

キャプタンの発がん性に関する生物検定

(資料No. O-7)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体の純度： 原体（純度 ）

試験動物： Osborne-Mendel系ラット；投与群1群雌雄各50匹、対照群雌雄各10匹 B6C3F1
 マウス；投与群1群雌雄各50匹、対照群雌雄各10匹
 生物検定のため、他の6種類の化学物質の同様の試験での対照群をあわせて総合対照群とした。総合対照群はラット75匹、マウス80匹であった。

試験期間： ラット114週間、マウス91週間

投与方法：

- 1) ラット；0、2,000、4,000、8,000及び16,000 ppmの濃度で飼料に混入した。16,000 ppm群は毒性が非常に強かったため、投与18週間で終了し、対応する雌雄各5匹の対照群も終了した。低用量の8,000 ppm群を高用量とし、新たに4,000 ppm群及び非投与群雌雄各5匹をそれぞれ低用量群及び対照群として投与20週目より追加した。新しい低用量群及び高用量群は設定を変更した後、21週目にそれぞれ2,000及び4,000 ppmへさらに用量を下げ、投与期間中の平均投与量（投与量 ppm×投与した週/各々の用量を投与した週）は高用量群が6,050 ppm及び低用量群が2,525 ppmであった。80週間の投与期間終了後、33または 34週間観察し屠殺した。以下に投与スケジュールを表に示す。

性別及び投与群		初期の動物数 ^b	混餌中のキャプタン濃度 (ppm)	試験期間		投与期間中に補正した平均値 ^e (ppm)
				処置 (週) ^c	未処置 (週) ^d	
雄	対応する対照群 ^a	10	0		114	0
	低用量	50	4,000 2,000 0	21 59	33	2,525
	高用量	50	8,000 4,000 0	41 39	34	6,050
雌	対応する対照群 ^a	10			114	0
	低用量	50	4,000 2,000 0	21 59	33	2,525
	高用量	50	8,000 4,000 0	41 39	34	6,050

a：対応する対照群は低用量群の動物と共に開始した雌雄各 5 例、及び高用量群の動物と共に開始した雌雄各 5 例で構成されている。

b：試験開始時、全ての動物は 35 日齢であった。

c：Gulf South Research Institute における他の化合物での同様な生物学的検定に用いたラットの死亡率、体重変化及び一般状態に基づいて、試験終了前に大量の死亡が認められたことから、キャプタン投与量は試験期間中の第 21 週目に減少した。

d：混餌飼料のキャプタンを中止した時、高用量群のラット及び対応する対照群には 6 週間の間、トウモロコシ油なしの対照飼料を給餌し、その後の 28 週間は対照飼料（2%トモロコシ油を追加）を給餌

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

し、一方、低用量群のラットには試験終了時まで対照飼料（2%トモロコシ油を追加）のみを給餌した。

$$c: \text{試験期間中に補正した平均投与量} = \frac{\sum (\text{投与量 ppm} \times \text{投与した週数})}{\sum (\text{各々の用量を投与した週数})}$$

- 2) マウス；16,000及び8,000 ppmを80週間投与した後、11週間観察し屠殺した。
投与量設定根拠；

以下に投与スケジュールを表に示す。

性別及び投与群		初期の動物数 ^a	混餌中のキャプタン濃度 (ppm)	試験期間	
				処置 (週)	未処置 (週) ^b
雄	対応する対照群	10	0		91
	低用量	50	8,000 0	80	11
	高用量	50	16,000 0	80	11
雌	対応する対照群 ^a	10	0		90~91
	低用量	50	8,000 0	80	11
	高用量	50	16,000 0	80	11

a：試験開始時、全ての動物は35日齢であった。

b：混餌飼料のキャプタンを中止した時、全ての投与群のマウス及び対応する対照群には、試験終了時まで対照飼料（2%トウモロコシ油を追加）を給餌した。

試験項目及び結果：

一般状態、体重、生存率；1日2回動物の状態を観察し、定期的に体重測定を行った。体重測定時には腫脹を触診にて確認した。

- 1) ラット；平均体重は低用量及び高用量とも全試験期間を通し、対応する対照群より低かった。臨床症状は被毛の薄化、脱毛、粘膜の蒼白化、皮膚炎、頻呼吸、血尿及び膣出血が認められた。生存率は下記に示す通りであり、有意水準0.05%で正の用量相関はなかった（Tarone検定）。

性別	用量群	生存率 (%)
雄ラット	高用量群	46
	高用量対照群	58
	低用量群	60
	低用量対照群	80
雌ラット	高用量群	75
	高用量対照群	100
	低用量群	60
	低用量対照群	100

- 2) マウス；全試験期間を通し、高用量群の平均体重は対照群より明らかに低く、低用量群の平均体重はわずかに低かった。臨床症状は興奮（一部振せん-24週のみ）、被毛の薄化、脱毛、腹部膨満が認められた。生存率は試験終了時までいずれの群も90%を超えており、有意な正の用量相関性は認められなかった（Tarone検定）。

病理学的検査；ラット及びマウスとも屠殺した動物ならびに死亡した動物の主要組織、主要臓器及び肉眼的病変の肉眼的検査及び顕微鏡検査を行った。以下の組織を10%ホルマリン溶液で固定した後パラフィンで包埋し、切片をヘマトキシリン・エオジン染色し、鏡検した。

皮膚、肺及び気管支、気管、骨及び骨髄、リンパ節、心臓、唾液腺、肝臓、胆嚢（マウス）、脾臓、胃、小腸、大腸、腎臓、膀胱、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、乳腺、前立腺または子宮、精巣または卵巣、脳

- 1) ラット；ラットの非腫瘍性病変の主なものを表1に、腫瘍性病変の全てを表2に記載した。全体に非常に種々の非腫瘍性病変が散見され、対照群及び投与群の動物にほぼ同じ程度で観察された。これらの病変はキャプタン投与とは無関係で他の実験に用いたラットにも頻繁に認められるものであることから、キャプタンが原因物質でないことが示唆された。
- また、観察された腫瘍の種類はこの系統のラットでは一般的なものであった。雌雄どちらかに5%を超える発現率の原発性腫瘍が認められた場合、統計解析を実施した。結果は表3に記載した。副腎皮質腺腫及び副腎皮質癌を合算した発現率は総合対照と比較して正の用量相関性が認められた（Cochran-Armitage検定）が、Fisherの精密検定で有意差はなかった。同様に高用量群雌における甲状腺C細胞腺腫の発現率にも正の用量相関性が認められたが有意差はなかった。
- 2) マウス；マウスの非腫瘍性病変の主なものを表4に、腫瘍性病変の全てを表5に記載した。雌雄とも十二指腸に観察された増殖性及び腫瘍性病変の発現率及び分布は下表の通りで、これらはB6C3F1マウスに稀な病変であることから、キャプタン投与に起因することが示唆された。

	雄			雌		
	対照	低用量	高用量	対照	低用量	高用量
検査動物数	9	43	46	9	49	48
腺癌	0	1	3	0	0	3
ポリプ様膜	0	2	2	1	1	0
粘膜過形成	0	0	3	0	0	0

その他の腫瘍性変化についてはキャプタンとの関連性は認められなかった。認められた腫瘍のうち雌雄いずれか1群またはそれ以上の投与群に5%以上観

察された特定の原発性腫瘍の発現率を統計解析し、結果を表6に記載した。
十二指腸の腺癌をCochran-Armitage検定で雌雄とも有意な直線性が認められた。
Fisherの精密検定では雌雄とも有意差は認められなかった。腺癌及びポリープ
様腺腫NOSをひとまとめにして統計解析を行うと雄において有意な増加が確
認されたが、雌雄ひとまとめの発現率での統計解析では有意差は認められず、
雄マウスにおける十二指腸腫瘍との用量相関性が示唆された。
投与群の雄の肝臓癌の発現率は負の有意性が認められた。それ以外の腫瘍の
発現率には有意差は認められなかった。
非腫瘍性病変は炎症または変性であり、それらの発現率及び分布にはキャプ
タンとの関連性は認められなかった。

結 論： 本試験状況下においてB6C3F1マウスの十二指腸腫瘍はキャプタン投与に関連
があるが、Osborne Mendel系ラットにおいて観察された腫瘍がキャプタン投与
に関連するという明らかな証拠は認められなかった。

表1. ラットにおける主要な非腫瘍性病変

検査時	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		低用量		高用量		低用量		高用量	
			0	2,525	0	6,050	0	2,525	0	6,050
全動物	動物数 (試験開始時)		5	50	10	50	5	50	10	50
	動物数 (解剖時)		5	50	5	49	4	50	5	50
	動物数 (鏡検時)		5	49	5	49	4	50	5	50
	臓器	所見/検査動物								
	肝臓	実質変性	0/5	5/47	2/5	10/49	2/4	1/49	3/5	6/50
		脂肪変性	0/5	9/47	1/5	14/49	1/4	4/49	0/5	5/50
		限局性細胞変化	0/5	1/47	0/5	5/49	0/4	0/49	0/5	0/50
		血管拡張	1/5	4/47	0/5	3/49	0/5	3/49	1/5	8/50
	腎臓	慢性炎症	3/5	25/49	5/5	33/49	0/4	7/49	2/5	4/47
	下垂体	複合嚢胞	0/5	2/43	0/5	0/45	0/4	0/49	0/4	0/45
		嚢胞変性	0/5	2/43	0/5	0/45	0/4	0/49	0/4	0/45
		過形成 NOS	1/5	2/43	0/5	0/45	0/4	0/49	0/4	0/45
		血管拡張	0/5	6/43	0/5	1/45	0/4	8/49	0/4	2/45
	副腎皮質	出血	0/5	1/47	0/5	3/47	0/4	0/50	0/5	0/47
		脂肪変性	0/5	1/47	0/5	3/47	0/4	0/50	0/5	0/47
	甲状腺	C細胞過形成	0/5	0/42	0/5	0/47	0/4	3/49	0/5	2/44
		濾胞上皮細胞	0/5	1/42	2/5	6/47	0/4	1/49	1/5	2/44
	副甲状腺	過形成 NOS	0/3	0/2	1/21	2/33	0	0	0	0
	精巣	浮腫 NOS	0/5	3/48	0/5	1/48	・	・	・	・
		動脈周囲炎	0/5	0/48	0/5	4/48	・	・	・	・
萎縮 NOS		3/5	14/48	1/5	6/48	・	・	・	・	
乳腺小葉	過形成 NOS	0	0	0	0	0/4	0/50	1/5	3/50	
体腔	動脈周囲炎	1/5	1/50	1/5	8/49	0	0	0	0	

数値は当該所見が得られた動物数及び検査動物数を示す。

腫瘍表に検査動物数が記載されていないものについては当該所見が得られた動物数のみ記載した。

・：該当組織なし。

表2. ラット腫瘍性病変

検査時	性別		雄				雌				
	用量群 (ppm)		低用量		高用量		低用量		高用量		
			0	2,525	0	6,050	0	2,525	0	6,050	
	動物数 (試験開始時)		5	50	10	50	5	50	10	50	
	動物数 (解剖時)		5	50	5	49	4	50	5	50	
	動物数 (鏡検時)		5	49	5	49	4	50	5	50	
	臓器	所見/検査動物									
全動物	皮膚	扁平細胞癌	M	0/5	0/50	0/5	1/49	0	0	0	0
		線維腫	B	0/5	1/50	0/5	0/49	0	0	0	0
		線維肉腫	M	0/5	1/50	0/5	0/49	0	0	0	0
		悪性線維性	M	0/5	1/50	0/5	0/49	0	0	0	0
	皮下	線維腫	B	0/5	1/50	0/5	1/49	0/4	0/50	0/5	0/50
		脂肪腫	B	0/5	0/50	0/5	1/49	0/4	0/50	0/5	0/50
		悪性線維性	M	0/5	0/50	0/5	0/49	0/4	1/50	0/5	0/50
		エナル芽細胞	B	0/5	0/50	0/5	0/49	0/4	1/50	0/5	0/50
	肺	移行性細胞	M	0/4	1/48	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	0/49
		転移性	B	0/4	0/48	0/5	1/49	0/4	0/50	0/5	0/49
		転移性胆管癌	M	0/4	0/48	0/5	0/49	0/4	1/50	0/5	0/49
		転移性皮質癌	M	0/4	0/48	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	1/49
	集合臓器	悪性脂肪腫	M	0/5	1/50	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	1/50
		悪性線維性	M	0/5	1/50	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	0/50
	脾臓	血管腫	B	0/4	1/49	0/5	0/47	0/4	0/49	0/5	0/50
		血管肉腫	M	0/4	1/49	0/5	0/47	0/4	0/49	0/5	0/50
		転移性胆管癌	M	0/4	0/49	0/5	0/47	0/4	1/49	0/5	0/50
	肝臓	悪性脂肪腫	M	0/5	1/47	0/5	0/49	0/4	0/49	0/5	0/50
胆管癌		M	0/5	0/47	0/5	1/49	0/4	0/49	0/5	0/50	
肝細胞癌		M	0/5	0/47	0/5	0/49	0/4	0/49	0/5	1/50	

数値は当該所見が得られた動物数/検査動物数を示す。

検査動物数が腫瘍表に記載されていない場合は腫瘍数のみを記載した。

M: 悪性、 B: 良性、 -: 悪性/良性の区別つかず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検査時	性別		雄				雌				
	用量群 (ppm)		低用量		高用量		低用量		高用量		
			0	2,525	0	6,050	0	2,525	0	6,050	
	動物数 (試験開始時)		5	50	10	50	5	50	10	50	
	動物数 (解剖時)		5	50	5	49	4	50	5	50	
	動物数 (鏡検時)		5	49	5	49	4	50	5	50	
	臓器	所見/検査動物									
全動物	胆管	胆管腺腫	B	0	0	0	0	0/4	0/50	0/5	1/50
		胆管癌	M	0	0	0	0	0/4	1/50	0/5	0/50
		過誤腫	B	0	0	0	0	0/4	0/50	1/5	0/50
	心臓	横紋筋肉腫	M	0/4	1/48	0/5	0/49	0	0	0	0
	食道	悪性線維性	M	0/0	0/7	0/0	1/5	0	0	0	0
	胃	扁平細胞ポリープ	B	0/5	0/47	0/5	1/44	0	0	0	0
		過誤腫	B	0/5	1/47	0/5	0/44	0	0	0	0
	腎臓	移行性細胞癌	M	0/5	1/49	0/5	0/49	0/4	0/49	0/5	0/47
		尿細管腺腫	B	0/5	0/49	0/5	1/49	0/4	1/49	0/5	0/47
		悪性線維性	M	0/5	0/49	0/5	1/49	0/4	0/49	0/5	0/47
		悪性混合腫瘍	M	0/5	1/49	1/5	1/49	0/4	1/49	0/5	0/47
		良性混合腫瘍	B	0/5	0/49	0/5	0/49	0/4	1/49	0/5	0/47
		過誤腫	B	0/5	0/49	0/5	1/49	0/4	1/49	0/5	0/47
	尿管	悪性線維性	M	0/5	0/46	0/5	1/40	0/4	0/48	0/5	0/43
		転移性悪性	M	0/5	0/46	0/5	0/40	0/4	1/48	0/5	0/43
	下垂体	癌 NOS	M	0/5	0/43	1/5	1/45	0/4	0/48	0/4	1/45
		色素嫌性腺腫	B	1/5	9/43	1/5	5/45	2/4	12/48	1/4	4/45
		腺腫 NOS	B	0/5	0/43	0/5	0/45	0/4	1/48	0/4	0/45
	副腎	褐色細胞腫	B	0/5	0/47	0/5	1/47	0/4	1/50	0/5	1/47
		皮質腺腫	B	0/5	0/47	0/5	0/47	0/4	1/50	0/5	2/47
		皮質癌	M	0/5	0/47	0/5	0/47	0/4	1/50	0/5	1/47
	甲状腺	C細胞腺腫	B	0/5	1/42	0/5	1/47	0/4	1/49	0/5	4/48
		胞状細胞腺腫	B	0/5	0/42	0/5	0/47	0/4	0/49	1/5	0/48
C細胞癌		M	0/5	0/42	0/5	0/47	0/4	1/49	0/5	0/48	

数値は当該所見が得られた動物数/検査動物数を示す。

検査動物数が腫瘍表に記載されていない場合は腫瘍数のみを記載した。

M：悪性、 B：良性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検査時	性別			雄				雌			
	用量群 (ppm)			低用量		高用量		低用量		高用量	
				0	2,525	0	6,050	0	2,525	0	6,050
	動物数 (試験開始時)			5	50	10	50	5	50	10	50
	動物数 (解剖時)			5	50	5	49	4	50	5	50
	動物数 (鏡検時)			5	49	5	49	4	50	5	50
	臓器	所見/検査動物									
全動物	膵臓	転移性胆管癌	M	0	0	0	0	0/4	1/45	0/4	0/48
	小腸	転移性胆管癌	M	0	0	0	0	0/4	1/47	0/5	0/49
	膵島	島細胞腺腫	B	0/4	1/45	0/5	1/47	1/4	0/45	0/4	3/48
	乳腺	腺腫 NOS	B	0/5	0/50	0/5	0/49	0/4	1/50	0/5	1/50
		線維腫	B	0/5	1/50	0/5	0/49	0/4	2/50	0/5	3/50
		線維腺腫	B	0/5	0/50	0/5	0/49	0/4	4/50	0/5	5/50
		脂肪腫	B	0/5	0/50	0/5	1/49	0/4	0/50	0/5	0/50
		腺癌 NOS	M	0/5	1/50	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	1/50
		汗腺癌	M	0/5	0/50	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	1/50
		浸潤管癌	M	0/5	0/50	0/5	0/49	0/4	0/50	0/5	1/50
	精巣	間質細胞癌	M	0/5	2/48	0/5	0/48
	貯精囊	腺癌 NOS	M	0/5	2/50	0/5	0/49
	子宮	癌 NOS	M	0/4	0/48	0/5	1/45
		肉腫 NOS	M	0/4	1/48	0/5	0/45
		内膜間質性	B	1/4	6/48	1/5	7/45
	卵巢	卵胞膜腫	B	0/4	1/49	0/5	0/46
		顆粒膜細胞癌	M	0/4	1/49	0/5	0/46
		卵胞膜腫	B	0/4	1/49	0/5	0/46
		顆粒膜細胞癌	M	0/4	1/49	0/5	0/46
	脳	悪性顆粒細胞	M	0/5	2/47	0/5	0/45	0	0	0	0
腹膜	転移性胆管癌	M	0	0	0	0	0/4	1/50	0/5	0/50	
	肉腫 NOS	M	0	0	0	0	0/4	0/50	0/5	1/50	

数値は当該所見が得られた動物数/検査動物数を示す。

検査動物数が腫瘍表に記載されていない場合は腫瘍数のみを記載した。

M: 悪性、 B: 良性

.: 該当組織なし。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検査時	性別		雄				雌			
	用量群 (ppm)		低用量		高用量		低用量		高用量	
			0	2,525	0	6,050	0	2,525	0	6,050
	動物数 (試験開始時)		5	50	10	50	5	50	10	50
	動物数 (解剖時)		5	50	5	49	4	50	5	50
	動物数 (鏡検時)		5	49	5	49	4	50	5	50
合計	原発性腫瘍	総動物数	2	28	2	20	3	36	4	32
		総腫瘍数	2	32	3	24	4	47	4	41
	良性腫瘍	総動物数	1	20	1	14	3	30	4	25
		総腫瘍数	1	21	1	14	4	36	4	32
	悪性腫瘍	総動物数	0	10	1	5	0	7	0	8
		総腫瘍数	0	10	2	8	0	7	0	9
	続発性腫瘍	総動物数	0	1	0	1	0	1	0	1
		総腫瘍数	0	1	0	1	0	6	0	1
	非特定良性/ 悪性腫瘍	総動物数	1	1	0	2	0	4	0	0
		総腫瘍数	1	1	0	2	0	4	0	0
非原発性 /転移性腫瘍	総動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	
	総腫瘍数	0	0	0	0	0	0	0	0	

表3. ラット腫瘍性病変統計解析結果

性別		雄				雌			
用量群 (ppm)		総合 対照	対応 対照	2,525	6,050	総合 対照	対応 対照	2,525	6,050
肝臓	肝細胞癌					1/71	0/9	0/49	1/50
下垂体	色素嫌性腺腫	8/62	2/10	9/43	5/45	12/62	3/8*	12/48	4/45
甲状腺	C細胞腺腫	2/65	0/10	1/42	1/47	1/65*	0/9	1/49	4/44
	C細胞腺腫または癌					2/66	0/9	2/49	4/44
副腎	皮質腺腫または皮質癌					0/64	0/9*	2/50	3/47
膵島	島細胞腺腫	3/72	0/9	1/45	1/47	1/69	1/8	0/45	3/48
乳腺	線維腫					1/72	0/9	2/50	3/50
	線維腺腫					8/72	0/9	4/50	5/50
	腺癌 NOS、腺腫 NOS または湿潤管癌					0/67	0/9	3/50	3/50
	腺腫 NOSまたは 線維腺腫					8/72	0/9	7/50	6/50
子宮	内膜間質性ポリープ					7/67	2/9	6/48	7/45

数値は当該所見が得られた動物数/検査動物数を示す。

空欄：統計処理を実施していない為、本表にはデータを記載しなかった。

Cochran-Armitage検定 * : $p < 0.05$

Fisher精密検定 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$

表4. マウスにおける主要な非腫瘍性病変

検査時	性別		雄			雌		
	用量群 (ppm)		0	8,000	16,000	0	8,000	16,000
検査時	動物数 (試験開始時)		10	50	50	10	50	50
	動物数 (解剖時)		9	48	49	10	50	49
	動物数 (鏡検時)		9	47	49	10	50	48
全動物	十二指腸	巣状過形成	0/9	0/43	1/46	0	0	0
	十二指腸粘膜	過形成 NOS	0/9	0/43	1/46	0	0	0
		巣状過形成	0/9	0/43	2/46	0	0	0
	肝臓	実質変性	0/9	0/46	0/49	0/10	7/49	0/47
	子宮/子宮内膜	嚢胞性過形成	・	・	・	1/10	3/45	3/43
卵巣	炎症 NOS	・	・	・	3/10	0/46	0/45	
	化膿性炎症	・	・	・	1/10	3/46	0/45	

数値は当該所見が得られた動物数/検査動物数を示す。

腫瘍表に検査動物数が記載されていないものについては当該所見が得られた動物数のみ記載した。

・：該当組織なし。

表5. マウスにおける腫瘍性病変

検査時期	性別		雄			雌		
	用量群 (ppm)		0	8,000	16,000	0	8,000	16,000
検査時期	動物数 (試験開始時)		10	50	50	10	50	50
	動物数 (解剖時)		9	48	49	10	50	49
	動物数 (鏡検時)		9	47	49	10	50	48
全動物	肺	転移性肝細胞がんM	1/9					
		肺胞/細気管支腺腫B	2/9	2/47	1/49			
		肺胞/細気管支癌M		1/47				
	肝臓	肝細胞がんM	3/9	1/46	2/49			
	胃	扁平上皮細胞乳頭腫B					1/49	
	十二指腸	腺腫様ポリープ (NOS) B		2/43	2/46	1/9	1/49	
		腺腫様ポリープ 中の腺癌B		1/43	3/46			3/46
	多臓器	組織球性悪性リンパ腫M				1/10	1/50	1/49
		リンパ球性白血病M						1/49
	盲腸	悪性リンパ腫 (NOS) M			1/1			
	乳腺	腺腫 (NOS) B					1/50	
卵巣	嚢胞腺腫 (NOS) B						1/45	
	血管腫B						1/45	

M：悪性、B：良性 -：悪性/良性の区別つかず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表6. マウス腫瘍性病変統計解析結果

性 別		雄				雌			
		総合 対照	対応 対照	8,000	16,000	総合 対照	対応 対照	8,000	16,000
肺	肺胞/細気管支腺腫又は癌	5/66	2/9	3/47	1/49				
肝 臓	肝細胞がん	14/76	3/9	1/46	2/49				
十二指腸	腺腫様ホリブ [*]	0/68	0/9	2/43	2/46	1/68	1/9	1/49	0/48
	腺腫様ホリブ [*] 中の腺癌	0/68	0/9	1/43	3/46	0/68	0/9	0/49	3/48
	腺腫様ホリブ [*] 又は 腺腫様ホリブ [*] 中の腺癌	0/68	0/9	3/43	5/46 [†]	1/68	1/9	1/49	3/48

数値は当該所見が得られた動物数/検査動物数を示す。

空欄：統計処理を実施していない為、本表にはデータを記載しなかった。

Cochran-Armitage検定 * : $p < 0.05$

Fisher精密検定 † : $p < 0.05$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(資料No. O-8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(6) 繁殖毒性及び催奇形性

