平均胎児重量および胎盤重量の低下が認められた。360 mg/kg/day 投与群には、外表観察に前回実施した試験で認められた尾の奇形と同様な奇形 (痕跡尾とひも状の尾) が認められた。この奇形を常染色体性単純劣性遺伝と仮定した発生率の確率で、理論値に一致した発生である事が確認され、十分に自然発生の範囲内にあると考えられた。また、



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

並行して実施した背景データのための試験で痕跡尾が 1 胎児 (0.14%) に観察され、観察された尾の奇形は、テブラロキシジムの投与により特異的に引き起こされた奇形ではなく、通常観察される奇形であることが確認された。しかしながら、異なる 2 つの試験機関で全く同様な変化が認められていることを考慮すると、テブラロキシジムの投与により母獣に比較的強い毒性を発現させる条件下で、母体毒性を介した自然発生奇形の発生をわずかに増加させたと考えられる。

骨格観察では、検体投与に関連したと考えられる変異 (頸肋骨) の増加および平均胎児重量の低下に一致した化骨遅延が認められた。これら胎児に対する影響も、前回実施した試験結果と同様な成績であり再現性が確認された。

以上の結果から、前回の試験と同様に母獣に対する無毒性量 (NOAEL) は、120 mg/kg/day、胎児に対しての無毒性量 (NOAEL) は、40 mg/kg/day であることが確認された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	40	120	360	
妊娠動物/交配動物数 (%)		25/25 (100)	24/25(96)	25/25 (100)	23/25(92)	
親動物	一般状態					
	死亡数 (率)		1(4.0)投与済			
	体重変化 (g) <sup>S</sup> 0 - 6日	28.6	30.4	29.5	29.2	
	6 - 15日	48.8	45.4	44.0	▼ 33.5	
	15 - 20日	85.3	81.4	82.1	78.4	
	0 - 20日	162.7	157.2	155.6	↓ 141.1	
	摂餌量 <sup>S</sup>				↓ 12日	
	血液生化学検査 <sup>D</sup> Ch-E	805	858	900	↑ 1005	
	臓器重量 <sup>S</sup> 子宮 (g)	93.3	87.6	84.2	↓ 78.9	
	腎臓 右 (%)	0.3312	0.3329	0.3354	↑ 0.3355	
着床所見	検査動物数	25	23	25	23	
	平均黄体数	17.4	17.7	17.3	17.7	
	平均着床数	16.0	15.7	15.6	16.3	
	平均生存胎児数	15.8	15.2	15.0	15.7	
	平均着床前胚死亡率%	7.6	11.1	10.4	7.4	
	平均着床後胚死亡率%	1.6	2.9	3.9	3.8	
	胎児動物	平均胎児重量 (g) <sup>S</sup> ♂	3.88	3.85	↓ 3.65	↓ 3.20
	♀	3.69	3.64	↓ 3.47	↓ 3.05	
	平均胎盤重量 <sup>S</sup>	0.47	0.46	↓ 0.44	↓ 0.38	
	性比 (♂/♀)	1.0	0.8	1.1	0.9	
胎児動物	外表所見	検査胎児数	394	350	376	362
		ひも状の尾・鎖肛				1 (0.3)
		痕跡尾・鎖肛				1 (0.3)
		《総外表奇形胎児数》				2 (0.6)
胎児動物	内臓所見	検査胎児数	199	175	188	180
		[奇形]				
		肺の形成不全			1 (0.5)	
		[変異]				
		第三脳室拡張				1 (0.6)
		胸腺頸部残留	5 (2.5)	↓ 0 (0)	1 (0.5)	2 (1.1)
		腎盂の拡張	4 (2.0)	5 (2.9)	4 (2.1)	2 (1.1)
	《総変異胎児数》	9 (4.5)	5 (2.9)	5 (2.7)	5 (2.8)	

S : Scheffeの多重検定、 D : Dunnett test ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、▼ : p < 0.001  
 空欄は正常あるいは該当する動物なしを意味する。( )内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	40	120	360	
1群当たりの母動物数		25	23	25	23	
胎 児 動 物	骨 格	検査胎児数	195	175	188	182
		[奇形]				
		肋骨の癒合				1 (0.5)
		腰および仙・尾椎骨欠損				1 (0.5)
		《総骨格奇形胎児数》	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.1)
		[変異] <sup>U</sup>				
		頸肋骨	3 (1.5)	7 (4.0)	7 (3.7)	▲ 45 (24.7)
		胸椎々体分離		2 (1.1)		↑ 6 (3.3)
		胸骨分節の非対称性分離	4 (2.1)	4 (2.3)	↓ 0 (0)	2 (1.1)
		腰肋骨	46 (23.6)	↓ 14 (8.0)	20 (10.6)	▼ 7 (3.8)
	《総骨格変異胎児数》 <sup>C</sup>	58 (29.7)	47 (26.9)	41 (21.8)	↑ 76 (41.8)	
	動 所	[化骨遅延] <sup>U</sup>				
		胸骨の痕跡 <sup>†</sup>	16 (8.2)	↑ 28 (16.0)	27 (14.4)	↑ 24 (13.2)
		剣状突起の分岐 <sup>†</sup>	52 (26.7)	↑ 74 (42.3)	57 (30.3)	68 (37.4)
		《総化骨遅延胎児数》 <sup>C</sup>	64 (32.8)	▲ 89 (50.9)	75 (39.9)	↑ 86 (47.3)
		[化骨数] <sup>S</sup>				
		頸椎々体	3.31	3.11	2.83	↓ 1.31
	物 見	胸骨	5.77	5.66	5.58	↓ 4.63
		中手骨	7.88	7.96	7.90	↓ 7.47
		前肢基節骨	2.79	2.41	2.46	↓ 0.79
中手骨		8.93	8.60	8.69	↓ 8.03	
後肢末節骨		9.17	9.47	9.25	↓ 6.91	
仙・尾椎骨		8.57	8.37	8.47	↓ 7.73	
《総奇形数》						
《総奇形胎児数》		0 (0)	0 (0)	1 (0.3)	2 (0.6)	
《総奇形母獣数》	0 (0)	0 (0)	1 (4.0)	2 (8.7)		

U : Wilcoxon test, C :  $\chi^2$ 検定、S : Scheffeの多重検定

↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、▲▼ : p < 0.001

† : Cochran-Armitage 傾向検定で有意差なし

空欄は該当する動物なしを意味する。( )内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

5) ウサギにおける催奇形性試験

(資料 No. 毒 A28)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

供試動物：Himalayan 系 (Chbb：HM (交雑系)) 妊娠ウサギ (21 から 29 週齢)、1 群 15 匹

試験期間：器官形成期間 13 日間投与

(1993 年 11 月 8 日実験開始～12 月 21 日解剖終了)

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、20、60、180 mg/kg/day の投与レベルで、妊娠 7 日から 19 日目 (人工授精の日を妊娠 0 日) までの 13 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群には 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液のみを同様にして投与した。投与容量は、妊娠 7 日目の体重を基に 10 mL/kg とし、投与期間にわたり一定量を投与した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目：

