

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) マウスを用いた飼料混入投与による発癌性試験

(毒性資料 No. 原体-22)

試験機関：

報告書作成年：1997年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Tif:MAGf マウス(ICR系)、約7週齢、1群雌雄各70匹

試験9か月時(39週)に雌雄各10匹を中間屠殺した。

開始時体重 雄；25.80～37.17g、雌；20.09～28.30g

各群の試験構成を下表に示した。

投与量(ppm)		0	30	300	1000	2000
発癌性試験群 (18か月間)	雄	50	50	50	50	50
	雌	50	50	50	50	50
中間屠殺群 (9か月間)	雄	10	10	10	10	10
	雌	10	10	10	10	10
血液学的検査用	雄	10	10	10	10	10
	雌	10	10	10	10	10

投与期間：79週間 1994年11月28日～1996年6月11日

投与方法：検体を0, 30, 300, 1000及び2000ppmの濃度で飼料に混入し、試験終了時まで随時摂食させた。検体を混入した飼料は4週間毎に調製した。

〈用量設定根拠〉

試験項目及び結果：

死亡率；全ての動物について、生死を毎日（1日2回）観察した。

最終屠殺時の死亡率を表1に示した。

雌雄とも死亡率に投与の影響は認められなかった。

表1 死亡率

投与量(ppm)		0	30	300	1000	2000
死亡率 (%)	雄	14	10	20	10	8
	雌	16	28	10	10	16

Coxの回帰検定を実施したが有意差なし。

一般症状及び身体検査；全動物について、一般症状の観察を毎日（1日2回）実施し、触診を含む身体検査を週1回実施した。

試験期間を通して、投与に関連したと考えられる臨床症状及び行動の変化は認められなかった。さらに、触診腫瘍あるいは隆起の発現も投与群と対照群で同程度であった。

体重変化；投与開始から13週間は週に1回、その後は4週毎に1回、すべての生存動物の体重を測定した。

雄では、2000ppm群で軽度な体重増加抑制が継続して観察された。

雌では、2000及び1000ppm群で有意な体重増加量の低下が試験期間を通して認められた。

300ppm群でも体重増加量の低下が観察されたが、その程度は小さいものであった(表2)。

その他の投与群雌雄の体重増加には投与による影響はみられなかった。

表2. 累積体重増加量(g)

投与量		0 ppm			30 ppm		300 ppm		1000 ppm		2000 ppm	
性別	試験週	増加量	増加量	%	増加量	%	増加量	%	増加量	%	増加量	%
雄	13	14.56	14.49	-0.5	14.70	0.9	14.01	-3.8	13.14**	-9.8		
	27	19.02	18.85	-0.9	19.00	-0.2	18.18	-4.5	17.94	-5.7		
	51	22.28	23.66	6.1	23.55	5.7	21.88	-1.8	21.12	-5.2		
	78	23.06	22.01	-4.6	22.02	-4.5	21.17	-8.2	20.93-	-9.2		
雌	13	11.61	11.09	-4.5	10.73	-7.6	10.07**	-13.3	10.02**	-13.7		
	27	19.90	18.78	-5.6	17.77	-10.7	15.80**	-20.6	15.46**	-22.3		
	51	26.07	23.35	-10.4	22.80	-12.5	22.83**	-12.4	19.86**	-23.8		
	78	23.85	21.99	-7.8	20.61	-13.6	23.31	-2.2	21.28	-10.8		

増加量：試験開始時の体重から試験週までの増加量を示す。

%：対照群に対する変動率を示す。

Lepageの検定、**；p<0.01，Jonckheereの検定、-；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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

摂餌量；投与開始から 13 週間は週に 1 回、その後は 4 週毎に 1 回摂餌量を測定した。

雌の 2000ppm 群で軽度な摂餌量の低下がみられ、累積摂餌量は、対照群に比して 7%の低下を示した。

その他の投与群には投与に関連した摂餌量への影響は認められなかった。

相対摂餌量；投与開始から 13 週間は週に 1 回、その後は 4 週毎に相対摂餌量を算出した。

雌雄とも投与群と対照群との間の相対摂餌量に、投与による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（検体含有量の分析をもとに、補正した値）は、表 3 のとおりであった。

表 3 検体摂取量

投与量 (ppm)		30	300	1000	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.90	39.4	131.1	274
	雌	3.51	35.7	124.1	246

飲水量；投与開始から 1 か月毎に飲水量を測定した。

1000 及び 2000ppm 群雌雄において、対照群と比較して軽度な飲水量の低下が観察されたが、その差異は継続性あるいは程度の面からみて、投与に関連した変化とするには不十分であった。

血液学的検査；投与開始後 53 週及び 79 週時に血液学的検査用動物の各群雌雄 10 匹を対象として（79 週時の検査で検査用動物が不足した場合には、発癌性試験群の動物より補充し、1 群 10 匹とした。）、血液を眼窩静脈叢から採取し以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、赤血球容積分布幅 (RDW)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、ヘモグロビン濃度の分布幅 (HDW)、白血球数、白血球百分率、血小板数

表 4 に対照群と比較し、統計学的有意差のみられた項目を示す。

統計学的有意差が散発的に認められたが、用量相関性がみられず、その変動幅も毒性学的な関連性を示すには小さい変化であることから、投与に起因した変化とは考えられなかった。

リンパ球性白血病が、雄では 300ppm 群を除く各群に 1 例ずつ、雌では対照群 2 例、300ppm 群 1 例、1000ppm 群 2 例、2000ppm 群 1 例に、さらに 30ppm

群雌 1 例に芽球細胞性白血病が観察された。これらの所見の発現頻度は低く、用量相関性もみられず、また、この系統のマウスに自然発生的に観察されることから投与に関連するものではなかった。

表 4 血液学的検査

検査 時期	性 別	雄				雌			
		投与量(ppm)				投与量(ppm)			
		30	300	1000	2000	30	300	1000	2000
53 週	ヘモグロビン濃度								93↓-
	MCH		101↑						
	MCHC				97-				
	好塩基球比			33-					
79 週	ヘモグロビン濃度				93-				100↑
	MCHC			95-	97-				

Lepage の検定、↑↓; p<0.01
Jonckheere の検定、+-; p<0.01 (+は増加傾向、-は減少傾向を示す。)
表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を示す。

臓器重量；試験 39 週及び試験終了時に屠殺した動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、相対重量（対体重比）を算出した。

体重（全採血後）、脳、肝、腎、副腎、精巣及び卵巣、脾

表 5 に対照群と比較し、統計学的有意差のみられた項目を示す。

中間屠殺（試験 39 週時）

2000ppm 群雌では、体重（採血後）の低下がみられ、これに関連して肝及び脾の体重比増加が認められた。雄では 1000 及び 2000ppm 群で肝の重量と体重比の増加が認められた。

最終屠殺（試験 79 週時）

1000 及び 2000ppm 群雌雄で肝の重量及び体重比に増加がみられた。

2000ppm 群の雄で副腎の体重比増加が、雌で腎の体重比増加が認められた。しかし、これらの変動を裏付ける病理組織学的変化は認められず、個体別の値も対照群および背景データの範囲内であったことから、投与に関連したものとは考えられなかった(表 5-a)。

300ppm 群雌で脾の重量及び体重比に増加がみられた。この変動は 300ppm 群の 1 例にみられた肥大 (3.433g、悪性リンパ腫) によるものであった。この値を除外して再計算した平均値は対照群の値と同程度であった(表 5-b)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 5 臓器重量

検査時期	性 別		雄				雌			
	投与量(ppm)		30	300	1000	2000	30	300	1000	2000
39週時	最終 体重									{(87)}
	肝	重 量			{(115)}	{133 ↓}				
		対体重比			{(113)}	{127 ↑ +}				{114 +}
	脾	対体重比								{133 +}
79週時	最終 体重									
	肝	重 量			{(104)}	{122 ↑ +}			{107 +}	{107 ↑ +}
		対体重比			{106 ↑ +}	{125 ↑ +}			{110 +}	{112 ↑ +}
	腎	対体重比								108 +
	副腎	対体重比				116 ↑				
	脾	重 量						190 +		
対体重比							195 ↑ +			

Lepage の検定、 ↑↓ ; p<0.01

Janckheere の検定、 +- ; p<0.01 (+は増加傾向、-は減少傾向を示す。)

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を示す。

() 内の数値は統計学的に有意ではないが増加傾向を示した。

数値の網掛けは投与の影響。

表 5-a 雄の副腎重量および雌の腎重量(79週時)

臓 器	副 腎 (雄) 単位 : mg			腎 (雌) 単位 : g			
	投与量 (ppm)	0 ppm	2000ppm	背景データ	0 ppm	2000ppm	背景データ
重 量	平均値	8.196	9.264		0.447	0.460	
	範 囲	4.10~15.50	4.30~15.30		0.326~0.651	0.345~0.618	
対体重比	平均値	0.159	0.185 ↑		10.32	11.12+	
	範 囲	0.077~0.284	0.079~0.322		7.08~20.67	7.505~14.84	

Lepage の検定、 ↑ ; p<0.01. Janckheere の検定、 + ; p<0.01.

背景データの範囲は各試験の平均値の最小値と最大値を示す。

表 5-b 雌の脾重量(79週時)

投与量 (ppm)		0	30	300	1000	2000
重 量 (g)	全動物の平均値	0.232	0.248	0.44 +	0.324	0.302
	個別別の範囲	0.10~0.855	0.076~0.669	0.122~3.433	0.097~1.985	0.09~1.667
	除外した脾重量	—	—	3.433	—	—
	除外動物番号	—	—	No. 492	—	—
	除外後の平均値	0.234	0.248	0.380	0.324	0.302
対 体 重 比	全動物の平均値	5.670	5.871	11.06 ↑ +	7.950	7.516
	個別別の範囲	2.102~17.35	1.917~19.79	2.462~98.70	2.383~53.78	2.055~4.99
	除外した対体重比	—	—	98.7	—	—
	除外動物番号	—	—	No. 492	—	—
	除外後の平均値	5.670	5.871	9.304	7.950	7.516

Lepage の検定、 ↑ ; p<0.01. Janckheere の検定、 + ; p<0.01 (増加傾向を示す。)
Dunnett の検定、有意差なし。

肉眼的病理検査；試験 39 週の間屠殺群及び発癌試験群の全動物を対象として、肉眼的病理検査を実施した。

中間屠殺群（試験 39 週時）

投与に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

発癌試験群と血液検査用動物（試験 79 週時の最終屠殺及び死亡動物）

表 6 に観察された主な肉眼的所見を示した。

雄の 2000ppm 群に肝肥大の発現が軽度増加した。数例の動物において、この所見は肝細胞肥大と一致しており、投与に関連した変化と考えられた。雄の 1000 及び 2000ppm 群で観察された肝の腫瘍及び結節に低下がみられたが、偶発的なものと考えられた。

その他に観察された所見は、対照群と投与群との間でほぼ同頻度であり、本マウスの系統に自然発生的にみられる肉眼的病変の発生頻度とも類似しており、投与との関連はないものと考えられた。

表 6 肝の肉眼的病理所見

性 別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量 (ppm)	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
検査動物数	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
肥 大	0	2	1	0	4	1	4	3	2	4
腫 瘍	18	18	12	8↓	8↓	1	0	1	3	0
結 節	7	4	16↑	6	5	2	1	0	2	1
腫瘍と結節の合計	25	22	28	14↓	13↓	3	1	1	5	1

Fisher's exact test, ↑ ↓; p<0.05. (申請者が実施した。)

病理組織学的検査；試験 39 週時の中間屠殺動物及び発癌試験群の動物を対象として、以下の組織について、病理標本作製し検鏡した。

皮膚、乳腺部、脾、腸間膜リンパ節、腋窩リンパ節、胸骨及び骨髄、大腿骨及び関節、骨格筋、気管、肺、心、大動脈、顎下腺、肝、胆嚢、膵、食道、胃、小腸、大腸、腎、膀胱、精巣、前立腺、精嚢、精巣上体、卵巣、膣、子宮、下垂体、副腎、上皮小体を含む甲状腺、胸腺、末梢神経、脳、脊髄、眼及び視神経、ハーダー氏腺、眼窩外涙腺、ジンバル腺、鼻腔部、舌及び肉眼的病変部位

中間屠殺群 (試験 39 週時)

39 週時中間屠殺群に認められた主な非腫瘍性病変を表 12 に、腫瘍性病変を表 13 に示した。

〈非腫瘍性病変〉

肝に投与に関連した変化が認められた。2000ppm 群雌雄で肝細胞肥大及び単細胞壊死 (肝細胞) の増加が、2000ppm 群雄で限局性壊死の程度の増強がみられた (表 7)。

表 7 肝の所見とその程度 (39 週時中間屠殺)

性 別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量 (ppm)	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
検査動物数	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
肝細胞肥大										
発現頻度	6	8	8	7	10↑	2	1	0	2	5
平均グレード	2.0	2.0	2.0	2.0	2.1	2.0	2.0	0	2.5	2.0
肝細胞単細胞壊死										
発現頻度	1	0	2	2	4	2	0	0	1	5
平均グレード	2.0		2.0	2.0	2.3	2.0			2.0	2.2
壊 死										
発現頻度	0	0	0	0	1	1	2	0	0	1
平均グレード					2.0	2.0	2.5			2.0
脂 肪 化										
発現頻度	9	10	9	10	9	7	9	8	6	5
平均グレード	2.7	2.2	2.3	2.1	3.2	2.7	2.3	2.4	2.2	2.2

Fisher's exact test ↑; p<0.05.

〈腫瘍性病変〉

39 週時中間屠殺動物に投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった。

発癌試験群 (試験 79 週時最終屠殺及び死亡動物)

〈非腫瘍性病変〉

表 14 に主な非腫瘍性病変を示した。

肝 : 肝細胞肥大の増加が 2000ppm 群雌雄にみられ、単細胞壊死 (肝細胞) の増加が 1000ppm 群雄と 2000ppm 群雌雄に、限局性の壊死の軽度増加が雌の 1000 及び 2000ppm 群に、脂肪化の頻度増加が雄の 2000ppm 群に認められた (表 8)。

雌の投与群において、脂肪化及び炎症性細胞浸潤の軽度減少がみられた (表 8) が、その発生は依然として多数の動物に観察されていることから、正常な生物学的変動の範囲内の変化と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 8 肝の所見

性 別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量(ppm)	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
検査動物数	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)
肝細胞肥大	36	37	36	41	44*↑	7	7	7	13	21*↑
途中死亡	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0
最終屠殺	33	36	33	41	44↑	7	7	7	13	21↑
平均グレード	2.2	2.1	2.1	2.2	2.6	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
肝細胞単細胞壊死	6	4	7	15*↑	22*↑	5	3	3	6	12*↑
途中死亡	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
最終屠殺	6	4	6	14↑	22↑	5	3	3	6	12
平均グレード	2.2	2.0	2.3	2.3	2.5	2.2	2.3	2.0	2.2	2.1
壊 死	3	3	1	3	1	2	5	5	6*	9*↑
途中死亡	0	0	0	1	1	2	4	2	1	4
最終屠殺	3	3	1	2	0	0	1	3	5↑	5↑
平均グレード	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	3.0	2.6	2.0	2.3	2.0
脂 肪 化	32	30	35	36	39*	42	33	33	30	25
途中死亡	4	2	5	0	1	6	5	3	1	1
最終屠殺	28	28	30	36	38↑	36	28	30	29	24
平均グレード	2.2	2.1	2.1	2.3	2.4	2.5	2.3	2.4	2.2	2.1
炎症性細胞浸潤	6	6	7	11	6	27	21	25	22	16
途中死亡	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1
最終屠殺	6	6	6	10	6	26	20	24	22	15

Gratらの検定、*; $p < 0.05$, Fisher's exact test ↑; $p < 0.05$.