(6) -1 繁殖毒性

ラットを用いた繁殖毒性試験 (三世代)

(資料No. R-1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1982年

検体の純度: 原体 (純度)

試験動物: Charles River COBS CD系ラット

1群雄15匹 (体重95~168 g)、雌30匹 (体重83~135 g)

投与期間: F₀世代第1~34週、F₁世代第35~71週、F₂世代第67~98週

(1978年7月27日~1980年6月12日)

投与方法: 検体を0、25、100、250及び500 mg/kg/日となるように飼料中に混入し、自由摂食させた。

飼料は妊娠期間を除き、最新の体重及び飼料摂取量に基づき毎週新たに調製した。妊娠期間中は、交配の最終日の体重を用いた。また交配期間中は、雌用に調製した飼料を雌雄に摂食させた。

方法及び試験項目: 概要を下記の表にまとめた。

一般状態及び死亡率; 親動物、児動物ともに1日2回観察を行った。

親動物についてはさらに週1回詳細な観察を行った。

体重; 親動物の体重を個体別に毎週測定した。児動物については哺育1、4、7及び14日目に同腹毎の総重量を測定し、哺育21日目は個体別に測定した。

摂餌量; 親動物 (F₀世代からF₂世代) について、試験開始から98週間の間、毎週1回測定した。

交配の確認; 各世代の最初の交配は約100日齢時 (F₀は133日齢) に雌2匹に対し雄1匹を15日間同居させ行った。2回目以降の交配は先の哺育児の離乳後約10日間を置いた後、雌2匹に対し先と異なる雄1匹を用いた。

雌について毎日観察を行い、膈垢内に精子または膈栓形成が確認された日を妊娠0日とした。

繁殖性に関する指標; 雌雄の妊性に関する指標を以下のように算出した。

$$\text{雄の受精率} = \frac{\text{妊娠させた雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}} \times 100$$

$$\text{雌の受精率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

また、妊娠期間、新生児数、死産児数を検査した。

催奇形性; F₁世代の第3回交配による妊娠19日目に親動物を帝王切開しF_{2c}胎児を摘出した。新生児数、死産児数、黄体数、着床数、早期・後期吸収胚数を検査した。

さらに、胎児の体重を個体別に測定後、口蓋及び眼を含む外表異常を検査した。約半数の胎児につき骨格標本作製し、骨格検査を行い、残りの胎児については、内臓検

査を実施した。

肉眼的病理検査；F_{1a}、F_{1b}、F_{2a}、F_{2b}、F_{3a}及びF_{3b}同腹児の2/3を離乳後に屠殺し剖検した。眼、脳及び生殖器は切開し、心臓はStaplesの変法で切断し検査した。

病理組織学的検査；剖検に供したF_{3b}哺育児の無作為選抜による雌雄各10匹について下記の組織または器官を検鏡検査に供した。各世代の途中死亡の親動物についても同様の方法で検査を行った。

脳、下垂体、肝、腎、副腎、心、肺、大動脈、気管、甲状腺、胸腺、脾、腸間膜リンパ節、膵、食道、胃、十二指腸、回腸、空腸、結腸、精巣/精巣上部、卵巣、精嚢、子宮、子宮頸部、膀胱、眼、唾液腺、骨格筋、末梢神経、皮膚及び肉眼的病変部位

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

世代	期間 (日)	作業手順	試験項目
F ₀	生育 (102日)	離乳後10日間の馴化期間を経た後、所定量の検体を含む飼料投与を開始。	体重、摂餌量を個体別に毎週、世代終了まで測定。一般状態、死亡率を毎日2回世代終了まで観察。
	第1回交配 (15日) (児: F _{1a})		交尾状況を毎日観察。
	第2回交配 (15日) (児: F _{1b})	133日齢で雌雄2:1で交配。 交尾はスメアー法で確認。(確認日: 妊娠0日)	交尾状況を毎日観察。
	妊娠 (21~22日)	第1回交配の結果得られたF _{1a} 児離乳後、 最低10日間の休養期間の後、雌雄2:1で交配。 交尾はスメアー法で確認。(確認日: 妊娠0日)	
	出産		出産状況の観察。 妊娠期間、新生児数、死産児数、外表異常検査。
F _{1b}	哺育 (21日)	哺育4日目に、原則として同腹当り雌雄各5匹に調整。	哺育1、4、7、14、21日目に生存率を算出。 哺育1、4、7、14日目に同腹児の総重量を測定。 哺育21日目に個体別に体重を測定。 一般状態を毎日2回観察。
	離乳	離乳後、F _{1b} 児をそのまま7日間、同腹毎に飼育。 F ₁ 世代親動物とする為に、各群より雄15匹、雌30匹を無作為選抜。 生存する全ての親動物と試験継続用又は剖検用に選抜されなかったF ₁ 児を屠殺廃棄。 次世代用に選抜されたF _{1b} 児に所定量の検体を含む飼料投与を開始。	F _{1a} 児離乳後、全児動物の外表異常を検査し、各同腹児の2/3を剖検。 次世代用に選抜されなかったF _{1b} 児の2/3を剖検。
	生育 (72日)		
	第1回交配 (15日) (児: F _{2a})	F ₀ 世代に準ずる。(交配時約100日齢)	F ₀ 世代に準ずる。
	第2回交配 (15日) (児: F _{2b})		
	第3回交配 (15日) (児: F _{2c})	第3回交配による妊娠19日目にF _{2c} 胎児を帝王切開によって摘出。	全胎児の体重を個体別に測定、新生児数死産児数、黄体数、着床数、早期・後期吸収胚数、性比、外表異常を検査。 各同腹児の胎児の約半数につき、骨格異常を検査し、残りの胎児については内臓異常を検査。 交尾が確認されなかった雌及び不妊雌についても剖検を実施。
	妊娠 (21~22日)		
	出産		
	哺育 (21日)	F ₀ 世代に準ずる。	F ₀ 世代に準ずる。
	離乳		
F _{2b}	生育 (72日)		
	第1回交配 (15日) (児: F _{3a})	F ₁ 世代に準ずる。	F ₁ 世代に準ずる。
	第2回交配 (15日) (児: F _{3b})		
出産			
F _{3b}	哺育 離乳	F ₂ 親動物を屠殺廃棄。	更に各群の雌雄各10匹の児動物につき、病理組織学的検査を実施。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果： 下表に示した。

世 代			親：F ₀ 児：F _{1a} 、F _{1b}					
投与量 (mg/kg/日)			対照群	25	100	250	500	
親 動 物	動物数	雄	15	15	15	15	15	
		雌	30	30	30	30	30	
	一般状態			検体投与に起因する影響なし				
	死亡率 (%)	雄	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		雌	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
	平均体重 (g)	雄	初	126	129	128	127	128
			終	653	617	603*	566**	534**
		雌	初	108	111	108	108	108
			終	337	332	323	311**	297**
	摂餌量 (g/ラット/日)	雄	27.9	26.4	26.4	23.8	22.6	
		雌	25.3	24.0	23.7	21.6	19.3	
	肉眼的病理検査			死亡例なし (実施せず)				
	受精率 (%)	雄	a	100	80	87	67*	73
			b	100	80	100	87	93
雌		a	87	73	70	63	57*	
		b	80	73	90	73	83	
妊娠期間 (日)	a	21.6	21.3	21.2	21.5	21.4		
	b	21.5	21.7	21.8	21.7	22.0		
新生児数	a	12.6	11.2	12.0	11.6	10.6*		
	b	13.3	12.6	12.0	12.5	10.6		
死産児数	a	0.4	0.2	0.2	0.7	0.4		
	b	0.1	0.6	0.2	0.3	0.9		
外表異常	a	検体投与に起因する影響なし						
	b							
児 動 物	1日目	a	7.3	6.8*	6.7*	6.4*	6.0**	
		b	7.2	6.9	6.6*	6.6*	6.0**	
	4日目	a	10.6	10.0	9.3**	8.9**	7.9**	
		b	10.4	10.1	9.7	9.0**	7.6**	
	21日目 (離乳時)	雄	a	42.0	41.1	38.2**	34.7**	27.8**
			b	49.9	49.0*	46.2**	39.2**	30.8**
雌		a	40.9	39.7	36.9**	33.6**	26.7**	
		b	48.0	47.1*	44.8**	38.0**	28.8**	
生存率 (%)	0~1日	a	99	100	98	92	96	
		b	100	100	96	99	97	
	1~4日	a	99	99	98	92	93	
		b	99	100	95	98	93	
	14~21日 (離乳時)	a	100	99	100	99	99	
		b	100	100	99	100	93	
肉眼的病理検査			検体投与に起因する影響なし					
			a					
			b					

Yatesの補正付きカイ二乗検定又はFisherの直接確立計算法。

* : 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

世代			親 : F _{1b} 児 : F _{2a} 、F _{2b}					
投与量 (mg/kg/日)			対照群	25	100	250	500	
親動物	動物数	雄	15	15	15	15	15	
		雌	30	30	30	30	30	
	一般状態			検体投与に起因する影響なし				
	死亡率 (%)	雄	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		雌	0.0	0.0	3.3	0.0	6.7	
	平均体重 (g)	雄	初	187	186	158**	152**	118**
			終	611	614	572	528	436
		雌	初	148	140	135*	123**	98**
			終	363	347	337	314	293
	摂餌量 (g/rat/日)	雄	28.4	29.0	27.1	24.5	22.1	
		雌	26.3	25.3	25.7	23.1	21.1	
	肉眼的病理検査			検体投与に起因する影響なし				
	受精率 (%)	雄	a	100	93	100	100	93
			b	100	100	100	93	100
		雌	a	90	93	93	100	93
b			97	100	93	93	90	
c			70	77	79	87	79	
妊娠期間 (日)	a	21.7	21.4	21.7	21.6	21.8		
	b	21.5	21.3	21.3	21.4	21.9		
新生児数	a	12.3	12.8	12.9	12.5	10.7		
	b	12.8	13.6	13.7	11.7	10.6		
死産児数	a	0.3	0.1	0.6	0.5	0.2		
	b	0.5	0.6	0.4	0.4	0.2		
外表異常		a	検体投与に起因する影響なし					
		b						
平均体重 (g)	1日目	a	7.0	6.9	6.7	6.1*	5.8**	
		b	7.1	6.6**	6.6**	6.4**	6.4**	
	4日目	a	10.3	9.8	9.5*	8.3**	7.6**	
		b	10.5	9.8	9.3**	9.2**	8.7**	
	21日目 (離乳時)	雄	a	47.6	44.7	41.2*	33.3**	26.6**
			b	50.4	48.6	43.9**	38.0**	34.6**
雌		a	44.7	42.8	38.9**	32.3**	26.6**	
		b	48.1	45.9	41.7**	36.4**	32.8**	
生存率 (%)	1日目	a	100	100	99	96*	87*	
		b	99	100	100	100	97	
	4日目	a	99	99	98	95*	85**	
		b	99	97	98	100	96	
	21日目 (離乳時)	a	99	96	100	100	92	
		b	100	100	99	100	98	
肉眼的病理検査		a	検体投与に起因する影響なし					
		b						

Yates の補正付きカイ二乗検定又は Fisher の直接確立計算法。

但し、生存率は Mann-Whitney の U 検定。

* : p < 0.05, ** : p < 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

世代			親：F _{2b} 児：F _{3a} 、F _{3b}					
投与量 (mg/kg/日)			対照群	25	100	250	500	
親動物	動物数	雄	15	15	15	15	15	
		雌	30	30	30	30	30	
	一般状態			検体投与に起因する影響なし				
	死亡率 (%)	雄	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		雌	3.3	0.0	0.0	3.3	0.0	
	平均体重 (g)	雄	初	216	198	203	176**	151**
			終	614	586	566	500**	469**
		雌	初	159	157	154	139**	124**
			終	344	330	330	305**	283**
	摂餌量 (g/rat/日)	雄	28.2	27.2	27.1	24.6	23.2	
		雌	26.6	26.6	27.8	25.6	21.5	
	肉眼的病理検査			検体投与に起因する影響なし				
	受精率 (%)	雄	a	100	100	100	100	87
			b	100	100	100	100	100
雌		a	93	90	100	100	83	
		b	86	87	100	100	93	
妊娠期間 (日)	a	21.5	21.5	21.5	21.6	21.7		
	b	21.4	21.6	21.4	21.5	21.7		
新生児数	a	11.5	12.9	12.8	12.4	11.2		
	b	11.9	13.5	14.3*	13.8	11.9		
死産児数	a	0.3	0.1	0.6	0.4	0.3		
	b	0.2	0.5	0.3	0.3	0.5		
外表異常	a	検体投与に起因する影響なし						
	b							
平均体重 (g)	1日目	a	6.9	6.8	6.7	6.4**	5.9**	
		b	6.9	6.8	6.6	6.4*	6.0**	
	4日目	a	10.3	10.1	9.8	8.7**	7.8**	
		b	10.3	10.1	9.5	8.7**	7.8**	
	21日目 (離乳時)	雄	a	47.1	45.9	43.3*	38.9**	31.5**
			b	51.9	50.5	48.0**	41.3**	31.4**
		雌	a	44.9	44.3	42.1	37.3**	30.5**
			b	50.4	47.7	46.0**	39.8**	30.7**
生存率 (%)	1日目	a	100	100	99	99	96*	
		b	100	99	99	99	98	
	4日目	a	98	99	98	97*	89**	
		b	99	98	98	97	93*	
	21日目 (離乳時)	a	98	100	99	98	98	
		b	100	100	99	99	100	
肉眼的病理検査			検体投与に起因する影響なし					

Yates の補正付きカイ二乗検定又は Fisher の直接確立計算法。

但し、生存率は Mann-Whitney の U 検定

* : p < 0.05、 ** : p < 0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

世 代		親 : F _{1b} 児 : F _{2c}					
投与量 (mg/kg/日)		0	25	100	250	500	
児 動 物	新生児数		12.4	12.1	12.0	11.3	11.7
	死産児数		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	初期吸収胚	総 数	1	0	1	2	5
		平均数	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2
	後期吸収胚	総 数	26	31	30	34	21
		平均数	1.2	1.6	1.4	1.4	1.0
	着床損失数	総 数	27	31	32	36	26
		平均数	1.3	1.6	1.5	1.5	1.2
	着床数	総 数	287	274	282	307	271
		平均数	13.7	13.7	13.4	12.8	12.9
	黄体数	総 数	334	321	324	365	294
		平均数	15.9	16.1	15.4	15.2	14.0
	性 比 (%) (総雄数/総雌数)		92.6 (125/135)	89.8 (114/127)	83.2 (114/137)	116.8 (146/125)	111.2 (129/116)
	体 重 (g)		2.1	2.2	2.1	2.0	1.9*
	催 奇 形 性	検 査 数	総検査同腹児数	21	20	21	22
外表異常検査児数			260	242	250	271	245
内臓異常検査児数			127	121	124	137	122
骨格異常検査児数			133	121	127	134	123
奇 形 学 的 所 見		口蓋裂			1 (1)	1 (1)	
		水頭症			1 (1)		
		開 眼	1 (1)				
		全身浮腫	1 (1)				
		腎、泌尿器欠損		1 (1)			
		体腔閉鎖性奇形		1 (1)			
		足根骨彎曲	1 (1)				1 (1)
尾の奇形		3 (2)	1 (1)				
総奇形児数		3 (2)	2 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	

(注) () 内は、同腹数を示す。

Yates の補正付きカイ二乗検定又は Fisher の直接確立計算法。

* : p < 0.05

3世代を通して親動物の一般状態、死亡率、妊娠期間には、検体投与の影響と思われる変化はみられなかった。摂餌量は、一部を除いて3世代を通して、軽度から中度の減少がみられたが、有意差はなかった。F₀世代1回目交配 (F_{1a}児) の250 mg/kg/日投与群の雄と500 mg/kg/日投与群の雌で受精率の有意な低下がみられたが、同世代2回目交配及びその他の世代では、異常は認められないため、検体投与による影響とは思われなかった。

親動物の平均体重は、3世代を通して100、250及び500 mg/kg/日投与群雌雄において一貫して対照群より低く用量相関性がみられた。3世代とも、250及び500 mg/kg/日投与群雌雄全般において、また、100 mg/kg/日投与群の一部において有意差がみられた (申請者註：

)。25 mg/kg/日投与群雌の平均体重は3世代を通して対照群と同等であったが、雄においては、F₀とF₂世代において対照群よりやや低かった (F₂世代の体重は、性成熟時には対照群と同等になった)。

新生児数は、F_{1b}の500mg/kg/日投与群で有意な減少が認められた。F_{3b}の100 mg/kg/日投与群で対照群に比較して有意な増加が認められたが、これはF₁及びF₂世代に比較してF₃世代対照群の新生児数が低かったことに起因するもので、検体投与による影響とは考えなかった。死産児数、外表には検体投与によると思われる影響はみられなかった。

哺育中の生存率では、250 mg/kg/日投与群のF_{2a} (1、4日目) と、F_{3a} (4日目)、500 mg/kg/日投与群のF_{2a} (1、4日目)、F_{2b} (7日目) とF_{3a} (1、4日目) に有意な減少が認められた。

哺育児体重では、100、250及び500 mg/kg/日投与群で哺育期間中、全ての同腹児で用量相関的な減少がみられた。250及び500 mg/kg/日投与群では、全ての同腹児 (F_{1a}、F_{1b}、F_{2a}、F_{2b}、F_{3a}及びF_{3b}) で有意な減少が、100 mg/kg/日投与群でもいくつかの例外は認められたものの、全般的には有意な減少がみられた。25 mg/kg/日投与群においてはF_{1a} (1日目)、F_{1b} (7、14、21日目) 並びに、F_{2b} (1、4、14日目) において有意な減少がみられた。F_{2c}胎児においては、500 mg/kg/日投与群のみで有意な減少がみられた。

F_{2c}胎児の帝王切開時の所見では、全検体投与群で、雌雄の妊性、死亡胎児数、母動物当りの初期・後期吸収胚数、着床後の胚損失数、胎児の性比に、検体投与によると思われる有意な差はみられなかった。しかし、250、500mg/kg/日投与群において、新生児数、着床数に極めて軽度な減少が認められた (有意差なし)。

また、500 mg/kg/日投与群においては、有意差はなかったものの黄体数にも減少が認められた。F_{2c}胎児の奇形児数、奇形児のみられた腹数には生物学的、統計学的な有意差はみられなかった。

また、6同腹児群 (F_{1a}、F_{1b}、F_{2a}、F_{2b}、F_{3a}、F_{3b}) の各々において離乳後に検査した児動物にも、試験途中で死亡した親動物にも肉眼的、病理組織学的検査において、検体投与によると思われる影響は観察されなかった (観察された内容は全て生物学的な変化か自然発生による)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

申請者註

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

ラットを用いた繁殖毒性試験（一世代）

（資料No. R-2）

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1982年

検体の純度： 原体 （純度 ）

試験動物： Charles River COBS CD系ラット、1群雄15匹、雌30匹、試験開始時36日齢

投与期間： 159日間（1981年5月14日～1981年10月23日）

投与方法： 検体を0、6、12.5及び25 mg/kg/日の用量（各々Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ及びⅣ群）で飼料中に混入し102日間、随時摂食させた。

飼料調製は、最初の2週間は、同系、同齢の他のラットから得られた摂餌量に基づき、3週目は1週目の、4週目は2週目の摂餌量に基づいて算定した。試験期間中は、この方式を継続した。更に9週目までは成長期に相当するため、上述の方法で算定した数値に、雄で20%、雌で10%の補正値を加算した。

交配期間中は、雌用に調製した飼料を雌雄に与え、哺育期間中の雌には、交配終了時の体重に基づいて調製した飼料を与えた。

方法及び試験項目：概要を下記の表にまとめた。

一般状態及び死亡率；親動物、児動物ともに1日2回観察を行った。親動物についてはさらに週1回詳細な観察を行った。

体重；親動物は個体別に毎週1回測定した。児動物は哺育1、4、7及び14日目に同腹毎に測定し、21日目は個体別に測定した。

摂餌量；親動物について毎週1回測定した。交配期間中は測定しなかった。

交配の確認；検体投与開始約100日後雌2匹に雄1匹を15日間同居させた。雌について毎日観察を行い、膈垢内に精子または膈栓形成が確認された日を妊娠0日とした。出産は自然分娩とした。繁殖性に関する指標；雌雄の妊性に関する指標を以下のように算出した。

$$\text{雄の受精率} = \frac{\text{妊娠させた雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}} \times 100$$

$$\text{雌の受精率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

また妊娠期間、着床数、新生児数、死産児数、性比についても検査した。

肉眼的病理検査；哺育児が離乳した翌日、雌親及び哺育児を屠殺して剖検した。

また、雄動物については出産した雌親動物の屠殺が終了した後に屠殺して剖検を実施した。また、妊娠の観察されなかった雌についても剖検を実施し、妊娠の有無を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

世代	期間 (日)	作業手順	試験項目
F ₀	生育 (102日)	36日齢に、所定量の検体を含む飼料投与を開始。	<p>体重を試験終了まで毎週測定。 摂餌量を試験終了まで交配期間を除いて毎週測定。 一般状態、死亡を1日2回試験終了まで観察。</p> <p>交配状況を毎日観察。</p> <p>出産状況の観察。 着床数、新生児数、死産児数、外表異常、性別を検査。</p> <p>哺育1、4、7、14日目に同腹毎に体重測定。 21日目には個体別に体重測定。 また同じく哺育1、4、7、14、21日目に生存率を検査。 一般状態を毎日2回観察。</p> <p>親動物及び児動物について肉眼的病理検査を実施。</p>
	交配 (15日)	138日齢で雌雄2:1で交配。 交尾はマー法で確認。 (確認日:妊娠0日)。	
	妊娠 (22日)		
	出産		
F ₁	哺育 (21日)	哺育4日目に、各同腹児数を原則として雌雄各5匹に調整。	
	離乳	離乳後、親動物、児動物を屠殺	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

a) 親動物

世 代		親：F ₀					
投与量 (mg/kg/日)		0	6	12.5	25		
動物数	雄	15	15	15	15		
	雌	30	30	30	30		
親 動 物	一般状態		対照群、投与群ともに歯の不整、軟便、眼または鼻周辺に乾燥した赤色の汚れ、脱毛（主に四肢）及び乾燥した塊状の背部被毛が観察された。				
	死亡率 (%)	雄	0	0	0	0	
		雌	0	0	0	0	
	平均体重 (g)	雄	初	129	133	129	131
			終	546	565	560	563
		雌	初	113	114	110	110
			終	316	314	321	309
	摂餌量 (g/kg/日)	雄	64.3	65.0	66.2	65.9	
		雌	88.0	87.5	91.3	89.3	
	肉眼的病理検査		下顎リンパ節と唾液腺の水腫 (雌1例)	緑色乳状物を含む皮下膿瘍 (雄1例)	影響なし	左腋窩部皮下に限局性腫脹 (雌1例)	
受精率 (%)	雄	80.0	80.0	80.0	80.0		
	雌	63.3	70.0	76.7	70.0		
妊娠期間 (日)		22.1	22.1	22.0	22.1		

b) 児動物

世 代		児 : F ₁				
投与量 (mg/kg/日)		0	6	12.5	25	
児 動 物	着床数	13	13	13	14	
	新生児数	12	12	12	13	
	死産児数	0.1	0.1	0.0	0.0	
	外表異常	哺育21日目に対照群と全投与群の数例に閉眼、半閉眼、薄い透明膜に覆われた眼がみられた。				
	性 比 (%) (*哺育4日目の 総雄数/総雌数)	102.7 (116/113)	111.3 (128/115)	120.6 (152/126)	90.6 (126/139)	
	平均体重 (g)	1日目	7.4	7.5	7.3	7.3
		4日目*	11.3	11.4	10.9	10.7
		7日目	17.3	17.6	16.9	16.2
		14日目	30.6	30.9	30.3	28.9
		21日目 (離乳時)	雄 43.0 雌 41.8	43.8 42.9	43.2 42.6	42.5 41.6
	生存率 (%)	0日-1日*	100	98.4 ¹	98.9	99.3
		1日-4日*	99.6	99.6	100	99.6
		4日-7日	100	100	100	100
		14日-21日 (離乳時)	99.5	99.5	99.6	99.5
肉眼的病理検査	影響なし	影響なし	水腎症 雄-1例 雌-1例	影響なし		