親動物；一般症状および生死を毎日観察し、妊娠 0、2、4、7、9、11、14、16、19、21、23、25、29 日に体重を測定した。摂餌量は、全試験期間を通して毎日測定した。妊娠 29 日目にペントバルビタールの静脈内注射により屠殺して帝王切開を行い、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎児数を記録した。

生存胎児；剖検時に、体重を測定し外表異常の観察を行った。同時に胎盤、臍帯、胎膜、羊水の状態を観察するとともに胎盤重量を測定した。全生存胎児について CO<sub>2</sub> により屠殺後、腹腔・胸腔における臓器の形態的異常の観察と性別の判定を行

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

った。エタノール固定後脳の観察を行い、更に、骨格染色を施し骨格異常の有無を検査した。

結 果：概要を次頁以降の表に示した。

母獣の平均体重では、対照群と投与群の間に統計学的有意差は認められなかった。しかし、高用量群（180 mg/kg/day）における妊娠 14～16 日目の体重増加量では、対照群に比べ統計学的に有意な減少がみられた。投与期間（妊娠 7-19 日間）を通した体重増加量には、統計学的有意差はみられなかったが、対照群に対し約 91%の減少（5.7 g 対 63.3 g）であった。これは、摂餌量の減少（10-11 日、12-13 日）を伴っていることから検体投与の影響と考えられる。60 および 20 mg/kg/day 群における体重変化は、対照群と同等であった。母獣の剖検および帝王切開時の観察において、検体投与に関連する異常所見は、いずれの投与群にも観察されなかった。生存胎児数/死亡胎児数、黄体数、平均着床前（後）胚死亡率など検体投与に起因する影響は認められなかった。

平均胎児重量、胎盤重量および性比に各試験群間で有意な差はみられなかった。胎児の外表観察で、外表奇形として臍帯ヘルニアが 180 mg/kg/day 群の胎児に 1 例観察された。この奇形は、一般的にも度々観察されることから自然発生的なものと考えられる。また、内臓観察においても、180 mg/kg/day 群に内臓奇形として横隔膜ヘルニアが 1 例認められたが、同様の理由で自然発生的なものと考えられる。その外に、外表および内臓の変異が多数観察されたが、いずれの異常の発生率も検体投与で増加することはなかった。胎児の骨格観察では、舌骨、椎骨（頸椎、胸椎、腰椎）および胸骨に奇形に分類される異常が散見されたが、その発生頻度に一定した傾向は認められなかった。また、骨格変異として、頭蓋骨、胸骨および肋骨の変化が対照群を含む群で比較的多数観察されたが、いずれも統計学的な有意差はなく生物学的な変動の範囲内であった。したがって、観察された全ての胎児異常は、検体投与とは関連しない自然発生的なものと考えられる。

以上の結果から、母獣に対する無毒性量（NOAEL）は、60 mg/kg/day、胎児に対しての無毒性量（NOAEL）は、180 mg/kg/day である。また、最高投与量の 180 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。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	20	60	180	
1群当たりの動物数		15	15	15	15	
親	一般状態					
	死亡数 (率)					
	体重変化 (g) 0 - 7日	6.2	1.4	1.9	9.9	
	7 - 19日	63.3	78.6	21.7	5.7	
	19 - 29日	193.5	204.3	222.5	225.9	
	0 - 29日	262.9	284.3	246.0	241.5	
	摂餌量(g) \$ 10 - 11日	99.3	97.6	90.2	↓ 82.8	
	12 - 13日	93.3	95.5	84.6	↓ 74.7	
	妊娠数 (%)	15 (100)	15 (100)	15 (100)	15 (100)	
	動物	剖検所見	肺：浮腫	2 (13)	2 (13)	2 (13)
(%) 肺：辺縁に気腫				1 (6.7)		
子宮：盲囊				1 (6.7)		
着床所見		検査動物数	15	15	15	15
		平均黄体数	8.7	8.9	8.3	8.9
		平均生存胎児数 (%)	7.1 (91.7)	6.8 (91.5)	6.4 (91.3)	6.9 (85.1)
		平均吸収胚数 (%)	0.5 (7.5)	0.8 (8.5)	0.6 (8.7)	1.1 (14.9)
		平均着床前胚死亡率%	12.0	15.9	15.7	10.9
		平均着床後胚死亡率%	8.3	8.5	8.7	14.9
胎仔		平均胎児重量 (g) \$	♂	41.6	42.7	43.2
	♀		39.6	40.2	40.4	39.8
	平均胎盤重量\$	4.3	4.8	4.8	4.7	
	性比% (♂)	50.9	43.1	52.1	48.5	
	検査胎児数	106	102	96	103	
	外表	[奇形] 臍帯ヘルニア				1 (1.0)
		[変異] 偽硬直(後肢)	2 (1.9)	2 (2.0)	1 (1.0)	
	内臓所見	[奇形]				
		横隔膜ヘルニア				1 (1.0)
		[変異]				
頸動脈起始異常		9 (8.4)	10 (9.8)	5 (5.2)	13 (13)	
心室間孔/中隔膜痕跡		3 (2.8)	6 (5.9)	5 (5.2)	4 (3.9)	
胆嚢の低形成		1 (0.9)		1 (1.0)		
腎盂の拡張					1 (1.0)	
《総変異胎児数》	13 (12)	16 (16)	10 (10)	18 (17)		

\$ : Dunnett-test ↓ :  $p \leq 0.05$ 、胎児異常は Wilcoxon-test、有意水準  $p \leq 0.05$  で有意差なし  
 空欄は正常あるいは該当する動物なしを意味する。( ) 内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

投与群 (mg/kg/day)		0	20	60	180
1 群当たりの母獣数		15	15	15	15
胎 仔 動 物 見	検査胎児数	106	102	96	103
	[奇形]				
	舌骨の変形			1 (1.0)	
	椎骨の癒合・不定形				1 (1.0)
	頸椎椎骨の欠損	1 (0.9)			
	胸椎椎骨の欠損		1 (1.0)		
	腰椎椎骨の欠損	1 (0.9)	1 (1.0)		
	腰椎椎骨の癒合・不定形	1 (0.9)			
	胸骨の分離				1 (1.0)
	《総骨格奇形胎児数》	3 (2.8)	2 (2.0)	1 (1.0)	2 (1.9)
	[変異]				
	頭蓋骨の分離	1 (0.9)		2 (2.1)	
	胸骨分節の癒合	6 (5.6)	4 (3.9)	2 (2.1)	7 (6.8)
	胸骨分節の不定形	2 (1.9)		1 (1.0)	2 (1.9)
	過剰胸骨分節			3 (3.1)	
	過剰 13 肋骨	5 (4.7)	4 (3.9)	1 (1.0)	5 (4.9)
	第 12 肋骨の短小	1 (0.9)	1 (1.0)		
	痕跡頸肋				2 (1.9)
	第 12 肋骨の欠損		1 (1.0)		
	《総骨格変異胎児数》	14 (13)	10 (9.8)	9 (9.4)	12 (12)
	[化骨遅延]				
	頭蓋骨の不完全化骨		1 (1.0)	1 (1.0)	2 (1.9)
	頸椎椎体の不完全化骨	1 (0.9)		2 (2.1)	2 (1.9)
	腰椎椎弓の不完全化骨	13 (12)	7 (6.9)	8 (8.3)	4 (3.9)
	胸骨分節の未化骨	24 (22)	21 (21)	24 (25)	17 (17)
	胸骨分節の不完全化骨 または矮小化	36 (34)	34 (33)	31 (32)	32 (31)
	《総化骨遅延胎児数》	67 (63)	61 (60)	56 (58)	52 (50)