腎：尿細管円柱出現の頻度増加が、雌の2000ppm群にみられた(表9)。尿細管円柱出現は、慢性腎症の診断名で要約される加齢に関連した慢性的な腎の変化の一つとして自然発生的に観察される。円柱が尿細管の萎縮に伴って出現した場合、加齢に関連する軽度な病変と考えられる。雌の投与群では尿細管円柱及び萎縮の合併、また慢性腎症のいずれにも有意な増加はみられなかった(表9)。従って、雌の2000ppm群にみられた尿細管円柱出現の頻度増加は、毒性学的に関連性のない変化と考えられた。

表9 腎の所見

性別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量(ppm)										
検査動物数	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)
尿細管円柱出現	15	13	11	17	15	12	18	12	18	22*↑
途中死亡	3	2	1	1	2	1	5	1	1	3
最終屠殺	12	11	10	16	13	11	13	11	17	19
尿細管萎縮	27	23	21	23	20	9	10	10	9	7
途中死亡	3	2	3	0	0	0	1	0	0	0
最終屠殺	24	21	18	23	20	9	9	10	9	7
尿細管円柱/萎縮	30	25	24	27	24	19	22	20	22	26
途中死亡	5	3	4	1	2	1	5	1	1	3
最終屠殺	25	22	20	26	22	18	17	19	21	23
慢性腎症	13	21	21	18	17	4	4	8	5	2
途中死亡	1	1	2	1	0	2	3	2	3	1
最終屠殺	12	20	19	17	17	2	1	6	2	1

Gratらの検定、*;p<0.05, Fisher's exact test ↑;p<0.05.

腸間膜リンパ節：慢性反応性過形成の頻度増加が雌の1000及び2000ppm群にみられた(表10)。これらの頻度は背景データと同程度であったことから、毒性学的な関連性はないものと考えられる。

表10 腸間膜リンパ節の所見(雌)

投与量(ppm)	0	30	300	1000	2000	背景データ (10試験)
検査動物数	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	
慢性反応性過形成						
中間屠殺群	2	3	3	2	4	
発癌性試験群	9	10	13	17*	17*	()

Gratらの方法、*;p<0.05

ハーダー氏腺 : 壊死の頻度増加が雄の 2000ppm 群にみられた(表 11)。その組織形態、また片側での発生であることから、この変化は全動物で実施した眼窩静脈叢からの血液採取の結果生じた変化であると考えられた。従って、投与との関連性はないものと判断された。

腹腔 : リンパ球浸潤(腹膜)の頻度増加が雌の 1000 及び 2000ppm 群にみられた(表 11)。腹膜の炎症は様々な腹腔内臓器の炎症過程に二次的に発生することが知られていることから、腹膜リンパ球浸潤の軽度な差異は、毒性的に関連性のない変化と考えられた。

表 11 ハーダー氏腺と腹腔の所見

性 別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量(ppm)										
検査動物数	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)
ハーダー氏腺の壊死										
発癌試験群	18	13	18	22	24*	9	9	17	17	10
腹腔の腹膜リンパ球浸潤										
発癌試験群	3	6	5	5	1	8	10	9	16↑	13

Grat らの方法、*;p<0.05, Fisher's exact test ↑;p<0.05.

その他の組織 : 卵巣嚢胞、脳の圧迫による萎縮及び鼻腔のリンパ球増生が少数例観察され、雌の 2000ppm 群で有意な増加がみられた。しかし、その発現数が低いことから投与に関連した変化とは考えられなかった。

さらに、雄では 2000ppm 群で膵の島細胞過形成、前立腺のリンパ球浸潤及び精嚢の慢性炎症に頻度低下が、雌では 1000 及び 2000ppm 群で膵の炎症性細胞浸潤及び骨の骨髓線維化、2000ppm 群で網膜の萎縮に頻度低下がみられた。しかしながら、これらの所見は生物学的変動の範囲内であることから、投与とは関連のない変化と考えられた。

さらに、多数の非腫瘍性病変が認められたが、本系統のマウスに通常認められている変化であり、それらの発生頻度、分布及び形態学的特徴から判断して、投与との関連性を示唆するものではなかった。

〈腫瘍性病変〉

表 15 に認められた全ての腫瘍性病変を示した。

雌雄ともに投与に起因した腫瘍の発現頻度の増加、腫瘍性病変の経時的依存性は認められなかった。さらに、腫瘍を有する動物数および総腫瘍数は対照群と投与群で同程度であった。

認められた腫瘍性病変は本系統及び同週齢のマウスで一般的に認められる変化であり、また、それらの発生頻度、分布あるいはそれぞれの組織型も通常の本系統のマウスに認められるものであった。

以上の結果から、本剤の 18 か月間飼料混入投与による発癌性試験における影響として、2000ppm 群雌雄及び 1000ppm 群雌では試験期間を通して体重増加抑制が、2000ppm 群雌で摂餌量の軽度低下が認められた。300ppm 群雌では体重増加抑制がみられたが軽度なものであった。臓器重量の変化として、39 週の間接屠殺時では 2000ppm 群雌で最終体重低下、2000ppm 群雌雄及び 1000ppm 群雄で肝重量及び体重比の増加が、2000ppm 群雌で脾の体重比増加がみられ、79 週の間接屠殺時では 1000ppm 以上の投与群雌雄で肝重量と体重比の増加が認められた。病理組織学的所見として、肝において 2000ppm 群雌雄で肝細胞肥大、1000ppm 以上の投与群雄及び 2000ppm 群雌で単細胞壊死、1000ppm 以上の投与群雌で限局性の壊死、2000ppm 群雄で肝細胞脂肪化が認められた。

これらのことより、無影響量は雄で 300ppm (39.4mg/kg/day)、雌で 30ppm (3.51mg/kg/day) であり、無毒性量は雄で 300ppm (39.4mg/kg/day)、雌では 300ppm における体重への影響は軽度であったことから 300ppm (35.7mg/kg/day) であると判断された。また、発癌性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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 12 39 週時屠殺動物の主な非腫瘍性病変

性別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量 (ppm)										
検査動物数	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
骨髓 : 細胞増生	3	3	4	3	0	0	0	1	1	1
脾 : 髄外造血亢進	7	5	1	1	4	2	2	1	1	2
ヘモジデリン沈着	4	1	0	1	0	6	6	9	6	9
胸腺 : 萎縮	7	8	7	8	4	6	8	7	10 ↑	6
腸間膜リンパ節 : 慢性反応性過形成	1	1	1	1	1	2	3	3	2	4
唾液腺 : リンパ球浸潤	1	1	0	1	1	7	8	7	7	9
腺胃 : 上皮過形成	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
リンパ球浸潤	0	2	0	2	1	3	1	2	1	0
炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	5 ↑	1	1	2
肝 : 脂肪化	9	10	9	10	9	7	9	8	6	5
変異細胞巢	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
肝細胞肥大	6	8	8	7	10 ↑	2	1	0	2	5
炎症性細胞浸潤	0	0	0	3	0	2	6	7 ↑	5	3
リンパ球浸潤	4	5	4	4	7	4	9 ↑	5	5	10 ↑
壊死	0	0	0	0	1	1	2	0	0	1
単細胞壊死	1	0	2	2	4	2	0	0	1	5
脾 : 島細胞過形成	3	4	2	2	3	0	1	0	1	0
炎症性細胞浸潤	0	1	2	0	0	3	2	3	1	0
肺 : リンパ球浸潤	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2
腎 : 尿細管萎縮	2	6	4	4	7 ↑	1	0	0	0	1
尿細管円柱出現	3	6	5	3	2	2	6	4	5	1
尿細管円柱出現/萎縮	4	8	7	6	7	3	6	4	5	2
嚢胞	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1
リンパ球浸潤	5	9	8	8	6	8	6	9	9	7
精巣 : 精細管萎縮	5	5	2	3	3	—	—	—	—	—
前立腺 : リンパ球浸潤	1	3	2	1	1	—	—	—	—	—
精巣上体 : 慢性炎症	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—
子宮 : 嚢胞状過形成	—	—	—	—	—	2	5	3	2	4
子宮内膜症	—	—	—	—	—	0	3	1	1	1
リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	2	3	1	2	2
甲状腺 : リンパ球浸潤	0	0	3	1	0	4	3	2	2	4
副腎 : セロイド沈着	6	6	8	4	3	2	2	1	1	0
皮質被膜下細胞増生	1	0	1	0	1	3	1	5	1	5

Fisher's exact test, ↑ ; p<0.05.

表 13 39 週時屠殺動物の腫瘍性病変

性別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量 (ppm)										
検査動物数	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
肝 : 肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
肺 : 細気管支・肺胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
ハーダー腺 : 腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍, Fisher's exact test, 有意差なし。

表14 主な非腫瘍性病変

検査時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
	検査動物数	(7)	(5)	(10)	(5)	(4)	(8)	(14)	(5)	(5)	(8)
死亡 切迫 屠殺 動物	骨 : 骨髄線維化	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
	関節 : 骨関節症	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	心 : 線維化を伴った炎症	0	0	0	1	0	1	2	2	1	0
	骨髄 : 細胞増生	4	3	6	4	2	3	7	3	5↑	5
	脾 : 白脾髄萎縮	1	1	6	2	2	0	4	1	4↑	0
	髄外造血亢進	5	0	3	2	1	3	6	4	3	3
	へモジデリン沈着	2	2	1	0	0	5	6	1	4	3
	胸腺 : 萎縮	6	4	9	2	2	2	4	4	2	4
	腸間膜リンパ節 : 慢性反応性過形成	0	0	2	2	0	0	2	1	0	1
	腋窩リンパ節 : 慢性反応性過形成	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
	腺胃 : リンパ球浸潤	0	1	1	0	1	0	0	1	0	0
	慢性炎症	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0
	肝 : 脂肪化	4	2	5	0	1	6	5	3	1	1
	髄外造血亢進	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0
	変異細胞巢	2	1	0	1	0	2	0	0	0	1
	肝細胞肥大	3	1	3	0	0	0	0	0	0	0
	炎症性細胞浸潤	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1
	リンパ球浸潤	0	2	6↑	1	2	1	1	2	2	0
	壊死	0	0	0	1	1	2	4	2	1	4
	単細胞壊死(肝細胞)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
膵 : 腺房細胞過形成	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
島細胞過形成	3	2	6	3	0	0	0	0	0	0	
炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
肺 : 泡沫細胞集簇	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	
気管支・肺胞過形成	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	
リンパ球浸潤	0	0	1	0	0	3	0	1	0	1	
腎 : 尿細管萎縮	3	2	3	0	0	0	1	0	0	0	
尿細管円柱出現	3	2	1	1	2	1	5	1	1	3	
尿細管円柱出現/萎縮	5	3	4	1	2	1	5	1	1	3	
嚢胞	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	
糸球体腎炎	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	
リンパ球浸潤	4	1	3	2	1	6	8	4	4	3	
鉍物沈着	4	2	2	1	0	1	0	0	0	0	
慢性腎症	1	1	2	1	0	2	3	2	3	1	
腎盂拡張	1	1	2	0	1	0	0	0	0	1	
精巣 : 精細管萎縮	2	0	4	1	1	—	—	—	—	—	
前立腺 : リンパ球浸潤	0	0	2	1	1	—	—	—	—	—	
精のう : 拡張	6	3	4	3	3	—	—	—	—	—	
慢性炎症	1	2	4	2	0	—	—	—	—	—	

Fisher's exact test, ↑ ; p < 0.05.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
	検査動物数	(7)	(5)	(10)	(5)	(4)	(8)	(14)	(5)	(5)	(8)
死 亡 ・ 切 迫 屠 殺 動 物	卵巣 : 萎縮	—	—	—	—	—	3	6	2	3	2
	卵巣 : 卵巣嚢拡張	—	—	—	—	—	0	0	2	0	0
	卵管 : リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
	子宮 : 嚢胞状過形成	—	—	—	—	—	2	1	2	0	1
	子宮 : 子宮内膜症	—	—	—	—	—	0	0	1	1	0
	子宮 : 拡張	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	子宮 : 萎縮	—	—	—	—	—	1	2	1	0	1
	膣 : リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0
	下垂体 : 前葉過形成	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	甲状腺 : 濾胞のう胞状拡張	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
	甲状腺 : 炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	甲状腺 : リンパ球浸潤	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	副腎 : セロイド沈着	4	2	6	2	2	5	2	1	1	2
	副腎 : 髓外造血亢進	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	副腎 : 皮質被膜下細胞増生	1	0	2	0	0	3	4	4	3	3
	副腎 : 皮質の過形成	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0
	副腎 : 皮質の細胞肥大	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺 : 導管拡張	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1
	眼 : 白内障(水晶体)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	網膜 : 萎縮	0	0	2	0	1	0	0	0	1	1
ハーダー氏腺 : 腺過形成	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
ハーダー氏腺 : リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	0	3	0	1	2	
ハーダー氏腺 : 慢性炎症	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
涙腺 : ハーダー腺化生	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	
腹腔 : リンパ球浸潤(腹膜)	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	
鼻腔 : リンパ球増生	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
胸腔 : リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	