Mann-WhitneyのU検定、+ : p < 0.05

* : 同腹児数を10匹に減ずる前の性比、体重及び生存率

全検体投与群において親動物の一般状態、死亡率、体重変化、摂餌量、妊性率、妊娠期間、肉眼的病理検査、着床数、新生児数、死産児数並びに哺育児の外表、哺育期間における生存率、肉眼的病理検査には、検体投与によると思われる影響は認められなかった。F₁の6 mg/kg/日投与群で認められた哺育1日における生存率低下は、用量相関性がなく、同群の残りの哺育児には哺育期間中の死亡がなかったことから、検体投与による毒性影響ではないと考えられた。

ただし、25 mg/kg/日投与群で、哺育4、7及び14日目にごく僅かな体重増加抑制（統計学的有意差なし）がみられた。

申請者註

(6) -2 催奇形性

発育期鶏胚における催奇形性試験

(資料No. T-1)

試験機関：

報告書発表年：1962年

投稿誌：Annals New York Academy of Sciences
(P334～343)

検体の純度： 原体（純度 ）

試験動物： 鶏卵（ホワイトレグホン受精卵）、1群20卵以上

試験期間： 21日間

方 法： DMSOを溶媒（一部の検体にはエタノールを使用）として、各検体を受精卵の卵黄又は気室内に0.05 mL/卵注入し、その卵を、温度38℃、湿度60%に保たれた孵卵器内で、孵化するまで（21日）保管した。

試験項目： 死亡胚や、孵化したひなの骨格異常について肉眼的に検査した。肉眼的に奇形がみられたものについては、アリザリンレッド染色を施し骨格異常を調べた。

なお、検体投与群の他に、溶媒のみを同用量注射した群と無注射対照群とを設けた。

結 果： 検体の気泡注射した後の胚死亡率を下表に示す。

<死亡率> (%) (気胞内注射21日後)

検 体	投与量：ppm (mg/kg) *卵内濃度			
	18～20	10～12	6	3
キャプタン	93	63	45	28
	74	36	33	24
	80	75	55	30
	85	38	36	20
	100	66	—	—
	27	10	15	—
	24	5	—	—
	38	30	7	—
	26	5	—	—
	12	—	—	—
溶媒のみ注射及び未注射	<25			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検体の黄卵又は気泡内注射した後の奇形数を合わせてから奇形発生率を求め、下表に示す。

<奇形発生数及び発生率> (黄卵及び気泡内注射21日後の合計)

検 体	供試 卵数	部位別奇形総発生数				奇 形 発生率 (%)
		頭 部	翼肢部	足肢部	下体部	
キャプタン	1,292	26	31	19	25	7.81
	830	20	9	16	23	8.19
	270	5	7	1	5	6.67
	155	—	—	—	2	1.29
	115	2	4	2	10	15.65
	330	4	1	1	3	2.72
	305	5	—	5	2	3.93
	1,025	22	—	10	17	4.78
	290	1	—	5	3	3.10
	25	—	—	—	—	0.00
溶媒のみ注射及び未注射						<2.0

卵の気泡内注射21日後の死亡率は、キャプタン、
 の18~20 ppm投与で、著しく高く74
 ~100%であった。また、6 ppm投与でもキャプタン、
 投与では、対照群と比べて有意に高い死亡率が示された。
 一方、卵の黄卵又は気泡内注射した場合の肉眼的検査による奇形発生率は、
 を除く全検体投与群で対照群より高い値を示した。特に、キャプタン、
 で高い奇形発生率を示した。

発生部位別にみると、頭部では、キャプタン、
 、翼肢部では、キャプタン、足肢部では、キャプタン、
 、下体部では、キャプタン、
 投与群で奇形発生数が高かった。

結 論： 以上の結果から、キャプタン、
 は、鶏胚児に対し
 て催奇形性を有する可能性が示唆されたが、本試験は、特殊な暴露方法によるもので
 あり、本試験の結果のみからは、環境におけるヒト、その他動物種に対するこれら検
 体の影響を推定することはできない。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. T-2)

試験機関：

報告書作成年：1967年

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： New Zealand White種妊娠ウサギ、1群12匹

試験期間： 妊娠期間13日間

方 法： 検体をゼラチンカプセルに封入し、20、40、80 mg/kg/日の投与量で妊娠6～18日目までの13日間経口投与した。また陽性及び陰性対照群を設け、前者には100mg/kg/日の用量でサリドマイドを、後者には空のカプセルのみを同様に投与した。なお、妊娠ウサギは人工受精により得、その日を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、12、18及び30日目に体重を測定した。すべての親動物を対象として妊娠30日目に帝王切開を行い、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数を調べた。

生存胎児； 外表異常の観察を行い、体重を測定した。また、親動物毎に生存胎児をインキュベーターに入れ24時間後生存率を算出した。

さらに剖検により内臓異常を検査した後、骨格標本を作製し、約1/2の標本について骨格異常の有無を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

投与群 (mg/kg/日)		対 照	20	40	80	サトマイト [®] (陽性対照) 100	
1群当り動物数		12	12	12	11	13	
親動物	一般状態	異常なし				1例に血液状の排出物	
	死亡数 (%)	2 (16.7)	1 (8.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (15.4)	
	体重変化 (kg)	検体投与期間 (6日~18日)	0.10	0.12	0.13	0.17	0.16
		検体投与終了後 (18日~30日)	0.18	0.16	0.16	-0.21	0.02
	妊娠数 (%)	5 (41.7)	8 (66.7)	4 (33.3)	5 (45.5)	7 (53.8)	
	着床所見	検査親動物数	12	12			13
		黄体数 (同腹数)	66 (9)	91 (10)	56 (10)	68 (11)	90 (9)
		着床数 (%)	28 (42.4)	41 (45.1)	21 (37.5)	21 (30.9)	51 (56.7)
		生存胎児数 (%)	27 (100)	28 (96.6)	20 (95.2)	12 (100)	36 (92.3)
		吸収胚数 (%)	1 (3.6)	12 (29.2)	0 (0.0)	9 (42.9)	12 (23.5)
児動物	体 重 (g)	44.4	48.6	42.0	53.7	45.3	
	外表異常	異常なし					
	骨格異常	異常なし				1例に胸骨癒合有り	
	内臓異常	異常なし				軽度の異常有り	
	24時間後生存率 (%)	100	96.4	100	100	100	

<親動物>

検体の40 mg/kg/日投与群を除いて、吸収胚数の増加が認められたが、用量依存性はみられなかった。また、80 mg/kg/日投与群において、検体投与終了後に体重減少がみられたが、検体投与に起因する影響とは思われなかった。

<児動物>

陽性対照群で軽度の内臓異常と骨格異常が一部にみられたが、検体投与群では異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与した時の親動物における最大無作用量は、80 mg/kg/日以上と判断される。また、同投与量（本試験における最大投与量）では胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

サルにおける催奇形性試験

(資料No. T-3)

試験機関：

報告書作成年：1968年

検体の純度： キャプタン原体（ ）－純度

原体（ ）－純度

サリドマイド（ ）－純度

試験動物： 妊娠アカゲザル (Macaca Mulatta体重3.4~9.6 kg) 1群雌4~7匹

試験期間： キャプタン、 、サリドマイド 第1試験－妊娠期間11日間

サリドマイド 第2試験－妊娠期間3日間

方法： サリドマイド及びキャプタンは0.9%ゼラチン溶液に、 は50%の蜂蜜溶液にそれぞれ懸濁した。全ての懸濁液は、調製後挿管法により朝餌を与える前に投与した。なお、受胎が起こった場合、月経周期の12日又は交配期の第2日を排卵日と考え、妊娠0日とした。

各検体の投与量、投与期間及び投与動物数は以下の通り。

検 体	投与用量 (mg/kg/日)	投与期間 (妊娠日令)	投与動物数 (妊娠雌数)
サリドマイド-I サリドマイド-II	5.0	22~32	6
	10.0	22~32	4
	10.0	25、26、27	7
キャプタン	6.25	22~32	7
	12.5	22~32	7
	25.0	22~32	7
	2.0	22~32	7
	4.0	22~32	7
	8.0	22~32	7

試験項目：

親動物； 生死を観察し、体重を妊娠第3週目から試験終了まで毎週測定した。また、検体投与開始前、投与中、出産前後に血液学的検査を実施した。

妊娠84日前後に帝王切開を実施し、胎児数、胎児吸収数を検査した。

生存胎児； 性別を観察し、体重、体長を測定し、X線検査、外表検査を行った。また、内臓異常の有無を検査し、骨格標本作製し、骨格異常を検査した。肝、腎、心、副腎、脾、肺、胎盤について重量を測定した。

結 果 :

検 体	サリドマイド			キャプタン						
	I		II	6.25	12.5	25.0	2.0	4.0	8.0	
投与群 (mg/kg/日)	5.0	10.0	10.0							
1群当り動物数	6	*2 4	7	7	7	7	7	7	7	
親動物	*1 死亡率 (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	
	体重変化 (kg)	-	-0.3	0.18	0.43	0.17	0.35	0.20	0.44	0.55
	血液学的検査	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	
	流産及び 胎児吸収胚数	6	*2 2	2	0	0	3	2	0	1
児動物	体 重	-	46.5	54.6	65.7	61.2	61	75	61.9	67
	臓器重量及び 体重比	-	臓器重量 減少	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
	体長 (cm) [crown-rump]	-	8.1	9.2	9.7	9.7	8.8	9.9	9.7	9.6
	性 比 (雄:雌)	-	*2 雄1	3:2	4:3	5:2	2:2	3:2	4:3	4:2
	外表、内臓、骨 格奇形及び奇形 のみられた児数	異常なし	無皮症・・・1 耳の奇形・・・1 小下顎症・・・1 (小口症と無 舌症を伴う) 腎臓の奇形 ・・・1 顔面不完全 閉鎖 ……1 心臓の脱出 ・・・1	肢の奇形・・・5 尾の奇形・・・3 小下顎症・・・1 (小舌症を伴 う) 耳の奇形・・・1 肋骨癒着・・・1 大腿骨彎曲 ・・・1	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
	正常胎児数	-	0	0	7	7	4	5	7	6
	総奇形胎児数	-	*2 2	5	0	0	0	0	0	0

*1 : 最終屠殺を実施した動物についての平均値

*2 : 生データに不整合有

<親動物>

各検体投与群において、最終体重の減少が何例かに認められたが、そのほとんどは、流産、又は胎児吸収前か、胎児の死亡に伴ってみられた。また、大部分の群で、検体投与前半に体重減少が認められたが、これは、検体投与中は、毎日、給餌の前に動物に触れたことによると考えられる。

キャプタン投与群では高用量の25.0 mg/kg/日のみに流産及び吸収胚が認められた。血液学的検査においては特に異常はみられなかった。

<児動物>

妊娠22日から32日にかけてのサリドマイド5.0または10.0 mg/kg/日投与は、高頻度の胎児死亡を誘発した。また、10.0 mg/kg/日投与には、催奇形性が認められた。さらに妊娠25、26、27日に投与された用量10.0 mg/kg/日のサリドマイドは、低頻度の胎児死亡を誘発するとともに催奇形性も認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

キャプタン投与では、いずれの用量群でも催奇形性は認められなかったが、25.0 mg/kg/日投与群で、胎児死亡がみられた。

投与においても催奇形性は認められなかったが、2.0及び8.0 mg/kg/日投与群において、わずかであるが胎児死亡がみられた。しかし、4.0 mg/kg/日投与は胎児死亡を誘発しなかった。

以上の結果から、キャプタン原体を妊娠サルに投与した時の親動物及び児動物における最大無作用量はともに12.5 mg/kg/日と判断される。また、25.0 mg/kg/日投与量（本試験におけるキャプタン原体の最高投与量）では、胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

（申請者註：

）

ハムスターにおける催奇形性試験

(資料No. T-4)

試験機関：

報告書発表年：1970年

投稿誌：Toxicology and Applied Pharmacology

Vol.16, Page 24-34

本試験は、ハムスターを用いて数種のフタルイミド誘導体の催奇形性について検査したものである。以下に、キャプタンについて記載する。

検体の純度： 原体（純度 ）

試験動物： Golden Syrian系妊娠ハムスター、1群2～99匹

試験期間： 妊娠期間5日間（単回投与では1日）

方 法： 検体をカルボキシメチルセルロース（CMC）に懸濁し、200、300、400、500、600、750、1,000 mg/kg/日の投与レベルで妊娠7日目又は8日目に1回、又は100、200、300及び500 mg/kg/日の投与レベルで、妊娠6～10日目の5日間毎日、1 mL/100g（体重）の用量で経口投与した。対照群には、CMCのみを妊娠7日又は8日に1回経口投与した。なお、交配後1日目を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物； 生死を観察し、妊娠15日目に帝王切開し、着床数、吸収胚数、胎児数を検査した。

生存胎児； 体重及び外表異常を観察した。さらに肉眼的異常を示した胎児については、骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：

a) 検体単回投与（妊娠7又は8日目）

投与群 (mg/kg/日)		対 照 CMC 10mL/kg	0	200	300	400	500	600	750	1,000
1群当り動物数		99	43	3	9	8	10	8	9	9
死亡率 (%)		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	37.5	22.2	33.3
親動物 一腹当り平均	着床数	11.2	13.7	13.3	12.8	11.6	12.2	12.8	10.9	10.7
	胎児数	10.9	10.7	12.0	12.3	10.9	10.9	10.4	10.4	5.8
	*死亡胎児率 (%)	2.6	4.1	12.5	4.3	6.5	11.5	18.8	14.4	56.2
児動物	体 重 (g)	2.3	2.3	2.1	2.3	2.3	2.2	1.9	2.2	1.6
	奇形胎児率 (%)	0.4	0.4	0.0	8.1	0.0	4.6	7.7	13.7	22.9

*：死亡胎児数/総着床数×100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

b) 検体5回投与（妊娠6～10日目まで）

投与群 (mg/kg/日)		100 × 5	200 × 5	300 × 5	500 × 5
1群当り動物数		2	4	8	5
死亡率 (%)		0.0	0.0	25	20
親動物 一腹着床 当り所見 平均	着床数	12.5	11.0	9.0	12.3
	胎児数	12.5	10.0	6.7	6.8
	*死亡胎児率 (%)	0.0	9.1	25.9	46.9
児動物	体重 (g)	2.0	2.0	2.0	1.9
	奇形胎児率 (%)	0.0	0.0	0.0	3.7

* : 死亡胎児数/総着床数×100

検体の単回投与では600 mg/kg/日以上 of 投与群で、また5回投与では300 mg/kg/日以上 of 投与群で親動物の高い死亡率が観察された。

また、単回投与では200及び500 mg/kg/日以上 of 投与群で、反復投与では、300 mg/kg/日以上 of 投与群で高い胎児死亡率が認められた。

胎児奇形率は、単回投与では、200、400 mg/kg/日投与群を除いて高く、反復投与では500 mg/kg/日投与群のみに奇形胎児がみられた。

申請者註

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

ハムスターにおける催奇形性試験

(資料No. T-5)

試験機関：

報告書作成年：1979年（1983年に修正）

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： Golden Syrian系妊娠ハムスター（約3ヶ月齢）、1群30匹

試験期間： 妊娠期間6日間

（交配から最終的な帝王切開期間は1978年6月25日から1978年7月16日まで）

方 法： 検体をカルボキシメチルセルロースナトリウム塩に懸濁させ、0、50、200及び400 mg/kg/日の投与レベルで、妊娠後5～10日目までの6日間、1日1回経口投与した。対照群には、カルボキシメチルセルロースナトリウム塩のみを同様に投与した。なお、膣スメア法で精子が確認された日を妊娠0日とした。

試験項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、5、8、11及び14日目に体重を測定した。また、妊娠14日目に帝王切開を行い、黄体数、着床数、初期及び後期の吸収胚数並びに生存及び死亡胎児数を検査した。

生存胎児； 性別、体重及び外表異常の観察を行った。約1/3の胎児については内臓異常の有無を検査し、残り2/3の胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結 果：

投与群 (mg/kg/日)		対 照	50	200	400	
1群当り動物数		30	30	30	30	
母動物	一般状態	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	
	死亡率 (%)	0	0	3.3	13.3	
	体重変化 (g)	薬剤投与期間 (5~11日目)	20	20	7	-15
		薬剤投与終了後 (11~14日目)	14	14	18	21
	妊娠数 (%)		28 (93.3)	26 (86.7)	25 (83.3)	24 (80.0)
	着床所見平均	黄体数	13.6	12.7	13.0	13.1
		着床数	13.1	11.8	12.2	12.0
		生存胎児数 (%)	12.2 (100)	11.1 (100)	11.2 (100)	8.8** (100)
		吸収胚 (%)	0.9 (7.1)	0.9 (6.5)	1.1 (9.2)	3.2** (26.8)
	体 重 (g)		1.53	1.56	1.45	1.23**
性 比 (雄:雌)		181:161	136:152	151:128	127:83**	
外表、内臓、骨格異常		眼の異常... 1 癒合肋骨... 1 脳脱出 ... 1 肋骨変形を伴う側彎症... 1	癒合肋骨... 4 尾の変形... 1 足根骨彎曲.. 1 全身浮腫... 1	癒合肋骨... 5 肋骨限局性肥大... 1 顎の変形... 1 腎臓の欠如と糸状尿管. 1	後脚近辺の外突起... 1 肋骨変形... 5 肋骨限局性肥大... 1 複合異常... 2 口蓋裂..... 1 尾の変形... 3 全身浮腫... 2	
総奇形児数 (奇形児のみられた腹数)		4 (4)	6 (6)	8 (8)	13 (7)	

** : 対照群と比較して有意差あり (P < 0.01)

<親動物>

400 mg/kg/日投与群で検体投与期間中の体重の減少、吸収胚数の増加及び生存胎児数の減少が認められた。200 mg/kg/日投与群でも体重の増加抑制がみられた。

<児動物>

400 mg/kg/日投与群では体重の減少と性比の差異 (雌が多かった) がみられた。200 mg/kg/日投与群でも体重の軽度低下傾向がみられた。

400 mg/kg/日投与群では母動物に対する毒性に起因し、また体重の低下と関連すると考えられる胎児の骨化低下がみられた。

検体投与群には、肋骨の異常をもつ胎児が多くみられたが用量相関性 (1腹単位の比較において) はなく、また、全奇形児数に統計学的な有意差はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

以上の結果から、本剤を妊娠ハムスターに投与した時の母体における最大無作用量は、50 mg/kg/日であると判断される。また、200 mg/kg/日投与以下で胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. T-6)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1981年

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： New Zealand White種妊娠ウサギ（12～20週齢）、1群15匹（末期開腹群のみ）

試験期間： 妊娠期間23日間

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塩に懸濁し、6、12、25、60mg/kg/日の投与レベルで、妊娠後6～28日目までの23日間、1 mL/kgの液量を毎日、胃内挿管法によって投与した。交配した日を妊娠0日とみなした。

対照群には、カルボキシメチルセルロースナトリウム塩のみを同様に投与した。

試験項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 1、6、10、14、18、22、26及び29日目に体重を測定した。妊娠29日目に帝王切開を実施し、黄体数、子宮重量、着床数、生存胎児数、胚/胎児死亡数を検査した。

生存胎児； 外表異常、性別を観察し、体重、頂臀長を測定した。内臓異常を検査し、骨格標本作製し、骨格異常を検査した。

結 果：

投与群 (mg/kg/日)		0	6	12	25	60		
1群当り動物数		15	15	15	15	15		
親動物	一般状態	耳の発青 冷感	耳の発青 冷感	耳の発青 冷感	耳の発青 冷感 食欲不振	耳の発青 冷感 食欲不振 飲水量の減少 排糞量の減少		
	死亡数 (%)	2 (13.3)	1 (6.7)	2 (13.3)	*1 2 (13.3)	*1 1 (6.7)		
	*2 妊娠数 (%)	14 (93.3)	15 (100)	14 (93.3)	14 (93.3)	9 (60.0)		
	子宮重量 (g)	549	449	516	521	475		
	a) 体重 (g)	妊娠1日	A	3423	3288	3364	3473	3423
			B	3423	3241	3316	3561	3423
		妊娠6日	A	3520	3420	3497	3570	3558
			B	3520	3373	3440	3682	3558
		妊娠10日	A	3631	3530	3598	3628	3549
			B	3631	3486	3547	3753	3549
妊娠14日		A	3773	3621	3717	3750	3658	
		B	3773	3585	3654	3852	3658	
妊娠18日		A	3818	3763	3802	3821	3738	
		B	3818	3727	3746	3912	3738	
妊娠22日		A	3912	3824	3807	3926	3863	
		B	3912	3790	3781	4001	3863	
妊娠26日		A	3988	3915	3864	3966	3893	
		B	3988	3882	3840	4067	3893	
妊娠29日		A	4040	3953	3915	4034	3961	
		B	4040	3909	3886	4119	3961	
a) 体重増加量 (g)	妊娠6~10日	A	112.2	109.6	101.2	57.1	-8.7	
		B	112.2	113.1	107.3	71.6	-8.7	
	妊娠10~14日	A	142.1	91.1	118.8	122.1	108.1	
		B	142.1	98.8	106.8	98.4	108.1	
	妊娠14~18日	A	45.0	141.8	85.4	71.2	80.6	
		B	45.0	141.9	92.8	60.0	80.6	
	妊娠18~22日	A	94.2	61.1	4.2	105.0	124.4	
		B	94.2	63.1	34.1	89.4	124.4	
	妊娠22~26日	A	75.4	91.8	57.0	40.0	30.0	
		B	75.4	91.5	59.5	65.6	30.0	
	妊娠26~29日	A	52.9	37.5	51.1	68.4	68.1	
		B	52.9	27.7	45.9	52.2	68.1	

a) Dunnettの多重比較検定で有意差なし (申請者実施)

*1. 挿管法ミスによる死亡動物を1匹含む

*2. 妊娠数には、試験途中で死亡及び屠殺した動物も含めた。よって妊娠率は以下の式に従って算出した。

$$\frac{\text{全妊娠動物 (途中死亡及び屠殺を含む)}}{\text{全交尾動物数 (1群当り15匹)}} \times 100$$

体重のA、Bは以下の通り。

A: 流産や全同腹児に死亡吸収が認められるものを含めて、妊娠の証拠が得られる全生存動物の平均値

B: 末期において生存児が認められる全生存動物の平均値

(続き)

投与群 (mg/kg/日)			0	6	12	25	60	
1群当り動物数			15	15	15	15	15	
親 動 物 所 見	黄体数	A	11.1	* ⁴ 9.2	10.9	* ⁵ 10.4	10.9	
		B	11.1	9.2	10.7	10.4	10.9	
	未着床数 (%)	A	0.8 (7.6)	* ⁴ 2 (21.7)	1.3 (11.6)	* ⁵ 1.1 (11.4)	0.6 (5.7)	
		B	0.8 (7.6)	2 (21.7)	1.0 (8.5)	1.1 (11.4)	0.6 (5.7)	
	着床数 (%)	A	10.3 (92.4)	++ ⁶ 6.7 (* ⁴)	9.6 (88.4)	8.8 (* ⁵)	10.3 (94.3)	
		B	10.3 (92.4)	++ ⁶ 7.2 (78.3)	9.7 (91.5)	9.3 (88.6)	10.3 (94.3)	
	生存胎児数 (%)	A	8.4 (84.2)	6.5 (89.8)	7.4 (76.9)	6.6 (70.5)	8.5 (84.0)	
		B	8.4 (84.2)	7 (96.7)	8.7 (90.9)	8.8 (94.1)	8.5 (84.0)	
	着床後の胚死亡数 (%)	A	1.8 (15.8)	0.2 (10.2)	2.2 (23.8)	2.3 (29.5)	1.8 (16.0)	
		B	1.8 (15.8)	0.2 (3.3)	1.0 (9.9)	0.6 (5.9)	1.8 (16.0)	
	流産胎児数 (%)	A	0.0 (0.0)	0.1 (7.1)	1.0 (7.7)	1.8 (25.0)	0.0 (0.0)	
		B	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	
	胚/胎仔死亡数 * ⁶ (%)	前期	A	0.7 (6.4)	0.1 (0.7)	0.3 (3.6)	0.2 (1.7)	1.0 (9.5)
			B	0.7 (6.4)	0.1 (0.8)	0.4 (4.3)	0.2 (2.2)	1.0 (9.5)
後期		A	1.2 (9.4)	0.1 (2.4)	0.9 (12.7)	0.3 (2.8)	0.8 (6.5)	
		B	1.2 (9.4)	0.1 (2.6)	0.6 (5.9)	0.3 (3.7)	0.8 (6.5)	
児 動 物	同腹児総重量 (g)		360.7	321.0	364.4	368.5	333.1	
	体重 (g)		43.3	48.0	41.7	43.3	39.9	
	頂臀長 (mm)		97.9	100.4	95.9	97.8	94.4	
	性比 (雌:雄)		50:51	43:48	53:43	41:38	36:32	
	* ⁷ 重度奇形	群当り総数		1 (1)	4 (5)	2	1	3
		%		1.4 (1.4)	6.1 (7.4)	2.4	2.2	3.8
	* ⁷ * ⁸ 軽度異常	肉眼的剖検	群当り総数	1 (1)	0 (0)	1	1	1
			%	0.8 (0.8)	0.0 (0.0)	1.0	1.1	1.0
		骨格検査	群当り総数	13 (13)	13 (13)	11	6	11
			%	13.6 (12.2)	15.6 (15.6)	12.0	8.4	16.5
* ⁹ 変異	肋骨	12本有する動物総数 (%)	60 (61.0)	48 (56.3)	63 (65.0)	40 (52.0)	27 (43.9)	
		13本有する動物総数 (%)	40 (39.0)	39 (43.5)	31 (35.0)	38 (48.0)	38 (56.1)	
	胸骨	正常動物総数 (%)	76 (76.9)	68 (74.5)	71 (74.2)	64 (84.4)	56 (86.5)	
		変異動物総数 (%)	24 (23.1)	19 (25.5)	23 (25.8)	14 (15.6)	9 (13.5)	