Wilcoxon-test、有意水準  $p \leq 0.05$  で有意差なし

空欄は該当する動物なしを意味する。( ) 内の数値は全体数に対する%

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

⑰ 変異原性試験

1) 細菌 (サルモネラ菌) を用いた復帰突然変異試験 (資料 No. 毒 A29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993 年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。試験は、標準プレート法およびプレインキュベーション法で行なった。検体は DMSO に溶解し、標準プレート法では 20~5000  $\mu\text{g}$ /プレートの 5 用量、プレインキュベーション法では 4~2500  $\mu\text{g}$ /プレートの 5 用量とした。両試験とも 3 連制とした。陽性対照としては、MNNG (N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン)、AAC (塩化 9-アミノアクリジン)、NPD (4-ニトロ-o-フェニレンジアミン) および 2-AA (2-アミノアントラセン) を用いた。

判定基準: 復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応関係が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果: 結果を次頁以降の表に示した。両試験とも S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量において、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 MNNG、AAC、NPD および 2-AA 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。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

標準プレート法（表中の数値は3反復の平均値）

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9-Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	-	-	97	15	24	8	
検体	20	-	94	13	25	8	
	100	-	92	12	31	9	
	500	-	86	10	25	6	
	2500	-	46	10	27	5	
	5000	-	14	8	23	* -	
対照 (DMSO)	-	+	108	17	36	10	
検体	20	+	103	15	41	11	
	100	+	110	15	43	11	
	500	+	108	14	39	10	
	2500	+	56	11	32	10	
	5000	+	* -	* 7	* -	* -	
陽 性 対 照	MNNG	5	-	1028	1183		
	AAC	100	-				719
	NPD	10	-			839	
	2-AA	2.5	+	1039	126	617	100

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

AAC : 塩化9-アミノアクリジン

NPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

\* : 抗菌性が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

プレインキュベーション法（表中の数値は3反復の平均値）

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9-Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)	-	-	94	12	24	8	
検体	4	-	98	13	16	8	
	20	-	102	15	21	7	
	100	-	100	15	21	6	
	500	-	105	11	21	7	
	2500	-	75	13	16	6	
対照 (DMSO)	-	+	121	11	36	8	
検体	4	+	102	12	29	9	
	20	+	105	14	32	8	
	100	+	99	10	31	8	
	500	+	83	10	31	5	
	2500	+	*-	11	22	*5	
陽 性 対 照	MNNG	5	-	528	565		
	AAC	100	-				454
	NPD	10	-			1075	
	2-AA	2.5	+	529	90	559	93

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

AAC : 塩化 9-アミノアクリジン

NPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

\* : 抗菌性が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

2) 細菌（大腸菌）を用いた復帰突然変異試験 (資料 No. 毒 A30)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体純度：

試験方法：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 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法を用いて復帰変異原性を検定した。試験は、標準プレート法およびプレインキュベーション法で行なった。検体は DMSO に溶解し、標準プレート法、プレインキュベーション法ともに 20~5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の 5 用量とした。両試験とも 3 連制とした。

判定基準：復帰コロニー数が溶媒対照の 2 倍を超え、かつ用量反応関係が認められる結果が再現される場合を陽性とした。

試験結果：本試験の結果を次頁の表に示した。両試験とも S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起ささない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 2-AA および ENNG では、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。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本試験 (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9-Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート		
			塩基置換型 WP2 uvrA		
			標準プレート法	プレートキュベーション法	
対照 (DMSO)	-	-	27	28	
検体	20	-	30	26	
	100	-	31	28	
	500	-	30	30	
	2500	-	29	* 27	
	5000	-	31	* 25	
対照 (DMSO)	-	+	41	37	
検体	20	+	39	26	
	100	+	40	27	
	500	+	39	28	
	2500	+	38	* 19	
	5000	+	39	* 15	
陽性	ENNG	10	-	1249	878
対照	2-AA	60	+	234	195

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

\* : 抗菌性が認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

3) チャイニーズハムスターの卵巣 (CHO) 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験  
(資料 No. 毒 A31)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1993 年

検体純度:

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。試験は 2 回行った。検体の溶解限界である 1000 µg/mL を最高用量とし、1 回目の試験では 62.5、125、250、500、1000 µg/mL の 5 用量、2 回目の試験では 250、500、1000 µg/mL の 3 用量を用いた。両試験ともに 250、500、1000 µg/mL の 3 用量について、1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察した (ただし、陽性対照については 100 個とした)。陽性対照としては、Methylmethane sulfonate (MMS) および Cyclophosphamide (CPA) を用いた。

試験結果: 結果を次頁以降の表に示した。両試験とも S-9 Mix の有無にかかわらず、検体における染色体異常数の増加は認められなかった。一方、陽性対照では明らかな染色体異常細胞の増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

1回目の試験

薬物	濃度 μg/mL	処理時間	標本作製時間	観察細胞数	S9の有無	染色体異常を有する細胞数										判定
						G <sup>1)</sup>	染色分体型		染色体型		その他		合計 <sup>6)</sup>			
							D <sup>2)</sup>	E <sup>3)</sup>	D	E	MA <sup>4)</sup>	PU <sup>5)</sup>	+G	-G		
陰性対照	—	21	21	200	-	1	1	0	1	2	0	0	5	4	-	
													2.5	2.0		
溶媒対照 (DMSO)	—	21	21	200	-	7	8	0	2	1	0	0	18	11	-	
													8.0	5.5		
検体	250	21	21	200	-	7	10	1	0	2	0	0	20	13	-	
													9.0	6.0		
	500	21	21	200	-	1	9	2	0	2	0	0	14	13	-	
													6.0	5.5		
	1000	21	21	200	-	10	4	0	4	3	0	0	21	11	-	
													9.0	5.0		
陽性対照 (MMS)	26	21	21	100	-	18	35	16	8	3	0	0	80	62	+	
													39.0	35.0*		
陰性対照	—	3	21	200	+	2	2	1	0	4	0	0	9	7	-	
													4.5	3.5		
溶媒対照 (DMSO)	—	3	21	200	+	8	5	1	3	2	0	0	19	11	-	
													8.5	5.0		
検体	250	3	21	200	+	4	9	1	0	1	0	0	15	11	-	
													7.0	5.5		
	500	3	21	200	+	1	4	0	0	2	0	0	7	6	-	
													3.5	3.0		
	1000	3	21	200	+	4	8	1	0	2	0	0	15	11	-	
													6.5	5.5		
陽性対照 (CPA)	30	3	21	100	+	10	60	35	14	3	8	0	130	120	+	
													68.0	67.0*		

1) G : ギャップ

2) D : 切断・欠損

3) E : 交換

4) MA : 複数の異常

5) PU : 細分化

6) ギャップを含む場合 (+G) と含まない場合 (-G)、下段は異常を示した細胞の割合 (%)

\* :  $p < 0.001$  ( $\chi^2$ 検定、ギャップを除く)