Fisher's exact test で有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000	
	検査動物数	(43)	(45)	(40)	(45)	(46)	(42)	(36)	(45)	(45)	(42)	
79 週 時 屠 殺 動 物	骨 : 骨髄線維化	1	0	0	0	1	5	4	4	1	1	
	関節 : 骨関節症	12	14	8	8	13	2	4	7	1	1	
	心 : 線維化を伴った炎症	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	
	骨髄 : 細胞増生	14	23	18	24 ↑	13	8	7	13	9	11	
		リンパ球増生	4	2	5	3	5	3	2	4	5	5
	脾 : 白脾髄萎縮	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	
		髓外造血亢進	21	27	17	24	23	35	29	37	33	34
		ヘモジデリン沈着	10	3	8	6	13	23	13	15	20	23
		白脾髄過形成	6	9	5	4	9	9	8	12	13	11
	胸腺 : 萎縮	39	36	30	31	38	35	22 ↑	29	38	29	
	腸間膜リンパ節 : 慢性反応性過形成	6	11	10	16 ↑	9	9	8	12	17	16	
	腋窩リンパ節 : 慢性反応性過形成	7	1	0	0	3	3	7	8	4	1	
	腺胃 : リンパ球浸潤	8	16	10	14	9	7	16 ↑	17 ↑	17 ↑	13	
		慢性炎症	12	3	13	3	12	0	3	1	2	0
	肝 : 脂肪化	28	28	30	36	38 ↑	36	28	30	29	24	
		髓外造血亢進	2	3	0	0	0	5	4	8	4	5
		変異細胞巣	6	6	7	16 ↑	7	3	2	4	3	5
		肝細胞肥大	33	36	33	41	44 ↑	7	7	7	13	21 ↑
		炎症性細胞浸潤	6	6	6	10	6	26	20	24	22	15
		リンパ球浸潤	25	27	30	30	29	33	24	26	34	33
		壊死	3	3	1	2	0	0	1	3	5 ↑	5 ↑
		単細胞壊死(肝細胞)	6	4	6	14 ↑	22 ↑	5	3	3	6	12
	脾 : 腺房細胞過形成	2	1	3	4	1	4	1	5	3	1	
		島細胞過形成	29	21	24	20	16	2	4	1	3	0
		炎症性細胞浸潤	2	4	6	3	2	8	9	8	4	5
	肺 : 泡沫細胞集簇	1	2	1	4	0	2	2	0	2	4	
		気管支・肺胞過形成	1	1	4	2	2	2	3	0	1	1
		リンパ球浸潤	8	5	6	11	6	11	14	11	17	13
	腎 : 尿細管萎縮	24	21	18	23	20	9	9	10	9	7	
		尿細管円柱出現	12	11	10	16	13	11	13	11	17	19
		尿細管円柱出現/萎縮	25	22	20	26	22	18	17	19	21	23
		嚢胞	14	15	11	18	14	0	0	0	2	1
	糸球体腎炎	0	2	0	0	0	3	2	7	1	0	
	リンパ球浸潤	38	42	35	41	40	35	36 ↑	39	42	36	
	鉍物沈着	8	5	5	6	15	0	0	0	0	1	
	慢性腎症	12	20	19	17	17	2	1	6	2	1	
	腎盂拡張	3	2	0	1	3	0	0	0	0	0	
精巣 : 精細管萎縮	35	37	29	36	37	—	—	—	—	—		
	ラゲル細胞過形成	1	0	1	2	1	—	—	—	—	—	
前立腺 : リンパ球浸潤	17	9	11	13	6	—	—	—	—	—		
精のう : 拡張	33	35	35	38	34	—	—	—	—	—		
	慢性炎症	20	23	19	20	11	—	—	—	—	—	

Fisher's exact test, ↑ ; p<0.05.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
	検査動物数	(43)	(45)	(40)	(45)	(46)	(42)	(36)	(45)	(45)	(42)
79 週 屠 殺 動 物	卵巣 : 萎縮	—	—	—	—	—	8	6	9	10	7
	のう胞	—	—	—	—	—	0	1	0	1	3
	卵巣囊拡張	—	—	—	—	—	2	1	6	5	2
	卵管 : リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	9	9	12	8	14
	子宮 : 嚢胞状過形成	—	—	—	—	—	27	25	29	29	27
	子宮内膜症	—	—	—	—	—	16	16	13	19	12
	拡張	—	—	—	—	—	1	3	3	2	5
	リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	6	5	7	8	5
	萎縮	—	—	—	—	—	1	0	0	1	1
	膣 : リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	4	9↑	7	7	11↑
	脳 : 圧迫による萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	3	4	5	1	2
	下垂体 : 前葉過形成	0	0	1	0	2	2	2	2	3	0
	甲状腺 : 濾胞のう胞状拡張	5	1	3	4	2	0	2	3	2	1
	炎症性細胞浸潤	0	3	1	2	2	5	6	10	8	7
	リンパ球浸潤	7	5	2	3	2	7	8	11	7	12
	副腎 : 皮質萎縮	2	3	4	5	1	0	0	0	0	0
	セロイド沈着	21	20	26	24	28	15	7	10	11	9
	髓外造血亢進	0	0	0	0	0	0	1	4	2	0
	皮質被膜下細胞増生	10	10	8	9	8	28	32↑	27	27	33
	皮質の過形成	17	15	13	11	17	0	1	1	3	0
	皮質の細胞肥大	11	5	1	4	6	0	0	0	2	0
	乳腺 : 導管拡張	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0
	眼 : 白内障(水晶体)	12	14	7	17	8	2	9↑	9↑	8	7
	血管新生(角膜)	1	0	0	0	0	0	2	1	0	3
	潰瘍(角膜)	0	0	1	0	0	1	5	7↑	3	7↑
	眼周囲の組織 : 慢性炎症	0	5↑	2	1	0	13	11	19	16	15
	網膜 : 萎縮	15	23	26	26	19	24	22	32	19	13
	ハーダー氏腺 : 腺過形成	2	2	4	4	2	2	1	0	0	2
リンパ球浸潤	8	3	2	7	5	9	6	9	6	8	
慢性炎症	6	7	1	6	5	6	8	11	15↑	7	
壊死	18	13	18	22	24	9	9	17	17	10	
涙腺 : ハルダー腺化生	2	2	5	2	2	6	9	3	11	5	
腹腔 : リンパ球浸潤(腹膜)	3	5	4	4	1	8	10	9	16	13	
鼻腔 : リンパ球増生	1	0	0	1	0	0	0	0	1	2	
胸腔 : リンパ球浸潤	0	9↑	6↑	12↑	0	1	6↑	4	6	4	

Fisher's exact test, #; p<0.05.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000	
	検査動物数	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	
全 動 物	骨 : 骨髓線維化	1	0	0	0	1	6	5	4	1	1	
	関節 : 骨関節症	13	14	8	9	13	3	4	7	1	1	
	心 : 線維化を伴った炎症	0	3	1	2	0	1	2	2	1	0	
	骨髓 : 細胞増生		18	26	24	28 ↑	15	11	14	16	14	16
		リンパ球増生	4	2	5	3	5	3	2	4	5	5
	脾 : 白脾髄萎縮		1	3	6	3	2	1	5	1	4	1
		髓外造血亢進	26	27	20	26	24	38	35	41	36	37
		ヘモジデリン沈着	12	5	9	6	13	28	19	16	24	26
		白脾髄過形成	6	9	5	4	9	9	8	12	13	11
	胸腺 : 萎縮	45	40	39	33	40	37	26	33	40	33	
	腸間膜リンパ節 : 慢性反応性過形成	6	11	12	18 ↑	9	9	10	13	17*	17*	
	腋窩リンパ節 : 慢性反応性過形成	7	1	0	0	3	3	7	10 ↑	4	2	
	腺胃 : リンパ球浸潤		8	17 ↑	11	14	10	7	16 ↑	18 ↑	17 ↑	13
		慢性炎症	12	3	16	3	13	0	3	1	2	0
	肝 : 脂肪化		32	30	35	36	39*	42	33	33	30	25
		髓外造血亢進	2	3	0	0	0	6	6	9	4	5
		変異細胞巢	8	7	7	17 ↑	7	5	2	4	3	6
		肝細胞肥大	36	37	36	41	44* ↑	7	7	7	13	21* ↑
		炎症性細胞浸潤	6	6	7	11	6	27	21	25	22	16
		リンパ球浸潤	25	29	36 ↑	31	31	34	25	28	36	33
		壊死	3	3	1	3	1	2	5	5	6*	9* ↑
		単細胞壊死(肝細胞)	6	4	7	15* ↑	22* ↑	5	3	3	6	12* ↑
	脾 : 腺房細胞過形成		2	2	3	4	1	4	1	5	3	3
		島細胞過形成	32	23	30	23	16	2	4	1	3	0
		炎症性細胞浸潤	2	4	6	3	2	8	10	8	4	5
	肺 : 泡沫細胞集簇		1	3	1	4	0	3	2	0	2	4
		気管支・肺胞過形成	1	1	4	2	2	4	3	0	1	1
		リンパ球浸潤	8	5	7	11	6	14	14	12	17	14
	腎 : 尿細管萎縮		27	23	21	23	20	9	10	10	9	7
		尿細管円柱出現	15	13	11	17	15	12	18	12	18	22* ↑
		尿細管円柱出現/萎縮	30	25	24	27	24	19	22	20	22	26
		嚢胞	14	15	13	19	14	0	0	0	2	1
		糸球体腎炎	1	2	0	0	0	3	3	7	2	0
リンパ球浸潤		42	43	38	43	41	41	44	43	46	39	
鉍物沈着		12	7	7	7	15	1	0	0	0	1	
慢性腎症		13	21	21	18	17	4	4	8	5	2	
腎盂拡張		4	3	2	1	4	0	0	0	0	1	
精巢 : 精細管萎縮			37	37	33	37	38	—	—	—	—	—
	ライゲル細胞過形成	1	0	1	2	1	—	—	—	—	—	
前立腺 : リンパ球浸潤	17	9	13	14	7	—	—	—	—	—		
精のう : 拡張		39	38	39	41	37	—	—	—	—	—	
	慢性炎症	21	25	23	22	11	—	—	—	—	—	

Gratらの傾向検定、*、p<0.05, Fisher's exact test、↑ ;p<0.05.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
	検査動物数	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)
全 動 物	卵巣 : 萎縮	—	—	—	—	—	11	12	11	13	9
	のう胞	—	—	—	—	—	0	1	0	1	3*
	卵巣嚢拡張	—	—	—	—	—	2	1	8	5	2
	卵管 : リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	9	9	12	8	15
	子宮 : 嚢胞状過形成	—	—	—	—	—	29	26	31	29	28
	子宮内膜症	—	—	—	—	—	16	16	14	20	12
	拡張	—	—	—	—	—	1	4	3	2	5
	リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	6	5	7	8	5
	萎縮	—	—	—	—	—	2	2	1	1	1
	膣 : リンパ球浸潤	—	—	—	—	—	5	9	8	7	11
	脳 : 圧迫による萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3*
	リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	3	4	5	1	2
	下垂体 : 前葉過形成			1	0	2	3	2	2	3	0
	甲状腺 : 濾胞のう胞状拡張	5	1	4	4	3	0	2	3	2	1
	炎症性細胞浸潤	0	3	1	2	2	5	6	11	8	8
	リンパ球浸潤	7	5	3	3	2	7	8	11	7	12
	副腎 : 皮質萎縮	2	3	4	5	1	0	0	0	0	0
	セロイド沈着	25	22	32	26	30	20	9	11	12	11
	髓外造血亢進	0	0	0	0	0	0	2	5↑	2	0
	皮質被膜下細胞増生	11	10	10	9	8	31	36	31	30	36
	皮質の過形成	18	17	15	12	17	0	1	1	3	0
	皮質の細胞肥大	11	5	2	4	6	0	0	0	2	0
	乳腺 : 導管拡張	0	0	0	0	0	3	1	0	3	1
	眼 : 白内障(水晶体)	12	14	8	18	8	2	9↑	9↑	8↑	7
	血管新生(角膜)	1	0	0	0	0	0	2	1	0	3
	潰瘍(角膜)	0	0	1	0	0	1	5	7↑	3	7↑
	眼周囲の組織 : 慢性炎症	0	5↑	2	1	0	13	11	19	16	15
	網膜 : 萎縮	15	23	28	26	20	24	22	32	20	14
	ハーダー氏腺 : 腺過形成	2	2	4	5	2	2	1	0	0	2
	リンパ球浸潤	8	3	2	7	5	10	9	9	7	10
慢性炎症	6	7	1	6	5	6	8	11	16↑	7	
壊死	18	13	18	22	24*	9	9	17	17	10	
涙腺 : ハーダー腺化生	2	2	5	2	2	7	10	3	11	5	
腹腔 : リンパ球浸潤(腹膜)	3	6	5	5	1	8	10	9	16↑	13	
鼻腔 : リンパ球増生	2	0	0	1	0	0	0	0	1	2*	
胸腔 : リンパ球浸潤	0	9↑	6↑	12↑	0	2	6	5	7	4	

Gartらの傾向検定、*:p<0.05, Fisher's exact test, ↑:p<0.05.

表 15 腫瘍性病変

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000	
	検査動物数	(7)	(5)	(10)	(5)	(4)	(8)	(14)	(5)	(5)	(8)	
死 亡 ・ 切 迫 屠 殺 動 物	骨 : 骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	大腸 : 腺癌 (M)	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	
	肝 : 肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		肝細胞腺腫 (B)	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0
	肺 : 肝芽細胞腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
		細気管支・肺腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
	前立腺 : 腺癌 (M)	1	1	1	0	0	2	0	0	0	0	
		腺腫 (B)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—
	子宮 : 平滑筋腫 (B)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—	
		良性顆粒細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—
	膣 : 良性顆粒細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	1	1	0	0	0	
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	下垂体 : 前葉の腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	乳腺 : 悪性腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	ハーダー氏腺 : 腺腫 (B)	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	全身性 : 悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	2	1	0	7↑	0	1	4↑	
		骨髄性白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
		組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍、Fisher's exact test、↑ : p<0.05.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌				
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
	検査動物数	(43)	(45)	(40)	(45)	(46)	(42)	(36)	(45)	(45)	(42)
79 週 屠 殺 動 物	骨格筋：肉腫 NOS (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	腸間膜リンパ節：組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	大腸：腺癌 (M)	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0
	腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝：肝細胞癌 (M)	8	8	8	3	9	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫 (B)	22	9	21	22	17	2	2	0	2	2
	血管腫 (B)	0	0	2	2	0	0	0	0	1	0
	血管肉腫 (M)	1	1	0	0	0	0	0	1	2	0
	肺：細気管支・肺泡腺腫 (B)	14	1	7	7	4	6	1	1	6	5
	細気管支・肺泡癌 (M)	2	2	1	4	0	2	4	0	2	2
	腎：癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	精巣：血管腫 (B)	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—
	前立腺：腺癌 (M)	0	3	0	2	0	—	—	—	—	—
	腺腫 (B)	0	2	1	0	0	—	—	—	—	—
	精囊：腺腫 (B)	0	1	0	1	0	—	—	—	—	—
	平滑筋腫 (B)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—
	卵巣：血管腫 (B)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
	子宮：血管腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
	平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	—	1	3	2	1	2
	平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	膈：良性顆粒細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
	平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	脳：良性髄膜腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	下垂体：前葉の腺腫 (B)	0	0	0	0	0	2	2	0	1	3
	甲状腺：濾胞腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	副腎：被膜下腺腫 (B)	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0
	乳腺：悪性腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	皮膚/皮下：血管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
組織球性肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
ハーダー氏腺：腺腫 (B)	7	9	6	6	8	1	4	0	2	1	
全身性：悪性リンパ腫 (M)	1	3	2	2	3	5	2	9	3	7	
肥満細胞性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
組織球性肉腫 (M)	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	
悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍、Fisher's exact test で有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検査 時期	性別 投与量 (ppm)	雄					雌					
		0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000	
	検査動物数	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	(50)	
全 動 物	骨格筋：肉腫 NOS (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	骨：骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	腸間膜リンパ節：組織球性肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	大腸：腺癌 (M)	1	2	2	3	0	0	0	0	0	1	
		腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	肝：肝細胞癌 (M)	9	8	8	3	9	0	0	0	0	0	
		肝細胞腺腫 (B)	23	10	24	22	17	2	2	0	2	2
		血管腫 (B)	0	0	2	2	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫 (M)	1	1	0	0	0	0	0	1	2	0
		肝芽細胞腫 (B)	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	肺：細気管支・肺腺腫 (B)	14	1	7	8	4	6	2	1	7	5	
		細気管支・肺癌 (M)	3	3	2	4	0	4	4	0	2	2
	腎：癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	精巣：血管腫 (B)	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—	
	前立腺：腺癌 (M)	0	3	1	2	0	—	—	—	—	—	
		腺腫 (B)	0	2	2	0	0	—	—	—	—	
		良性顆粒細胞腫 (B)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	
	動精囊：腺腫 (B)	0	1	0	1	0	—	—	—	—	—	
		平滑筋腫 (B)	0	0	1	0	0	—	—	—	—	
	卵巣：血管腫 (B)	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0	
	子宮：血管腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1	
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	—	2	4	2	1	2
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	膈：良性顆粒細胞腫 (B)	—	—	—	—	—	0	0	2	0	0	
		平滑筋腫 (B)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
	脳：良性髄膜腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	下垂体：前葉の腺腫 (B)	0	0	0	0	0	2	2	0	1	4	
	甲状腺：濾胞腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	副腎：被膜下腺腫 (B)	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	
	乳腺：悪性腺表皮癌 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0	
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
		平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
皮膚/皮下：血管腫 (B)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
	組織球性肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
	基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
ハーダー氏腺：腺腫 (B)	7	10	7	6	8	1	4	0	2	1		
全身性：悪性リンパ腫 (M)	1	3	2	4	4	5	9	9	4	11		
	骨髄性白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0		
	肥満細胞性白血病 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0		
	組織球性肉腫 (M)	0	1	0	0	1	1	0	1	0		
	悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0	0		