++ : p < 0.01で有意差あり

*3. 着床所見は、全て、全生存動物についてのものであり、途中死亡/屠殺動物は含まない。

着床所見のA、Bは次の通り。

A : 流産や全同腹児に死亡吸収が認められるものを含めて、妊娠の証拠が得られる全生存動物の平均値

B : 末期において生存児が認められる全生存動物の平均値

各群のA、Bにおける生存動物数、すなわち流産、死亡吸収が認められるものを含めて、妊娠の証拠が得られる全生存動物数と末期において生存児が認められる全生存動物数は以下の通り。

群	1	2	3	4	5
キャプタン投与量 (mg/kg/日)	0	6	12	25	60
A 流産・死亡吸収が認められるものを含めて妊娠の証拠が得られる全生存動物数	12	14	13	12	8
B 末期において生存児が認められる全生存動物数	12	13	11	9	8

- *4. 流産した1動物の黄体数が測定不可能であったことにより、A欄の黄体数、未着床数並びに未着床率はB欄の値を記入した。また、A欄の着床率は空欄とした。
- *5. 流産した3動物の黄体数が測定不可能であったことにより、A欄の黄体数、未着床数並びに未着床率はB欄の値を記入した。また、A欄の着床率は空欄とした。
- *6. 第1群の1動物（動物番号113）にみられた7匹の死産児と、第2群の1動物（動物番号214）にみられた1匹の死産児を含めた。
- *7. 重度奇形、軽度異常における括弧内の数値は、死産児を含めた場合の検査値である。
- *8. 重度奇形を示す胎児は、軽度異常の検査対象に含めなかった。
- *9. 死産児並びに重度奇形を示す胎児は変異の検査対象に含めなかった。

<親動物>

体重増加量は、12 mg/kg/日投与群では妊娠18日から、25 mg/kg/日以上では妊娠6～10日及び妊娠22日以降において対照群の値より低く、その差は用量相関的であった（有意差なし）。有意差は認められなかったが、60 mg/kg/日投与群において同腹児総重量及び平均胎児体重ともに低値を示した。この変化は、親の体重低下に関連するものと思われる、検体投与による二次的影響と考えられた。

妊娠率は、60 mg/kg/日投与群において対照群及びその他の検体投与群と比べ低かったが、予備試験の結果並びに本試験において未着床数の増加は認められないことより、偶発的なものと考えられた。

また、6 mg/kg/日投与群において着床数の低下が認められたが、用量相関性は認められず、偶発的なものと考えられた。

剖検時において、腎臓、肝臓、子宮、小腸等に時々認められた変化は、偶発的なものと考えられた。

<児動物>

同腹児数、着床後の胚死亡率、同腹児総重量、胎児体重、子宮重量における群間差は統計学的に有意ではなかった。

頂腎長に関しては、対照群と検体投与群との値に有意差がみられたが、総体的には統計学的な有意差はなかった。

ただし、60 mg/kg/日投与群における平均体重の低値は、親動物の体重増加量が低かったことに関係すると思われる、検体投与の二次的影響を表わすものと考えられた。

重度奇形と軽度異常においては死産児を含めた場合と含めない場合のいずれにおいてもその発生数や割合は検体投与と無関係であった。

また、骨格変異において過剰肋骨や胸骨の変異が認められた胎児の頻度に関する対照

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

群の値と検体投与群との値には、統計学的な有意差はなかった。

申請者註

ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. T-7)

試験機関：

報告書作成年：1987年

検体の純度： 原体（純度 ）

試験動物： HY/CRニュージーランド白色ウサギ雌（成熟未経産、Charles River Italia S.p.A.より入手、体重；3.0～3.2 kg）、雄（研究所内のストック；同系統、同入手先）、1群14～18匹

試験期間： 妊娠期間19日間

方 法： キャプタンは 0.05%酢酸を含む0.5%カルボキシルメチルセルロース（CMC）に懸濁して、10、40、160 mg/kgの用量を妊娠7～19日目まで強制経口投与した。溶媒対照群を設けた。妊娠ウサギは人工授精によって得、交配日を妊娠第0日とした。

試験項目：

臨床症状： 全ての動物の臨床症状を1日1回観察した。

体 重： 親動物の体重を妊娠0、3、7～19、22及び29日に体重を測定した。

飼料摂取量： 各々の妊娠雌の飼料の摂取量を1週間に2回測定した。

最終試験： 妊娠第29日目にペントバルビタールナトリウムを皮下注射して屠殺し、以下の項目を記録した。

- ・ 繁殖器官の肉眼的異常
- ・ 各々の子宮内の胎児数
- ・ 妊娠した子宮の重量
- ・ 生存及び死亡の胎児の分布及び吸収部位（早期または後期の分類を含む）の分布
- ・ 個々の胎盤重量
- ・ 個々の胎児の重量及び体長
- ・ 各々の胎児の外表的異常
- ・ 胎児を解剖して内臓検査を実施した。また、胎児の性別も調べた。各々の胎児はアリザリンレッドで染色し、骨格検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果： 結果を以下に示す。

投与群 (mg/kg/日)		対 照	10	40	160	
1群当りの動物数 (妊娠動物)		18 (16)	14 (14)	15 (14)	18 (16)	
一般状態		・白色鼻汁分泌	・流産 ・眼の紅斑	・白色鼻汁分泌 ・流産 ・眼の感染 ・左前肢の創傷 ・下痢	・糞の減少 ・ラ音 ・流産 ・血尿	
死亡率		0/16	1/14	2/14	4/16	
親 動 物	体重 ^{^)} (g)	第0日	3515	3526	3436	3514
		第3日	3576	3643	3494	3627
		第7日	3677	3730	3538	3664
		第8日	3686	3679	3531	3535
		第9日	3668	3677	3558	3409**
		第10日	3683	3665	3587	3382***
		第11日	3689	3683	3603	3415***
		第12日	3722	3694	3599	3427***
		第13日	3757	3721	3641	3487***
		第14日	3766	3742	3629	3524**
		第15日	3812	3768	3674	3525***
		第16日	3817	3781	3655	3523***
		第17日	3816	3776	3668	3495***
		第18日	3811	3800	3672	3513***
		第19日	3821	3818	3685	3540***
		第22日	3918	3901	3761*	3671**
		第25日	3980	3930	3830	3739**
第29日	4074	3982	3921	3827**		
体重 増加量 ^{^)} (g)	第0～7日	162	187	103	150	
	第7～19日	144	112	147	-124***	
	第19～29日	253	164*	236	287	
摂餌量 ^{^)} (g/匹/日)	第1～4日	193	215	210	216	
	第5～7日	238	228	210	229	
	第8～10日	210	203	196	35***	
	第11～14日	204	198	184	58***	
	第15～19日	223	212	186**	104***	
	第20～23日	202	199	199	212	
	第24～26日	168	143	183	216***	
第27～29日	179	133***	177	192		
子宮重量 (g)		591.6 (n=15)	596.3	503.0	542.1	
胎盤重量 (g)		5.7	5.7	5.7	5.4	

A) : Student's t-test、* : p < 0.05、** : p < 0.01、*** : c : p < 0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投与群 (mg/kg/日)		対 照	10	40	160	
親 動 物	着床所見	黄体数	11.4	11.2	10.8	11.5 [11.6]
		生存胎児数	9.8 (♂5.0, ♀4.8)	9.8 (♂4.4, ♀5.4)	8.3 (♂4.1, ♀4.3)	8.3 (♂4.0, ♀4.3) 9.1 [♂4.4, ♀4.7]
		吸収胚数	0.6 (早:0.4, 後:0.2)	0.6 (早:0.4, 後:0.2)	0.4 (早:0.3, 後:0.2)	2.1a (早:1.8, 後:0.3) 1.4 [早:1.0, 後:0.4]
		着床前損失 (%)	10.0	7.3b	21.0c	10.0 [11.0]
		着床後損失 (%)	5.8	6.9	5.7	19.6c [13.2c]
		検査した胎仔数	156	127	100	100
児 動 物	外表 検 査	平均体重 (g)	44.2± 4.1	44.5± 3.8	44.8± 3.9	42.9± 5.2
		平均体長 (mm)	96.1± 3.0	96.0± 3.9	96.8± 3.6	95.3± 4.0
		小形 (<30g) (%)	5 (3.2)	5 (3.9)	1 (1.0)	6 (6.0)
	内臓 異 常	胎盤の壊死 (%)	2 (1.3)	2 (1.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
		胃内ガス充満 (%)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
		腹膜出血 (%)	1 (1.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
		胆嚢出血 (%)	19 (12.2)	20 (15.7)	15 (15.0)	9 (9.0)
		胆嚢肥大 (%)	1 (0.6)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
		水腎 (%)	1 (0.6)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
		水尿管 (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)
	骨 格 異 常	膀胱拡張 (%)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
		頭骨の過剰縫合 (%)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
		頭頂骨間骨化の減少又は不完全 (%)	5 (3.2)	4 (3.1)	0 (0.0)	1 (0.0)
		頭頂骨の減少又は骨化の不完全 (%)	0 (0.0)	2 (1.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
頭頂骨間骨の欠損 (%)		0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.0)	0 (0.0)	
頭頂骨間上-後頭骨の縫合開裂 (%)		4 (2.6)	4 (3.1)	1 (1.0)	7 (7.0)	
舌骨骨化の減少又は不完全 (%)		14 (9.0)	26 (20.5) e	12 (12.0)	24 (24.0) e	
舌角の角化 (%)		2 (1.3)	2 (1.6)	0 (0.0)	4 (4.0)	
椎骨発生異常に関連する側彎症 (%)		0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	
第13肋骨 (%)		2 (1.3)	1 (0.8)	0 (0.0)	4 (4.0)	
第13肋骨 (両側) (%)	2 (1.3)	1 (0.8)	0 (0.0)	4 (4.0)		
第13腰椎肋骨 (両側) (%)	89 (57.1)	73 (57.5)	68 (68.0)	79 (79.0) f		
第13腰椎肋骨 (片側) (%)	24 (15.4)	13 (10.2)	14 (14.0)	10 (10.0)		

[] : 吸収胚を除いた場合

a : p < 0.05 (Mann-Whitney U-test) 、 b : p < 0.01 (Student's t-test) 、 c : p < 0.001 (Student's t-test) 、
e : p < 0.01 (Chi-square test) 、 f : p < 0.001 (Chi-square test)

投与群 (mg/kg/日)		対 照	10	40	160	
児 動 物 異 常	骨 格	尾の最小角形成 (%)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)
		1個以上の胸骨分節骨化減少又は不完全 (%)	71 (39.1)	38 (29.9)	20 (20.0) e	32 (32.0)
		胸骨の剣状突起の未骨化 (%)	2 (1.3)	2 (1.6)	0 (0.0)	4 (4.0)
		1個以上の胸骨分節匍匐枝 (%)	1 (0.6)	2 (1.6)	2 (2.0)	3 (3.0)
		2個以上の胸骨分節の癒合又は接合 (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (4.0)
		胸骨分節に隣接する骨の斑点 (%)	4 (2.6)	8 (6.3)	4 (4.0)	1 (1.0)
		遠位から第16尾骨への尾側椎骨の未骨化 (%)	0 (0.0) N=153	0 (0.0) N=123	1 (1.1) N=95	0 (0.0) N=95
		長骨骨端の骨化減少 (%)	26 (16.7)	23 (18.1)	12 (12.0)	17 (17.0)
		両手の骨化した遠位の指節-4個以下 (%)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	1 (1.0)
		第1又は第1及び2の両側の仙椎骨を伴う腸骨関節化 (%)	69 (44.2)	56 (44.1)	36 (36.0)	23 (23.0) f
		第1又は第1及び2の片側の仙椎骨を伴う腸骨関節化 (%)	10 (6.4)	6 (4.7)	5 (5.0)	1 (1.0) d

d : p < 0.05 (Chi-square test) 、 e : p < 0.01 (Chi-square test) 、 f : p < 0.001 (Chi-square test)

被験物質に関連した臨床所見は、160 mg/kg/日投与群における排泄便の減少であった。これは投与期間中の飼料摂取量減少に関連していると考えられた。また、体重についても160 mg/kg/日投与群では妊娠期間を通じて低かった。

最終検査では着床後の胚の損失が高用量群で有意に高かった。外表、内臓検査とも目立った奇形は認められなかった。

骨格検査においては全群に様々な変異が見られたが、被験物質投与に関連していると思われるものは肋骨の過剰（第13番めの腰椎）の比率の増加、腸骨の接合における第1から第2への仙椎骨移動、及び舌骨の骨化の減少であり、いずれも高用量群に認められた。

申請者註

結 論： 試験期間中、低用量群に1例、中間用量群に2例及び高用量群に4例の動物が死亡または切迫屠殺した。このうち、高用量群の2例以外はキャプタン投与に関連したものではなかった。キャプタンは親動物に対し、飼料摂取量の減少、体重減少の毒性影響を160 mg/kgの用量で与えた。40 mg/kgでもややこの毒性影響を与えている。従って、本試験におけるキャプタンの親動物への無影響量 (NOEL) は 10 mg/kgと結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

また、胎児に対する影響は、胎児の死亡増加が160 mg/kgで認められている。骨格の形態学的な様々の変化は対照群を含め様々な所見が得られたが、被験物質に関連していると思われる所見はいずれも160 mg/kgで明らかであった。従って、本試験において40 mg/kg以下の投与量では胎児に催奇形性を及ぼさないと結論される。

申請者註1

申請者註2

ラットにおける催奇形性試験

(資料No. T-8)

試験機関：

報告書作成年：1987年

検体の純度： 原体（純度 ）

試験動物： CD系（Sprague-Dawley系由来）未交配雌ラット、1群22匹、入荷時体重170~190g、11日間馴化後、同系統の雄動物と交配させた。

試験期間： 器官形成期の10日間（交尾後6~15日）投与

方 法： カルボキシメチルセルセルロース（CMC）を0.5%含む0.05%酢酸水溶液に検体を懸濁し、0、18、90及び450mg/kg/日の用量で妊娠6日目から15日目までの10日間毎日1回、ゾンデを用いて強制経口投与した。なお、投与液は毎回投与当日に調製し、投与液量は10mL/kgとした。

膣栓及び膣垢中の精子により交尾を確認し、この日を妊娠0日とした。

用量設定根拠；

試験項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察した。体重は妊娠0、3、6~15、17及び20日に測定し、摂餌量は妊娠期間中、1週間に2回測定した。

妊娠20日目に二酸化炭素の吸引により屠殺し、生殖器官の肉眼的検査、黄体数、子宮重量、胎盤重量、生存胎児数、早期吸収胚数及び後期吸収胚数を測定した。

生存胎児；性別及び体重を測定し、外表異常の有無を観察した。各同腹児群の胎児約半数について、胸腔及び腹腔を切開して内容物を検査した後、内臓を除去してエタノール中に固定し、アリザリン赤染色により骨格標本を作製して骨格異常の有無を検査した。残り（半数）の胎児はブアン液で固定して内臓検査に供した。

結 果： 親動物及び胎児の概要を表1に、胎児の観察結果を表2に示す。

親動物；全例が妊娠20日まで生存した。対照群と比較して、450mg/kg/日群の動物には脱毛及び毛繕い行動の欠如が観察され、異常が観察されない動物数が有意に減少した。又、同群動物の体重及び摂餌量は、投与期間中、有意に低下した。90mg/kg/日群でも交尾後7及び8日の体重と摂餌量が有意に低下した。

90mg/kg/日群において着床前損失数が有意に増加したが、450mg/kg/日群では損失数が対照群より少なかったことから、偶発的な結果と考えられた。

児動物；450mg/kg/日群で胎児の平均体重が低下し、又、3g未満の低体重胎児数が有意に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

胎児の外表検査及び内臓検査において、検体投与の影響と考えられる異常は認められなかった。骨格検査では、450mg/kg/日群において変異を有する胎児数が増加し、検体の影響と考えられたが、それらの変異は第14肋骨（腰椎）、半椎体の不完全癒合及び恥骨の骨化不全であり、いずれも催奇形性を示唆する重篤な異常とは考えられなかった。又、90mg/kg/日群で前側泉門矮小が、18mg/kg/日群で13肋骨の矮小、縮小又は痕跡が有意な増加を認めたが、用量相関性はなく偶発的な所見と考えられた。したがって、催奇形性を示唆する所見はいずれの投与群においても認められなかった。

以上の結果より、検体を妊娠ラットに投与したときの母動物における無毒性量は18mg/kg/日、胎児動物に対する無毒性量は90mg/kg/日であった。又、胎児動物の外表及び内臓検査で検体投与の影響と考えられる奇形は、最高投与量の450mg/kg/日でも認められなかったことから胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

申請者註1

申請者註2

表1. 親動物及び胎児の概要

投与群 (mg/kg/日)		0	18	90	450	
1群当たり動物数		22	22	22	22	
親動物	一般状態 ^d (所見動物数)	異常なし	21	22	19	13 ⁺⁺
		脱毛	1	0	2	6 ⁺
		外表の汚れ及び毛繕い行動欠如	0	0	1	3
	死亡数		0	0	0	0
	妊娠動物数		22	22	22	22
	体重 ¹⁾ (g)	妊娠0日	229.2	228.7	228.4	229.0
		妊娠6日	254.6	252.9	252.0	253.1
		妊娠7日	257.5	255.7	248.5 [*]	245.6 ^{**}
		妊娠8日	261.9	258.8	251.6 [*]	239.3 ^{***}
		妊娠9日	265.0	262.9	257.9	237.6 ^{***}
		妊娠10日	270.4	269.3	264.3	244.1 ^{***}
		妊娠11日	277.5	275.8	270.5	254.7 ^{***}
		妊娠12日	281.9	280.6	274.9	260.9 ^{***}
妊娠13日		286.2	284.9	280.2	267.8 ^{***}	
妊娠14日		292.8	290.7	286.0	270.0 ^{***}	
妊娠15日		299.3	299.8	292.5	276.1 ^{***}	
妊娠17日	320.0	320.5	317.3	305.1 ^{**}		
妊娠20日	372.0	373.3	364.7	359.7		
体重増加量 (g)	妊娠0~20日	142.8	144.6	136.3	130.7 [*]	
	妊娠6~20日	117.3	120.5	112.7	106.1 [*]	
子宮重量 (g)	妊娠20日	80.2	79.2	77.5	74.6	
子宮を除く体重 (g)	妊娠20日	291.7	294.1	287.2	285.1	
摂餌量 ¹⁾ (g/日) 注	妊娠1~6日					
	妊娠7~9日			82 ^{***}	53 ^{***}	
	妊娠10~13日				83 ^{***}	
	妊娠14~16日				83 ^{***}	
	妊娠17~20日				117 ^{**}	
	妊娠1~20日	(26.1)	(25.8)	(25.0)	(23.7)	
着床所見	検査動物数	22	22	22	22	
	黄体数	16.5	16.1	17.0	16.0	
	着床前損失数 ^a	4.6	4.2	10.5 ^{***}	3.7	
	着床後損失数 ^b	5.6	6.0	6.6	6.2	

F: Fisherの正確検定 +: p<0.05, ++: p<0.01

その他: Student-t検定 *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

a: 各腹について [(黄体数-着床数)÷黄体数] を求め、これをアークサイン変換した値の群平均

b: 各腹の [(着床数-生存胎児数)÷着床数] アークサイン変換値の群平均

1) 斜体の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

() の数値は実測平均値を示す。空欄は対照群との間に有意差がないことを示す。

注: 妊娠1~20日の合計摂餌量及び性比は申請者の計算値

表1. 親動物及び胎児の概要 (続き)

投与群 (mg/kg/日)			0	18	90	450	
1群当たり動物数			22	22	22	22	
親動物	着床所見	生存胎児数	雄	7.5	7.5	7.0	7.6
			雌	7.6	7.2	7.1	7.1
			合計	15.1	14.7	14.1	14.7
	吸収胚数	早期	0.7	0.8	1.0	0.7	
		後期	0.05	0.0	0.0	0.05	
		合計	0.8	0.8	1.0	0.8	
胎児動物	検査胎児数		333	323	311	323	
	腹数		22	22	22	22	
	胎児体重 (平均、g)		3.49	3.52	3.64*	3.27**	
	低体重胎児 (3g未満)	胎児数	24 (7.21)	20 (6.19)	5 (1.61) ##	53 (16.41) ###	
		腹数 ^c	12 [6.86]	15 [6.08]	5** [1.56]	19** [16.74] +	
	頭臀長 (mm)		36.1	36.3	36.7	35.5	
	性比 雄/雌 ^注		0.99	1.04	0.99	1.07	
	胎盤重量 (g)		0.45	0.46	0.49*	0.43	
	大きい胎盤 (>0.7g) を伴った胎児	胎児数	0	0	6 (1.93) *	0	
腹数		0	0	3 [3.57]	0		

F: Fisherの正確検定 +: p<0.05, ++: p<0.01、カイ二乗検定 ##: p<0.01, ###: p<0.001

その他: Student-t検定 *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

c: 該当する胎児1例以上を有する親動物数

() 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%), [] 内の数値は各腹における発現頻度 (%) の平均