DMSO : Dimethylsulfoxide

MMS : Methylmethane sulfonate

CPA : Cyclophosphamide

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

2回目の試験

薬物	濃度 μg/mL	処理 時間	標 本作 製 時間	観 察 細 胞 数	S9 の 有 無	染色体異常を有する細胞数								合計 <sup>6)</sup>		判定
						G <sup>1)</sup>	染色 分体型		染色 体型		その他					
							D <sup>2)</sup>	E <sup>3)</sup>	D	E	MA <sup>4)</sup>	PU <sup>5)</sup>	+G	-G		
陰性対照	—	21	21	200	-	9	5	0	0	2	0	0	16	7	-	
							7.5	3.5								
溶媒対照 (DMSO)	—	21	21	200	-	7	5	0	0	3	0	0	15	8	-	
							7.0	4.0								
検体	250	21	21	200	-	0	0	0	0	2	0	0	2	2	-	
							1.0	1.0								
	500	21	21	200	-	5	4	0	1	3	1	0	14	9	-	
							6.5	4.5								
1000	21	21	200	-	3	8	2	1	0	0	0	14	11	-		
							4.5	4.0								
陽性対照 (MMS)	26	21	21	100	-	4	23	16	7	3	1	0	54	50	+	
							35.0	34.0*								
陰性対照	—	3	21	200	+	3	7	0	0	2	0	0	12	9	-	
							5.0	4.0								
溶媒対照 (DMSO)	—	3	21	200	+	2	5	1	0	1	0	0	9	7	-	
							4.5	3.5								
検体	250	3	21	200	+	7	3	0	1	1	0	0	12	5	-	
							6.0	2.5								
	500	3	21	200	+	4	7	3	2	2	0	0	18	14	-	
							8.0	6.5								
1000	3	21	200	+	1	4	0	1	3	0	0	9	8	-		
							4.0	3.5								
陽性対照 (CPA)	30	3	21	100	+	3	34	41	9	1	10	0	98	95	+	
							54.0	54.0*								

1) G : ギャップ

2) D : 切断・欠損

3) E : 交換

4) MA : 複数の異常

5) PU : 細分化

6) ギャップを含む場合 (+G) と含まない場合 (-G)、下段は異常を示した細胞の割合 (%)

\* :  $p < 0.001$  ( $\chi^2$ 検定、ギャップを除く)

DMSO : Dimethylsulfoxide

MMS : Methylmethane sulfonate

CPA : Cyclophosphamide

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

2 回目の試験 (続き)

薬物	濃度 μg/mL	処理 時間	標 本作 製 時間	観 察 細 胞 数	S9 の 有 無	染色体異常を有する細胞数										判定
						G <sup>1)</sup>	染色 分 体 型		染色 体 型		その他			合計 <sup>7)</sup>		
							D <sup>2)</sup>	E <sup>3)</sup>	D	E	MA <sup>4)</sup>	PU <sup>5)</sup>	PO <sup>6)</sup>	+G	-G	
陰性対照	—	45	45	200	-	1	2	0	0	3	0	0	2	6	5	-
														3.0	2.5	
溶媒対照 (DMSO)	—	45	45	200	-	3	3	0	2	4	0	0	1	12	9	-
														5.0	4.0	
検体	250	45	45	200	-	4	3	0	0	3	0	0	3	10	6	-
														4.0	3.0	
	500	45	45	200	-	3	7	2	2	0	0	0	3	14	11	-
														6.5	5.0	
1000	45	45	200	-	4	6	1	2	0	0	0	2	13	9	-	
														6.0	4.0	
陰性対照	—	3	45	200	+	1	2	0	0	1	0	0	2	4	3	-
														2.0	1.5	
溶媒対照 (DMSO)	—	3	45	200	+	3	6	0	1	0	0	0	3	10	7	-
														4.0	3.0	
検体	250	3	45	200	+	2	2	0	0	0	0	0	1	4	2	-
														2.0	1.0	
	500	3	45	200	+	4	6	1	0	1	0	0	4	12	8	-
														5.5	4.0	
1000	3	45	200	+	5	5	1	1	1	0	0	4	13	8	-	
														6.5	4.5	

1) G : ギャップ

2) D : 切断・欠損

3) E : 交換

4) MA : 複数の異常

5) PU : 細分化

6) ギャップを含む場合 (+G) と含まない場合 (-G)、下段は異常を示した細胞の割合 (%)

$\chi^2$ 検定、有意水準は $p < 0.05$  で有意差なし

DMSO : Dimethyl sulfoxide



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

4) マウスを用いた小核試験

(資料 No. 毒 A32)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体純度:

試験動物: NMRI 系マウス、体重 約 28 g、1 群雌雄各 5 匹

試験方法: 検体を DMSO (ジメチルスルホキシド) に溶解し、125、250 および 500 mg/kg の投与レベルで、単回腹腔内投与した。陰性対照群には DMSO のみを、陽性対照群には Cyclophosphamide (CCP) および Vincristine (VCR) を投与した。投与 24 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドガラス上に風乾固定後、ギムザ染色し、骨髓標本を作製した (溶媒対照群および最高投与群については 48 時間後の標本も作製した)。陽性対照群は 24 時間後に動物を屠殺した。原則として 1 動物あたり 1000 個の多染性赤血球について、小核の有無を検査するとともに以下の項目を記録した。

- ・多染性赤血球の数
  - ・小核を有する多染性赤血球の数
  - ・正染性赤血球の数
  - ・小核を有する多染性赤血球の数
  - ・正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合
  - ・「小さい小核」( $d < D/4$ ) および「大きい小核」( $d \geq D/4$ ) の数
- [d: 小核の直径、D: 細胞の直径]

用量設定根拠:

試験結果: 骨髓標本の観察結果を次頁以降の表 (総括表および結果表) に示した。すべての投与群において投与後 30 分から 1 時間後に不規則な呼吸、うずくまり姿勢が認められ、250 および 500 mg/kg 群ではさらに約 1~2 時間後に感受性の低下が認められた。溶媒対照群および陽性対照群では臨床症状はみられなかった。雌雄いずれの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。陽性対照群である CCP および VCR 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増加が認められた。

以上の結果より、検体は本試験条件下において骨髓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。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

総括表

群	投与量 (mg/kg)	処理後 24 時間				処理後 48 時間			
		A	B	C	D	A	B	C	D
溶媒対照	—	10000	4982	1.6	1.6	10000	5793	1.4	1.0
検体	125	10000	5632	2.0	2.0				
	250	10000	5667	2.3	2.3				
	500	10000	4655	2.4	1.7	9000	6309	1.7	1.7
陽性対照 C	20	5000	2747	↑ 20.4	4.7				
陽性対照 V	0.15	5000	5222	↑ 131.0	11.5				

↑ :  $p \leq 0.01$  (Wilcoxon 検定)

溶媒対照 : DMSO

陽性対照 C : Cyclophosphamide

陽性対照 V : Vincristine

A : 検査した多染性赤血球数

B : 検査した多染性赤血球数あたりの正染性赤血球数

C : 多染性赤血球 1000 個あたりの小核を有するもの (平均)

D : 正染性赤血球 1000 個あたりの小核を有するもの (平均)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