(B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍、Peto の検定、Fisher's exact test で有意差なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

性別	雄					雌				
	0	30	300	1000	2000	0	30	300	1000	2000
投与量 (ppm)										
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
良 性 腫 瘍	45	25	46	39	33	14	16	15	14	16
悪 性 腫 瘍	18	23	15	16	14	14	19	13	11	16
腫 瘍 総 数	63	48	61	55	47	28	15	28	25	32
担単発腫瘍動物数	21	14	24	24	20	16	15	16	15	16
担多発腫瘍動物数	18	14	16	13	11	5	8	1	4	7
総担腫瘍動物数	39	28	40	37	31	21	23	17	19	23

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

12. 繁殖毒性及び催奇形性

(1) ラットを用いた繁殖性試験

(毒性資料 No. 原体-23)

試験機関：

報告書作成年：1997年[GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Tif:RAI f系 SPF ラット (SD系)、1群雌雄各30匹、試験開始時5～6週齢

試験期間：1995年1月30日～1997年8月12日

投与期間：F0(P)世代；投与開始から F1b 児離乳時までの約27週間

F1 世代；離乳時から F2 児離乳時までの約17週間

投与方法：検体を0、50、750 および1500ppm の濃度で混入した飼料を自由摂取させた。

<用量設定根拠>

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

一般状態および死亡率；全投与期間を通して全動物の一般状態および生死を毎日観察した。異常がみられた場合は1日2回観察した。

体重；雄については投与開始前、投与期間中は毎週測定した。

雌については投与開始前、交配前および交配期間中は毎週、妊娠期間中は妊娠0、7、14 および21日、哺育期間中は産後0、7、14 および21日に測定した。

摂餌量；雄については屠殺時まで毎週測定した。

雌については交配開始まで毎週、妊娠期間中は妊娠0、7、14 および21日、哺育期間中は産後0、7、14 および21日に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

検体摂取量；体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から、1日当たりの平均検体摂取量を算出した。

交配および妊娠の確認；交配は同一群の雌雄を1:1で同居させて行った。翌日膈栓および膈垢中の精子の有無により交尾を確認した。精子の確認された日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標；分娩日に、各腹について出産児数、生存児数、死産児数および性別を調査し、外表および行動の異常を検査し、体重を測定した。性別、生存児数および児動物の一般状態の観察および児動物体重の測定は、産後4、7、14および21日にも行った。

交配、妊娠、出産および哺育期間中の観察に基づき、以下の指標を算出した。

- 雌の交尾率 (%) = 交尾雌動物数 / 同居雌動物数 × 100
- 雄の交尾率 (%) = 交尾雄動物数 / 同居雄動物数 × 100
- 雌の受胎率 (%) = 妊娠動物数 / 交尾雌動物数 × 100
- 雄の授精率 (%) = 妊娠させた雄動物数 / 交尾雄動物数 × 100
- 妊娠率 (%) = 分娩の確認された雌動物数 / 妊娠動物数 × 100
- 出産率 (%) = 生存児を出産した雌動物数 / 妊娠動物数 × 100
- 性比 (%) = 出産時生存雄数 / 出産時生存児数 × 100
- 出産時生存率 (%) = 出産時生存児数 / 総出産児数 × 100
- 生後4日哺育児生存率 (%)
= 生後4日目の生存児数 (間引き前) / 出産時生存児数 × 100
- 生後21日哺育児生存率 (%)
= 生後21日目の生存児数 / 生後4日目の生存児数 (間引き後) × 100

身体発育分化および行動の発達；以下の指標について評価した。

- 立ち直り反射：臥位にした場合、30秒以内に四肢を地面につけて正常位に戻る児動物数 / 腹
- 眼瞼開裂：両眼瞼が解裂した児動物数 / 腹

臓器重量；親動物の精巣、卵巣、脾、肝、腎、副腎、胸腺および脳の重量を測定し、対体重比を算出した。

肉眼的病理検査；途中死亡動物を含む全ての親動物および児動物について検査した。

病理組織学的検査；対照群および1500ppm群の親動物を対象とし、膈、子宮、卵巣、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、下垂体、肝、膵および肉眼的異常部位について病理標本作製し、鏡検した。なお、肝、脾および腎は、対照群及び全投与群の親動物について病理組織学的検査を行った。

結 果 :

親動物：概要を表 2 に示す。

一般状態および死亡率；F0 および F1 世代のいずれにも、投与に関連した一般状態の変化および死亡例はなかった。

F0 世代の 1500ppm 群雄 1 例は、腹部に触知隆起が観察されたため投与 82 日目に屠殺し、病理組織検査の結果、前立腺に局限した高分化型の悪性線維性組織球腫であった。50ppm 群雌 1 例は、立毛、うずくまり姿勢、呼吸困難などが観察されたため、出産日に屠殺し（6 匹の死亡胎児と 9 匹の生存胎児を有していた）、臏出血、食道に固形内容物がみられた。F1 世代の 750ppm 群雄 1 例は、立毛、自発運動低下及び呼吸音が観察されたため投与 85 日目に屠殺したが、肉眼的病理検査では関連した変化はみられなかった。これらいずれの動物も投与に関連したものではなかった。

体 重；F0 世代では、1500ppm 群雌雄で体重増加量の減少と体重低下が、750ppm 群雌で軽度な体重増加量の減少と体重低下がみられた。

F1 世代では、750 及び 1500ppm 群雌雄で F1a の体重低下を反映して、F1 世代を通して対照群に比して低体重であった。体重増加量は対照群と同程度であった。

摂餌量；F0 世代では、1500ppm 群雌雄で摂餌量の減少が、750ppm 群雌で軽度な減少がみられた。750ppm 群雄では試験 1 週にのみ摂餌量の減少がみられた。

F1 世代では、1500ppm 群雌雄及び 750ppm 群雌で摂餌量の減少がみられた。

検体摂取量；体重、摂餌量および飼料中の検体濃度から算出した 1 日あたりの平均検体摂取量(mg/kg 体重/day) を下表に示す [原文のデータに基づいて申請者が作成]。

投与群 (ppm)	F0(P)世代 : mg/kg 体重/day							F1 世代 : mg/kg 体重/day					
	雄	雌						雄	雌				
		(1 回目)			(2 回目)				平均	交配前	妊娠期	授乳期	平均
		交配前	妊娠期	授乳期	妊娠期	授乳期							
50	3.1	4.1	3.5	7.6	3.1	7.2	5.1	3.8	4.4	3.4	8.0	5.3	
750	45.5	58.0	53.5	112.8	47.9	107.3	75.9	58.4	67.0	54.4	120.0	81.5	
1500	92.5	123.1	111.8	219.8	98.0	220.0	154.6	126.7	146.0	114.4	242.0	167.5	

繁殖性に関する指標；F0 及び F1 世代にとも、交尾及び受胎率、妊娠及び出産率、妊娠期間に投与による影響は認められなかった。

臓器重量 ; F0 世代では 1500ppm 群雌雄及び 750ppm 群雌で最終体重の低下、1500ppm 群雄で脾重量、雌で副腎及び脳重量、750ppm 群雌で脳重量に減少がみられた。1500ppm 群雌雄で肝、腎、脳、精巣及び卵巣の体重比が、750ppm 群雌で肝及び卵巣の体重比に増加がみられた。これらの変化は最終体重低下に起因したものであった。

F1 世代では 750 及び 1500ppm 群雌雄で最終体重の低下、1500ppm 群雄で脾及び脳重量、雌で腎及び脳重量に、750ppm 群雌で脳重量、雌で肝及び腎重量に減少が認められた。

1500ppm 群雄で肝、腎、精巣及び副腎の体重比、雌で肝、腎、卵巣、胸腺及び脳の体重比、750ppm 群雌で卵巣、胸腺及び脳の体重比に増加がみられた。これらの変化は最終体重低下に起因したものであった。

F0 世代の 750ppm 群雌で腎と肝の体重比に軽度増加がみられたが、対照群との差異が小さく用量相関性がないことから、投与に関連した変化とは考えられなかった。また、50ppm 群雌で胸腺重量及び体重比に増加がみられたが、用量相関性がないことから投与に関連した変化とは考えられなかった。

F1 世代の雌において 750ppm 群で胸腺重量に、50ppm 群で胸腺の体重比に増加がみられたが、用量相関性がないことから投与に関連したものではないと考えられた。

表 F1 世代雌の胸腺重量

投与量 (ppm)	0	50	750	1500	背景データ
最終体重 (g)	313	303	283**	261**	
重量 (g) 平均	0.320	0.347 (108)	0.360** (113)	0.319 (100)	
測定値	0.247—0.413	0.154—0.475	0.218—0.505	0.178—0.461	
体重比 平均	0.1025	0.1146* (112)	0.1276** (124)	0.1228** (120)	
測定値	0.074—0.131	0.054—0.154	0.085—0.179	0.068—0.187	

() ; 対照群に対する割合。 Dunnett test, *; p<0.05, **; p<0.01.

肉眼的病理検査 ; F0 (P) 及び F1 世代とも、投与に関連した肉眼的病理変化は認められなかった。

病理組織学的検査 ; F0 及び F1 世代とも生殖器系に投与と関連した変化は認められなかった。1500ppm 群雌雄 (F0, F1) 及び 750ppm 群雌雄 (F1) で小葉中心性の肝細胞肥大 (軽微) の発現頻度が増加し、1500ppm 群雌雄及び 750ppm 群雄 (F0) で尿細管の色素沈着 (軽微) の発現頻度が増加した。

1500ppm 群雌雄 (F0, F1) 及び 750ppm 群雌雄 (F0, F1) で脾臓のヘモジデリ

ン沈着が減少した。脾へのヘモジデリン沈着は赤血球の崩壊と関連しており、ヘモジデリン沈着が減少したことは、本剤が赤血球崩壊速度を低下させることを示唆している。しかしながら、本剤を用いて実施したラット、マウスおよびイヌの亜急性並びに長期毒性試験結果からは、これを裏付ける変化は観察されていない。

兎動物；概要を表 3 に示す。

一般状態および死亡率；F0 世代 (F1a、F1b) および F2 世代 (F2a) とともに投与に関連した一般状態の変化および死亡はなかった。

F0 世代 (F1a) の 50ppm 群で死産児数に増加がみられたが、これは出産日に屠殺した 1 腹児の損失 (6 匹の死産児) によるものであった。

体重；F0 世代 (F1a、F1b) および F2 世代 (F2a) とともに出生時から 4 日目までは雌雄ともいずれの群にも体重増加量に差はみられなかった。しかし、750 及び 1500ppm 群雌雄で哺育期間中を通して体重増加量の減少がみられ、1500ppm では 7 日から 21 日目の体重に、750ppm 群の F1a、F1b では 14 日～21 日目、F2a では 7 日から 21 日目の体重に低下が認められた。

身体的分化および行動発育；F0 世代 (F1a、F1b) および F2 世代 (F2a) の 1500ppm 群で眼瞼開裂日数の遅延 (対照群に対し 0.6～0.7 日) がみられた。この発育遅延は、これらの群における顕著な体重増加抑制によるものと考えられた。立ち直り反射は対照群と同程度であった。

肉眼的病理検査；F0 世代 (F1a、F1b) および F2 世代 (F2a) とともに投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果、本剤をラットに 2 世代にわたって摂食させた影響として、親動物において F0 世代では 1500ppm 群雌雄及び 750ppm 群雌で摂餌量の減少、体重増加量と体重の低下が、1500ppm 群雌で脾、雌で副腎及び脳、750ppm 群雌で脳重量低下が認められた。1500ppm 群雌雄で肝、腎、脳、精巣及び卵巣の体重比増加がみられ、体重低下に関連した変化と考えられた。

F1 世代では 750 及び 1500ppm 群雌雄で低体重が観察され、1500ppm 群雌雄及び 750ppm 群雌で摂餌量の減少が認められた。1500ppm 群雌で脾及び脳、雌で腎及び脳、750ppm 群雌で脳、雌で肝及び腎の重量低下が認められた。1500ppm 群雌で肝、腎、精巣、副腎及び脳の体重比増加、雌の肝、腎、卵巣、胸腺及び脳の体重比に、750ppm 群雌で卵巣、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

胸腺及び脳の体重比に増加がみられ、体重低下に関連した変化と考えられた。病理組織学的所見として、小葉中心性の肝細胞肥大が 1500ppm 群雌雄 (F0、F1) 及び 750ppm 群雌雄 (F1) で、尿細管の色素沈着が 1500ppm 群雌雄 (F0) 及び 750ppm 群雄 (F0) で増加がみられた。脾のヘモジデリン沈着の減少が 1500ppm 群雌雄 (F0、F1) 及び 750ppm 群雌雄 (F0、F1) で認められた。脾へのヘモジデリン沈着は赤血球の崩壊と関連しており、ヘモジデリン沈着が減少したことは、本剤が赤血球崩壊速度を低下させることを示唆している。しかしながら、本剤を用いて実施したラット、マウスおよびイヌの亜急性並びに長期毒性試験結果からは、これを裏付ける変化は観察されていない。