表2. 胎児の観察結果

投与群 (mg/kg/日)		0	18	90	450	
外 表 異 常	検査胎児数	333	323	311	323	
	腹数	22	22	22	22	
	無眼瞼	胎児数	1 (0.30)	0	0	0
		腹数 ^c	1 [0.32]	0	0	0
	顔面下部の奇形	胎児数	1 (0.30)	0	0	0
		腹数	1 [0.38]	0	0	0
	反応亢進性皮膚	胎児数	0	0	0	2 (0.62)
		腹数	0	0	0	1 [0.76]
	内 臓 異 常	検査胎児数 (骨格検査対象胎児)	169	163	157	164
		腹数	22	22	22	22
尿管 水腫		胎児数	5 (2.96)	0	1 (0.64)	0
		腹数	2 [2.67]	0	1 [0.57]	0
尿管 拡張		胎児数	5 (2.96)	9 (5.52)	2 (1.27)	4 (2.44)
		腹数	3 [2.84]	3 [5.60]	2 [1.22]	2 [2.84]
腹腔内 出血		胎児数	1 (0.59)	0	2 (1.27)	0
		腹数	1 [0.65]	0	2 [1.33]	0
検査胎児数 (内臓検査対象胎児)		164	160	154	159	
腹数		22	22	22	22	
腎乳頭 短小		胎児数	5 (3.05)	8 (5.00)	6 (3.90)	5 (3.14)
		腹数	5 [3.08]	8 [4.61]	6 [4.64]	4 [3.11]
尿管 水腫		胎児数	2 (1.22)	0	0	1 (0.63)
		腹数	1 [1.30]	0	0	1 [0.76]
尿管 拡張		胎児数	11 (6.71)	14 (8.75)	8 (5.19)	12 (7.55)
	腹数	8 [6.61]	10 [8.54]	7 [6.24]	10 [7.86]	
肝臓 出血	胎児数	3 (1.83)	3 (1.88)	6 (3.90)	5 (3.14)	
	腹数	2 [2.06]	3 [1.80]	5 [3.65]	4 [3.07]	
腹腔内 出血	胎児数	5 (3.05)	4 (2.50)	5 (3.25)	0	
	腹数	4 [3.73]	3 [2.52]	4 [3.02]	0	
胎 児 動 物	検査胎児数	169	163	157	164	
	腹数	22	22	22	22	
	前側泉門 膨大	胎児数	6 (3.55)	2 (1.23)	3 (1.91)	2 (1.22)
		腹数	5 [3.65]	1 [1.01]	3 [1.91]	2 [1.22]
	前側泉門 矮小	胎児数	0	4 (2.45)	6 (3.82) ⁺	1 (0.61)
		腹数	0	3 [2.62]	4 [5.30]	1 [0.57]
	上後頭骨 骨化不全	胎児数	29 (17.16)	27 (16.56)	27 (17.20)	21 (12.80)
		腹数	13 [17.18]	13 [16.95]	14 [16.96]	12 [13.19]
	頭頂間骨の骨化 不全又は未骨化	胎児数	42 (24.85)	48 (29.45)	48 (30.57)	39 (23.78)
		腹数	16 [25.41]	14 [28.82]	17 [29.53]	13 [23.30]
	頭頂骨 骨化不全	胎児数	8 (4.73)	8 (4.91)	7 (4.46)	3 (1.83)
		腹数	6 [4.87]	5 [4.77]	6 [5.13]	3 [1.98]
	前面の骨 骨化不全	胎児数	0	0	1 (0.64)	1 (0.61)
		腹数	0	0	1 [0.65]	1 [0.57]
	舌骨 骨化不全	胎児数	10 (5.92)	6 (3.68)	4 (2.55)	5 (3.05)
腹数		6 [6.02]	5 [3.43]	4 [2.29]	4 [2.94]	
頭蓋内部に多数の奇 形、無発育	胎児数	1 (0.59)	0	0	0	
	腹数	1 [0.65]	0	0	0	
骨 格 異 常	検査胎児数	169	163	157	164	
	腹数	22	22	22	22	
	前側泉門 膨大	胎児数	6 (3.55)	2 (1.23)	3 (1.91)	2 (1.22)
		腹数	5 [3.65]	1 [1.01]	3 [1.91]	2 [1.22]
	前側泉門 矮小	胎児数	0	4 (2.45)	6 (3.82) ⁺	1 (0.61)
		腹数	0	3 [2.62]	4 [5.30]	1 [0.57]
	上後頭骨 骨化不全	胎児数	29 (17.16)	27 (16.56)	27 (17.20)	21 (12.80)
		腹数	13 [17.18]	13 [16.95]	14 [16.96]	12 [13.19]
	頭頂間骨の骨化 不全又は未骨化	胎児数	42 (24.85)	48 (29.45)	48 (30.57)	39 (23.78)
		腹数	16 [25.41]	14 [28.82]	17 [29.53]	13 [23.30]
頭頂骨 骨化不全	胎児数	8 (4.73)	8 (4.91)	7 (4.46)	3 (1.83)	
	腹数	6 [4.87]	5 [4.77]	6 [5.13]	3 [1.98]	
前面の骨 骨化不全	胎児数	0	0	1 (0.64)	1 (0.61)	
	腹数	0	0	1 [0.65]	1 [0.57]	
舌骨 骨化不全	胎児数	10 (5.92)	6 (3.68)	4 (2.55)	5 (3.05)	
	腹数	6 [6.02]	5 [3.43]	4 [2.29]	4 [2.94]	
頭蓋内部に多数の奇 形、無発育	胎児数	1 (0.59)	0	0	0	
	腹数	1 [0.65]	0	0	0	

Fisherの正確検定 +: p<0.05、++: p<0.01、カイ二乗検定 # p<0.05、Mann-Whitney U-検定 * p<0.05

c: 該当する胎児1例以上を有する親動物数

() 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%)、[] 内の数値は各腹における発現頻度 (%) の平均

表2. 胎児の観察結果 (続き)

投与群 (mg/kg/日)		0	18	90	450		
胎児動物	骨格異常	検査胎児数 (骨格検査対象胎児)	169	163	157	164	
		腹数	22	22	22	22	
		胸椎半椎体不完全癒合 (1又は2本)	胎児数	16 (9.47)	26 (15.95)	16 (10.19)	21 (12.80)
			腹数	8 [9.38]	13 [15.73]	11 [10.33]	16 [13.28] #
		胸椎半椎体不完全癒合 (3本以上)	胎児数	2 (1.18)	1 (0.61)	0	2 (1.22)
			腹数	2 [1.22]	1 [0.45]	0	1 [1.14]
		胸椎中心が二分割 (1又は2本)	胎児数	5 (2.96)	3 (1.84)	5 (3.18)	1 (0.61)
			腹数	5 [3.19]	3 [1.64]	4 [3.22]	1 [0.65]
		胸椎中心未骨化 (1本)	胎児数	2 (1.18)	2 (1.23)	0	5 (3.05)
			腹数	1 [1.30]	2 [1.22]	0	3 [3.08]
		胸椎中心未骨化 (1本以上)	胎児数	1 (0.59)	0	0	0
			腹数	1 [0.65]	0	0	0
		腰椎中心骨化不全 (1本以上)	胎児数	1 (0.59)	0	0	0
			腹数	1 [0.57]	0	0	0
		第14肋骨 (腰部) (片側)	胎児数	2 (1.18)	0	1 (0.64)	8 (4.88) +
			腹数	2 [1.15]	0	1 [0.65]	7 [5.09]
		第14肋骨 (腰部) (両側)	胎児数	0	0	1 (0.64)	5 (3.05) +
			腹数	0	0	1 [0.57]	3 [3.00]
		第13肋骨 矮小、縮小又は痕跡	胎児数	1 (0.59)	12 (7.36) ++	0	0
			腹数	1 [0.65]	6* [7.03] #	0	0
		第13肋骨欠損 (片側)	胎児数	0	3 (1.84)	0	2 (1.22)
			腹数	0	2 [1.75]	0	2 [1.14]
		第1~第12肋骨の内1本が骨化不全	胎児数	1 (0.59)	0	1 (0.64)	0
			腹数	1 [0.57]	0	1 [0.51]	0
		角張った肋骨	胎児数	1 (0.59)	0	0	0
			腹数	1 [0.57]	0	0	0
		第5胸骨分節及び剣状突起未骨化	胎児数	91 (53.85)	90 (55.21)	65 (41.40)	76 (46.34)
			腹数	22 [54.16]	19 [54.64]	18 [40.17]	20 [46.28]
第1~4の内、1本以上の胸骨分節未骨化	胎児数	2 (1.18)	2 (1.23)	0	7 (4.27)		
	腹数	2 [1.15]	2 [1.21]	0	4 [4.38]		
第5胸骨分節及び剣状突起不規則骨化 ^d	胎児数	1 (0.59)	0	1 (0.64)	1 (0.61)		
	腹数	1 [0.65]	0	1 [0.57]	1 [0.57]		
第1~4の内、1本以上の胸骨分節不規則骨化	胎児数	0	0	3 (1.91)	1 (0.61)		
	腹数	0	0	2 [1.70]	1 [0.57]		
中手骨V未骨化 (片側)	胎児数	2 (1.18)	3 (1.84)	1 (0.64)	2 (1.22)		
	腹数	2 [1.14]	2 [1.79]	1 [0.57]	2 [1.41]		
中手骨V未骨化 (両側)	胎児数	108 (63.91)	81 (49.69)	59 (37.58)	104 (63.41)		
	腹数	22 [63.71]	19 [48.82]	18 [37.40]	21 [62.94]		
恥骨骨化不全	胎児数	1 (0.59)	2 (1.23)	3 (1.91)	8 (4.88) +		
	腹数	1 [0.57]	2 [1.07]	2 [1.79]	4 [5.01]		
坐骨骨化不全	胎児数	1 (0.59)	0	2 (1.27)	0		
	腹数	1 [0.57]	0	1 [1.30]	0		

Fisherの正確検定 +: p<0.05, ++: p<0.01、カイ二乗検定 # p<0.05、Mann-Whitney U-検定 * p<0.05

d: 不規則骨化は二分割及び側枝を含む。

() 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%)、[] 内の数値は各腹における発現頻度 (%) の平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

ウサギにおける催奇形性試験

(資料No. T-9)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度： 原体（純度 ）

試験動物： ニュージーランド白色種未経産ウサギ、1群20匹、妊娠第1日の体重3.2~4.2 kg
7日間馴化後、排卵を促進するため、人工受精前及び人工受精後に、絨毛性性腺刺激ホルモン剤（PROFASI 500）を静脈内に注射した。

試験期間： 妊娠7~19日の13日間投与

方 法： 検体をコーン油に懸濁させ、0、10、30及び100 mg/kg/日の用量で妊娠7日目から19日目までの13日間、毎日1回、ゴム製カテーテルを用いて強制経口投与した。投与液量を1mL/kg体重とし、直近の体重に基づいて算出した。投与液は毎回、投与日の朝、調製した。

なお、人工受精した日を妊娠1日とした。

用量設定根拠：

試験項目：

親動物； すべての供試動物について毎日、一般状態及び行動を臨床的に観察した。体重は、妊娠1、4、7~19、22、26及び30日に測定した。摂餌量は、妊娠1、4、7、10、13、16、19、22及び26日に測定した。

妊娠30日目に、すべての生存動物をペントバルビタール剤の静脈内投与により屠殺し、剖検後、子宮を摘出して重量を測定した。黄体数、着床数、着床位置、生存胎児数、早期死亡胚数及び後期死亡胚数を測定した。

生存胎児； 胎児体重を測定した後、ペントバルビタール剤を心臓内に注射して屠殺し、外表を検査した。すべての胎児について性別を判定し、内臓検査後、内臓を摘出し、メタノール中で固定した。約24時間経過後、冠状縫合線に沿って頭蓋を切開して脳を肉眼的に検査した。カーカスはアリザリン赤Sで染色して骨格を検査した。

所見は異常と変異（通常有害ではない一般的な所見）に分け、異常についてはさらに、重度な異常（奇形、稀な異常あるいは致死性の異常）と軽度な異常（正常な状態からは逸脱しているが、よくみられる異常）に分類した。

結 果： 親動物及び胎児の概要を表1に、胎児の観察結果を表2及び3に示す。

親動物； 10mg/kg/日以上投与群の母動物において、検体投与開始翌日（妊娠8日）以降に排糞量の減少及び下痢（投与初期に下痢が認められたのは100mg/kg/日群の1個体のみ）が認められる動物数が増加した。排便量の減少は摂餌量の減少を反映したものであった。30及び100mg/kg/日群では、体重増加量と摂餌量の減少も認められ、100mg/kg/日群では糞中の粘液の発生頻度も軽度増加したことから、両投与群でみられたこれらの変化は検体投与の影響と考えられた。（申請者注：

）他の一般状態観察所見はいずれも発生頻度が低いか、用量相関性がみられないものであり、偶発的な所見と考えられた。

100mg/kg/日群の1匹で、妊娠19日に流産の徴候が観察され、切迫屠殺した。検体投与期間中、30及び100mg/kg/日群で認められた体重増加量及び摂餌量の減少は、投与終了後には回復した。剖検において検体投与に関連した所見は認められなかった。

妊娠率は、0、10、30及び100mg/kg/日各群でそれぞれ65、65、55及び65%で差なかった。対照群と比較して100mg/kg/日群で着床数が多く、着床後の損失及び死亡胚は増加したが、生存胎児数に明らかな差はみられなかった。しかし、同群生存胎児の体重は有意に低かった。30mg/kg/日群で後期死亡胚数も対照群より多かったが、有意差はなく、背景データの範囲内（原報告書に具体的な記載なし）であった。

胎児動物； 100mg/kg/日群では、5腹の合計8胎児に重度の異常（奇形）が観察され、対照群と比較して有意差がみられた。その内、4胎児は同腹児であり、他の4例はそれぞれ異なる親動物の産児であった。30及び100mg/kg/日群でみられた頭部の重度の異常を有する胎児の発生の頻度は、統計学的有意差は認められないものの増加した。心臓血管に関する異常（大動脈の極度な肥大、肺動脈の極度な肥大及び縮小）は発生頻度が低く、特定の親動物に集中したこと及び投与量との関連性が明確ではないことから、検体投与の影響である可能性は低いと考えられた。外表及び内臓の検査において、軽度の異常が観察された胎児数は100及び30mg/kg/日群でそれぞれ8及び6例で、有意差が認められた。これらの胎児の異常所見は、主に肝臓表面の「のう胞」に起因するものであった。骨格検査では、100mg/kg/日群において、統計学的有意差は認められないものの第6あるいは第7腰椎横突起の未骨化及び非対称の骨盤帯が観察された胎児数が増加したが、検体の影響と考えられる明らかな証拠はなかった。検査したすべての胎児に何ら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

かの骨格変異が観察された。100mg/kg/日群においては下記の骨格変異が検体投与の影響として認められたが、ほとんどが発育遅延による骨化の低下であり、体重の減少に関連する影響と考えられた。これらの変異のほとんどは30mg/kg/日群胎児にも軽度に観察された。

- ・ 歯突起の部分的骨化（増加）
- ・ 正常な長さの第13過剰肋骨（増加）
- ・ 27仙骨前椎骨（増加）
- ・ 第1あるいは第2仙椎の非対称な発育（ただし、有意差なし）
- ・ 第4、第5、第6あるいは第7腰椎横突起の部分的骨化（ただし、第7腰椎については有意差なし）
- ・ 第2腰椎横突起の部分的骨化（ただし、有意差なし）
- ・ 第3腰椎横突起の完全骨化（ただし、有意差なし）

なお、第2腰椎横突起の部分的骨化及び第3腰椎横突起の完全骨化については、10mg/kg/日群で有意に増加したが、30及び100mg/kg/日群では低下（有意差なし）した。

一方、手の特別検査において、100mg/kg/日群で評価点の増加が認められた。

以上の結果より、本検体を妊娠ウサギに投与した場合、30及び100mg/kg/日群母動物に体重増加量、摂餌量及び排糞量の減少が認められ、母動物に対する無影響量は10mg/kg/日と判断された。一方、胎児に対する影響として、100mg/kg/日群で着床後損失及び死亡胚の増加、胎児体重の減少がみられた。また、胎児検査において、30及び100mg/kg/日群で重度の異常（奇形）が観察され、特に頭部に重度の異常発生頻度が増加した。30及び100mg/kg/日群では外表及び内臓検査で、軽度の異常及び重度の異常（奇形）の増加が認められた。又、手の特別検査において100mg/kg/日群で評価点の増加が認められた。したがって、胎児発生に対する無影響量も10mg/kg/日と判断された。

しかし、30及び100mg/kg/日群では、母体毒性及び胎児発生の遅滞が認められており、これらの用量における重度の異常（奇形）は、検体投与の影響である可能性は排除できないものの、認められた数は少なく、特定の軽度の異常の発生頻度及び種類から裏付ける証拠がなく、また、異常が特定の親から（30mg/kg/日：2/10腹、100mg/kg/日：5/12腹）の胎児に認められ、多様な所見を示していることから、検体起因性の明らかな証拠とするには無理があると考えられ、最高投与量の100mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

全体的な無影響量を10mg/kg/日と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

申請者註1

申請者註2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表1. 親動物の概要及び胎児動物の体重、性比

投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100	
1群当り動物数		20	20	20	20	
妊娠動物数		13	13	11	13	
妊娠率 (%)		65	65	55	65	
一般状態 (動物数)	受け皿に排糞なし	2	5	6	19	
	排糞減少	7	12	14	20	
	下痢	0	2	3	5	
	糞中粘液	0	0	0	2	
死亡数 (流産の徴候により切迫屠殺)		0	0	0	1	
全胚吸収がみられた動物数		0	0	1	0	
親動物	体重 ^a (g)	妊娠1日	3673.1	3715.2	3638.4	3601.8
		妊娠4日	3733.5	3781.2	3717.4	3698.3
		妊娠7日	3818.2	3852.7	3811.3	3761.4
		妊娠8日	3827.6	3861.1	3744.7	3713.9
		妊娠9日	3806.1	3872.8	3732.9	3674.0
		妊娠10日	3833.8	3892.8	3743.3	3618.9
		妊娠11日	3861.8	3913.2	3762.7	3635.9
		妊娠12日	3875.5	3909.7	3775.7	3631.0
		妊娠13日	3919.8	3945.3	3812.1	3630.1*
		妊娠14日	3974.2	3998.5	3841.3	3654.9*
		妊娠15日	4027.3	4041.8	3879.8	3653.9**
		妊娠16日	4065.7	4068.1	3871.4	3653.1**
		妊娠17日	4058.5	4050.9	3914.1	3636.4**
		妊娠18日	4046.2	4066.3	3883.5	3603.9**
		妊娠19日	4056.4	4058.2	3868.5	3602.1**
		妊娠22日	4088.5	4111.3	3919.9	3752.5*
		妊娠26日	4214.1	4253.2	4066.6	3929.4
		妊娠30日	4305.8	4347.1	4168.8	4104.4
		体重増加量 ^a (g)	妊娠1~7日	145.2	137.5	172.9
妊娠7~19日	238.2		205.5	57.2*	-159.3**	
妊娠19~30日	249.4		288.8	300.3	502.3**	
妊娠1~30日	632.7		631.8	530.4	502.6	
摂餌量 ^a (g/day)	妊娠1~7日	205.3	209.7	208.9	188.5	
	妊娠7~19日	163.7	158.8	126.7*	56.8**	
	妊娠19~30日	197.8	200.5	178.6	204.7	

Studentのt検定 *: p<0.05、**: p<0.01

a: 生存胎児を出産した親動物の平均体重及び摂餌量

表1. 親動物の概要及び胎児動物の体重、性比 (つづき)

投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100		
1群当り動物数		20	20	20	20		
親動物	着床所見	検査動物数 ^a		13	13	10	12
		黄体数		10.54	10.23	9.80	10.42
		着床前 損失	割合 (%) ^b	23.7	19.5	14.9	8.0
			親動物数の割合 ^f	11/13	8/13	5/10	5/12
		着床数		8.46	8.23	8.50	9.50
		着床後 損失	割合 (%) ^c	6.6	8.9	9.5	22.6 ^d
			親動物数の割合 ^f	6/13	7/13	4/10	9/12
		生存胎児数		7.85	7.38	7.50	7.17
		早期 死亡胚	死亡胚数	3	5	0	14
			割合 (%)	3.1	4.7	0	10.7
			親動物数の割合 ^f	3/13	5/13	0/10	5/12
		後期 死亡胚	死亡胚数	5	6	10	14
			割合 (%)	3.5	4.2	9.5	11.9
親動物数の割合 ^f	4/13		3/13	4/10	7/12		
子宮重量 ^e (g)		514.8	481.2	472.7	440.3		
同腹児重量 (g)		339.2	319.9	310.3	271.4		
胎児動物	検査胎児数		102	96	75	86	
	胎児体重 (g)		45.64	44.90	43.30	37.99**	
	性比	雄胎児数/全胎児数 ^f	63/102	51/96	45/75	43/85	
		各腹雄胎児割合 (%) ^f	56.4	55.2	63.7	49.3	

F: Fisherの正確検定 p<0.05

a: 生存胎児を出産した親動物の動物数

b: [(黄体数-着床数)÷黄体数]×100、c: [(着床数-生存胎児数)÷着床数]×100

d: Freeman/Tukeyの二重逆正弦変換後の計算で有意差あり

e: 卵巣及び結合組織除去後の分娩前重量、f: 各腹における雄胎児の割合 (%) の群平均

表2. 胎児観察結果の総括

投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100	
腹数		13	13	10	12	
異常が 観察された 動物数及び 割合 (%)	外表異常 及び 内臓異常 ^a	検査胎児数	102	96	75	86
		重度の異常 (奇形)	1 (0.5) [1.0]	0	2 (2.1) [2.7]	6 [#] (7.7) [7.0]
		軽度の異常	1 (0.8) [1.0]	3 (2.8) [3.1]	6 [#] (7.0) [9.3]	8 ^{##} (8.4) [9.3]
		検査胎児数	102	96	75	85
	骨格異常	重度の異常 (奇形)	0	0	1 (1.1) [1.3]	4 [#] (5.3) [4.7]
		軽度の異常	37 (36.8) [36.3]	41 (42.7)	25 (27.7) [33.3]	36 (43.7) [42.4]
		変異	102 (100.0)	96 (100.0)	75 (100.0)	85 (100.0)

Fisherの正確検定 #: p<0.05、##: p<0.01 a: 変異に分類される異常はなかった。

() 内の数字は検査胎児数に対する割合 (%) (申請者注:

)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表3. 胎児の観察結果

		投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100	
胎児動物	外表異常	検査胎児数		102	96	75	86	
		腹数		13	13	10	12	
		軽度の異常	尾：軽度のねじれ	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
				腹数	0	0	0	1 [8.3]
		+ 重度の異常 (奇形)	躯幹全体の重度の異常 (奇形)	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{61A}
				腹数	0	0	0	1 [8.3]
			下顎癒合、肘下部短小	胎児数	0	0	1 (1.3) ^{49F}	0
				腹数	0	0	1 [10.0]	0
			小眼球	胎児数	0	0	1 (1.3) ^{51A}	0
				腹数	0	0	1 [10.0]	0
	脳瘤、眼瞼開存、頭蓋骨の肉眼的奇形		胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{70K}	
			腹数	0	0	0	1 [8.3]	
	臍ヘルニア	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{72B}		
		腹数	0	0	0	1 [8.3]		
	前肢の極端な屈曲	胎児数	0	0	1 (1.3) ^{51A}	2 (2.3) ^{64B,70K}		
		腹数	0	0	1 [10.0]	2 [16.7]		
	内臓異常	軽度の異常	大動脈の軽度の肥大	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
				腹数	0	0	1 [10.0]	0
腹水			胎児数	0	1 (1.0)	0	2 (2.3)	
			腹数	0	1 [7.7]	0	1 [8.3]	
肝臓表面のう胞付着		胎児数	1 (1.0)	1 (1.0)	5 (6.7)	6 [#] (7.0)		
		腹数	1 [7.7]	1 [7.7]	1 [10.0]	3 [25.0]		
前肢の軽度の屈曲		胎児数	0	1 (1.0)	0	1 (1.2)		
		腹数	0	1 [7.7]	0	1 [8.3]		
+ 重度の異常 (奇形)		中脳脳室の極度な拡張	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{72D}	
			腹数	0	0	0	1 [8.3]	
	大動脈の極度な肥大	胎児数	1 (1.0) ¹⁰⁰	0	1 (1.3) ^{49F}	1 (1.2) ^{63B}		
		腹数	1 [7.7]	0	1 [10.0]	1 [8.3]		
	肺動脈の極度な肥大	胎児数	0	0	1 (1.3) ^{49F}	0		
		腹数	0	0	1 [10.0]	0		
肺動脈の極度な縮小	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{63B}			
	腹数	0	0	0	1 [8.3]			
鎖骨下動脈の欠損	胎児数	0	0	1 (1.3) ^{49F}	0			
	腹数	0	0	1 [10.0]	0			

Fisherの正確検定 #: p<0.05

「胎児数」の () 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%)

「腹数」の数値は該当する胎児1例以上を有する親動物数、 [] 内の数値は群全親動物数に対する割合 (%)

+ : 重度の異常 (奇形) 例数 () の右肩に胎児の個体番号 (数値は親動物番号、文字は胎児記号) を示す。

表3. (続き)

