

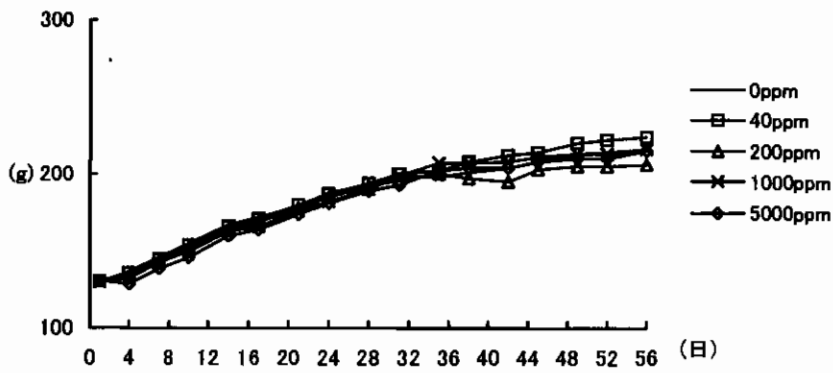
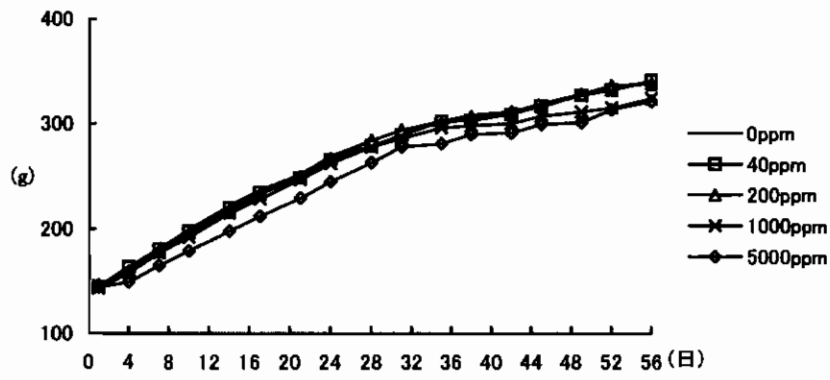
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(毒性資料 No. 原体-58)

試験機関：

報告書作成年：1986年 [G L P 対応]

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



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

雄の摂餌量推移

雌の摂餌量推移

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

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

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

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

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

(毒性資料 No. 原体-59)

試験機関：

報告書作成年：1986年

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

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

(毒性資料 No. 原体-60)

試験機関：

報告書作成年：1986 年

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

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

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

(毒性資料 No. 原体-61)

試験機関：

報告書作成年：1986年

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

(毒性資料 No. 原体-62)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

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

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

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

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

2. 代謝物

2-1.

(1) 急性毒性及び皮膚感作性

を用いたラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -1)

試験機関

報告書作成年 1984年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Wistar ラット(Hoe: WISKf)、投与時体重：雄 191～219 g、雌 186～212 g)、
1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

投与方法：検体を脱イオン水で溶解し25w/v%液を調製し、投与容量を変えて各投与群のラットに単回経口投与した。投与前に一晩絶食した。用量設定試験の結果から投与量は1250～5000 mg/kgとした(投与容量：5～20 mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。体重を投与前並びに投与後7及び14日に測定した。死亡動物及び観察期間終了時のすべての生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雄：1250, 2000, 2500, 3150, 5000 雌：1250, 1600, 2000, 3150
LD ₅₀ (mg/kg) (プロビット法により算出)	雄：2840 雌：1900
死亡開始時間及び終了時間	雄：投与23分～2日後 雌：投与1日～3日後
症状発現時間及び消失時間	雄：投与10分以内～6日後 雌：投与10分以内～7日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：1250

雌雄共、全投与群で症状があらわれ、早い個体では投与後10分以内から活動低下や歩行異常がみられた。中、高用量群では呼吸異常、うずくまりがみられ、重篤な個体が死亡した。また症状は遅くとも1週間には消失した。