児動物においては、F0 世代 (F1a、F1b) および F2 世代 (F2a) の 750 及び 1500ppm 群雌雄で哺育期間中を通して体重増加量の低下がみられ、低体重を示した。低体重の影響として 1500ppm 群で眼瞼開裂日数の遅延が認められた。

したがって、親動物および児動物に対する無毒性量は雌雄ともに 50ppm* (F0 世代の雄 : 3.1、雌 : 5.1 mg/kg/day、F1 世代の雄 : 3.8、雌 : 5.3 mg/kg/day) であった。

また、最高投与量の 1500ppm 投与でも繁殖に影響は認められなかった。

*申請者注 ;

表 1. 試験方法および試験項目の要約

世代	期間	作業手順	試験項目
F0(P)	育成 (10週)	1群 雌雄各 30匹	一般状態を毎日、死亡の有無を1日1回 (必要に応じて2回)観察 体重および摂餌量を毎週測定
	交配 (3週)	雌雄1対1で交配、膈垢中の精子の有無により交尾を確認	交配状況の観察
	妊娠 (3週)		体重および摂餌量を毎週測定
	出産	Fla	出産児数、生存児数、死産児数、肉眼的異常、性別および体重を測定。親動物の体重を測定。
	哺育 (3週)	哺育4日目に各同腹児数を雌雄各4匹に調整	哺育児の観察、生存児数、体重、性別を 出産後、4、7、14および21日に測定 児動物の立ち直り反射、眼瞼開裂時期を 検査 親動物の体重を7、14および21日に測定 摂餌量を出産0-7、7-14、14-21日に測定
	離乳	各腹の離乳児から少なくとも雌雄各1匹を選抜し、次世代用とする	選抜されなかった児動物の肉眼的剖検 選抜されなかった離乳児の肉眼的剖検
F1	育成 (10週)	(F0世代に準じる)	(F0世代に準じる)
	交配 (3週)	(F0世代に準じる)	(F0世代に準じる)
	妊娠 (3週)	(F0世代に準じる)	(F0世代に準じる)
	出産	F1b	(F0世代およびFlaに準じる)
	哺育 (3週)	(Flaに準じる)	(F0世代およびFlaに準じる)
	離乳	全てのF1bを屠殺	選抜されなかった離乳児の肉眼的剖検 F0親動物の肉眼的剖検、臓器重量検査および病理組織学的検査
F2	出産	F2	(F0世代およびF1世代に準じる)
	哺育 (3週)	(F1世代に準じる)	(F0世代およびF1世代に準じる)
	離乳		選抜されなかった離乳児の肉眼的剖検 F1親動物の肉眼的剖検、臓器重量検査および病理組織学的検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2. 親動物の試験結果

世 代		親:F0(P)		児:F1a+F1b		親:F1a		児:F2		
投与量(ppm)		0	50	750	1500	0	50	750	1500	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
一般状態	雄									
	雌									
死亡数	雄	0	0	0	1	0	0	1	0	
	雌	0	1	0	0	0	0	0	0	
体 重 ^d	雄				低下			低体重	低体重	
	雌			軽度低下	低下			低体重	低体重	
体重増加量 ^d	雄				減少					
	雌			軽度減少	減少					
摂餌量	雄				減少				減少	
	雌			軽度減少	減少			減少	減少	
交配日数 ^d	1回目	3.6	3.4	3.9	4.8	3.2	3.8	3.8	3.7	
	2回目	3.1	3.4	3.0	3.7	—	—	—	—	
妊娠動物数	1回目	30	30	29	27	29	28	28	29	
	2回目	28	26	29	28	—	—	—	—	
全胚吸収動物数	1回目	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2回目	0	0	0	0	—	—	—	—	
死産 ^f	1回目	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2回目	0	0	0	0	—	—	—	—	
生存胎児を出産した動物数 ^f	1回目	30	30	29	27	29	28	28	29	
	2回目	28	26	29	28	—	—	—	—	
交尾率(%)	雄	1回目	100.0	100.0	96.7	96.7	96.7	96.7	93.3	96.7
		2回目	100.0	96.6	100.0	100.0	—	—	—	—
	雌	1回目	100.0	100.0	96.7	96.7	96.7	96.7	93.3	96.7
		2回目	100.0	96.6	100.0	100.0	—	—	—	—
受胎率(%)	1回目	100.0	100.0	100.0	93.1	100.0	96.6	100.0	100.0	
	2回目	93.3	92.9	96.7	93.3	—	—	—	—	
授精率(%)	1回目	100.0	100.0	100.0	93.1	100.0	96.6	100.0	100.0	
	2回目	93.3	92.9	96.7	93.1	—	—	—	—	
妊娠率(%)	1回目	100.0	100.0	100.0	100.0	100	100	100	100.0	
	2回目	100.0	100.0	100.0	100.0	—	—	—	—	
出産率(%)	1回目	100.0	100.0	100.0	100.0	100	100	100	100.0	
	2回目	100.0	100.0	100.0	100.0	—	—	—	—	
妊娠期間(日) ^d	1回目	22.2	22.3	22.3	22.2	22.0	22.1	22.1	22.0	
	2回目	22.0	21.9	22.1	22.0	—	—	—	—	

d: Dunnett test f: Fisher's exact test

空欄は異常のないことを示す。

—: 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

世代		親:F0(P)		児:F1a+F1b		親:F1a		児:F2			
投与量(ppm)		0	50	750	1500	0	50	750	1500		
動物数	雄	30	30	30	29	30	30	29	30		
	雌	30	29	30	30	30	30	30	30		
臓器重量	雄	最終体重				89↓			93↓	85↓	
		脾重量 体重比				87↓				88↓	
		肝重量 体重比			106↑	115↑				112↑	
		腎重量 体重比			106↑	115↑				111↑	
		精巣重量 体重比				111↑				117↑	
		副腎重量 体重比								119↑	
		胸腺重量 体重比		121↑ 120↑							
		脳重量 体重比					111↑		96↓	94↓	111↑
	雌	最終体重			93↓	88↓			90↓	83↓	
		脾重量 体重比									
		肝重量 体重比			106↑	111↑			89↓	113↑	
		腎重量 体重比				110↑			91↓	91↓	109↑
		卵巢重量 体重比			112↑	114↑			125↑	116↑	
		副腎重量 体重比				92↓					
							112↑	113↑	124↑	120↑	
				97↓	95↓				97↓	108↑	116↑
肉眼的病理検査											
病理組織学的検査 (匹数)	肝細胞小葉中	雄	3	1	4	10	1	1	14	24	
	心肥大	雌	1	0	1	5	0	1	7	9	
	腎尿管色素 沈着	雄	1	0	4	7	0	1	0	0	
		雌	0	0	0	3	0	0	0	0	
	脾ヘモジテリン沈 着	雄	17	20	12	9	14	12	5	2	
		雌	23	22	15	8	23	22	17	14	

1: 対照群に対する変動率

d: Dunnett test (↑↓: P<0.05, ↑↓: P<0.01) f: Fisher's exact test

空欄は異常のないことを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3. 児動物の試験結果

世 代		親:F0(P)		児:F1a+F1b		親:F1a		児:F2			
投与量(ppm)		0	50	750	1500	0	50	750	1500		
腹 数	a	30	30	29	27	29	28	28	29		
	b	28	26	29	28	—	—	—	—		
一般状態	a										
	b					—	—	—	—		
産児数/腹 ^d		a	13.5	12.7	12.0	12.4	12.8	13.0	12.5	12.0	
		b	13.9	13.6	13.2	12.5	—	—	—	—	
死産児数/群 ^f		a	1	11**	1	0	1	0	2	1	
		b	2	3	1	2	—	—	—	—	
死亡児数/群 ^f		a	4	8	3	14*	15	4	1**	9	
		b	3	15*	6	4	—	—	—	—	
生存産児率(%)		a	99.8	97.1	99.4	100.0	99.7	100.0	99.4	99.7	
		b	99.5	99.2	99.7	99.4	—	—	—	—	
生存率 ^f (%)	生後0-4日	a	97.5	94.6	99.4	94.6	93.0	97.0	99.4**	96.5	
			4-21日	99.6	100.0	98.2	97.2	98.7	99.5	99.1	99.1
	b	生後0-4日	98.7	93.1	97.6	96.6	—	—	—	—	
		4-21日	100.0	99.0	99.5	97.7	—	—	—	—	
性比 (%) (雄)	生後0日	a	45.7	46.4	45.0	50.3	47.8	49.3	43.3	47.4	
			21日	50.2	49.1	45.7	52.9	48.9	50.9	47.5	50.0
	b	生後0日	46.4	54.0	46.1	54.4	—	—	—	—	
		21日	49.3	51.3	48.8	50.5	—	—	—	—	
体	0日目	雄	6.2	6.3	6.3	6.4	6.3	6.3	6.2	6.3	
		雌	5.9	5.9	6.0	6.0	5.8	5.9	5.8	5.9	
	4日目 間引き前	雄	9.4	9.7	9.5	8.8	9.2	9.5	8.8	8.6	
		雌	8.9	9.1	9.0	8.3	9.0	9.1	8.5	8.3	
	4日目 間引き後	雄	9.4	9.7	9.5	8.8	9.3	9.5	8.9	8.7	
		雌	9.0	9.3	9.1	8.3	9.1	9.3	8.6	8.3↓	
	7日目	雄	15.3	15.6	15.0	12.9↓	15.1	15.2	13.6↓	12.7↓	
		雌	14.7	15.0	14.2	12.3↓	14.7	14.8	13.5↓	12.2↓	
	14日目	雄	30.7	30.8	29.0↓	24.2↓	30.1	30.7	26.4↓	23.7↓	
		雌	29.5	29.8	27.8↓	23.2↓	29.3	29.8	26.6↓	22.9↓	
	21日目	雄	50.3	50.4	46.0↓	36.1↓	53.3	53.1	44.4↓	38.1↓	
		雌	48.3	47.7	43.9↓	35.0↓	50.4	50.5	44.2↓	36.5↓	
	重 ^d (g)	0日目	雄	6.1	6.3	6.3	6.4	—	—	—	—
			雌	5.7	6.0	5.8	6.0	—	—	—	—
4日目 間引き前		雄	8.9	9.3	8.9	8.4	—	—	—	—	
		雌	8.5	8.9	8.4	8.0	—	—	—	—	
4日目 間引き後		雄	9.1	9.5	9.1	8.5	—	—	—	—	
		雌	8.7	9.1	8.5	8.1	—	—	—	—	
7日目		雄	14.7	15.4	13.9	12.5↓	—	—	—	—	
		雌	14.2	14.7	13.3	12.0↓	—	—	—	—	
14日目		雄	30.6	31.3	27.7↓	24.0↓	—	—	—	—	
		雌	29.8	29.8	27.0↓	23.1↓	—	—	—	—	
21日目	雄	53.1	53.6	46.9↓	38.6↓	—	—	—	—		
	雌	50.6	50.2	45.2↓	36.7↓	—	—	—	—		

d: Dunnett test (↑ ↓ : P<0.05, ↑↓ ↓↓ : P<0.01) f: Fisher's exact test (* : P<0.05, ** : P<0.01)

空欄は異常のないことを示す。 — : 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

世 代		親:F0(P)		児:F1a+F1b		親:F1a		児:F2		
投与量(ppm)		0	50	750	1500	0	50	750	1500	
眼瞼 開裂 ^d	動物数		30	29	29	27	28	28	28	29
	平均日数	a	15.3	15.2	15.4	16.0 [↑]	15.3	15.4	15.5	16.0 [↑]
	達成率(%)		100	100	99	100	100	100	100	100
立ち 直り 反射 ^d	動物数		28	25	29	28	—	—	—	—
	平均日数	b	15.6	15.4	15.6	16.2 [↑]	—	—	—	—
	達成率(%)		100	99	100	96	—	—	—	—
立ち 直り 反射 ^d	動物数	a	30	29	29	27	29	28	28	29
	平均日数		2.2	2.3	2.2	2.4	2.3	2.2	2.3	2.2
	達成率(%)		97	98	97	97	95	98	100	97
立ち 直り 反射 ^d	動物数	b	28	26	29	28	—	—	—	—
	平均日数		2.2	2.2	2.2	2.3	—	—	—	—
	達成率(%)		99	99	99	98	—	—	—	—
肉眼的病理検査										

d: Dunnett test (↑↓: P<0.05、↑↓: P<0.01)
空欄は異常のないことを示す。 —: 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) ラットを用いた催奇形性試験(経口投与)

(毒性資料 No. 原体-24)

試験機関 :

報告書作成年 : 1995 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : Tif:RAIf (SPF, RII/1 と RII/2 の交雑) 妊娠ラット (SD 系)

試験開始時約 8 週齢、1 群 24 匹

試験期間 : 1994 年 7 月 27 日～1995 年 3 月 7 日

投与期間 10 日間 (妊娠 6 日～15 日、1994 年 8 月 29 日～)

投与方法 : 雌動物を雄動物と 3 対 1 で一夜同居させて交配し、膣栓あるいは膣垢中に精子の認められた日を妊娠 0 日とした。検体をカルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液 (0.5%, w/w) に懸濁させ、0、10、100 および 1000mg/kg の用量で、妊娠 6 日目から 15 日目までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した (10ml/kg)。

<投与量の設定>

観察・検査項目 :

親動物 ; 一般状態、生死および流産について毎日観察し、体重を毎日測定した。摂餌量は妊娠 6、11、16 および 21 日に測定した。妊娠 21 日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、妊娠子宮重量、着床数、早期・後期吸収胚数、着床後損失数、流産数、生存および死亡胎児数を調べた。

生存胎児 ; 体重を測定し、性を判定した。外表、内臓および骨格検査を実施し、奇形、異常および変異を調べた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果：概要を表に示す。

[親動物]

投与に関連した臨床症状及び死亡は何ら認められなかった。投与に関連した所見として、1000mg/kg 群で体重増加量及び体重の低下、100 ならびに 1000mg/kg 群で投与期間中の摂餌量の減少がみられた。1000mg/kg 群の子宮除去後の重量ならびに 100、1000mg/kg 群の平均補正体重増加量が対照群に比べ有意に減少した。

剖検時の各群当たりの生存胎児を有する妊娠動物数は、0、10、100、1000mg/kg 群でそれぞれ 23、22、20、22 匹であった。剖検において、投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

[申請者注]

[胎児動物]