結果表

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE / (PCE+NCE) (平均値±SD)
24	陰性対照 (DMSO)	—	雄	5	0.24±0.26	0.73±0.04
			雌	5	0.08±0.13	0.62±0.05
			合計	10	0.16±0.21	0.68±0.08
	検体	125	雄	5	0.22±0.19	0.69±0.11
			雌	5	0.18±0.16	0.62±0.10
			合計	10	0.20±0.17	0.65±0.10
		250	雄	5	0.22±0.08	0.69±0.03
			雌	5	0.24±0.15	0.61±0.10
			合計	10	0.23±0.12	0.65±0.08
		500	雄	5	0.30±0.12	0.75±0.02
			雌	5	0.18±0.16	0.64±0.09
			合計	10	0.24±0.15	0.69±0.09
	陽性対照 (CCP)	20	雄	2	2.55±0.49	0.64±0.10
			雌	3	1.70±0.20	0.66±0.05
			合計	5	2.04±0.55	0.65±0.06
陽性対照 (VCR)	0.15	雄	3	11.5±1.8	0.48±0.07	
		雌	2	15.5±1.3	0.52±0.04	
		合計	5	13.1±2.6	0.49±0.06	
48	陰性対照 (DMSO)	—	雄	5	0.18±0.11	0.67±0.11
			雌	5	0.10±0.14	0.61±0.04
			合計	10	0.14±0.13	0.64±0.08
	検体	500	雄	4	0.18±0.10	0.68±0.12
			雌	5	0.16±0.11	0.55±0.12
			合計	9	0.17±0.10	0.61±0.13

CCP : Cyclophosphamide

VCR : Vincristine

PCE : 多染性赤血球数

NCE : 正染性赤血球数

NMPCE : 多染性血球数 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

5) チャイニーズハムスターの卵巣 (CHO) 細胞を用いた HPRT 座位試験

(資料 No. 毒 A33)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

検体純度:

試験方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO) を用い、代謝活性化および非活性化の条件下でヒポキサンチン-グアニンホスホリボシル転移酵素 (HPRT) 座位に遺伝子突然変異を誘発するか否か検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

突然変異試験では 187.5、375、750、1500、3000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 5 用量を用いた。試験は 2 回行った。

なお、1500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の濃度で検体の沈殿が観察された。

検体処理時間は 4 時間とし、その後約 1 週間の発現時間をおいた。発現時間終了後、選択培地 (グルタミンと FCS を加え、ヒポキサンチンを除いた Ham's F12 培地に 6-チオグアニンを最終濃度 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で添加した培地) 中に再播種してコロニーを形成させた。検体処理後の最初の継代時および発現時間後の再播種時に細胞毒性検索のための細胞毒性試験を実施した。

試験結果: 結果を次頁以降の表に示した。いずれの試験のいても明らかな細胞毒性はみられなかった。両試験とも S-9 Mix の有無にかかわらず、突然変異頻度の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた Ethyl methanesulfonate (EMS)、3-Methylcholanthrene (MCA) では明らかな突然変異頻度の増加を示した。

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遺伝子突然変異誘発性は有しないものと判断される。

表1 試験結果 (代謝活性化系非存在下: 1回目の実験)

濃度 µg/mL	S-9の 有無	継代1回目 の細胞密度 (×10 <sup>3</sup> 個/mL)		細胞毒性試験1*		細胞毒性試験2*		突然変異試験		
				コロニー形成率(%)		コロニー形成率(%)		変異コロニー数 <sup>a</sup>	変異頻度 <sup>b</sup>	
				絶対値	相対値	絶対値	相対値		補正前	補正後 <sup>c</sup>
無処理 対照	—	A	539.093	80.50	138.20	70.75	103.09	0, 1, 1, 1, 2, 2	1.95	2.55
		B	462.813					0, 0, 0, 0, 0, 0		
溶媒対照 (DMSO)	—	A	502.569	58.25	100.00	68.63	100.00	0, 0, 0, 0, 1, 2	1.67	2.44
		B	426.367					0, 0, 0, 1, 1, 1		
187.5	—	A	491.587	66.38	113.96	76.63	111.66	0, 0, 2, 3, 3, 3	6.95	9.16
		B	427.109					0, 1, 2, 2, 4, 5		
375	—	A	521.612	61.88	106.23	49.50	72.13	0, 0, 1, 1, 1, 2	1.39	2.13
		B	373.867					0, 0, 0, 0, 0, 0		
750	—	A	460.605	59.13	101.51	69.00	100.54	0, 0, 0, 0, 0, 0	0.84	1.10
		B	413.867					0, 0, 0, 0, 1, 2		
1500	—	A	472.897	66.13	113.53	59.63	86.89	0, 0, 0, 0, 0, 0	0.00	0.00
		B	348.672					0, 0, 0, 0, 0, 0		
3000	—	A	502.116	70.88	121.68	70.13	102.19	0, 0, 1, 1, 1, 2	3.06	4.38
		B	376.250					0, 0, 1, 1, 1, 3		
300 EMS	—	A	553.703	61.00	104.72	64.13	93.44	37, 41, 44, 52, 60, 61	159.17	248.87
		B	428.398					36, 40, 42, 48, 49, 63		

a: 選択培地中に 300000 細胞/フラスコで播種し、選択培地中で7日間培養した後のコロニー数  
 b: 細胞 10<sup>6</sup>個あたりの頻度  
 c: 発現期間の終わりの絶対的クローニング効率に基づく補正 (“細胞毒性試験2”) を行った。  
 \*: 細胞毒性試験1: 暴露終了 17~24 時間後、細胞毒性試験2: 発現期間終了時  
 EMS: Ethyl methanesulfonate

表2 試験結果 (代謝活性化系存在下: 1回目の実験)

濃度 µg/mL	S-9の 有無	継代1回目 の細胞密度 (×10 <sup>3</sup> 個/mL)		細胞毒性試験1*		細胞毒性試験2*		突然変異試験		
				コロニー形成率(%)		コロニー形成率(%)		変異コロニー数 <sup>a</sup>	変異頻度 <sup>b</sup>	
				絶対値	相対値	絶対値	相対値		補正前	補正後 <sup>c</sup>
無処理 対照	+	A	500.856	62.13	107.34	77.38	104.74	0, 0, 0, 0, 1, 2	1.95	2.52
		B	581.020					0, 0, 0, 1, 1, 2		
溶媒対照 (DMSO)	+	A	533.350	57.88	100.00	73.88	100.00	0, 2, 2, 3, 3, 4	6.11	8.12
		B	514.771					0, 1, 1, 1, 2, 3		
187.5	+	A	577.531	67.63	116.85	75.63	102.37	0, 0, 0, 0, 1, 2	3.34	4.54
		B	554.980					0, 0, 1, 2, 2, 4		
375	+	A	567.305	61.50	106.25	77.38	104.74	1, 1, 2, 2, 3, 5	6.95	9.02
		B	533.281					1, 1, 1, 1, 3, 4		
750	+	A	527.053	56.88	98.27	58.75	79.52	0, 0, 0, 0, 0, 1	1.12	2.01
		B	468.915					0, 0, 0, 1, 1, 1		
1500	+	A	488.615	60.63	104.75	77.88	105.41	0, 0, 1, 1, 1, 2	1.39	1.70
		B	479.791					0, 0, 0, 0, 0, 0		
3000	+	A	506.700	55.88	96.54	70.50	95.43	0, 0, 0, 0, 0, 1	6.95	12.78
		B	509.490					1, 3, 4, 5, 5, 6		
10 MCA	+	A	453.149	62.50	107.98	81.63	110.49	30, 48, 53, 54, 58, 59	131.67	158.52
		B	459.869					18, 21, 30, 30, 34, 39		

a: 選択培地中に 300000 細胞/フラスコで播種し、選択培地中で7日間培養した後のコロニー数  
 b: 細胞 10<sup>6</sup>個あたりの頻度  
 c: 発現期間の終わりの絶対的クローニング効率に基づく補正 (“細胞毒性試験2”) を行った。  
 \*: 細胞毒性試験1: 暴露終了 17~24 時間後、細胞毒性試験2: 発現期間終了時  
 MCA: 3-Methylchroranthrene