死亡動物に対する剖検では、消化管内に血液が混ざった内容物や副腎の暗色化、肺のうっ血等を観察した。これら所見は通常の急性毒性試験での死亡動物にみられるもので検体特有の所見ではないと考えられた。

また生存動物について、7日後の増体重には影響はみられず、また14日後の肉眼的病理検査においては特記すべき所見はみられなかった。

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

を用いたマウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -2)

試験機関

報告書作成年 1988年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：NMRI マウス (Hoe: NMRKf)、約 4 週齢 (投与時体重：雌雄 18~21 g)、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 2%澱粉含脱イオン水に懸濁してこれを単回経口投与した。投与前に一晩絶食した。投与量は 2000~4000 mg/kg とした (投与容量：10 mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。なお雄 4000 mg/kg 群の 1 例については症状が 14 日後でもみられたため、21 日後まで観察を続けた。

死亡動物及び観察期間終了時のすべての生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雄：2500, 3150, 4000 雌：2000, 3150, 4000
LD ₅₀ (mg/kg) (プロビット法により算出)	雄：3050 雌：3070
死亡開始時間及び終了時間	雄：投与 2 時間~5 日後 雌：投与 4 時間~10 日後
症状発現時間及び消失時間	雄：投与 10 分以内~(21 日以降) 雌：投与 10 分以内~10 日後
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：< 2500 雌：< 2000

雌雄共、全投与群で症状があらわれ、早い個体では投与後 10 分以内から活動低下やうずくまり、立毛、呼吸不整、歩行異常等がみられた。症状は投与日に最も強くあらわれ重篤な個体は死亡した。死亡は早い個体では投与後 2 時間からみられ、死亡の多くは投与翌日までに生じたが、最長 10 日後まで散見した。死亡動物に対する剖検では、消化管内に血液が混ざった内容物や各臓器の褪色等を観察した。しかしこれら所見は通常の急性毒性試験での死亡動物にみられるもので検体特有の所見ではないと考えられた。

生存動物でみられた症状は概ね投与後数日以内に消失したが、雄 4000 mg/kg 群の 1 例については 21 日後でも呼吸数増加と触反応過敏が観察された。しかし、生存動物の 7 日後の増体重には影響はみられず、また 14 日後の肉眼的病理検査においても特記すべき所見はみられなかった。

を用いたモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -3)
試験機関
報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Pirbright-White 雌モルモット (Hoe: DHPK)、約 10 週齢、体重：221～369 g、感作群 20 匹、無感作群 10 匹 (他に非刺激濃度設定のため 6 匹、皮内注射濃度設定のため 3 匹、惹起濃度確認のため 5 匹を使用)

観察期間：約 24 日間

試験方法：Maximization 法

適用濃度の設定根拠：

皮内注射：生理食塩水にて検体の 0.2, 1 及び 5%液を調製。3 匹について剪毛・剃毛した背部に皮内注射 (0.1 mL/部位) した。その結果、5%液でじくじくした傷口と壊死が生じた。1 及び 0.2%液では注射部位に軽度ながら明らかな発赤と浮腫を観察した。よって、皮内注射による感作濃度は 1%とした。

皮膚適用：生理食塩水にて検体の 5, 20 及び 50%液を調製。各 2 例を用いて剪毛・剃毛した背部 (2×2 cm) に 0.5 mL を 24 時間閉塞適用した。適用開始時から 48 時間 (除去後 24 時間) に適用部位の皮膚反応を評価した結果、50%液でも皮膚反応はみられなかった。よって皮膚適用の感作濃度は 50%とした。さらに本試験の惹起 1 週前に無感作群動物と同様の処理がなされた 5 匹について 50%液を適用したところ、とくに皮膚反応がみられなかったことを確認した。