平均胎児体重に投与の影響は認められなかった。

外表所見として、対照群の 1 匹で臍ヘルニア、10mg/kg 群の 1 匹で全身性浮腫がみられた。内臓所見として対照群の 1 匹で臍ヘルニア、10mg/kg 群の 1 匹で肺の低形成、対照群の 3 匹、10mg/kg 群ならびに 1000mg/kg 群の各 1 匹で腎盂拡張、対照群から 1000mg/kg 群にかけて各 1、2、1、2 匹に肝小葉過剰がみられたが投与に関連したものではないと考えられた。1000mg/kg 群の 11 匹に胸腺肥大がみられ、投与の影響と考えられた。

骨格所見として、第 1 胸骨非対称が 10mg/kg 群で有意に増加した。しかし、骨格異常の種類、関連した所見がないこと及び胎児体重に対する影響がないこと、ならびに用量相関がないことからこの骨格異常は投与に関連したものではないと考えられた。

以上の結果より、母動物において 1000mg/kg 群で体重増加量及び体重の低下、100 ならびに 1000mg/kg 群で摂餌量の減少、1000mg/kg 群で子宮除去後の重量ならびに 100、1000mg/kg 群で平均補正体重増加量の減少がみられたことから、母動物の無毒性量は 10mg/kg/日であった。胎児においては 1000mg/kg 群で胸腺肥大の発生頻度増加がみられたことから、胎児の無毒性量は 100mg/kg/日であった。また、最高投与量である 1000mg/kg/日でも胎児に対する催奇形性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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：

投与量(mg/kg/day)		0	10	100	1000	
1群当たりの動物数		24	24	24	24	
親	死亡数	0	0	0	0	
	一般状態	脱毛	0	1	1	0
		耳創傷	0	0	0	1
		会陰部血液様分泌物	0	0	1	6
		痂皮	0	0	0	1
	体重 ^{d1}				減少 ↓	
	体重増加量 ^{d1}				減少 ↓	
	妊娠6-7日の体重増加量(g) ^{d1}	3.8	3.2	2.9	-0.6 ↓	
	摂餌量 ^{d1}			減少 ↓	減少 ↓	
	妊娠率(%)	23/24 (96)	22/24 (92)	20/24 (83)	22/24 (92)	
	全胚吸収母動物数 ^f	0	0	0	0	
	生存胎児を持つ母動物数 ^f	23	22	20	22	
	着床所見に用いた母動物数	23	22	20	22	
	動物	着床所見	黄体数 ^d	16.5	16.4	16.6
着床数 ^d			14.4	13.9	15.6	15.0
(ノ腹)		着床前損失(%) ^u	13.8	13.4	6.0	10.3
		着床後損失(%) ^u	8.2	7.9	7.0	9.1
胎児		早期吸収胚数 ^d	0.0	0.0	0.0	0.0
		後期吸収胚数 ^d	0.0	0.0	0.0	0.0
		生存胎児数 ^d	13.3	12.8	14.5	13.7
		死亡胎児数 ^d	0	0	0	0
妊娠子宮重量(g) ^d		97.7	91.9	104.6	101.5	
子宮除去後の重量(g) ^d		277.9	273.8	268.6	261.2 ↓	
平均補正体重増加量(g) ^d	46.5	44.4	38.2 ↓	31.4 ↓		
胎児動物	性比(雄%) ^f	雄 ^d	45.1	49.8	46.9	54.0
		雌 ^d	5.6	5.5	5.5	5.5
	外 ^f	胎児発生率(%)	5.2	5.2	5.2	5.1
		腹発生率(%)	1/149(0.3)	1/135(0.4)	0/139(0)	0/146(0)
	表検査	奇形：臍ヘルニア	1/23(4.3)	1/22(4.5)	0/20(0)	0/22(0)
		奇形：全身性浮腫	1	0	0	0
	内 ^f	胎児発生率(%)	0	1	0	0
		腹発生率(%)	8/149(5.4)	7/135(5.2)	4/139(2.9)	14/146(9.6)
		奇形：臍ヘルニア	8/23(34.8)	4/22(18.2)	4/20(20.0)	10/22(45.5)
		異常：肺低形成	1	0	0	0
異常：腎盂拡張		0	1	0	0	
変異：胸腺肥大		3	1	0	1	
臓器検査	変異：肝小葉過剰	3	3	3	11*	
		1	2	1	2	

l:未妊娠動物を除く f:カイ二乗検定+Fisher's exact test (*:p<0.05)

d:ANOVA+Dunnett test (↑↓:p<0.05、↑↓:p<0.01) 妊娠6-7日の体重増加量については申請者が統計検定を実施した。

u:Kruskal-Wallis+Mann-Whitney U

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与量(mg/kg/day)		0	10	100	1000
1群当たりの動物数		23	22	20	22
胎骨 [†]	奇形胎児発生率(%)	0/157(0)	0/146(0)	0/151(0)	0/156(0)
	腹発生率(%)	0/23(0)	0/22(0)	0/20(0)	0/22(0)
	異常胎児発生率(%)	14/157(8.9)	20/146(13.7)	13/151(8.6)	12/156(7.7)
	腹発生率(%)	9/23(39.1)	11/22(50.0)	10/20(50.0)	9/22(40.9)
	第1,2胸骨癒合	6	7	4	4
	第1胸骨非対称	0	5*	1	1
	第2胸骨非対称	2	0	0	1
	第4胸骨非対称	2	0	0	0
	第5胸骨非対称	7	2	2	3
	第6胸骨非対称	3	2	3	2
	後頭骨化骨不整	0	5	2	1
	第5中手骨化骨不全	0	1	0	0
	頸椎骨弓過剰	0	0	0	1
	腰椎椎体二分	0	4	1	2
児格	変異胎児発生率(%)	156/157(99.4)	146/146(100)	151/151(100)	156/156(100)
	腹発生率(%)	23/23(100)	22/22(100)	20/20(100)	22/22(100)
	第1胸骨欠損	5	2	1	3
	第2胸骨未化骨	0	1	0	0
	後肢踵骨未化骨	143	139	133	151
	後肢踵骨化骨不全	0	2	3	0
	第1中足骨未化骨	13	18	15	20
	第1中足骨化骨不全	4	4	2	2
	頸椎椎体未化骨	156	146	147	154
	頸椎椎体二分	10	4	9	12
	頸椎椎体化骨不全	26	28	25	27
	歪鈴型頸椎椎体	2	0	1	2
	歪鈴型胸椎椎体	2	8	3	6
	第13肋骨短小	4	6	6	8
動物査	第13肋骨未化骨	0	1	0	1
	前第1指末節骨未化骨	0	1	0	1
	前第2指基節骨未化骨	5	10	4	5
	前第2指末節骨未化骨	0	1	0	0
	前第2指基節骨化骨不全	1	2	3	2
	前第3指基節骨未化骨	0	1	0	0
	前第4指基節骨未化骨	0	2	0	0
	前第4指末節骨未化骨	1	0	0	0
	前第5指基節骨未化骨	12	14	12	10
	前第5指末節骨未化骨	4	1	3	0
	前第5指基節骨化骨不全	5	4	3	9
	前第5指末節骨化骨不全	1	0	0	0
	後第1指末節骨未化骨	0	1	0	1
	後第1指末節骨化骨不全	0	4	0	0
後第2指末節骨未化骨	54	50	48	41	
後第2指基節骨化骨不全	16	7	5	7	
後第2指末節骨化骨不全	0	4	0	1	

f:カイ二乗検定+Fisher's exact test (*:p<0.05)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	10	100	1000	
胎 児 動 物 査	骨 ^f	後第3指基節骨未化骨	33	38	32	33
		後第3指基節骨化骨不全	7	8	8	8
	格	後第3指末節骨化骨不全	0	4	0	1
		後第4指基節骨未化骨	32	36	30	30
	検	後第4指基節骨化骨不全	5	8	6	6
		後第4指末節骨化骨不全	0	4	0	1
	査	後第5指基節骨未化骨	87	66	71	65
		後第5指基節骨化骨不全	16	8	19	17
		後第5指末節骨未化骨	0	1	0	1
		後第5指末節骨化骨不全	0	4	0	0

f:カイ二乗検定+ Fisher's exact test

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) ウサギを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No. 原体-25)

試験機関 :

報告書作成年 : 1994 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : Russian (Chbb:HM) 種妊娠ウサギ
(試験開始時 3 ヶ月齢) 1 群 19 匹

試験期間 : 1994 年 6 月 6 日 ~ 1994 年 9 月 5 日
投与期間 13 日間 (妊娠 7 日 ~ 19 日)

投与方法 : 同系の雄動物から採取した精液を用いて、人工授精を行った。人工授精をした日を妊娠 0 日とした。検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に混ぜ、0、10、50、250 および 500mg/kg の用量で、妊娠 7 日目から 19 日目までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した (4ml/kg)。
<投与量の設定>

試験項目 :

親動物 ; 一般状態および生死について毎日観察し、体重を毎日測定した。飼料摂取量は妊娠 4、7、12、16、20、24 および 29 日目に測定した。妊娠 29 日目に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、妊娠子宮重量、早期・後期吸収胚数、流産数、生存および死亡胎児数を調べた。

生存胎児 ; 体重を測定し、性を判定した。外表、内臓および骨格検査を実施し、奇形、異常および変異を調べた。

結 果：概要を表に示す。

[親動物]

途中死亡が 250mg/kg 群の 1 動物、臨床症状として脱毛が 250mg/kg 群の 2 動物ならびに 250mg/kg 群の 8 動物、頭部の触知隆起が 10mg/kg 群の 1 動物で散見されたが、投与の影響ではなかった。

対照群と比較して、250mg/kg 群ならびに 500mg/kg 群で投与期間中の体重、体重増加量及び飼料摂取量の減少、500 mg/kg 群で子宮除去後の重量が有意に減少し投与の影響と考えられた。一方、着床所見、妊娠子宮重量、剖検結果に投与の影響はみられなかった妊娠動物数は対照群から 500mg/kg 群までそれぞれ、19、18、17、18 及び 19 匹で、生存胎児をもつ母動物数は 19、18、16、17 及び 18 匹であった。

[申請者注]

[胎児動物]

死産及び流産はみられず、腹あたりの胎児数及び胎児重量にも投与の影響は認められなかった。外表検査で各投与群に前肢の屈曲が認められたが、背景データでもみられている所見であり投与に関連したものではなかった。内臓検査では投与による影響は認められなかった。500mg/kg 群の胎児で骨格異常が増加（第 3 及び第 4 胸骨の癒合）し、骨格発育に対する軽度の影響がみられたが、催奇形性を示唆するものではなく、母動物を介した二次的な胎児毒性所見の 1 つであると考えられた。

[申請者注]

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与した場合の影響として、親動物における飼料摂取量及び体重の低下が 250 mg/kg 及び 500 mg/kg 群でみられ、胎児の骨格発育に対する軽度の影響（第 3 及び第 4 胸骨の癒合）が 500 mg/kg 群でみられた。従って、無毒性量は親動物で 50mg/kg、胎児では 250mg/kg であった。最高投与量である 500mg/kg でも胎児に対して催奇形性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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表：

投与量(mg/kg/day)		0	10	50	250	500		
I群当たりの動物数		19	19	19	19	19		
親	死亡数	0	0	1	0	0		
	一般状態	頭部触知隆起	0	1	0	0	0	
		脱毛	0	0	0	2	8	
	体重 ^{d2}				減少↓	減少↓		
	体重増加量 ^{d2}				減少↓	減少↓		
	妊娠7-8日の体重増加量(g) ^{d2}	5	-2	-11	-39 ↓	-42 ↓		
	飼料摂取量 ^{d2}				減少↓	減少↓		
	妊娠率(%)	19/19(100)	18/19(95)	17/19(89)	18/19(95)	19/19(100)		
	全胚吸収母動物数 ^f	0	0	0	1	1		
	生存胎児を持つ母動物数 ^f	19	18	16	17	18		
	着床所見に用いた母動物数	19	18	16	18	19		
	動物	着床所見(ノ腹)	黄体数 ^d	7.9	8.6	7.8	7.9	7.5
			着床数 ^d	6.4	7.6	6.3	6.1	5.7
			着床前損失(%) ^u	18.8	10.2	21.1	24.4	27.6
着床後損失(%) ^u			6.1	5.4	12.6	14.7	10.0	
早期吸収胚数 ^d			0.3	0.4	0.6	0.7	0.5	
後期吸収胚数 ^d			0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	
生存胎児数 ^d			6.1	7.2	5.6	5.4	5.1	
死亡胎児数 ^d		0	0	0	0	0		
妊娠子宮重量(g) ^d		340	367	307	301	295		
子宮除去後の重量(g) ^d		2579	2544	2611	2533	2525		
補正体重増加量(g) ^d	-167	-180	-162	-187	-226			
剖検	頭部隆起 ^f	0	1	0	0	0		
	子宮角低形成(左側) ^f	1	0	0	0	0		
	子宮出血性内容物 ^f	0	0	1 ¹	0	0		
胎	性比(雄%) ^f	45.7	37.7	35.6	46.4	46.4		
	体重(g)	雄 ^d	39.9	37.2	38.4	36.5	39.6	
		雌 ^d	39.9	37.2	40.5	37.7	39.0	
動物	外 ^f 表	胎児発生率(%)	0/116(0)	4/130(3.1)	2/90(2.2)	4/97(4.1)	2/97(2.1)	
		腹発生率(%)	0/19(0)	3/18(16.7)	2/16(12.5)	3/17(17.6)	1/18(5.6)	
	検査	奇形：頭蓋瘤	0	1	0	0	0	
		腹壁破裂	0	0	0	1	0	
		肢端症(前肢)	0	0	0	1	0	
		欠指(前肢)	0	0	0	1	0	
		異常：前肢位置異常	0	3	2	3	2	
	内 ^f 臓	胎児発生率(%)	0/116(0)	2/130(1.5)	3/90(3.3)	1/97(1.0)	3/97(3.1)	
		腹発生率(%)	0/19(0)	1/18(5.6)	3/16(18.8)	1/17(5.9)	3/18(16.7)	
		奇形：胆嚢発育不全	0	0	1	0	2	
異常：小型胆嚢	0	2	2	1	1			