表3 試験結果 (代謝活性化系非存在下: 2回目の実験)

濃度 µg/mL	S-9の 有無	継代1回目 の細胞密度 (×10 <sup>3</sup> 個/mL)		細胞毒性試験1*		細胞毒性試験2*		突然変異試験		
				コロニー形成率(%)		コロニー形成率(%)		変異コロニー数 <sup>a</sup>	変異頻度 <sup>b</sup>	
				絶対値	相対値	絶対値	相対値		補正前	補正後 <sup>c</sup>
無処理 対照	-	A	425.627	73.75	107.85	96.63	118.38	0, 0, 0, 0, 1, 1	1.95	2.05
		B	460.021					0, 0, 0, 1, 1, 3		
溶媒対照 (DMSO)	-	A	376.466	68.38	100.00	81.63	100.000	0, 0, 0, 0, 0, 0	0.28	0.41
		B	455.068					0, 0, 0, 0, 0, 1		
187.5	-	A	368.055	67.50	98.71	81.88	100.31	0, 0, 0, 1, 1, 1	0.84	1.14
		B	480.499					0, 0, 0, 0, 0, 0		
375	-	A	356.407	81.38	119.010	85.75	105.05	0, 0, 0, 0, 0, 1	0.28	0.33
		B	524.828					0, 0, 0, 0, 0, 0		
750	-	A	385.587	71.25	104.20	68.00	83.30	0, 0, 0, 0, 1, 1	0.56	0.80
		B	518.335					0, 0, 0, 0, 0, 0		
1500	-	A	328.292	72.63	106.22	64.63	79.17	0, 0, 1, 1, 1, 2	1.39	2.19
		B	447.742					0, 0, 0, 0, 0, 0		
3000	-	A	156.999	68.38	100.000	72.25	88.51	1, 1, 1, 1, 2, 2	2.78	3.63
		B	299.313					0, 0, 0, 0, 1, 1		
300 EMS	-	A	396.249	68.75	100.54	71.38	87.44	31, 36, 45, 48, 48, 54	144.73	203.31
		B	328.117					39, 41, 41, 44, 47, 47		

b: 細胞 10<sup>6</sup>個あたりの頻度

c: 発現期間の終わりの絶対的クローニング効率に基づく補正 ("細胞毒性試験2") を行った。

\*: 細胞毒性試験1: 暴露終了 17~24 時間後、細胞毒性試験2: 発現期間終了時

EMS: Ethyl methanesulfonate

表4. 試験結果 (代謝活性化系存在下: 2回目の実験)

濃度 µg/mL	S-9の 有無	継代1回目 の細胞密度 (×10 <sup>3</sup> 個/mL)		細胞毒性試験1*		細胞毒性試験2*		突然変異試験		
				コロニー形成率(%)		コロニー形成率(%)		変異コロニー数 <sup>a</sup>	変異頻度 <sup>b</sup>	
				絶対値	相対値	絶対値	相対値		補正前	補正後 <sup>c</sup>
無処理 対照	+	A	436.516	76.13	105.18	68.00	129.20	0, 0, 0, 1, 1, 2	1.11	1.76
		B	472.841					0, 0, 0, 0, 0, 0		
溶媒対照 (DMSO)	+	A	396.144	72.38	100.00	52.63	100.00	0, 0, 0, 0, 0, 0	0.00	0.00
		B	343.725					0, 0, 0, 0, 0, 0		
187.5	+	A	438.699	69.75	96.37	61.38	116.63	0, 0, 0, 0, 0, 0	0.00	0.00
		B	346.056					0, 0, 0, 0, 0, 0		
375	+	A	415.796	63.88	88.26	84.50	160.55	0, 0, 0, 0, 0, 1	0.28	0.33
		B	312.175					0, 0, 0, 0, 0, 0		
750	+	A	445.343	69.25	95.68	68.25	129.68	0, 0, 0, 0, 1, 1	0.56	0.69
		B	325.702					0, 0, 0, 0, 0, 0		
1500	+	A	378.304	62.13	85.84	52.63	100.00	0, 0, 0, 0, 0, 1	0.28	0.41
		B	245.369					0, 0, 0, 0, 0, 0		
3000	+	A	317.352	51.38	70.99	83.63	158.90	0, 1, 1, 2, 2, 2	3.61	4.27
		B	177.773					0, 0, 0, 1, 1, 3		
10 MCA	+	A	414.402	62.38	86.18	39.88	75.77	21, 21, 28, 33, 34, 39	118.89	344.48
		B	323.288					35, 38, 40, 44, 46, 49		

a: 選択培地中に 300000 細胞/フラスコで播種し、選択培地中で7日間培養した後のコロニー数

b: 細胞 10<sup>6</sup>個あたりの頻度

c: 発現期間の終わりの絶対的クローニング効率に基づく補正 ("細胞毒性試験2") を行った。

\*: 細胞毒性試験1: 暴露終了 17~24 時間後、細胞毒性試験2: 発現期間終了時

MCA: 3-Methylchoranthrene

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

- 6) チャイニーズハムスターの肺線維芽細胞 (CHL) を用いた DNA 損傷試験(SCGE 試験)  
(資料 No. 毒 A34)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体純度:

試験方法: DNA 損傷誘発性の有無を、CHL/IU 細胞を用いた Single Cell Gel Electrophoresis 試験により検討した。

検体は DMSO に溶解して用いた。5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を最高濃度とする公比 2 の 8 濃度 (5000、2500、1250、625、313、156、78.1、39.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で試験を行った。検体は 1250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  で培地に完全に溶解しなくなることから、結晶析出濃度域として 2500、5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 2 濃度を設定した。CHL 細胞を、検体を所定濃度に調製した培地で 1 および 16 時間培養後、電気泳動をかけ、染色した後、各濃度あたり 100 個の細胞について形態観察を行い、異常の有無を分類・判定した。DNA 損傷の程度を 5 段階に分類し、各個数を計数した。陽性対照としては、N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG) を用いた。

試験結果: 各試験 (1 時間処理および 16 時間処理) の結果を次頁の表に示した。両試験とも溶媒対照群と陽性対照群の間には有意差 ( $p < 0.01$ ) が見られた。一方、いずれの実験でも溶媒対照群と検体処置群の各濃度との間には有意差 ( $p < 0.01$ ) は認められなかった。