感作 (皮内注射)：背部及び側腹部を剪毛・剃毛し、下記の 3 種の調製液について 3 対の皮内注射 (0.1 mL/部位) を行った。

- 感作群
- 1) Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液 (前背部両側)
 - 2) 検体の 1%液 (生理食塩水で調製した溶液) (中背部両側)
 - 3) 検体の 1%液 (Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液で調製した懸濁液) (後背部両側)
- 無感作群
- 1) Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液 (前背部両側)
 - 2) 生理食塩水 (中背部両側)
 - 3) Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合物 (後背部両側)

感作 (局所適用)：皮内注射後 7 日 (感作前日) に再度剪毛・剃毛した。感作当日、皮内注射部位の上に検体の 50%液の 0.5 mL を閉塞適用し、そのまま 48 時間経過させた。無感作群動物には生理食塩水のみを 48 時間閉塞適用した。

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

惹起：最終感作の2週間後（皮内注射3週後）、惹起前日に両側腹部を剪毛・剃毛した。惹起当日に検体の50%液の0.5 mLを左側腹部に24時間閉塞適用した。また対照として右側腹部に生理食塩水のみを適用した。

観察項目：惹起開始から48及び72時間（除去後から24及び48時間）に適用部位を肉眼的に観察し、紅斑・腫脹について Draize の判定基準に準じて採点した。試験開始時（皮内注射を行った日）及び観察期間終了時に体重を測定した。

結果：

一般状態：感作群および無感作群動物共に、外徴及び行動に特記すべき所見はみられなかった。また、増体重についても特記すべき所見はみられなかった。わずかに Freund' s Complete Adjuvant の皮内注射後の適用部位に検体の有無に係らずに発赤及び浮腫、痂皮等を散見した。

皮膚観察：惹起開始後の各観察時間における皮膚変化が認められた動物数を下表に示す。

群	供試動物数	所見	皮膚反応動物数										陽性動物数 (%)
			48 時間					72 時間					
			皮膚反応評点					皮膚反応評点					
0	1	2	3	4	0	1	2	3	4				
感作	20	発赤	19	1	0	0	0	19	1	0	0	0	2 (10%)
		浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	
無感作	10	発赤	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0 (0%)
		浮腫	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	

結果にみられるように、惹起開始後48及び72時間の観察で感作群の各1例に軽微な発赤を観察した。最終的に陽性を示した動物は感作群で20例中2例であり陽性率は10%であった。当施設での判定基準（無感作群の陽性率を30%上回った場合、陽性とする）から、本検体の感作性はないと考えられる。

以上、 のモルモットに対する皮膚感作性は陰性と考えられる。

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

(2) 亜急性毒性

を用いたラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -4)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Wistar ラット (Hoe: WISKf)、投与開始時 約 5 週齢、体重：投与開始時 雄 84~109 g、雌 92~128 g、主群雌雄各 10 匹、回復群各 10 匹 (対照、中及び高用量群のみ)

投与期間：13 週間 (1987 年 8 月~11 月)

投与方法：検体を 0, 400, 1600 及び 6400ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。回復群については 13 週にわたり同様に投与した後、4 週の休薬期間を設けた。飼料は 4 週毎に調製した。