1: 死亡動物で認められた

2: 非妊娠、全胚吸収、死亡動物は除いた

f: カイ二乗検定+Fisher's exact test

d: ANOVA+Dunnett test (↑↓:p<0.05、↑↓:p<0.01) 妊娠7-8日の体重増加量については申請者が統計検定を実施した。

u: Kruskal-Wallis+Mann-Whitney U

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与量 (mg/kg/day)		0	10	50	250	500
胎骨 ^f	奇形胎児発生率 (%)	0/116 (0)	1/130 (0.8)	1/90 (1.1)	1/97 (1.0)	1/97 (1.0)
	腹発生率 (%)	0/19 (0)	1/18 (5.6)	1/16 (6.3)	1/17 (5.9)	1/18 (5.6)
	頭頂間骨減少	0	1	1	0	0
	頭頂骨減少	0	1	0	0	0
	前頭骨減少	0	1	0	0	0
	鼻骨減少	0	1	0	0	0
	尺骨未化骨	0	0	0	1	0
	欠指 (前肢)	0	0	0	1	0
	恥骨未化骨	0	0	0	0	1
	異常胎児発生率 (%)	12/116 (10.3)	9/130 (6.9)	7/90 (7.8)	21/97 (21.6)	21/97 (21.6)
児格 動検 物査	腹発生率 (%)	8/19 (42.1)	7/18 (38.9)	6/16 (37.5)	12/17 (70.6)	9/18 (50.0)
	第1胸骨断片化	6	0*	0*	1	2
	第1,2胸骨癒合	1	1	1	2	1
	第1胸骨非対称	0	1	1	2	3
	第2,3胸骨癒合	1	1	1	4	4
	第2胸骨非対称	0	1	1	2	4
	第2胸骨断片化	0	0	0	1	0
	第3,4胸骨癒合	2	2	1	5	10*
	第3胸骨非対称	0	1	0	2	3
	第4,5胸骨癒合	4	2	4	7	8
	第4胸骨非対称	0	1	0	4	2
	第5胸骨非対称	0	0	0	0	1
	第6胸骨非対称	0	0	1	1	0
	頭蓋骨舌骨未化骨	0	0	1	0	0
	肩甲骨化骨不整	1	2	0	1	0
	後肢距骨二分	0	0	0	0	1
	頸椎椎体位置異常	0	0	0	2	0
	頸椎骨弓	0	1	0	0	0
	腰椎骨弓過剰	0	1	0	0	0
	尾椎椎体位置異常	1	2	1	2	1
尾椎椎体癒合	0	2	1	2	2	
尾椎椎体非対称	1	0	0	1	0	

f:カイ二乗検定 + Fisher's exact test *; p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

		変異胎児発生率(%)	98/116	107/130	74/90	80/97	77/97
			(84.5)	(82.3)	(82.2)	(82.5)	(79.4)
		腹発生率(%)	19/19	18/18	16/16	16/17	17/18
			(100)	(100)	(100)	(94.1)	(94.4)
胎 児 動 物	骨 格 検 査	第1胸骨化骨不全	0	0	0	1	0
		第5胸骨化骨不全	73	76	46	54	47
		第5胸骨未化骨	6	16	7	11	13
		第6胸骨化骨不全	0	1	2	2	1
		頭蓋骨縫合	0	1	0	0	0
		頭頂骨溝	5	10	4	3	8
		頭頂骨小穴	0	3	1	1	3
		第1中手骨未化骨	0	0	1	0	1
		第5中手骨化骨不全	0	0	1	0	1
		後肢距骨未化骨	0	0	0	0	1
		頸椎椎体化骨不全	0	0	0	1	0
		胸椎椎体未化骨	1	0	0	0	0
		胸椎骨弓未化骨	1	0	0	1	0
		尾椎椎体未化骨	19	35	20	27	28
		尾椎椎体化骨不全	8	5	17*	10	13
		尾椎椎体過剰	30	14*	16	6**	8**
		尾椎椎体歪鈴型	1	0	1	0	0
		過剰肋骨(第13肋骨)	1	0	4	2	3
		肋骨未化骨	1	0	0	0	0
肋骨短小	1	0	0	1	2		
肋骨癒合	0	0	0	1	0		
前第1指基節指骨未化骨	0	0	1	0	0		
前第2指中部指骨未化骨	0	0	1	0	0		
前第3指中部指骨未化骨	0	0	1	0	0		
前第4指中部指骨未化骨	0	0	1	0	0		
前第5指中部指骨未化骨	0	0	2	0	0		
中部指骨化骨不全	2	1	1	3	4		
基節指骨化骨不全	0	0	1	0	0		
後第4指中部指骨未化骨	0	0	1	0	0		
後第5指中部指骨未化骨	0	0	1	0	0		

f:カイ二乗検定+Fisher's exact test *;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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

13. 変異原性

(1) 細菌を用いた復帰変異試験

(毒性資料 No. 原体-26)

試験機関：

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA) を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。ただし、代謝活性化系存在下の確認試験はプレインキュベーション法で行った。検体は DMSO に溶解させた。

用量設定根拠：

試験結果： 結果の表は次頁に示す。

検体処理群では代謝活性化系の存在下、非存在下で、いずれの菌株および濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-AA, 9-AA, CPA, NaN₃, 4-NQO, MC 及び 2-NF では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、トリフロキシストロピンは代謝活性化系の存在下及び非存在下で、復帰変異誘発性を有さないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 本試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート							
			塩基対置換型				フレームシフト型			
			WP2uvrA	TA100	TA102	TA1535	TA98	TA1537		
溶媒 対照 (DMSO)	-		19	91	219	26	34	9		
			29 (22)	98 (100)	210 (207)	16 (20)	28 (33)	10 (10)		
			18	110	192	18	37	10		
トリ フロ キシ スト ロビ ン	312.5	-	20	97	216	16	13	9		
	625		26 (21)	132 (118)	199 (208)	20 (19)	23 (17)	14 (12)		
			18	126	210	21	14	12		
	1250		27	126	242	9	12	12		
			24 (25)	105 (117)	237 (231)	17 (13)	17 (17)	9 (12)		
	2500		24	121	213	13	23	15		
18		102	244	14	18	12				
5000	21 (18)	84 (95)	254 (244)	15 (15)	21 (19)	9 (12)				
	15	98	208	17	19	14				
	20	105	244	19	16	5				
	14 (20)	100 (95)	254 (235)	16 (18)	18 (17)	8 (7)				
	27	81	208	20	18	8				
	17	123	205	9	22	8				
溶媒 対照 (DMSO)	-		15 (16)	91 (104)	193 (216)	7 (10)*	22 (22)	8 (8)		
			17	98	249	13	23	7		
			20	136	270	19	53	13		
			26 (20)	121 (129)	272 (267)	18 (19)	56 (54)	9 (13)		
			15	129	258	19	52	18		
			24	110	273	15	49	19		
トリ フロ キシ スト ロビ ン	312.5	+	29 (23)	134 (119)	279 (282)	19 (15)	70 (57)	18 (17)		
	625		16	112	294	10	51	13		
			18	112	254	13	24	13		
	1250		15 (22)	123 (116)	232 (248)	16 (14)	25 (24)*	16 (14)		
			32	113	257	14	24	14		
	2500		25	112	249	12	21	16		
25 (22)		122 (113)	244 (241)	17 (14)	27 (24)*	9 (11)				
5000	17	104	231	14	24	8				
	15	105	237	15	23	13				
	19 (19)	114 (115)	225 (240)	12 (14)	28 (27)	18 (15)				
	24	125	258	16	30	14				
	19	149	230	18	25	13				
	27 (22)	99 (116)	196 (222)	18 (17)	20 (24)*	15 (14)				
陽性 対照	名称	-	4-NQO	NaN ₃	MC	NaN ₃	2-NF	9-AA		
			濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	2	5	2	5	20	150	
			コロニー数/ プレート	993 1012(983) 943	1189 1193 (1234) 1321	1430 1437 (1448) 1477	1097 1107(1085) 1050	1795 1703(1741) 1724	2287 2976 (2807) 3159	
	名称		+	2-AA	2-AA	2-AA	CPA	2-AA	2-AA	
				濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	50	2.5	20	400	2.5	2.5
				コロニー数/ プレート	735 600 (705) 781	1317 1819 (1707) 1985	1060 1719 (1489) 1687	485 547 (522) 535	1014 1276(1238) 1425	87 81 (115) 177

() 内は各プレートの平均値
 4-NQO : 4-ニトロキノリンオキサイド
 NaN₃ : アジ化ナトリウム
 2-NF : 2-ニトロフルオレン

MC : マイトマイシン-C
 9-AA : 9-アミノアクリジン
 2-AA : 2-アミノアントラセン
 CPA : シクロホスファミド

* : 生育阻害あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 確認試験の結果

薬物	濃度 (µg/プレート)	S-9 Mixの 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA100	TA102	TA1535	TA98	TA1537
溶媒 対照 (DMSO)	-		15	93	293	13	14	8
			15 (16)	90 (85)	294 (280)	16 (12)	12 (14)	12 (10)
			17	73	254	6	16	9
			17	85	276	13	17	6
			16 (19)	96 (89)	300 (296)	15 (15)	16 (17)	8 (9)
トリ プロ キシ スト ロピ ン	61.73	-	24	86	313	16	18	13
			20	75	283	17	12	6
	20 (18)		99 (88)	271 (261)	18 (17)	13 (13)	6 (7)	
	15		90	229	15	15	9	
	185.19		16	76	276	17	16	6
			15 (15)	109 (98)	276 (290)	8 (13)	12 (15)	8 (10)
	555.56		14	110	319	15	16	15
			19	85	279	7	18	14
	1666.67		14 (15)	84 (86)	234 (236)	6 (8)	13 (18)	8 (10)
			12	90	196	12	24	8
5000	19	92	241	14	17	13		
	18 (17)	111 (99)	240 (239)	17 (13)	20 (19)	6 (9)		
	15	93	237	8	19	7		
溶媒 対照 (DMSO)	-		12	111	316	12	28	15
			24 (17)	93 (98)	279 (277)	15 (12)	18 (25)	9 (11)
			15	89	235	9	28	9
			16	93	277	9	20	14
			17 (19)	90 (94)	345 (310)	32 (18)	33 (25)	5 (10)
トリ プロ キシ スト ロピ ン	61.73	+	25	99	308	14	21	12
			13	104	302	14	31	9
	21 (18)		78 (90)	293 (275)	5 (12)	16 (28)	12 (13)	
	20		89	230	17	37	18	
	185.19		21	103	288	20	33	7
			24 (23)	116 (112)	325 (311)	12 (15)	27 (30)	12 (12)
	555.56		24	117	320	13	31	18
			8	88	289	5	32	12
	1666.67		12 (12)	93 (90)	221 (237)	12 (7)	33 (33)	13 (13)
			16	89	200	5	33	14
5000	21	117	249	18	31	9		
	26 (21)	93 (104)	266 (260)	21 (18)	24 (31)	19 (12)		
	16	102	265	14	39	8		
陽性 対照	名称	-	4-NQO	NaN ₃	MC	NaN ₃	2-NF	9-AA
	濃度 (µg/プレート)		2	5	2	5	20	150
	コロニー数/ プレート		974 999 (945) 861	1248 1528 (1429) 1512	1538 1596 (1481) 1310	1109 1274 (1200) 1218	2685 2504 (2591) 2583	3533 3770 (3556) 3364
	名称	+	2-AA	2-AA	2-AA	CPA	2-AA	2-AA
	濃度 (µg/プレート)		50	2.5	20	400	2.5	2.5
	コロニー数/ プレート		572 662 (617) 618	1072 1513 (1432) 1710	1364 1996 (1686) 1699	427 440 (435) 437	1538 1840 (1831) 2114	109 92 (104) 112

()内は各プレートの平均値 MC : マイトマイシン-C
 4-NQO : 4-ニトロキノリンオキサイド 9-AA : 9-アミノアクリジン
 NaN₃ : アジ化ナトリウム 2-AA : 2-アミノアントラセン
 2-NF : 2-ニトロフルオレン CPA : シクロホスファミド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) チャイニーズハムスターの V79 細胞を用いた *in vitro* 突然変異試験

(毒性資料 No. 原体-27)

試験機関：

報告書作成年：1995 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： 継代培養したチャイニーズハムスター V-79 細胞を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で 6-チオグアニン耐性突然変異誘発性を検定した。検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。

用量設定根拠：

検体の処理時間は代謝活性化系存在下では 5 時間、非存在下では 21 時間とした。発現時間を 7~8 日間とし、細胞を選抜培養液 (6-チオグアニン添加) で培養し、6-チオグアニン耐性コロニーを計数した。以下に該当する場合、陽性と判断した。

- ① 突然変異発現頻度が統計学的に有意で、突然変異細胞割合が無処理区と 20 以上の差がある、
- ② 統計学的に有意な増加傾向がある、
- ③ 再現性がある。

試験結果： 結果を表 1~3 に示す。

代謝活性化系存在下で行った本試験で、277.83 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 区の突然変異頻度が軽微ではあるが統計学的に有意に増加した。1 回目確認試験では、100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ までのいずれの濃度でも突然変異頻度の増加は認められなかった。この試験では本試験で突然変異頻度が増加した濃度と同様の区が設定できなかったため、100.0~250.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の範囲で狭い濃度設定 (100、150、200 及び 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) をした 2 回目の確認試験を行った結果、全ての濃度区で突然変異頻度が統計学的に有意に増加した。しかし、100、150 ならびに 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 区の突然変異頻度 (16.15~19.73 $\times 10^{-6}$) は本試験及び 1 回目確認試験の頻度 (本試験の 92.61

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

$\mu\text{g/ml}$ 区 : 13.79×10^{-6} 、1 回目確認試験の $100 \mu\text{g/ml}$ 区 : 16.13×10^{-6}) と同様であり、また、その値は陰性対照区の範囲 ($1.21 \sim 32.9 \times 10^{-6}$) 内であった。さらに、これらの濃度は強い細胞毒性 (特に継代培養でみられた) あるいは培地中に沈殿を示した。最高濃度 ($250.0 \mu\text{g/ml}$) でみられた影響のみが生物学的に意義があるものと考えられた。

代謝活性化系非存在下の本試験及び 1 回目確認試験で、統計学的に有意な突然変異頻度の増加が各々 92.6 及び $100 \mu\text{g/ml}$ でみられた。濃度範囲を狭くとした 2 回目確認試験 ($50 \sim 150 \mu\text{g/ml}$ で 4 濃度) では何ら影響はみられなかった。従って、この突然変異頻度の増加は、偶発的であり被験物質の影響ではないと考えられた。

一方、陽性対照として用いた N-ニトロソジメチルアミン (DMN) 及びエチルメタンсульフォネート (EMS) には溶媒対照と比較して明らかな突然変異発現頻度の増加が認められた。

以上の結果より、本剤は代謝活性化系の存在下で、チャイニーズハムスター V79 細胞に対して弱い突然変異誘発性を示すものと判断された。しかし、影響は用量に依存しておらず、沈殿及び細胞毒性を示す濃度でのみ観察されたことから、生物学的意義については疑わしいものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1 本試験の結果