以上の結果より、検体は本試験条件下で DNA 損傷誘発性は有しないと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(1 時間処理の結果)

群	化合物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	各タイプの DNA 損傷を受けた細胞数/100 個					検定の 結果 <sup>3)</sup>
			Type 1	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5	
溶媒対照群	DMSO <sup>1)</sup>	—	95	4	1	0	0	
処置群	検体	39.1	93	3	1	2	1	-
		78.1	94	2	1	1	2	-
		156	91	5	1	2	1	-
		313	94	2	0	1	3	-
		625	91	5	1	1	2	-
		1250	93	6	0	0	1	-
		2500	89	3	1	4	3	-
5000	96	1	0	1	2	-		
陽性対照群	ENNG <sup>2)</sup>	1.25	2	3	4	15	76	*

(16 時間処理の結果)

群	化合物	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	各タイプの DNA 損傷を受けた細胞数/100 個					検定の 結果 <sup>3)</sup>
			Type 1	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5	
溶媒対照群	DMSO <sup>1)</sup>	—	97	1	1	1	0	
処置群	検体	39.1	98	1	1	0	0	-
		78.1	99	1	0	0	0	-
		156	98	2	0	0	0	-
		313	97	2	1	0	0	-
		625	96	2	1	1	0	-
		1250	94	1	1	3	1	-
		2500	89	8	0	1	2	-
5000	89	4	3	2	2	-		
陽性対照群	ENNG <sup>2)</sup>	1.25	0	0	0	3	97	*

1) DMSO : Dimethyl sulfoxide (5  $\mu\text{L/mL}$  を添加)

2) ENNG : N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

3) 検定の結果 (1 方向累積  $\chi^2$  検定による)

- : 溶媒対照群との有意差なし、\* : 溶媒対照群との有意差 ( $p < 0.01$ ) あり

細胞形態の分類 : DNA 損傷の程度を下記の 5 段階に分類し、各個数を記録した。

Type 1 : 球状の核がそのまま残っている

Type 2 : 核からわずかに尾を引いている (尾の長さは核程度まで)

Type 3 : 大きな尾を引いている

Type 4 : 尾が更に大きくなり核が崩れている

Type 5 : 核が完全に崩れ見えない (尾だけ)



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

7) ラット初代培養肝細胞を用いた in vitro 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No. 毒 A35)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1996 年

検体純度:

試験方法: 健康な雄の Wistar 系ラットから調製した初代培養肝細胞を用いた。検体は、DMSO (ジメチルスルホキシド) に溶解して用いた。用いた用量は、0.1~500 µg/mL の 8 用量とし、試験は 2 回行った。ただし、2 回目の試験では 5~100 µg/mL の 4 用量のみ観察した。陽性対照として 2-Acetylaminofluorene (2-AAF) を用いた。培養肝細胞に各濃度の検体とトリチウムチミジンを含む培地で 18~20 時間処理した。ラベルされた細胞は、スライドガラス上で酢酸:エタノールで固定し、乾燥、現像後にヘマトキシリン・エオジンまたはメチルグリーンピロリン Y により染色した。細胞は顕微鏡観察し、グレイン数を計数した。用量相関性、再現性のある真の各グレイン数の平均値の増加および 5 以上のグレイン数を陽性と判定した。

用量設定根拠: 初代培養肝細胞を広い用量範囲で培養し、LDH 活性 (LDH の放出量) および乳酸塩の濃度を測定した。その結果、500 µg/mL 以上の用量で細胞毒性が観察されたので 500 µg/mL を最高用量とした。

結果: 結果を次頁の表に示した。

陰性対照では UDS 活性は通常の範囲内であった。陽性対照では、真の核グレイン数の明らかな増加が認められた。検体ではどの用量レベルにおいても真の核グレイン数の増加は認められなかった。

以上の結果より、検体は本試験条件下でのラット初代培養細胞を用いた UDS 試験において陰性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

1 回目の試験

群	用量 μg/mL	NG 数 Mean <sup>1)</sup> ±SD	CG 数 Mean <sup>1)</sup> ±SD	NNG 数 Mean <sup>1)</sup> ±SD	修復中の細胞の割合(%)	
					NNG≥0	NNG≥5
無処理対照群	—	6.76±3.56	12.21±4.17	-5.45±3.26	2	0
溶媒対照群	—	4.98±3.43	9.91±3.80	-4.93±3.39	5	0
検体	0.1	5.29±4.26	10.47±4.73	-5.18±2.89	2	0
	0.5	5.12±3.79	9.18±4.65	-4.06±2.98	7	0
	1	6.56±3.47	12.53±4.57	-5.97±3.80	2	0
	5	6.17±3.36	12.94±5.47	-6.77±4.36	3	0
	10	6.38±3.85	12.93±5.60	-6.55±4.12	3	0
	50	4.00±2.71	8.71±3.37	-4.71±3.17	5	0
	100* 500*	- -	- -	- -	- -	- -
陽性対照群 2-AAF	4.5	14.29±8.35	12.10±5.02	2.19±6.28	62	27

2 回目の試験

群	用量 μg/ml	NG 数 Mean <sup>1)</sup> ±SD	CG 数 Mean <sup>1)</sup> ±SD	NNG 数 Mean <sup>1)</sup> ±SD	修復中の細胞の割合(%)	
					NNG≥0	NNG≥5
無処理対照群	—	18.39±6.03	24.17±6.68	-5.78±4.20	2	0
溶媒対照群	—	14.68±5.45	20.84±6.53	-6.16±4.38	6	0
検体	5	13.15±6.38	19.35±6.71	-6.20±3.55	3	0
	10	13.22±5.90	19.29±6.82	-6.07±4.63	4	1
	50	16.29±7.68	22.94±7.03	-6.65±4.85	6	0
	100	15.87±5.75	22.18±6.86	-6.31±3.99	4	0
陽性対照群 2-AAF	4.5	39.84±14.83	25.95±9.56	13.89±9.87	92	80

NG : 核グレイン数

CG : 細胞質グレイン数

NNG : 真の核グレイン数

1) : 細胞 100 個の平均値

SD : 標準偏差

\* : 明瞭な細胞毒性が認められたため観察しなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

8) 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 No. 毒 A36)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体純度:

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復能保持株 (H-17, Rec<sup>+</sup>) および欠損株 (M-45, Rec<sup>-</sup>) を用い、胞子法により代謝活性化および非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検体した。検体は DMSO (ジメチルスルホキシド) に溶解して用いた。対照としては、カナマイシン (KM)、マイトマイシン C (MMC) および 2-アミノアントラセン (2-AA) を用いた。

本試験では、2500  $\mu\text{g}$ /ディスクを最高用量とする 5 用量 (156~2500  $\mu\text{g}$ /ディスク) とした。試験は 2 連制で行った。両菌株の生育阻止帯の直径の差が 5mm 以上の場合を陽性と判定した。

結果: 結果を次頁の表に示した。

陰性対照 (KM) では、両菌株に生育阻止帯が生じたが差はみられなかった。陽性対照 (MMC、2-AA) では、生育阻止帯の差は 5 mm 以上であった。溶媒対照 (DMSO) に阻止帯は認められなかった。