用量設定の根拠：

観察・検査項目及び結果：

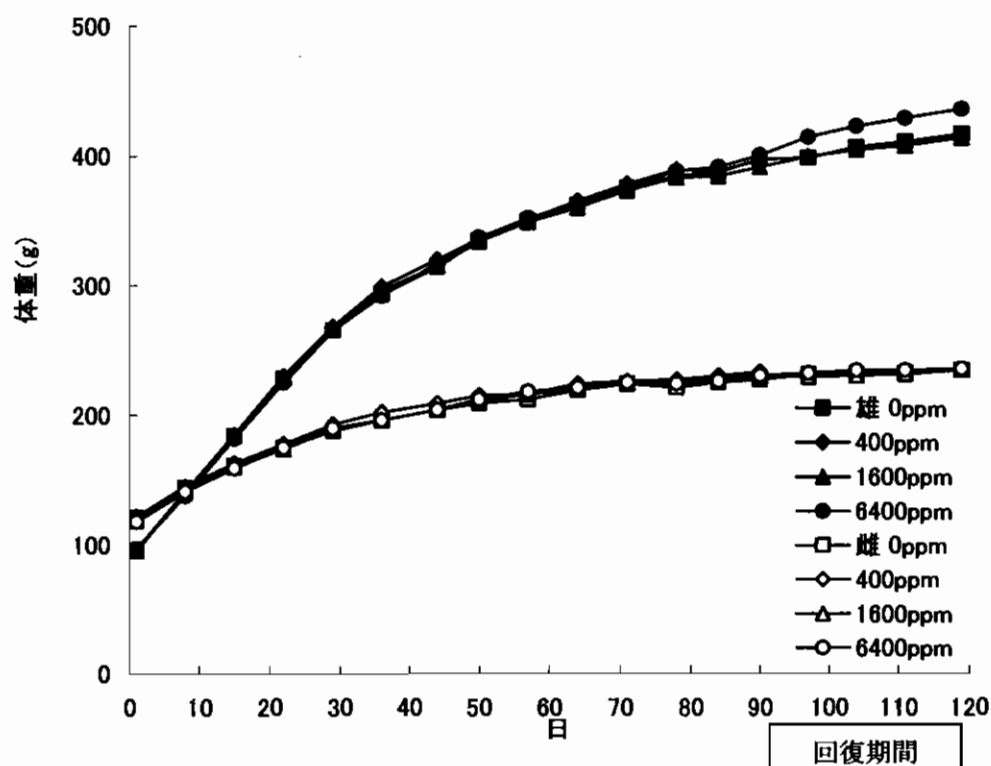
一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、行動及び神経学的項目を含む詳細な症状観察を週 1 回行った。

観察期間を通じて、雌雄各投与群において外徴や行動の変化を認めなかった。また、試験期間を通じて死亡は観察されなかった。

体重：試験期間中は週一回すべての生存動物の体重を測定した。

平均体重の推移を図 1 に示した。

図1. 体重推移



試験期間を通じて雌雄各投与群共、対照群と変わらない体重推移を示した。雄については6400ppm群で回復期間に入って体重増加傾向がみられたが、これは6400ppm群の回復群動物が対照群のそれに比べてやや高値であったことによるもので投与には関連しない変動であった。増体重についても各投与群共に有意な変動は認められなかった。

摂餌量：試験期間を通じて毎週、摂餌量を記録した。

雌雄各投与群において摂餌量に変動はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		400	1600	6400
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	33.5	126.9	545.5
	雌	36.4	140.5	569.5

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

飲水量：試験期間を通じて毎週、飲水量を記録した。

表 2 に対照群と比較して統計学的有意差を認めた結果を示す。

表 2. 飲水量 (体重当り)

	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	400	1600	6400	400	1600	6400
投与 4 週			↓ 91			
5 週						↓ 78
9 週						↓ 86
10 週			↓ 84			
11 週						↓ 77
回復 1 週	—	↑ 117		—		

↓ ↑ : p<0.05 (Dunnett 検定または Sidak 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

雌雄共に 6400ppm 群で投与期間中に飲水量の統計学的に有意な減少を散見した。しかしながら他に関連するような変動や全身的影響がみられなかったことから、この飲水量の減少については毒性学的影響とは捉えられなかった。

血液学的検査：投与 13 週後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象として眼窩静脈叢から採血し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網状赤血球数、メトヘモグロビン、ハインツ小体、白血球数、白血球分画、血小板数、血液凝固時間、トロンボプラスチン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、トロンビン時間

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について次表に示す。

表 3. 血液学的検査

検査項目		投与量 (ppm)			
		雄			雌
		400	1600	6400	400
赤血球数	投与 13 週			↓ 95	
網状赤血球数	投与 13 週		↑ 130	↑ 125	
	回復 4 週	—	↑ 127		—