薬物	濃度 (μ g/ml)	継代培養 生育率(%) (対溶媒区)	S9 mix	突然変異 発現頻度 ($\times 10^{-6}$)	突然 変異 比率 ^a	有意差 (対溶媒)	有意差 (直線 傾向)
溶媒対照 (DMSO)	—	100	+	14.38	1.00	—	—
トリフロキシ ストロピ ^ン	30.87	83.9		7.49	0.52	NS	**
	92.61	59.9		13.79	0.96	NS	
	277.83	21.4		38.12	2.65	+++	
	833.50	6.8		#	#	#	
溶媒対照 (DMSO)	—	100	-	12.86	1.00	—	—
トリフロキシ ストロピ ^ン	1.14	33.8		9.70	0.75	NS	**
	10.29	33.0		13.81	1.07	NS	
	92.61	19.1		21.89	1.70	++	
	833.50	4.3		#	#	#	
陽性対照 (DMN)	1.0 (μ l/ml)	96.9	+	206.33	14.35	+++++	—
陽性対照 (EMS)	0.3 (μ l/ml)	65.5	-	2897.43	225.26	+++++	—

表 2 第 1 回確認試験の結果

薬物	濃度 (μ g/ml)	継代培養 生育率(%) (対溶媒区)	S9 mix	突然変異 発現頻度 ($\times 10^{-6}$)	突然 変異 比率 ^a	有意差 (対溶媒)	有意差 (直線 傾向)
溶媒対照 (DMSO)	—	100	+	14.17	1.00	—	—
トリフロキシ ストロピ ^ン	11.11	84.1		15.52	1.10	NS	NS
	33.33	89.5		16.39	1.16	NS	
	100.00	55.0		16.13	1.14	NS	
	300.00	14.1		#	#	#	
溶媒対照 (DMSO)	—	100	-	8.96	1.00	—	—
トリフロキシ ストロピ ^ン	0.14	70.1		16.53	1.85	+	*
	1.23	71.4		11.27	1.26	NS	
	11.11	70.0		11.97	1.34	NS	
	100.00	15.7		27.30	3.05	+++	
陽性対照 (DMN)	1.0 (μ l/ml)	73.2	+	152.71	10.78	+++++	—
陽性対照 (EMS)	0.3 (μ l/ml)	53.3	-	2686.18	299.91	+++++	—

a : それぞれの溶媒対照に対する比 # : 細胞毒性が特に強かったため計測せず

統計方法 : t-test

有意差 + : 0.02 < P < 0.05

++ : 0.01 < P < 0.02

+++ : 0.002 < P < 0.01

++++ : 0.001 < P < 0.002

+++++ : P < 0.001

* : 0.005 < P < 0.01

** : 0.001 < P < 0.005

NS : 有意差なし

DMN : N-ニトロソジメチルアミン, EMS : エチルメタンサルフォネート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 第 2 回確認試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	継代培養 生育率(%) (対溶媒区)	S9 mix	突然変異 発現頻度 ($\times 10^{-6}$)	突然 変異 比率 ^a	有意差 (対溶媒)	有意差 (直線 傾向)
溶媒対照 (DMSO)	—	100	+	3.44	1.00	—	—
トリロキシ スタロピン	100	53.5		16.15	4.69	++	***
	150	48.2		17.31	5.03	++	
	200	17.7		19.73	5.73	+++	
250	15.4	47.46	13.79	++++			
溶媒対照 (DMSO)	—	100	—	5.78	1.00	—	—
トリロキシ スタロピン	50	29.8		6.26	1.08	NS	NS
	75	29.5		5.30	0.92	NS	
	100	18.1		3.83	0.66	NS	
150	18.2	7.57	1.31	NS			
陽性対照 (DMN)	1.0 ($\mu\text{l/ml}$)	74.9	+	180.51	52.45	+++++	—
陽性対照 (EMS)	0.3 ($\mu\text{l/ml}$)	56.4	—	2180.17	376.97	+++++	—

a : それぞれの溶媒対照に対する比

統計方法 : t-test

有意差 ++ : $0.01 < P < 0.02$

+++ : $0.002 < P < 0.01$

++++ : $0.001 < P < 0.002$

+++++ : $P < 0.001$

*** : $P < 0.001$

NS : 有意差なし

DMN : N-ニトロソジメチルアミン, EMS : エチルメタンサルフォネート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) チャイニーズハムスター培養卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(毒性資料 No. 原体-28)

試験機関：

報告書作成年：1994年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞 (CHO-CCL 61) を用い、ラットの肝から調製した代謝活性化系 (S-9mix) の存在下および非存在下で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) に溶解させた。

用量設定根拠；

(細胞毒性試験)

(染色体異常)

観察は検体処理群および溶媒対照群では 200 個、陽性対照群では 50 個の分裂中期像について行った。以下の基準にしたがい、陽性判定を行った。

- 1) 溶媒対照群と比較して、特異的染色体異常数が 6.0%以上に増加するか、統計学的に有意に増加した場合
- 2) 染色体異常を有する細胞数の増加に、用量相関性がみられた場合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果 : 結果を表1および表2に示した。

本試験では、いずれにおいても異常細胞数の増加はみられなかった。確認試験では、代謝活性化系存在下で3時間暴露(回復時間39時間)した場合の50 μ g/mlにおいて、3.5%の細胞で統計学的に有意な特異的染色体異常の増加が認められた。しかし、この数値は背景データ()の範囲内であり、陽性判断の基準(6%)外であった。さらに、各項目にはいずれにも統計学的有意差は認められなかった。

一方、陽性対照のシクロホスファミドは代謝活性化系の存在下で、マイトマイシンCは非存在下で、染色体異常を有する細胞数の統計学的有意な増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下において本剤は染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1. 本試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理 時間	観察 細胞数	S-9 mix	有糸分 裂指数 (%) [#]	異常を有 する細胞 率(%) ^{##}	染色体異常数							
							特異的異常				数的異常		複合型 異常	非特異的 異常
							染色分体		染色体		多倍数体	核内倍加		
							欠失	交換	欠失	交換				
溶媒対照 ¹⁾	-		200		100	1.0	2				4			2
トリフロキシ ストロビン	0.781	18 h	200	-	59.46	2.0	2			2	3			2
	1.563		200		60.36	1.5	1		2	2		1		
	3.125		200		39.64	2.5	3		1	1	2		2	
陽性対照 ²⁾	0.2		50		-	56.0 ^{***}	21	2	11	1				6
溶媒対照 ¹⁾	-		200		100	1.5			2	1	2			2
トリフロキシ ストロビン	12.5	3 h (15 h) ⁴⁾	200	+	98.50	2.5	3		1	1	4			1
	25		200		75.19	2.5	4			1	7		5	
	50		200		42.11	3.5	5		2	1	2	1	7	
陽性対照 ³⁾	20		50		-	36.0 ^{***}	7	3	9		1			2

1) : ジメチルスルフォキシド

2) : マイトマイシンC

3) : シクロホスファミド

4) : 回復時間

: 溶媒対照を100とした分裂指数

: ギャップおよび数的異常を除く

*** : 統計学的有意性 $P \leq 0.001$ (χ^2 傾向検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2. 確認試験の結果

薬物	濃度 (μ /ml)	処理 時間	観察 細胞数	S-9 mix	有糸分 裂指数 (%) [#]	異常を有 する細胞 率(%) ^{##}	染色体異常数							
							特異的異常				数的異常		複合型 異常	非特異的 異常
							染色分体		染色体		多倍数体	核内倍加		
							欠失	交換	欠失	交換			ギャップ	
溶媒対照 ¹⁾	-		200		100	3.0	2		4		1			1
トリフロキシ ストロピン	0.049	18 h	200	-	122.86	4.0	3		3	3	6			4
	0.098		200		117.14	2.5		5		5			3	
	0.195		200		42.86	2.0	1		3		3			
陽性対照 ²⁾	0.2		50		-	70.0 ^{***}	25	12	7	2				5
溶媒対照 ¹⁾	-		200		100	3.0	2		1	3	2			1
トリフロキシ ストロピン	0.049	42 h	200	-	96.92	3.0	1		3	2	4		1	2
	0.098		200		61.67	1.0		1	2	3			1	
	0.195		200		37.89	1.5		2	1	8			5	
溶媒対照 ¹⁾	-		200		100	4.5	6		2	1	6			9
トリフロキシ ストロピン	25	3 h (15 h) ⁴⁾	200	+	79.58	3.0	5		1		6			8
	50		200		55.50	4.5	5	1	3	1	4		1	2
	100		200		31.41	2.5	1		2	1	2		1	1
陽性対照 ³⁾	20		50		-	46.0 ^{***}	13	8	9		1			3
溶媒対照 ¹⁾	-		200		100	0.5			1		5			2
トリフロキシ ストロピン	12.5	3 h (39 h) ⁴⁾	200	+	88.21	1.0	1			1	3			5
	25		200		42.28	1.0	1		1		1			6
	50		200		29.27	3.5 ^{**}	3		1	3	2	4		2

1) : ジメチルスルフォキシド

: 溶媒対照を 100 とした分裂指数

** : 統計学的有意性 0.01 = P > 0.001 (χ^2 傾向検定)

2) : マイトマイシンC

: ギャップおよび数的異常を除く

*** : 統計学的有意性 P ≤ 0.001 (χ^2 傾向検定)

3) : シクロホスファミド

4) : 回復時間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(4) マウスの骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験

(毒性資料 No. 原体-29)

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物：Tif:MAGf(SPF)系マウス(ICR系)、体重範囲；雄28~42g、雌21~33g
1群雌雄各5匹

試験方法：検体をCMC0.5%水溶液に懸濁して経口投与し、小核試験を実施した。

1250, 2500 および 5000mg/kg の用量で投与した。高用量および陰性対照群は16, 24 および 48 時間後、1250, 2500mg/kg および陽性対照群は24 時間後にCO₂により屠殺した後、大腿骨より牛胎仔血清に骨髄を採取し、遠心分離後、牛胎仔血清に懸濁させた。この懸濁液から骨髄塗抹標本を作製し、染色、包埋した。

成熟赤血球と多染性赤血球が明瞭に識別できる各群雌雄各5匹のスライドについて、1000個の多染性赤血球あたりの小核を有する多染性赤血球の発現頻度を測定した。また、合計1000個の赤血球につき多染性赤血球と正染色性赤血球の比を算出した。

試験結果の評価については、被験物質投与群の小核をもつ多染性赤血球の出現頻度が、0.2%以上であり、かつ陰性対照値に比較して統計学的有意差が認められた場合に、陽性と判定した。

なお、陽性対照としてシクロホスファミド(64mg/kg)を用いた。

<用量設定根拠>

結 果：結果の概要を次頁の表に示す。

いずれの用量群においても、溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球数の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加が認められた。

以上の結果から、本剤は、本試験条件下において突然変異誘発性を有しないと判断される。

表 1. 小核試験の結果

投与後の時間 (h)	薬物	投与量 (mg/kg)	性別	観察動物数	多染性赤血球数 ***	p/n 比	小核を有する多染性赤血球数 ****	小核を有する多染性赤血球の出現率 (%)
16	溶媒対照*	—	雄	5	440	0.78	3	0.06
			雌	5	480	0.92	4	0.08
	トリフロキシ ストロピン	5000	雄	5	439	0.78	1	0.02
			雌	5	440	0.78	0	0.00
24	溶媒対照*	—	雄	5	426	0.74	5	0.10
			雌	5	463	0.86	3	0.06
	トリフロキシ ストロピン	1250	雄	5	458	0.85	5	0.10
			雌	5	443	0.79	3	0.06
		2500	雄	5	457	0.84	6	0.12
			雌	5	466	0.87	6	0.12
	5000	雄	5	441	0.79	4	0.08	
		雌	5	456	0.84	2	0.04	
	陽性対照**	—	雄	5	387	0.63	94	1.88 ⁺
			雌	5	444	0.80	58	1.16 ⁺
48	溶媒対照*	—	雄	5	463	0.86	4	0.08
			雌	5	456	0.84	2	0.04
	トリフロキシ ストロピン	5000	雄	5	453	0.83	4	0.08
			雌	5	444	0.80	1	0.02

* : 0.5%CMC

** : シクロfosファミド、64mg/kg

*** : 5匹の合計値

**** : 多染性赤血球 5000 個当たり (5匹の合計値)

+ : p=0.05 (χ^2 検定)

p : 多染性赤血球

n : 正染性赤血球

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) ラット肝初代培養細胞を用いた UDS 試験/DNA 不定期合成試験

(毒性資料 No. 原体-30)

試験機関：

報告書作成年：1995 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法：Tif：RAIf 系雄ラットから分離した肝細胞の初代培養細胞を用い、DNA 損傷の誘発性をオートラジオグラフィで検定した。分離肝細胞に検体及び溶媒を添加した直後に、³H-チミジンを添加して 16～18 時間培養した。BSS(カルシウムフリーの Hanks 液)で洗浄後、1%クエン酸ナトリウムで核を膨張させた後、エタノール:酢酸(3:1)液で細胞を固定し、オートラジオグラフ用とした。1 群 3 枚のスライド(各 50 個の細胞)から合計 150 個の細胞を検査し、DNA 損傷による不定期 DNA 合成(³H-チミジンの取込み)の誘導を核当りの銀粒子数で評価した。検体はジメチルスルフォキシド(DMSO)に溶解させた。陽性対照として 2-AAF(45 μM)を用いた。以下の条件のうち少なくとも 1 つを満足し、再現性が認められた場合に陽性とした。

- 1) 核あたりの銀粒子数及び正味銀粒子数が、溶媒対照と比較して連続する 2 濃度以上で統計的に有意であり、かつそのうちの少なくとも 1 濃度の正味銀粒子数が 2.0 以上である場合。
- 2) 核あたりの銀粒子数及び正味銀細粒子数から修復が起っていたと判断される核の割合が、溶媒対照と比較して連続する 2 濃度以上で統計的に有意である場合。

<用量設定試験>

結果：結果を次頁の表に示した。本試験、確認試験とも核あたりの総銀粒子数および正味銀粒子数は溶媒対照に比較して、顕著な増加は認められなかった。

一方、陽性対照では、核あたりの総銀粒子数および正味銀粒子数とも顕著な増加がみられた。

以上の結果から、本剤はラット肝細胞に対して DNA 損傷誘発性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1. 本試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	平均総銀粒子数 /核	平均銀粒子数 /細胞質	正味銀粒子数
溶媒対照 (DMSO)	—	2.09	2.26	- 0.17
トリフロキシストロピン	0.39	2.35	2.50	- 0.15
	1.56	2.62	2.43	0.19
	6.25	2.57	2.56	0.01
	25	2.43	2.42	0.01
	50	2.43	2.53	- 0.10
陽性対照 (2-AAF)	10	17.72	3.51	14.21

DMSO:ジメチルスルフォキシド

2-AAF:2-アセチルアミノフルオレン

表 2. 確認試験の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	平均総銀粒子数 /核	平均銀粒子数 /細胞質	正味銀粒子数
溶媒対照 (DMSO)	—	3.16	2.94	0.22
トリフロキシストロピン	0.39	4.51	3.87	0.64
	1.56	4.09	3.53	0.56
	6.25	3.96	3.26	0.70
	25	3.95	3.47	0.48
	50	4.21	3.62	0.59
陽性対照 (2-AAF)	10	31.20	4.56	26.64

DMSO:ジメチルスルフォキシド

2-AAF:2-アセチルアミノフルオレン