		投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100
		検査胎児数		102	96	75	85
		腹数		13	13	10	12
	歯	部分的骨化	胎児数	27 (26.5)	21 (21.9)	30 [#] (40.0)	35 [#] (41.2)
			腹数	6 [46.2]	9 [69.2]	8 [80.0]	11 [#] [91.7]
	腰椎	第2腰椎横突起 部分的骨化	胎児数	39 (38.2)	59 ^{##} (61.5)	27 (36.0)	19 (22.4)
			腹数	12 [92.3]	11 [84.6]	8 [80.0]	6 [50.0]
	腰椎	第3腰椎横突起 完全骨化	胎児数	30 (29.4)	44 [#] (45.8)	10 (13.3)	14 (16.5)
			腹数	10 [76.9]	11 [84.6]	6 [60.0]	4 [33.3]
	腰椎	第3腰椎横突起 部分的骨化	胎児数	65 (63.7)	51 (53.1)	55 (73.3)	48 (56.5)
			腹数	11 [84.6]	12 [92.3]	10 [100]	12 [100]
	腰椎	第4腰椎横突起 部分的骨化	胎児数	16 (15.7)	15 (15.6)	19 (25.3)	39 ^{##} (45.9)
			腹数	7 [53.8]	5 [38.5]	7 [70.0]	8 [66.7]
	腰椎	第5腰椎横突起 部分的骨化	胎児数	13 (12.7)	10 (10.4)	14 (18.7)	37 ^{##} (43.5)
			腹数	6 [46.2]	5 [38.5]	4 [40.0]	8 [66.7]
	腰椎	第6腰椎横突起 部分的骨化	胎児数	18 (17.6)	16 (16.7)	15 (20.0)	37 ^{##} (43.5)
			腹数	8 [61.5]	5 [38.5]	5 [50.0]	9 [75.0]
	腰椎	第7腰椎横突起 部分的骨化	胎児数	58 (56.9)	55 (57.3)	36 (48.0)	56 (65.9)
			腹数	12 [92.3]	11 [84.6]	6 [60.0]	12 [100]
	仙椎	第1仙椎 非対称な発育	胎児数	20 (19.6)	17 (17.7)	20 (26.7)	25 (29.4)
			腹数	10 [76.9]	7 [53.8]	6 [60.0]	9 [75.0]
	仙椎	第2仙椎 非対称な発育	胎児数	15 (14.7)	14 (14.6)	14 (18.7)	20 (23.5)
			腹数	9 [69.2]	6 [46.2]	6 [60.0]	8 [66.7]
	脊柱	27仙骨前椎骨	胎児数	21 (20.6)	11 (11.5)	43 ^{##} (57.3)	39 ^{##} (45.9)
			腹数	4 [30.8]	6 [46.2]	9 ^{##} [90.0]	11 ^{##} [91.7]
	胸骨分節	第5分節 部分的骨化	胎児数	27 (26.5)	21 (21.9)	13 (17.3)	20 (23.5)
			腹数	9 [69.2]	9 [69.2]	4 [40.0]	8 [66.7]
	過剰肋骨	第13肋骨 長さ正常	胎児数	51 (50.0)	41 (42.7)	48 [#] (64.0)	63 ^{##} (74.1)
			腹数	9 [69.2]	10 [76.9]	9 [90.0]	11 [91.7]
		第13肋骨 長さ正常、浮遊	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
			腹数	0	0	1 [10.0]	0
第13肋骨 短小	胎児数	9 (8.8)	14 (14.6)	9 (12.0)	10 (11.8)		
	腹数	6 [46.2]	6 [46.2]	5 [50.0]	7 [58.3]		
第13肋骨 短小、浮遊	胎児数	13 (12.7)	6 (6.3)	4 (5.3)	2 (2.4)		
	腹数	5 [38.5]	5 [38.5]	4 [40.0]	2 [16.7]		
	軽度の異常	前額部 部分的骨化	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
			腹数	0	0	1 [10.0]	0
		鼻骨癒合	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
			腹数	0	0	0	1 [8.3]
		前額間に 縫合骨	胎児数	4 (3.9)	1 (1.0)	0	0
			腹数	3 [23.1]	1 [7.7]	0	0
頭頂間に 縫合骨	胎児数	0	0	0	2 (2.4)		
	腹数	0	0	0	2 [16.7]		
舌骨	形状異常	胎児数	1 (1.0)	0	1 (1.3)	1 (1.2)	
		腹数	1 [7.7]	0	1 [10.0]	1 [8.3]	

Fisherの正確検定 #: p<0.05, ##: p<0.01

「胎児数」の () 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%)

「腹数」の数字は該当する胎児1例以上を有する親動物数、 [] 内の数値は群全親動物数に対する割合 (%)

表3. (続き)

		投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100		
胎児動物	骨格異常	軽度の異常	検査胎児数 (骨格検査対象胎児)		102	96	75	85	
			腹数		13	13	10	12	
			頸椎	第1椎弓	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
				部分的骨化	腹数	0	0	0	1 [8.3]
				第2椎弓	胎児数	1 (1.0)	0	1 (1.3)	3 (3.5)
				部分的骨化	腹数	1 [7.7]	0	1 [10.0]	3 [25.0]
				第2椎弓	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
				縮小	腹数	0	0	0	1 [8.3]
				第3椎体	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
			二分割	腹数	0	0	0	1 [8.3]	
			第2半椎体	胎児数	0	0	0	1 (1.2)	
			未骨化	腹数	0	0	0	1 [8.3]	
			第2椎体	胎児数	1 (1.0)	0	0	0	
			形状異常	腹数	1 [7.7]	0	0	0	
			胸椎	第11椎体	胎児数	0	1 (1.0)	0	0
				位置異常	腹数	0	1 [7.7]	0	0
				第11椎体	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
				未骨化	腹数	0	0	0	1 [8.3]
			腰椎	第1腰椎横突起	胎児数	1 (1.0)	0	0	0
				部分的骨化	腹数	1 [7.7]	0	0	0
				第2腰椎横突起	胎児数	1 (1.0)	0	0	1 (1.2)
				完全骨化	腹数	1 [7.7]	0	0	1 [8.3]
				第4腰椎	胎児数	0	0	1 (1.3)	1 (1.2)
				横突起未骨化	腹数	0	0	1 [10.0]	1 [8.3]
			第6腰椎	胎児数	0	0	1 (1.3)	4 [#] (4.7)	
			横突起未骨化	腹数	0	0	1 [10.0]	3 [25.0]	
			第7腰椎	胎児数	9 (8.8)	11 (11.5)	8 (10.7)	16 [#] (18.8)	
			横突起未骨化	腹数	3 [23.1]	4 [30.8]	4 [40.0]	6 [50.0]	
			胸椎	第10及び第11	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
				胸椎弓不整列	腹数	0	0	0	1 [8.3]
			胸骨分節	第1分節	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
				二分割	腹数	0	0	1 [10.0]	0
				第5分節	胎児数	8 (7.8)	3 (3.1)	2 (2.7)	1 (1.2)
二分割	腹数	4 [30.8]		3 [23.1]	2 [20.0]	1 [8.3]			
第6分節	胎児数	5 (4.9)		7 (7.3)	2 (2.7)	0			
二分割	腹数	4 [30.8]		4 [30.8]	1 [10.0]	0			
第5分節	胎児数	1 (1.0)		0	1 (1.3)	0			
極度な不整列	腹数	1 [7.7]		0	1 [10.0]	0			
第1分節	胎児数	0		0	1 (1.3)	0			
形状異常	腹数	0		0	1 [10.0]	0			
第2分節	胎児数	0		0	1 (1.3)	0			
形状異常	腹数	0		0	1 [10.0]	0			
第5分節	胎児数	7 (6.9)	9 (9.4)	1 (1.3)	3 (3.5)				
未骨化	腹数	3 [23.1]	4 [30.8]	1 [10.0]	1 [8.3]				
第6分節	胎児数	7 (6.9)	7 (7.3)	5 (6.7)	8 (9.4)				
未骨化	腹数	2 [15.4]	5 [38.5]	3 [30.0]	4 [33.3]				
第4分節	胎児数	1 (1.0)	0	0	0				
部分的骨化	腹数	1 [7.7]	0	0	0				

Fisherの正確検定 #: p<0.05, ##: p<0.01

「胎児数」の () 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%)

「腹数」の数字は該当する胎児1例以上を有する親動物数、 [] 内の数値は群全親動物数に対する割合 (%)

表3. (続き)

		投与群 (mg/kg/日)		0	10	30	100		
胎児動物	骨格異常	検査胎児数 (骨格検査対象胎児)		102	96	75	85		
		腹数		13	13	10	12		
		軽度の異常	胸骨分節	第6分節 部分的骨化	胎児数	16 (15.7)	18 (18.8)	11 (14.7)	6 (7.1)
					腹数	7 [53.8]	9 [69.2]	5 [50.0]	5 [41.7]
				第4分節 軽度な不整列	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
					腹数	0	0	1 [10.0]	0
				第5分節 軽度な不整列	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
					腹数	0	0	1 [10.0]	0
				第2及び第3分節が癒合	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
				腹数	0	0	1 [10.0]	0	
				第3及び第4分節が癒合	胎児数	1 (1.0)	0	3 (4.0)	2 (2.4)
				腹数	1 [7.7]	0	2 [20.0]	2 [16.7]	
				第4及び第5分節が癒合	胎児数	1 (1.0)	0	1 (1.3)	1 (1.2)
				腹数	1 [7.7]	0	1 [10.0]	1 [8.3]	
			肋骨	第7肋骨 肥厚	胎児数	0	1 (1.0)	0	0
				腹数	0	1 [7.7]	0	0	
				第8肋骨 肥厚	胎児数	0	1 (1.0)	0	0
				腹数	0	1 [7.7]	0	0	
				第9肋骨 肥厚	胎児数	0	1 (1.0)	0	0
				腹数	0	1 [7.7]	0	0	
				第6及び第7肋骨 軽度な癒合	胎児数	0	0	0	1 (1.2)
				腹数	0	0	0	1 [8.3]	
			骨盤帯	非対称	胎児数	2 (2.0)	1 (1.0)	4 (5.3)	6 (7.1)
				腹数	2 [15.4]	1 [7.7]	2 [20.0]	5 [41.7]	
				恥骨 未骨化	胎児数	0	0	1 (1.3)	0
				腹数	0	0	1 [10.0]	0	
				恥骨 部分的骨化	胎児数	2 (2.0)	0	0	1 (1.2)
				腹数	2 [15.4]	0	0	1 [8.3]	
		距骨 未骨化	胎児数	0	0	1 (1.3)	1 (1.2)		
		腹数	0	0	1 [10.0]	1 [8.3]			
	+ 重度の異常 (奇形)	頭蓋	猿頭症	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{72D}	
			腹数	0	0	0	1 [8.3]		
			全体的奇形	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{70K}	
			腹数	0	0	0	1 [8.3]		
			下顎骨癒合	胎児数	0	0	1 (1.3) ^{49F}	0	
			腹数	0	0	1 [10.0]	0		
			上顎骨癒合	胎児数	0	0	0	2 (2.4) ^{72D, 72G}	
			腹数	0	0	0	1 [8.3]		
		胸椎	第11椎弓 欠損	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{72E}	
			腹数	0	0	0	1 [8.3]		
	肋骨	第11肋骨 欠損	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{72E}		
		腹数	0	0	0	1 [8.3]			
	前肢	母指欠損	胎児数	0	0	0	1 (1.2) ^{70K}		
		腹数	0	0	0	1 [8.3]			

Fisherの正確検定 [#]: p<0.05、^{##}: p<0.01

「胎児数」の () 内の数値は検査胎児数に対する割合 (%)

「腹数」の数字は該当する胎児1例以上を有する親動物数、 [] 内の数値は群全親動物数に対する割合 (%)

+ 重度の異常 (奇形) 例数 () の右肩に胎児の個体番号 (数値は親動物番号、文字は胎児記号) 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(資料No. T-10)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(7) 変異原性

遺伝子突然変異原性

修復機構欠損菌株を用いた変異原性試験

(資料No. MU-1)

試験機関：

報告書発表年：1972年

投稿誌：Chem.-Biol. Interactions 5 (1972) 77-84

検体の純度： 原体（ 純度 ）

方 法： 大腸菌の修復機構欠損株（WP2、WP2UvrA、WP2RecA、WP2ExrA、WP2UvrAExrAの5菌株）を用い、変異原性を検定した。

10 mgの検体を1 mLのクロロホルムに溶解させ、その0.1 mLをろ紙に処理し寒天プレート上又は逆さにしたプレートの蓋上に置き、3日間培養し、変異コロニー数を計数した。

結 果：

菌 株	プレート当り変異数			プレート当り誘発変異数	
	対 照	検体処理 (寒天上)	検体処理 (蓋上)	検体処理 (寒天上)	検体処理 (蓋上)
WP2	15.7± 5.9	42.3± 7.9	38.1± 8.7	26.6	22.4
WP2UvrA	50.6± 8.8	396.6±16.5	248.8± 7.7	346.0	198.2
WP2RecA	7.6± 1.6	55.9± 4.9	46.2± 6.2	48.3	38.6
WP2ExrA	8.3± 2.3	46.7± 4.3	31.6± 7.5	38.4	23.3
WP2UvrAExrA	11.4± 2.8	319.7±34.2	205.8±11.1	308.3	194.4

5種の菌株全てにおいて、検体の変異原性がみられ、検体処理ろ紙を寒天培地上に置いた場合も、プレートを逆さにして蓋に置いた場合も同様の傾向であった。

以上の結果より、本剤は変異誘発性を有し、それは揮発性物質により誘発されることが示唆された。

細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料No. MU-14)

試験機関：

報告書作成年：2000年

検体の純度： 原体（純度 ）

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535及びTA1538株) を用い、ラット肝から調製した代謝活性化系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はDMSOに溶解し、2.00～32.0 µg/プレートの範囲の5濃度で実施した。陰性対照群には無添加及び溶媒のみを添加した培養を用いた。処理群及び陰性対照群は3反復、陽性対照群は2反復で試験を行った。

用量設定根拠：

結 果： 結果を表に示した。

TA98株を用いた予備試験では、最低用量の8 µg/プレートでも陰性対照と比較し復帰変異コロニー数の有意な増加が認められた。確認試験ではいずれの菌株においても、S9 mixの有無にかかわらず、陰性対照と比較し復帰変異コロニー数に統計学的に有意な用量依存性の2倍以上の増加が認められた。TA100及びTA1535株では用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加したが、最高用量群では細胞毒性によりコロニー数は減少した。TA98及びTA1538株では細胞毒性を示さず、明らかな用量依存性が認められた。

陽性対照として用いた2-アミノアントラセン、アジ化ナトリウム及び4-ニトロキノリン-N-オキシドでは全ての検定菌株において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、キャプタン原体は代謝活性化の有無に関わらず、本試験条件下において復帰変異誘発性を有すると判断される。

申請者注

予備試験 (TA98株) (表中の数値は3反復 (陽性対照は2反復) の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix	復帰変異コロニー数/プレート	
			平均値 \pm SD	変異頻度
無処理	0	—	43 \pm 3	-
対照 (DMSO)	0	—	37 \pm 1	-
被験物質	8	—	263 \pm 41	7.11
	40	—	358 \pm 65	9.68
	200*	—	-	-
	1,000*	—	-	-
	5,000*	—	-	-
4NQO	0.5	—	524 \pm 141	14.2

陽性対照) 4NQO : 4-ニトロキノリン-N-オキシド

変異頻度 : 陰性 (溶媒) 対照群との比較

* : 生育阻害が認められた。

- : 該当なし

確認試験 (表中の数値は3反復 (陽性対照は2反復) の平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix	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		
			TA 100	TA 1535	TA 98	TA 1538	
無処理	0	—	141	32	24	18	
対照 (DMSO)	0	—	133	27	24	19	
被験物質	2.0	—	397**	263**	63*	18	
	4.0	—	738*	459**	133**	19	
	8.0	—	1,147**	433*	311**	37*	
	16	—	1,549**	189**	515**	51*	
	32	—	773**	-	644**	70**	
対照 (DMSO)	0	+	125	22	30	27	
被験物質	2.0	+	255*	96*	53*	26	
	4.0	+	404**	185**	91**	24	
	8.0	+	673**	429**	272**	36	
	16	+	1,008**	483**	480**	64*	
	32	+	582**	105*	712**	82**	
陽性 対照	4NQO	0.5	—	2,282	-	321	270
	AS	5.0	—	-	1,498	-	-
	2AA	2.5	+	1,754	266	1,596	1,808

分散分析、 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$

陽性対照 4NQO : 4-ニトロキノリン-N-オキシド、AS : アジ化ナトリウム、2AA : 2-アミノアントラセン

- : 該当なし

遺伝子突然変異原性：細菌を用いた復帰変異原性試験

(資料No. MU-2)

染色体異常誘発性：ヒト胎児の肺細胞を用いたin vitro遺伝子学的試験

ラットーカンガルーの細胞を用いたin vitro遺伝子学的試験

DNA損傷誘発性：ヒト胎児の肺細胞を用いた不定期DNA合成試験

試験機関：

報告書発表年：1969年

投稿誌：Annals New York Academy of Sciences 160

(1969) 344-351

1. 復帰変異原性試験

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： ① ストレプトマイシン要求性の大腸菌（SD-4）による検定；

Iver及びSzybalskiらの方法により、大腸菌のSD4-73株を100 mcg/mLでストレプトマイシンを含有する増殖培地中で37°C、24時間培養して軟寒天中に加えた。ストレプトマイシン100 mcg/mlを含有する2%寒天培地、及び含有しない2%寒天培地の各15 mLに菌株を懸濁した軟寒天を重層した。寒天培地表面に直径12.7 mmの濾紙を置き、DMSOに溶解した被験物質0.1 mLを濾紙にしみ込ませ、生成した突然変異コロニー数を計測することにより変異原性を検定した。

② チミン要求性の大腸菌による検定；

チミン要求性株を用い、①と同様の方法により変異原性を検定した。

結 果：

	検体投与濃度 (mcg/disk)	変異コロニー数/対照での変異コロニー数
試験①	1,000	10
	250	6
試験②	1,000	10

2. ヒト胎児の肺細胞株（L-132）を用いた試験

ヒト胎児の肺細胞L-132を単層で培養し、DMSOに溶解した検体を培地に直接添加した。

① 細胞生育と有糸分裂に及ぼす影響

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： 細胞生育の測定にはCoulter counterを用いた。有糸分裂については2,000個の細胞についてMoorheadらの方法により標本を作製し、3、4及び5 mcg/mLの濃度で検体を添加して24、48、72及び96時間後の細胞数を計測した。

結 果： 検体添加後24、48、72、96時間の細胞数の測定において3 mcg/mL (3 ppm) 添加では軽度の減少が認められた。4 mcg/mL (4 ppm) 添加では、48時間までは生育が抑制されたが、その後は回復した。5 mcg/mL (5 ppm) 以上を添加した場合には細胞の生育が全く認められなかった。本試験の培養時間内で検体の3及び4 ppm添加は、細胞の生存能力には全く影響を及ぼさなかった。培養初期に3及び4 ppm添加で有糸分

裂に対する阻害が認められたが、80～96時間後には対照と同等の有糸分裂となった。

② オートラジオグラフィーによる不定期DNA合成試験

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： 40時間培養した細胞に、検体を5 mcg/mL (5 ppm)、10 mcg/mL (10 ppm) 濃度で2及び5時間処理した。これら細胞にトリチウムで標識した放射性チミジンを20分間暴露し、その後標識細胞数を測定した。

また、検体が有糸分裂周期のS期からM期に影響を及ぼすか否かを検索するため、40時間培養した細胞に20分間放射性チミジンを暴露し、更に5及び10 ppm濃度の検体を培地に添加した後、2～6時間の培養を行い、標識された有糸分裂中期像を観察した。

結 果： 検体の2時間処理は、DNA合成に何ら影響を及ぼさなかったが、5時間処理では、下表の通り検体の10 ppm投与で標識細胞は対照と比べ約50%の減少が認められた。

濃 度 (ppm)	標識細胞 (%)	平均数 (Grains/Cell)
0	42	200
5	37	200
10	23	50

また、検体の有糸分裂のS-M期に対する影響を検査したところ、検体の5及び10 ppm投与の4及び6時間後に有糸分裂中期像の顕著な減少が認められ、S-M期が阻害されることが示された。

③ 染色体異常試験

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： 2,000個の細胞について、Moorheadらの方法により標本を作製し、40時間培養後、10 mcg/mLの濃度で検体を添加して24時間、有糸分裂中期の染色体に対する影響を検査した。

結 果：

検体添加後時間 (hr)	対照に対する 染色体切断率	型
2	36	切 断
4～5.5	41	切 断
24	14	切 断 (わずかに交換が 認められた)

検体添加後2～4時間以内で染色体切断率が増加し、24時間後まで持続した。

3. ラット-カンガルーの腎由来細胞株を用いた試験

① 有糸分裂阻害試験

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： Greenの方法により、菌株を炭酸ガス3%以下で37℃にて単層培養した。増殖培地には変法イーグル最小必須培地を用いた。80時間培養後、1.25、2.5及び5.0 mcg/mLの濃度で検体を添加して16時間後に細胞を収集し、1,000個の細胞に対し有糸分裂を観察した。

結 果： 16時間の検体暴露の結果、1.25～5 ppmの範囲で、濃度の増加に比例して有糸分裂が阻害された。

② 染色体異常試験

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： 試験の手順は①有糸分裂阻害試験と同様に行った。

検体の16時間暴露後、明らかに染色体損傷を生じている細胞の数を記録した。

結 果： 1.25～5 ppmの濃度範囲で、染色体の損傷が比例的に増加した。常染色体とX染色体の損傷発生率及び常染色体中の損傷位置の比率については以下の通りであった。

[常染色体とX染色体損傷率]

検体濃度 (mcg/mL)	常染色体損傷率 (%)	X染色体損傷率 (%)
0	76	24
1.25	54	46
2.5	38	62
5.0	25	75

[常染色体の損傷位置比率]

検体濃度 (mcg/mL)	染色体腕 (%)	動原体部 (%)
0	64	36
1.25	43	57
2.5	22	78
5.0	5	95

以上の結果より、本検体は復帰変異誘発性を有するものと考えられるが、バクテリアに対する毒性は認められなかった。

異数体のヒト胎児肺由来細胞において検体の3～5 ppm添加で増加抑制、有糸分裂阻害が認められ（48～80時間で回復がみられた）、またラット-カンガルー腎由来細胞においても検体の1.25～5 ppm添加で有糸分裂阻害及び染色体切断が投与濃度に比例して増加したことより、本検体のヒト胎児肺由来細胞及びラット-カンガルー腎由来細胞を用いた*in vitro*細胞遺伝学的試験での変異原性は陽性である可能性が示唆された。

マウスリンパ腫L5178Y細胞を用いた*in vitro*遺伝子突然変異試験

(資料No. MU-16)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1986年

検体の純度：

方 法： マウスリンパ腫由来L5178Y細胞を用い、代謝活性化系（S-9mix）の存在下及び非存在下でチミジンキナーゼ（TK）座位における前進突然変異を検定した。検体をジメチルスルホキシド（DMSO）に懸濁して、試験濃度を以下の通り設定した。

S-9mix非存在下；

試験1；0、0.025、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4µg/mL

試験2；0、0.025、0.05、0.075、0.1、0.2、0.3、0.4µg/mL

S-9mix存在下；

試験1；0、3.125、6.25、12.5、25、50、100µg/mL

試験2；0、6.25、12.5、20、25、37.5、50µg/mL

試験3；0、15、20、25、30、35、40、45µg/mL

*下線を付した濃度について評価した。

1×10⁶細胞/mLの細胞懸濁液12mLに8mLのR0培養液又はS-9mixを加え、さらに、200µLの検体、DMSO又は陽性対照を添加し3時間処理した。1濃度当たり2細胞培養を処理し、それぞれS-9mix存在下及び非存在下で試験用とした。処理終了後R10P培養液で細胞を洗浄した後、新鮮なR10Pを加えさらに24～48時間回転培養した。処理24時間後に各細胞懸濁液から1mL試料を採取し、細胞数を計数後、細胞密度をR10Pで2×10⁵細胞/mLに調整した。処理48時間後に、各細胞懸濁液から軟寒天培地を入れた90mmプレートを準備し、生存率測定用には200細胞をコロニー形成培地に、突然変異検出用には10⁶細胞をトリフルオロチミジン（TFT）4µg/mLを含有する選択培地に播種した。1濃度当り各3プレートを用いた。約10分間4℃下に置きプレートをゲル化させ、12日間培養した。培養終了後直径400µmを超えるコロニーを計数し下記の公式により各評価パラメーターを算出した。

陽性対照物質として、非代謝活性化ではメタンスルホン酸エチル（EMS）500µg/mLを、代謝活性化では20-メチルコラントレン（20-MC）7µg/mLを用いた。いずれも、DMSOに溶解して処理した。

懸濁液中の増殖倍数＝

$$\frac{\text{処理後24時間での細胞数}}{2 \times 10^5} \times \frac{\text{処理後48時間での細胞数}}{2 * \times 10^5}$$

*：2×10⁵個/mL未満であれば、前日の細胞数

細胞生存率＝

$$\frac{\text{懸濁細胞の増殖率（対照比、％）} \times \text{寒天中の生存率（対照比、％）}}{100}$$

100

突然変異頻度（突然変異コロニー数/10⁶生存細胞数）＝

$$\frac{(600)}{\text{（総生存コロニー数）}} \times \text{総突然変異コロニー数}$$

3

用量設定根拠：

結 果： 試験結果を次表に示す。

S-9mixの非存在下では、試験1及び2ともに用量に依存した細胞毒性が認められ、用量に依存して突然変異頻度が有意に増加した。S-9mixの存在下では、用量依存的に細胞生存率が減少し、試験1及び2で突然変異頻度が有意な増加を示さなかったが、試験3では細胞毒性の認められた25及び30 μ g/mLで突然変異頻度が有意な増加を示した。S-9mix存在下における試験1では、評価できた濃度段階が少なかったため判定は行い難く、当該試験では結果の再現性が認められず結論を下すには至らなかった。一方、S-9mix非存在下の陽性対照物質EMS及びS-9mix存在下の陽性対照物質20-MCは、突然変異を有意に誘発した。

以上の結果から、検体は、本試験条件下において、S-9mix非存在下で突然変異性を有すると判断された。S-9mix存在下では、結果に再現性が認められず、判定が不可能であった。