検体では、代謝活性化法の有無によらず、625  $\mu\text{g}$ /ディスク以上の濃度で両菌株に生育阻止帯が認められ、H17 株に僅かな生育阻止帯を示す 625 および 1250  $\mu\text{g}$ /ディスクの用量で両菌株間の生育阻止帯の差 (M45 の生育阻止帯-H17 の生育阻止帯) は 5 mm 以上であった。2500  $\mu\text{g}$ /ディスクの用量での生育阻止帯の差は、4~5 mm であった。

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 DNA 損傷性は陽性であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

(表中の数値は2プレートの平均値)

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	S-9 有無	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M45	H17	
溶媒対照 (DMSO)	-	-	0	0	0
検体	156	-	0	0	0
	313	-	0	0	0
	625	-	11	2	9
	1250	-	13	3	10
	2500	-	13	8	5
陰性対照 (KM)	2	-	19	19	0
陽性対照 (MMC)	0.02	-	24	3	21
溶媒対照 (DMSO)	-	+	0	0	0
検体	156	+	0	0	0
	313	+	0	0	0
	625	+	11	3	8
	1250	+	13	4	9
	2500	+	13	9	4
陰性対照 (KM)	2	+	12	12	0
陽性対照 (2-AA)	10	+	10	0	10

KM : カナマイシン

MMC : マイトマイシン C

2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

⑩ 生体機能への影響に関する試験

テプラロキシジムにおける薬理試験

(資料 No. 毒 A37)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997年、1998年

検体純度:

以下の試験項目の中、1)、2)、4)、5) は 1997 年の報告書、3)、6)、7) は 1998 年の報告書 (追加試験) に記載されている。

1) マウスの中樞神経系に対する作用

① マウスにおける一般状態

供試動物: ICR 系マウス、5 週齢、体重 雄 28~33 g、1 群雄 6 匹

投与方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース ナトリウム (CMC-Na) 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、0.5、1、2 および 4 時間後に Irwin の多次元観察法に準じて観察した。また 1 日後に毒性徴候および死亡の有無を観察した。

結果: 500 mg/kg では異常は認められなかった。

1000 mg/kg では、軽度の身繕いの減少、自発運動の低下、体姿勢の異常が 0.5 から 1 時間後に認められたが、4 時間後にはすべて消失した。

2000 mg/kg では、軽度の受動性の低下、身繕いの減少、自発運動の低下、体姿勢の異常、異常歩行、立毛、握力の低下等が 0.5 から 4 時間後に認められたが、1 日後にはすべて消失した。

② マウスにおける自発運動量に対する作用

供試動物: ICR 系マウス、5 週齢、体重 雄 27~36 g、1 群雄 18 匹

投与方法: 検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、投与後 5 時間まで 30 分毎に運動量を測定した。

結果: 500 mg/kg では異常は認められなかった。

1000 および 2000 mg/kg では、投与 1 および 1.5 時間後に有意な自発運動の低下が認められた。

2) ラットの循環器系に対する作用

供試動物: Wistar 系ラット、7 週齢、体重 雄 263~295 g、1 群雄 6 匹

投与方法: 検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、1、2 および 4 時間後に血圧および心拍数を測定した。

結果: いずれの用量においても血圧および心拍数に影響は認められなかった。

3) 麻酔ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

供試動物: 日本白色種ウサギ、11~13 週齢、体重 雄 2.2~2.7 kg、1 群雄 4 匹

投与方法: 検体を 0.5%CMC-Na 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg をウ

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

レタンにより麻酔後固定したウサギの十二指腸内に投与し、0.5、1 および 2 時間後に呼吸数、換気量、血圧、心拍数および心電図を測定した。

結 果： 500 および 1000 mg/kg では有意な影響は認められなかった。  
2000 mg/kg では、投与 1 時間後から心拍数の減少、投与 2 時間後では呼吸数・換気量・血圧の減少傾向が認められた。

#### 4) ラットの自律神経系に対する作用

供試動物： Wistar 系ラット、5 週齢、体重 雄 165～202 g、1 群雄 6 匹

投与方法： 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、0.5、1、2 および 4 時間後に瞳孔径を測定した。

結 果： いずれの用量においても瞳孔径に影響は認められなかった。

#### 5) マウスの骨格筋に対する作用

供試動物： ICR 系マウス、5 週齢、雄 体重 28～36 g、1 群雄 8 匹

投与方法： 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、1、2 および 4 時間後に懸垂動作を測定した。

結 果： 対照群と比較して有意差は認められないが、2000 mg/kg で投与後 1 時間および 2 時間で各 1 例に陽性を示す動物がみられた。500 および 1000 mg/kg において影響は認められなかった。

#### 6) マウスの腸管輸送能に対する作用

供試動物： ICR 系マウス、5 週齢、雄 体重 27～35 g、1 群雄 8 匹

投与方法： 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、1 時間後に 5%アラビアゴム水溶液に懸濁した 5%炭末液を経口投与し、その 30 分後に胃腸管を摘出し、炭末到達距離を測定した。

結 果： 用量依存的に炭末の腸管輸送率の低下が認められ、2000 mg/kg では有意な腸管輸送率の低下が認められた。

#### 7) ラットの血液凝固に対する作用

供試動物： Wistar 系ラット、6 週齢、体重 雄 202～235 g、1 群 6 匹

投与方法： 検体を 0.5%CMC 水溶液に懸濁して、0、500、1000 および 2000 mg/kg を経口投与し、1 時間後に採血し、プロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

結 果： いずれの用量においても PT および APTT への影響は認められなかった。

以上の結果より、テプラロキシジムは生体機能に対して、1000 mg/kg 以上の投与量で弱い中枢神経系抑制作用および弱い筋弛緩作用を有する可能性がある。また、2000 mg/kg の投与量では呼吸・循環系への抑制的作用、腸管輸送能への抑制作用を有すると考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

「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 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 性/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 一般状態 [Irwin 法] (マウス)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 6	1000	500	主な毒性徴候：1000 mg/kg 群に自発運動量低下、身繕いの減少、体姿勢の異常が、2000 mg/kg 群ではこれらに加え異常歩行等が認められた。1日後に異常は認められなかった。
中枢神経系 自発運動量 (マウス)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 18	1000	500	投与1および1.5時間後に有意な低下がみられた。
循環器系 血圧および 心拍数 (ラット)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 6	—	2000	影響はみられなかった。
呼吸・ 循環器系 呼吸、血圧 および心拍数 (麻酔ウサギ)	十二指腸 投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 4	2000	1000	投与1時間後から心拍数の有意な減少、2時間後には、呼吸数・換気量・血圧の低下傾向が認められた。
自律神経系 瞳孔径測定 (ラット)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 6	—	2000	影響はみられなかった。
骨格筋 懸垂運動測定 (マウス)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 8	2000	1000	投与1および2時間後に陽性(運動の低下)が認められた。
消化器系 腸管輸送能 測定 (マウス)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 8	2000	1000	有意な低下が認められた。
血液 血液凝固測定 (ラット)	経口投与 (0.5% CMC 水溶液)	0 500 1000 2000	雄 6	—	2000	影響はみられなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

⑩ 補足試験



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。