試験1 (S-9mix非存在下)

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖試験			突然変異試験		
	細胞数 $\times 10^5/\text{mL}$		懸濁液中 の増殖 倍数	コロニー数/ プレート	懸濁液中 の生存率 (%)	突然変異頻度 / 10^6 生細胞
	24時間	48時間				
0 (DMSO)	5.45	8.23	11.24 (100)	136 (100)	100	56.770
0.025	6.10	8.61	13.12 (117)			
0.05	4.30	10.77	11.19 (100)	138 (102)	101	59.027
0.1	3.83	9.72	9.26 (83)	137 (101)	83	98.199**
0.2	1.97	8.11	4.14 (37)	118 (87)	32	118.629***
0.3	0.72	2.54	1.27 (11)	65 (48)	5.5	235.097***
0.4	0.37	0.96	0.48 (5)			
EMS (500 $\mu\text{g/mL}$)	3.46	7.85	6.77 (60)	101 (75)	45	417.799***

()内の数字は、溶媒対照群を100とした場合の値を示す。

注) 0.025及び0.4 $\mu\text{g/mL}$ の培養は、より適切な毒性を示す濃度を選択したためクローニング前に廃棄した。

分散分析: ** ; $p < 0.01$, *** ; $p < 0.001$

EMS : メタンスルホン酸エチル

試験2 (S-9mix非存在下)

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖試験			突然変異試験		
	細胞数 $\times 10^5/\text{mL}$		懸濁液中 の増殖 倍数	コロニー数/ プレート	懸濁液中 の生存率 (%)	突然変異頻度 / 10^6 生細胞
	24時間	48時間				
0 (DMSO)	4.48	8.05	9.01 (100)	154 (100)	100	47.323
0.025	4.33	8.73	9.41 (104)			
0.05	3.75	9.42	8.71 (97)	129 (84)	81	56.543
0.075	2.91	9.07	6.60 (74)	132 (86)	63	77.945***
0.1	1.99	8.64	4.35 (48)	142 (93)	45	79.440***
0.2	0.46	1.42	0.71 (8)	87 (57)	4.5	238.650***
0.3	0.22	0.59	0.30 (4)			
0.4	0.26	0.57	0.29 (4)			
EMS (500 $\mu\text{g/mL}$)	1.90	6.60	3.31 (37)	94 (61)	23	387.223***

() 内の数字は、溶媒対照群を100とした場合の値を示す。

注) 0.025、0.3及び0.4 $\mu\text{g/mL}$ の培養は、より適切な毒性を示す濃度を選択したためクローニング前に廃棄した。

分散分析：*** ; $p < 0.001$

EMS：メタンスルホン酸エチル

試験1 (S-9mix存在下)

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖試験			突然変異試験		
	細胞数 $\times 10^5/\text{mL}$		懸濁液中 の増殖 倍数	コロニー数/ プレート	懸濁液中 の生存率 (%)	突然変異頻度 / 10^6 生細胞
	24時間	48時間				
0 (DMSO)	1.78	6.92	3.46 (100)	124 (100)	100	55.257
3.125	2.27	8.39	4.77 (138)			
6.25	1.89	7.92	3.96 (114)			
12.5	1.78	7.66	3.83 (111)	120 (97)	107	46.479
25	1.02	3.63	1.82 (53)	109 (88)	48	42.863
50	0.28	0.68	0.35 (10)	8.5 (2.5)	<1	—
100	0.30	0.66	0.34 (10)	0 (0)	<1	—
20-MC (7 $\mu\text{g/mL}$)	1.64	6.91	3.46 (100)	123 (100)	101	190.566***

() 内の数字は、溶媒対照群を100とした場合の値を示す。

注) 3.125及び6.25 $\mu\text{g/mL}$ の培養は、より高い濃度を選択したためクローニング前に廃棄した。

— : 過度の毒性が現れたため、評価から除外した。

分散分析 : *** ; $p < 0.001$

20-MC : 20-メチルコラントレン

試験2 (S-9mix存在下)

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖試験			突然変異試験		
	細胞数 $\times 10^5/\text{mL}$		懸濁液中 の増殖 倍数	コロニー数/ プレート	懸濁液中 の生存率 (%)	突然変異頻度 / 10^6 生細胞
	24時間	48時間				
0 (DMSO)	2.62	8.50	5.60 (100)	133 (100)	100	43.816
6.25	2.12	7.03	4.87 (87)			
12.5	1.77	7.51	3.76 (67)			
20	1.51	6.74	3.37 (60)	157 (118)	70	58.382
25	1.40	5.96	2.98 (54)	142 (107)	58	45.468
37.5	1.03	3.64	1.83 (33)	147 (111)	37	41.721
50	0.42	0.73	0.37 (6.5)	64 (49)	3	42.056
20-MC ($7\mu\text{g/mL}$)	2.25	7.74	4.51 (81)	146 (110)	88	218.344***

() 内の数字は、溶媒対照群を100とした場合の値を示す。

注) 6.25及び12.5 $\mu\text{g/mL}$ の培養は、より高い濃度を選択したためクローニング前に廃棄した。

分散分析：*** ; $p < 0.001$

20-MC : 20-メチルコラントレン

試験3 (S-9mix存在下)

用量 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増殖試験			突然変異試験		
	細胞数 $\times 10^5/\text{mL}$		懸濁液中 の増殖 倍数	コロニー数/ プレート	懸濁液中 の生存率 (%)	突然変異頻度 / 10^6 生細胞
	24時間	48時間				
0 (DMSO)	1.58	5.08	2.54 (100)	125 (100)	100	58.968
15	1.04	2.93	1.47 (58)	95 (76)	46	77.478
20	0.74	1.49	0.75 (30)	68 (54)	16	82.434
25	0.67	1.64	0.82 (33)	73 (58)	19	107.878**
30	0.57	1.30	0.66 (26)	62 (50)	14	113.977**
35	0.41	0.71	0.36 (14)	24 (19)	3	—
40	0.38	0.67	0.34 (13)			
45	0.34	0.78	0.40 (16)			
20-MC ($7\mu\text{g/mL}$)	0.92	2.28	1.15 (45)	60 (48)	22	258.010***

() 内の数字は、溶媒対照群を100とした場合の値を示す。

— : 汚染により1反復の結果しか得られなかったため、評価から除外した。

注) 40及び45 $\mu\text{g/mL}$ の培養は、より適切な毒性を示す濃度を選択したためクローニング前に廃棄した。

分散分析 : ** $p < 0.01$ 、*** ; $p < 0.001$

20-MC : 20-メチルコラントレン

ヒトのディプロイド線維芽細胞を用いた不定期DNA合成誘発性試験

(資料No. MU-3)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度： 原体（純度 ）

方 法： ヒトの線維芽2倍体細胞であるW1-38を用い、代謝活性化、及び非活性化法によってDNAの不定期合成誘発性を検定した。検体は、DMSOに溶解して以下の濃度に調製した。DMSOの濃度は、細胞毒性の影響が最少である0.5%に維持した。

(1) 非代謝活性化条件下 ($M \times 10^{-6}$) ; 3.1, 6.3, 12.5, 25, 50

(2) 代謝活性化条件下

試験1 ($M \times 10^{-6}$) ; 3.7, 11.1, 33.3, 100, 300

試験2 ($M \times 10^{-6}$) ; 12.3, 37, 111, 333, 1000+

代謝活性化には、Swiss-Webster成熟雄マウスの肝ホモジネートを用いた。

また、陽性対象物質として、非代謝活性化条件下では4-ニトロキノリン-N-オキシド(4NQO)を、代謝活性化条件下ではジメチルニトロソアミン(DMN)を用いた。陰性対象物質には0.5%DMSOを用いた。

結 果：

(1) 非代謝活性化条件下における不定期DNA合成検定

(単位：dpm/ μ g DNA)

サンプル No	キャプタン濃度 ($M \times 10^{-6}$)						陽性対照群 4NQO (M)
	0*	3.1	6.3	12.5	25	50	$\times 10^{-5}$
1	45	50	42	19	9	3	1295
2	54	58	55	30	9	0	1526
3	59	44	52	28	8	3	1487
4	59	43	53	31	9	5	1397
5	61	59	37	24	6	0	1418
6	54	55	—	40	3	6	561
Mean	55	52	48	29	8	3	1281
SD	6	7	8	7	2	3	362
SE	3	3	4	3	1	1	148

*：陰性対照群(0.5%DMSO)、—：サンプル紛失
有意差検定には、1元配置分散分析(ANOVA)を用いた。

(2) 代謝活性化条件下における不定期DNA合成検定

試験1結果

(単位 : dpm/μg DNA)

サンプル №	キャプタン濃度 (M×10 ⁻⁶)						陽性対照群 DMN (M)
	0*	3.7	11.1	33.3	100	300	5×10 ⁻²
1	126	179	151	165	138	178	471
2	123	142	123	153	118	144	270
3	129	151	131	154	127	125	164
4	90	182	124	183	93	123	480
5	102	157	121	144	100	148	416
6	144	151	126	147	73	128	518
Mean	119	161	130	158	108	141	386
SD	20	16	11	14	24	21	139
SE	8	7	5	6	10	8	57

* : 陰性対照群 (0.5%DMSO)

有意差検定には、1元配置分散分析 (ANOVA) を用いた。

試験2結果 (追試)

(単位 : dpm/μg DNA)

サンプル №	キャプタン濃度 (M×10 ⁻⁶)						陽性対照群 DMN (M)
	0*	12.3	37	111	333	1000+	5×10 ⁻²
1	48	60	58	76	44	65	266
2	62	68	75	72	53	86	326
3	33	59	72	66	76	40	236
4	71	81	95	77	44	66	238
5	86	78	66	80	90	61	287
6	96	83	75	57	60	68	312
Mean	66	72	73	71	61	64	277
SD	24	10	12	8	18	14	38
SE	10	4	5	3	8	6	15

* : 陰性対照群 (0.5%DMSO) 、+ : 沈澱物生成

有意差検定には、1元配置分散分析 (ANOVA) を用いた。

ヒト線維芽細胞W1-38において非代謝活性化条件下では、不定期DNA合成を誘発しなかった。また、代謝活性化条件下では、以前実施された試験においては群間で不定期DNA合成誘発性に有意差があったものの、用量依存性はみられなかった。そして、本試験で実施した再試験では、群間による有意差はなく、不定期DNA合成を誘発しなかった。

以上の結果より、代謝活性化の有無に関わらず、W1-38に不定期DNA合成を誘発しないと判断される。

ラットの肝細胞を用いた不定期DNA合成 (UDS) 試験

(資料No. MU-17)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1990年

検体の純度: 原体 ()

試験動物: Alderley Park (Alpk:APfSD)系雄ラット、投与時約6~8週齢、体重191~239g、
一群各5匹 (陰性及び陽性対照群は各2匹)

方法: 検体をコーン油に懸濁させ、ラットに500、1,000及び2,000mg/kgの用量で強制経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。投与4及び12時間後に動物を屠殺し、コラゲナーゼ灌流法により肝細胞を調製しカバースリップ上に播種した。肝細胞を約90分~2時間培養後、培地を除去し、³H-チミジンを含む培地と交換して4時間培養した。細胞を3回洗浄し、非標識チミジンを含む培地で一夜培養した。その後、培養細胞を固定し、オートラジオグラフィー標本を作製し、顕微鏡で過度の細胞毒性を示さない2最高用量である1,000及び2,000mg/kgを選定し、UDSを検査した。顕微鏡に搭載したイメージアナライザーを使用して、コード化した肝細胞標本を検査し、核上のグレイン数 (N) 及び核に隣接する核と等面積の細胞質上のグレイン数 (C) を計数した。この2数値の差 (N-C) の正味核グレイン数を求めた。各動物当たり2スライドについてそれぞれ最低25個 (通常は50個) の細胞を計数した。検査した2スライドで100個の細胞が得られなかった場合に3番目のスライドを計数した。平均正味核グレイン数が5以上で、かつ20%以上の細胞が修復細胞である場合を陽性とした。

陰性対照には、溶媒のコーン油を用い、陽性対照として、12時間処理には6-p-ジメチルアミノフェニルアゾベンゾチアゾール (6BT)、4時間処理にはN-ニトロソジメチルアミン (NDMA) を用いた。

用量設定根拠:

結果: オートラジオグラフィー標本の観察結果を次頁の表に示す。

500mg/kgを含む全投与用量で過度の細胞毒性の見掛け上の兆候 (即ち、溶媒対照と比べて、細胞数が少ない、又は異常形態細胞の割合が高い、若しくは濃縮細胞数が多い) が認められなかったため、2最高用量である1,000及び2,000mg/kgをUSDの評価に選定した。

検体は、2最高用量 (1,000又は2,000mg/kg) のいずれの時点 (4又は12時間) においても、平均正味グレイン数及び修復細胞の発生率に陰性対照を超える有意な増加をもたらさなかった。一方、陽性対照の6BT及びNDMA群では陰性対照群と比較し有意な平均正味グレイン数及び修復細胞の発生率の増加が認められ、陽性反応を示した。

以上の結果、検体は、本試験条件で、*in vivo*で暴露されたラットの肝細胞にDNA修復を誘発しなかった。

表 ラット肝細胞における不定期DNA合成試験結果

検体	用量 (mg/kg)	動物 数	処理 時間 (hr)	平均核グ レイン数 N±SD	平均細胞質 グレイン数 C±SD	平均正味核 グレイン数 (N-C) ±SD	平均修復 細胞発生 率 (%)
陰性対照 (コーン油)	10mL/kg	2匹	4	8.6±0.5	12.8±0.4	-4.2±0.9	3
検体	1,000	5匹		9.3±2.0	14.8±3.8	-5.5±2.0	1
	2,000	5匹		8.7±1.4	14.0±2.2	-5.2±1.2	2
陽性対照 (NDMA)	10	2匹		37.3±0.7	9.7±1.2	+27.6±0.5	93
陰性対照 (コーン油)	10mL/kg	2匹	12	5.2±1.5	7.9±0.4	-2.7±1.1	2
検体	1,000	5匹		5.1±0.6	7.8±0.5	-2.8±0.6	1
	2,000	5匹		5.3±1.2	8.7±1.6	-3.4±0.8	0
陽性対照 (6BT)	40	2匹		25.0±6.0	9.1±0.4	+15.9±5.6	91

N±SD = 平均核グレイン数±標準偏差
 C±SD = 平均細胞質グレイン数±標準偏差
 (N-C) ±SD = 平均正味核グレイン数±標準偏差
 修復細胞数 = 正味核グレイン数≥5

ラット及びマウスにおける優性致死試験

(資料No. MU-4)

試験機関：

報告書発表年：1972年

投稿誌：Fd Cosmet. Toxicol. Vol. 10, pp353-361

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： Osborne-Mendel系ラット、1群雄15匹
CBA-J系マウス、1群雄15匹

試験期間： ラット、マウスともに5日間

方 法： 雄のラット及びマウスに検体を、腹腔内投与の場合には、2.5、5.0及び10.0 mg/kg/日の用量で、経口投与の場合には50、100及び200 mg/kg/日の用量で5日間投与した。陽性対照群では、トリエチレンメラミン（TEM）を腹腔内投与で0.05 mg/kg/日、経口投与で0.2 mg/kg/日の用量で5日間投与した。
投与後次の10週間、同一週令の未交尾雌ラットと週毎に交尾させ、毎日臍垢について調査し、妊娠後13日目に帝王切開を行った。
未交尾雌マウスについても同様に交尾させ、妊娠後12日目に帝王切開を行った。

試験項目： 全動物について、着床数、初期死亡胎児数、後期死亡胎児数を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

1. ラット

(1) 妊娠率、総着床数及び初期死亡胎児数

投与	検査項目	検体	投与量 (mg/kg/日)	週										
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
腹腔内投与	妊娠率 (%)	キャブタン	0	93.3	100	93.3	93.3	93.3	93.3	93.3	93.3	86.7	80.0	86.7
			2.5	100	100	100	93.3	93.3	86.7	100	86.7	86.7	80.0	
			5.0	86.7	100	93.3	93.3	93.3	86.7	86.7	93.3	86.7	80.0	
			10.0	93.3	100	86.7	93.3	86.7	86.7	86.7	86.7	73.3	80.0	
		TEM	0.05	73.3	86.7	86.7	80.0	86.7	93.3	93.3	80.0	86.7	86.7	
		着床数	キャブタン	0	10.9	11.0	10.5	10.7	10.8	11.4	10.9	11.6	11.3	11.0
				2.5	10.1	10.8	10.7	10.9	11.1	11.2	10.9	10.7	10.0	10.8
				5.0	10.7	10.4	10.3	10.4	9.6	12.0	11.5	11.1	11.5	11.9
	10.0			10.5	11.5	10.9	11.0	10.4	11.7	11.0	11.5	11.5	11.1	
	TEM	0.05	7.8	5.5	4.5	4.5	8.1	10.8	11.3	10.8	10.6	12.1		
	初期死亡胎児数	キャブタン	0	0.36	0.47	0.50	0.43	0.36	0.36	0.38	0.46	0.58	0.54	
			2.5	0.40	0.33	0.33	0.43	0.43	0.54	0.47	0.31	0.31	0.50	
5.0			0.38	0.27	0.50	0.43	0.50	0.38	0.62	0.64	0.38	0.50		
10.0			0.71	0.87	0.69	0.64	0.77	0.85	0.62	0.36	0.45	0.58		
TEM		0.05	6.18**	5.25**	4.38**	4.25**	4.23**	1.79**	1.43*	0.58	1.00	0.77		
経口投与		妊娠率 (%)	キャブタン	0	93.8	87.5	100	93.8	100	87.5	100	93.8	87.5	100
				50	93.8	87.5	87.5	81.3	87.5	81.3	93.8	87.5	87.5	100
				100	87.5	93.8	93.8	86.7	93.8	87.5	100	93.8	93.8	81.3
	200			94.1	82.4	88.2	88.2	88.2	88.2	70.6	82.4	88.2	81.3	
	TEM		0.2	81.3	81.3	87.5	87.5	93.8	87.5	81.3	75.0	81.3	87.5	
	着床数		キャブタン	0	11.5	12.1	12.9	13.0	12.2	12.7	12.5	11.9	12.4	11.7
				50	12.3	12.3	13.1	12.6	13.1	13.0	12.1	12.7	12.3	12.7
				100	11.6	12.7	13.7	13.1	12.3	12.9	13.0	12.8	12.7	11.6
		200		11.4	11.9	12.9	12.9	12.7	12.9	12.3	13.3	12.4	12.2	
	TEM	0.2	9.9	8.7	9.4	8.1	9.8	10.4	12.6	12.2	12.5	13.1		
	初期死亡胎児数	キャブタン	0	0.47	0.43	0.50	0.47	0.44	0.57	0.38	0.40	0.57	0.31	
			50	0.80	0.64	0.86	0.85	0.79	0.92	0.67	0.79	0.64	0.80	
100			1.14	1.13	1.07	1.00*	0.80	0.79	0.69	0.93	0.53	0.62		
200			1.38*	1.21*	1.13	1.07	1.00*	0.80	0.75	0.79	0.73	0.71		
TEM		0.2	5.69**	7.31**	8.36**	6.21**	4.87**	2.79**	1.46*	0.92	1.08	0.57		

* : p < 0.05, ** : p < 0.01 で有意差あり

(2) 1例以上及び2例以上の初期死亡胎児を有する同腹率

	週	腹腔内投与 (mg/kg/日)					経口投与 (mg/kg/日)				
		キャプタン				TEM	キャプタン				TEM
		0	2.5	5.0	10.0	0.05	0	50	100	200	0.2
1例以上の 初期死亡胎児 を有する腹率 (%)	1	35.7	33.3	30.8	50.0	90.9*	40.0	53.3	64.3	68.8	100.0**
	2	40.0	33.3	20.0	66.7	100.0**	42.9	57.1	53.3	64.3	100.0**
	3	42.9	33.3	50.0	61.5	100.0**	43.8	57.1	66.7	66.7	100.0**
	4	42.9	35.7	42.9	42.9	100.0**	33.3	61.5	76.9*	60.0	100.0**
	5	35.7	42.9	35.7	46.2	100.0**	43.8	57.1	53.3	73.3	100.0**
	6	28.6	46.2	38.5	53.8	78.6*	50.0	76.9	57.1	53.3	85.7
	7	38.5	40.0	38.5	61.5	57.1	31.3	33.3	56.2	50.0	69.2
	8	38.5	30.8	57.1	46.2	58.3	40.0	50.0	66.7	42.9	41.7
	9	50.0	23.1	38.5	27.3	69.2	50.0	50.0	46.7	53.3	61.5
	10	46.2	50.0	50.0	41.7	38.5	31.3	60.0	46.2	57.1	42.9
2例以上の 初期死亡胎児 を有する腹率 (%)	1	0	6.7	7.7	14.3	90.9**	6.7	26.7	28.6	56.2**	100.0**
	2	6.7	0	6.7	20.0	91.7**	0	7.1	40.0*	35.7*	100.0**
	3	7.1	0	0	7.7	84.6**	6.2	21.4	26.7	33.3	100.0**
	4	0	7.1	0	21.4	91.7**	13.3	23.1	23.1	33.3	100.0**
	5	0	0	14.3	23.1	100.0**	0	21.4	26.7*	26.7*	93.3**
	6	7.1	7.7	0	30.8	50.0*	7.1	15.4	14.3	20.0	71.4**
	7	0	6.7	23.1	0	50.0*	6.2	26.7	12.5	25.0	46.2*
	8	7.7	0	7.1	0	0	0	21.4	20.0	21.4	16.7
	9	8.3	7.7	0	18.2	23.1	7.1	14.3	6.7	20.0	23.1
	10	7.7	0	0	16.7	23.1	0	13.3	15.4	14.3	14.3

*: p < 0.05, **: p < 0.01 で有意差あり

検体投与による急性的な毒性は認められず、死亡もみられなかった。また、剖検結果にも異常はみられなかった。

妊娠率は、腹腔内投与では、ほとんど対照群との差は認められなかったが、高濃度経口投与群では、幾分減少がみられた。陽性対照群 (TEM) ではいずれの投与方法でも妊娠率は低下した。

妊娠雌当たりの着床数は、陽性対照群の腹腔内及び経口投与において顕著な減少がみられたが検体投与の場合には、いずれの投与群でも影響は認められなかった。

妊娠雌当たりの初期死亡胎児数は、検体の高濃度投与群の腹腔内投与で、その増加が認められ (ただし、有意差なし)、経口投与でも同様な影響がみられた。また、経口投与による検体の中間及び高濃度投与群の5週目までに2例以上の初期死亡胎児を有する腹率が有意に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2. マウス

(1) 妊娠率、総着床数及び初期死亡胎児数

	検査項目	検体	投与量 (mg/kg/日)	週											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
腹腔内投与	妊娠率 (%)	キャブタン	0	80.0	70.0	70.0	73.3	70.0	66.6	63.3	66.6	60.0	60.0	60.0	60.0
			2.5	80.0	70.0	73.3	73.3	73.3	64.3	71.4	75.0	75.0	64.3	64.3	60.7
			5.0	63.3	70.0	73.3	60.0	60.0	60.0	66.6	0.0	70.0	60.0	63.3	60.0
			10.0	73.3	66.7	73.3	60.0	60.0	66.6	70.0	73.3	66.6	56.7	60.0	70.0
		TEM	0.05	66.6	56.7	40.0	36.7	53.3	53.3	63.3	56.7	63.3	60.0	56.7	66.7
	着床数	キャブタン	0	8.4	8.9	9.2	8.7	9.4	8.6	8.9	8.8	9.2	9.5	9.4	8.7
			2.5	8.5	9.1	9.0	9.1	9.1	9.4	9.4	9.8	9.0	9.4	9.0	8.9
			5.0	8.6	9.2	9.6	8.8	8.7	8.5	9.2	8.9	8.8	8.8	8.7	9.2
			10.0	7.9	9.0	9.1	8.8	7.9	9.2	8.9	8.7	9.1	9.3	8.9	9.1
		TEM	0.05	8.6	6.2	6.8	5.0	5.7	8.6	8.7	7.9	8.6	8.9	8.9	9.1
	初期死亡胎児数	キャブタン	0	0.33	0.38	0.43	0.41	0.33	0.30	0.37	0.25	0.50	0.39	0.39	0.44
			2.5	0.33	0.19	0.32	0.32	0.36	0.33	0.20	0.33	0.33	0.44	0.33	0.35
5.0			0.42	0.38	0.45	0.56	0.50	0.56	0.60	0.33	0.29	0.28	0.42	0.39	
10.0			0.64	0.75	0.68	0.89*	0.78*	0.65	0.67	0.48	0.40	0.41	0.50	0.38	
TEM		0.05	4.30**	3.24**	4.83**	1.64**	1.57**	1.12*	0.68	0.65	0.47	0.50	0.29	0.35	
経口投与	妊娠率 (%)	キャブタン	0	66.0	63.3	63.3	70.0	66.6	66.6	70.0	66.6	66.6	73.3	70.0	76.6
			50	73.3	66.7	63.3	70.0	70.0	73.3	70.0	66.6	66.6	70.0	80.0	75.0
			100	63.3	70.0	73.3	63.3	76.7	66.6	66.6	70.0	63.3	70.0	70.0	70.0
			200	63.3	63.3	53.3	50.0	70.0	66.6	66.6	73.3	73.3	63.3	76.7	66.6
		TEM	0.2	50.0	26.7	23.3	43.3	56.7	60.0	70.0	60.0	60.0	70.0	70.0	73.3
	着床数	キャブタン	0	9.5	8.4	8.3	9.1	8.8	8.7	9.1	8.5	8.5	8.8	9.0	8.9
			0	8.7	8.8	8.5	8.3	8.2	8.0	7.8	8.8	9.2	9.0	8.6	8.4
			100	9.0	8.0	8.5	9.3	8.7	9.1	8.7	8.8	8.8	9.2	8.2	8.6
			200	8.9	8.0	8.7	9.1	8.3	8.2	8.7	8.7	8.1	8.7	8.1	8.7
		TEM	0.2	7.1	6.9	5.9	6.7	6.8	6.6	8.3	8.1	7.6	8.7	7.5	7.7
	初期死亡胎児数	キャブタン	0	0.40	0.37	0.37	0.33	0.40	0.45	0.38	0.40	0.45	0.45	0.43	0.43
			50	0.50	0.45	0.37	0.29	0.43	0.45	0.38	0.35	0.45	0.38	0.46	0.48
100			0.63	0.76**	0.55	0.53	0.52	0.30	0.45	0.33	0.53	0.57	0.57	0.48	
200			0.95*	0.84**	0.86	0.87	0.62	0.45	0.55	0.27	0.55	0.53	0.48	0.60	
TEM		0.2	4.13**	4.75**	3.86**	3.23**	1.76**	1.72**	0.76	0.94**	0.89	1.10	0.67	0.62	

* : p < 0.05, ** : p < 0.01 で有意差あり

(2) 1例以上及び2例以上の初期死亡胎児を有する同腹率

	週	腹腔内投与 (mg/kg/日)					経口投与 (mg/kg/日)				
		キャプタン				TEM	キャプタン				TEM
		0	2.5	5.0	10.0	0.05	0	50	100	200	0.2
1例以上の 初期死亡胎児 を有する腹率 (%)	1	33.3	33.3	42.1	45.5	100.0**	40.0	50.0	52.6	68.4	100.0**
	2	38.1	19.0	33.3	60.0	100.0**	36.8	45.0	66.7	63.2	100.0**
	3	38.1	31.8	45.5	50.0	100.0**	31.6	36.8	50.0	50.0	100.0**
	4	31.8	31.8	50.0	66.7	81.8*	33.3	28.6	47.4	53.3	100.0**
	5	33.3	31.8	33.3	55.6	78.6*	40.0	42.9	52.2	47.6	100.0**
	6	30.0	33.3	33.3	50.0	56.2	45.0	40.9	30.0	45.0	100.0**
	7	36.8	20.0	55.0	47.6	52.6	38.1	33.3	40.0	45.0	52.4
	8	25.0	33.3	33.3	42.9	52.9	35.0	35.0	23.8	27.3	72.2*
	9	38.9	33.3	28.6	40.0	36.8	45.0	45.0	47.4	40.9	50.0
	10	38.9	44.4	27.8	35.3	50.0	40.9	38.1	47.6	47.4	61.9
	11	38.9	33.3	31.6	50.0	29.4	42.9	45.8	47.6	39.1	52.4
	12	44.4	35.3	33.3	38.1	35.0	43.5	47.6	42.9	45.0	47.6
2例以上の 初期死亡胎児 を有する腹率 (%)	1	0	0	0	13.6	90.0**	0	0	10.5	26.3*	93.3**
	2	0	0	4.3	15.0	94.1**	0	0	9.5	21.1	100.0**
	3	4.8	0	0	18.2	100.0**	5.3	0	4.5	25.0	100.0**
	4	9.1	0	5.6	16.7	54.5**	0	0	5.3	33.3	92.3**
	5	0	4.5	16.7	22.2*	50.0**	0	0	0	9.5	58.8**
	6	0	0	16.7	15.0	37.5**	0	4.5	0	0	61.1**
	7	0	0	5.0	19.0	15.8	0	4.8	5.0	10.0	23.8*
	8	0	0	0	0	11.8	5.0	0	9.5	0	22.2
	9	11.1	0	0	0	10.5	0	0	5.3	13.6	33.3**
	10	0	0	0	5.9	0	4.5	0	9.5	5.3	42.9**
	11	0	0	10.5	0	0	0	0	9.5	8.7	14.3
	12	0	0	5.6	0	0	0	0	4.8	15.0	14.3

*: p < 0.05、** : p < 0.01 で有意差あり

検体投与による急性的な毒性は認められなかったが、検体の2.5 mg/kg/日（腹腔内）投与群及び50 mg/kg/日（経口）投与群で各々1例の死亡がみられた。剖検結果に異常はみられなかった。

妊娠率は、検体の投与方法によっては、ほとんど影響を受けなかった。陽性対照群の場合、腹腔内投与では、幾分かの低下がみられたが、経口投与の場合には、特に最初の5週間で著しい減少が認められた。

妊娠雌当たりの着床数には、検体投与による影響は認められなかったが、陽性対照群では両投与方法において減少がみられた。

妊娠雌当たりの初期死亡胎児数の増加が検体の腹腔内高濃度投与群に認められた。しかし、これは4及び5週目においてのみの有意な増加であった。また、経口投与の場合には、中間及び高濃度投与群の最初の2週間に有意な増加がみられた。一方、陽性対照群の場合には、両投与方法とも最初の6週間に有意な増加がみられた。

検体の腹腔内及び経口投与群において、1例以上の初期死亡胎児を有する腹率に有意

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

な増加は認められなかったが、2例以上有する腹率には高濃度腹腔内投与の5週目に、また、高濃度経口投与の1週目に有意な増加がみられた。

以上の結果から、本剤は、ラットとマウスにおいて優性致死誘発性を有しないと判断されるが、両動物種において、腹腔内投与及び経口投与で初期死亡胎児数の増加がみられた。

なお、本剤を両動物種に経口投与した時の最大無作用量はともに50 mg/kg/日であると判断される。

申請者註

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

マウスにおける優性致死試験

(資料No. MU-5)

試験機関：

報告書作成年：1977年

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： Charles River系マウス、1群雄15匹

試験期間： 8週間

方 法： 検体を500、3,000及び7,000 ppm濃度となるように飼料に混入し、8週間投与した。対照群には基礎飼料のみを与え陽性対照群には、Methylmethane-sulfonate (MMS) の1,000 ppm混入飼料を与えた。

検体投与8週間後、投与を中止し、各々3匹の雌と同居させた。1週間後、雌を取り出し、新たに3匹の未交尾雌を与えた。この操作を8週間継続した。

全ての雌に対し同居開始後14日目に帝王切開を実施した。

試験項目： 雄動物について一般状態、生死を観察した。検体投与期間に体重、飼料摂取量を測定し、授精率を検査した。

また、全雄動物の精巢を肉眼的に検査した。

雌動物については、受精率、黄体数、着床数、吸収胚数を調査した。

さらに、上記検査値を基に変異原性率を算出した。

結 果：

投与群 (ppm)		0	陽性対照 (MMS) 1,000	検 体			
				500	3,000	7,000	
雄 動 物	1群当り動物数	15	15	15	15	15	
	一般状態	異常なし	異常なし	異常なし	1例に腸周辺の膨満が観察され24時間以上にわたり顕著な体重減少が認められたがじきに消失	1例に軽い脱毛 3例の陰茎と包皮に炎症、浮腫有	
	死亡率 (%)	0	6.7	0	0	0	
	体重変化 (g)	4	3	4	3	1	
	飼料摂取量 (g)	6.6	6.5	6.5	6.6	6.4	
	受精率 (%)	90.8	91.1	86.7	91.7	90.8	
雌 動 物	1群当り動物数	357	338	360	360	360	
	受精率 (%)	62.5	66.9	57.8	68.3	64.7	
	黄体数	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5	
	着床数	11.9	11.7	12.1	12.1	12.3	
	吸収 胚数	初期吸収数	0.59	1.01	0.64	0.65	0.74
		後期吸収数	0.13	0.06	0.13	0.11	0.11
	生存胎仔数	11.2	10.6	11.4	11.4	11.4	
突然変異率 (%)	*1 A	5.0	8.7	5.3	5.3	6.0	
	B	*2 a	-	4.0	5.2	-12.0	-6.7
		*3 b	3.8	8.4	0.4	1.6	0.9

*1 $\frac{\text{初期吸収胚数}}{\text{着床数}} \times 100$

*2 $\frac{\text{本試験における対照群の生存胎児数} - \text{検体投与群の生存胎児数}}{\text{本試験における対照群の生存胎児数}} \times 100$

*3 $\frac{\text{累積対照群の生存胎児数} - \text{検体投与群の生存胎児数}}{\text{累積対照群の生存胎児数}} \times 100$

(週毎の平均値の平均)

<雄動物>

検体の3,000 ppm投与群の1例に腸周辺部の膨満がみられたが、3日以内に消失した。また、7,000 ppm投与群の1例に2週間にわたるわずかな粗毛がみられ、3例の陰茎及びその包皮に炎症及び浮腫がみられたが、検体投与による影響とは考えられなかった。体重変化においては、7,000 ppm投与群において増加抑制が認められたが、飼料摂取量においては、異常はみられなかった。受精率においても異常は認められなかった。精巢の肉眼的検査でも検体投与によると思われる影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

<雌動物>

受精率、黄体数、着床数、初期/後期吸収胚数、生存胎児数に異常は認められなかった。

<突然変異率>

7,000 ppm投与群で着床数に対する初期吸収胚数の比率が増加したが、検体投与の影響とは考えられなかった。

生存胎児数に基づく変異率には全く異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤は優性致死誘発性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

マウスを用いたポリジーン繁殖性試験

(資料No. MU-6)

試験機関：

報告書発表年：1972年

投稿誌：Toxicology and Applied

Pharmacology 23, 27-287 (1972)

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： DBA/2J系マウス、1群雄110匹程度（11週齢）、雌215～224匹

投与期間： P世代成熟雄に5日間投与

投与方法： 交配直前の雄各群110匹に検体を各々50、100 mg/kg/日の用量で、陽性対照としてTEM（トリエチレンメラミン）を0.1 mg/kg/日の用量で、強制経口投与した。溶媒はCMC（カルボキシメチルセルロース）で対照群にはCMCのみを投与した。

方法及び検査項目：概要は次頁の表にまとめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

世代	期間 (日)	作業手順	試験項目
P	生育 (5日)	11週齢の雄に所定量の検体を強制経口投与。	
	交配 (最長21日)	検体投与雄と無投与雌を1:1で交配。	
	妊娠 (記載なし)		
	出産		
F ₁	哺育 (記載なし)		出産状況の観察。 出産児数、死産児数を検査。 個体別体重を測定。
	離乳		1週間毎に体重を測定。 哺育4、21日目に生存率を算出。
	生育 (記載なし)		
F ₂	交配 (記載なし)	同群の雌雄 (非同腹児) を1:1で2回交配 (2出産)。	P世代に準ずる。
	妊娠		
	出産		
	哺育		
F ₂	離乳		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

世 代		親：P 児：F ₁				親：F ₁ 児：F _{2a} 、F _{2b}						
投与群 (mg/kg/日)		対照群	キャプタン		陽性対照 TEM 0.1	投与群 (mg/kg/日)	対照群	キャプタン		陽性対照 TEM 0.1		
			50	100				50	100			
動物数	雄	各群とも110匹程度				雄	1回目	200	201	200	200	
						雄	2回目	172	172	164	156	
	雌	215	218	224	220	雌	1回目	200	201	200	200	
						雌	2回目	172	172	164	156	
見 動 物	*1 出産率 (%) (繁殖指標)		87.0	84.9	83.5	78.6+	a	86.0	87.6	82.0	78.0	
							b	87.2	84.9	82.3	74.4+-	
	生存出産児数 (妊娠雌当り平均)		4.91	4.78	5.02	4.90	a	5.21	5.04	5.69+	5.00	
							b	5.39	5.45	5.29	5.10	
	生存出産児率 (%)		98	96+	94++	89+-	a	96	98	97	93-	
							b	99	97	97	96-	
	4日後生存児数 (妊娠雌当り平均)		4.16	4.03	3.76	3.27+	a	4.47	4.26	4.13	3.61+-	
							b	4.53	4.60	4.19	3.93+	
	*3 4日後生存児率 (%)		85	84	75-	67+-	a	86	84	73+	72++	
							b	84	85	79	77-	
	21日後生存児数 = 離乳児数 (妊娠雌当り平均)		3.99	3.91	3.52	3.11++	a	4.24	4.14	3.93	3.53+	
							b	4.42	4.48	4.01	3.78+	
	*3 21日後生存児率 = 離乳児率		96	97	94	95	a	95	97	95	98	
							b	98	97	96	96	
	離乳児平均体重 (g)						a	雄	10.5	10.3+-	9.8+-	9.7+-
								雌	9.8	9.9	9.5+-	9.2+-
						b	雄	10.3	10.2	10.3	9.8+	
							雌	9.9	9.9	10.0	9.5+	

両側t検定 +: p<0.05で有意差あり、++: p<0.01で有意差あり

*1. 出産率：
$$\frac{\text{出産雌数}}{\text{交配雌数}} \times 100$$

*2. 4日後生存児率：
$$\frac{\text{4日後生存児数}}{\text{生産仔数}} \times 100$$

*3. 21日後生存児率：
$$\frac{\text{21日後生存児数}}{\text{4日後生存児数}} \times 100$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

検体の両投与群で出産率、21日後生存児率（離乳児率）には、異常は認められなかったが、両投与群のF₁世代の生存出産児率、100 mg/kg/日投与群の両世代（F₂世代の第2産児を除く）の4日後生存児率に有意な低下が認められた。

100 mg/kg/日投与群F_{2a}世代の生存出産児数に有意な増加が認められたが、F_{2b}世代で同様の傾向が見られなかったため偶発的な所見と考えられた。

また。離乳児体重においては、F₁世代の両投与群で、F₂世代では50 mg/kg/日投与群の第1産児雄と、100 mg/kg/日投与群の第1産児雌雄で有意な減少が認められた。

陽性対照群においては、出産率、生存出産児率、4日後生存児率、21日後生存児率、離乳児体重全てにおいて、両世代で有意な減少が認められた。

以上のように本剤投与の結果、陽性対照TEMとの比較では軽度のものであったが、受精能力の低下と児の成育阻害が認められたことより、本剤は、変異原性物質である可能性が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

マウスの体細胞を用いた特定座位試験

(資料No. MU-7)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度： 原体（ 純度 ）

試験動物： T系雄マウス、C57B1/6J系雌マウス（12～14週齢）、1群雌106匹（ただし陰性対照群は105匹、陽性対照群は53匹）

試験期間： 妊娠期間5日間

方 法： 2匹の雌と1匹の雄を同居、交配させ、膣栓の確認された日を妊娠1日として、分離飼育した。各投与群で膣栓を確認された動物が100匹以上となるまで交配を継続した。妊娠8～12日目まで検体を、0、100、1,000、5,000 ppmとなるように混合した飼料を自由に摂食させ、13日以降は基礎飼料のみを与えた。

なお、陽性対照群については、膣栓の確認が50匹以上となるまで交配させ、妊娠10日目に、エチルニトロソ尿素を50 mg/kgの用量で腹腔内投与した。

検査項目： 親動物の体重変化（妊娠8及び12日目に測定）、飼料摂取量を測定し、妊娠率を検査した。出産児数、出産後12日目までの生存率を検査し、外表奇形検査を実施した。体細胞突然変異誘発性を調べるため、被毛を検査した。

結 果：

	投与群 (ppm)	0	100	1,000	5,000	陽性対照 ENU 50 mg/kg
		動物数	105	106	106	106
親動物	体重変化 (g)	0.8	0.8	0.5	-0.3	-
	摂餌量 (g)	11.2	12.1	11.7	8.8	-
	検体摂取量 (mg/kg/日)	0	54	523	2,095	-
	妊娠動物数 (%)	51 (49)	50 (47)	52 (49)	51 (48)	26 (49)
児動物	出産児数	5.8	6.0	5.6	6.3	5.5
	出産後12日目までの生存数 (%)	275 (93)	294 (97)	278 (95)	308 (96)	134 (94)
	外表奇形	臍部肉腫 …2例 尾部彎曲 …1例	臍部肉腫 …2例	異常なし	唇底部欠除 …1例	異常なし
	被毛検査	腹部中央の白色斑 (WMVS) 発生数*1 (%)	3 (1.1)	7 (2.4)	9 (3.2)	9 (2.9)
劣性斑 (RS) 発生数*1 (%)		8 (2.9)	13 (4.4)	6 (2.2)	6 (1.9)	26 (19.4) **

$$*1 : \frac{\text{WMVSまたはRS発生数}}{\text{出産後12日目の生存児数}} \times 100$$

Fisher's exact test * : $p \leq 0.0002$ 、** : $p \leq 0.0001$ で有意差有

<親動物>

検体の5,000 ppm投与群で若干の体重減少と摂餌量の減少がみられたが、統計学的な有意差はみられなかった。

<児動物>

出産児数、出産後12日目までの生存率に異常は認められなかった。

また、外表奇形検査では、100 ppm投与群で臍部肉腫が2例、5,000 ppm投与群で唇底部欠除が1例観察されたが、検体投与による影響とは考えられなかった。

<被毛検査>

腹部中央の白色斑発生頻度、劣性斑発生頻度いずれにおいても対照群と比較して統計学的な有意差は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠マウスに投与した時の母体における最大無作用量は、1,000 ppm (523mg/kg/日) と判断される。また、本剤は、体細胞突然変異を誘発しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(資料No. MU-8)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

農業用殺菌剤、キャプタンのマウス骨髄及び精巢細胞における細胞遺伝的作用

(資料No. MU-9)

試験機関：

投稿雑誌：Einvironmental Reserch

投稿発表年：1987年

1. マウス骨髄細胞における小核試験

検体の純度： キャプタン原体（純度 ）

Tween 40（陰性対照）

Bis-A-TPA（陽性対照）

試験動物： マウス（雌雄不明）、1群5匹（5用量群、陰性及び陽性対照群）

方 法： キャプタン原体10、50、100、400、800 mg/kg、Bis-A-TPA 200 mg/kg及び4.1%Tween 40 20mg/kgをマウスに強制経口投与し、30時間後に動物を屠殺し、Schmid（1975）に従って骨髄細胞を処理した。

結 果： キャプタン誘導によるマウス骨髄細胞の多染性赤血球の小核

投与量 (mg/kg)	動物数	評価した 細胞数	小核を持つ PCEの数	割 合 (%)	統 計 <i>P</i>
キャプタン 10	5	5,000	19	3.9	> 0.05
50	5	5,000	31	6.2	> 0.05
100	5	5,000	58	11.6	< 0.01
400	5	5,000	67	13.4	< 0.01
800	5	5,000	112	22.4	< 0.01
Bis-A-TPA 200	5	5,000	67	13.4	< 0.01
Tween 40 20	5	5,000	21	4.3	

PCE：多染性赤血球

2. マウス骨髄細胞における染色体異常試験

検体の純度： キャプタン原体（純度 ）

Tween 40（陰性対照）

ベンゼン（100%）（陽性対照）

試験動物： マウス（雌雄不明）、1群3~7匹（5用量群、陰性及び陽性対照群）

方 法： キャプタン原体100、400、600、800、1,000 mg/kg、ベンゼン 1.5 mg/kg、及びTween 40 20 mg/kgをマウスに強制経口投与し、6時間後に屠殺し、Xu and Wang（1979）の方法に従って処理した。

結 果： マウス骨髄細胞に対するキャプタンの染色体異常

投与用量 (mg/kg)	動物 数	評価 した 細胞数	ギ ャ ッ プ	染色体異常					統 計 <i>P</i>
				染色分 体切断	切 断	リング	総 数	%	
キャプタン 1,000	5	500	12	8	4	1	13	2.6	<0.01
800	7	700	10	6	5	2	13	2.6	<0.01
600	5	500	2	8	1	1	10	2.0	<0.01
400	5	500	4	5			5	1.0	<0.05
100	5	500	1	2			2	0.4	>0.05
ベンゼン 1.5	3	300	5	6	2	2	10	3.34	<0.01
Tween 40 20	6	600	1	1			1	0.16	

3. マウス精巣における染色体異常試験

検体の純度： キャプタン原体（純度 ）

Tween 40（陰性対照）

試験動物： 雄マウス、1群5匹（6用量群、陰性対照群）

方 法： キャプタン原体 10、50、100、400、800、1,000 mg/kg（精母細胞のみ）、及びTween 40 20 mg/kgをマウスに5日間強制経口投与し、最終投与の6時間後、コルヒチン6 mg/kgを腹腔内投与した2時間後に屠殺し、Evantsら（1964）及びMeredith（1969）の方法に従って精巣を処理した。

結 果： キャプタン誘導のマウス精原細胞の染色体異常

投与用量 (mg/kg)	動物 数	評価 した 細胞数	ギ ャ ッ プ	異常細胞				統 計 <i>p</i>
				二動原 体断裂	転 移	総 数	%	
キャプタン 800	5	500	10.5	11.0	2.0	13	2.6	<0.01
400	5	500	1.0	6.0	0	6	1.2	>0.05
100	5	500	1.5	2.5	0	2.5	0.5	>0.05
50	5	500	1.5	2.0	0	2.8	0.4	>0.05
10	5	500	1.0	1.5	0	1.5	0.3	>0.05
Tween 40 20	5	500	2.0	2.0	0	2.0	0.4	

キャプタン誘導のマウス初期精母細胞における相互転移及び断裂

投与用量 (mg/kg)	動物 数	評価 した 細胞数	異常の種類					統 計 <i>P</i>	
			断 裂	4価の リング	他の 種類	異常の 総数	%		
キャプタン 1,000	5	500	13.5	0.5	0	14	2.8	<0.01	
800	5	500	10.0	2.5	1.0	13.5	2.7	<0.01	
400	5	500	10.0	3.0	0.5	13.5	2.7	<0.01	
100	5	500	10.0	1.5	0	11.5	2.3	<0.05	
50	5	500	10.0	1.0	0	11.0	2.2	<0.05	
10	5	500	3.5	0	0	3.5	0.7	>0.05	
Tween 40	20	5	500	2.5	0	0	2.5	0.5	

4. 精子の形態試験

検体の純度： キャプタン原体（純度 ）

Tween 40（陰性対照）

シクロfosファミド（CP）（陽性対照）

試験動物： 雄マウス、1群5匹（3用量群、陰性及び陽性対照群）

方 法： キャプタン 50、200、800 mg/kg、及びTween 40 20 mg/kg、CP 40 mg/kgをマウスに5日間強制経口投与し、初回投与の35日後に屠殺し、Wyrobek及びBruceら（1978）の変法に従って処理した。

結 果：

投与用量 (mg/kg)	動物 数	評価 した 精子数	精核の異常		統 計 <i>P</i>
			数	%	
キャプタン 800	5	5,000	82	1.64	<0.01
200	5	5,000	73	1.46	<0.05
50	5	5,000	65	1.30	>0.05
CP 40	5	5,000	251	5.02	<0.01
Tween 40 20	5	5,000	41	0.82	

全体の考察：

実験結果より、キャプタンはマウスの骨髄細胞及び精巣に対して明らかに変異原性を示した。骨髄の多染性赤血球に小核が100 mg/kg以上で見られたのに対し、染色体異常は400 mg/kg以上で見られたことはメカニズムが異なることを示唆しているとともに、小核が染色体よりも感度が高いことを示した。800 mg/kgの用量で精原細胞の異常が認められているが、精母細胞では50～1,000 mg/kgで認められており、精子の形態学的検査では200 mg/kg以上に異常が認められた。このことは精母細胞がもっとも感度が高いことを示唆している。

以上、骨髄細胞、精原細胞及びリングの形成を伴う染色体異常は、600 mg/kg以上の用量で認められたが、精母細胞はこれらと異なり、50 mg/kg以上でリングの転移が認められた。これらの所見はキャプタンの遺伝毒性を分類する上で重要である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

申請者注