↓ ↑ : p<0.05 (Dunnett 検定または Sidak 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

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

投与 13 週後の検査で雄の 6400ppm 群で赤血球数の減少、1600ppm 以上の投与群で網状赤血球数の増加を統計学的に有意に認めた。しかし、赤血球数については対照群の 95%であり、網状赤血球数については明らかな用量相関性がみられなかったこと、さらに病理学的検査も含めて他に関連した所見がみられていないことから、いずれの所見共、偶発的な所見あるいは検体投与との関連があるとしても毒性学的意義は低いと考えられた。

回復 4 週後の雄 1600ppm 群で網状赤血球数の増加を統計学的に有意に認めた。しかし用量相関性はみられず偶発的な変動と考えられた。

以上、本検体の血液に対する毒性学的影響は乏しいと思われる。

生化学的検査：血液学的検査と同様に採取した血液から得られた血漿または血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール、中性脂肪、クロル、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、ALP、 γ -GTP、LDH、総蛋白、総脂質、血清蛋白分画 (電気泳動：アルブミン、グロブリン(α_1 G、 α_2 G、 α_3 G、 β_1 G、 γ_1 G)、A/G)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 4 に示す。

表 4. 生化学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		400	1600	6400	400	1600	6400
LDH	投与 13 週					↑ 159	
α_1 G	投与 13 週			↓ 64		↓ 77	
	回復 4 週	—	↑ 223		—	↑ 123	↑ 122
α_2 G	回復 4 週	—	↑ 193		—		
α_3 G	投与 13 週					↑ 123	
β_1 G	投与 13 週					↑ 139	
	回復 4 週	—	↓ 66	↓ 46	—		
γ_1 G	投与 13 週					↑ 139	
A/G	回復 4 週	—		↑ 128	—		

↓ ↑ : p<0.05 (Dunnett または Sidak 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

基質、酵素及び電解質においては雌雄各投与群共に投与に関連した変動は全く認められなかった。わずかに投与 13 週後の検査において雌 1600ppm 群で LDH の増加が統計学的有意にみられたが、用量相関性はみられないことから

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

偶発的な変動と思われた。

電気泳動による血清蛋白分画では各成分について統計学的に有意な増減を散見した。しかし、用量相関性がみられない、あるいは回復4週後にみられるが投与13週後にみられない、投与13週後の総蛋白及びA/Gには変動がみられない、との理由から、血清蛋白分画でみられた変動はいずれも偶発的な所見あるいは検体投与との関連があるとしても毒性学的意義は低いと考えられた。

尿検査：投与12週時に主群及び回復群動物、回復3週時に回復群動物を対象として16時間尿を採取し、以下の項目を測定・検査した。（半定量的検査においては400ppm群、沈渣の鏡検においては400及び1600ppm群は実施しなかった。）

外観、色調 [目視]、尿量 [以上、定量的検査]、pH、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノゲン、亜硝酸 [以上、半定量的検査]、沈渣（赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶） [鏡検]

半定量的検査において対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表5に示す。

表5. 尿検査—半定量的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		0	1600	6400	0	1600	6400
pH (実測値)	投与12週	6.5	6.5	↓6.1	6.2	6.0	6.0
	回復3週	6.1	6.0	5.9	6.0	6.3	6.2

↓ : $p < 0.05$ (Dunnett または Sidak 検定)

尿の外観や色調に異常はみられなかった。また定量及びpHを除く半定量検査及び尿沈渣の鏡検においては特記すべき所見はみられなかった。

投与12週時の検査で雄の6400ppm群で統計学的に有意なpHの低下を観察した。しかし、他に関連する所見はみられず、またその低下も小さいことから毒性学的意義はないと考えられる。

眼科学的検査：投与開始前並びに投与後11週目にすべての主群動物を対象として検査した

投与に関連すると考えられる所見は全く認められなかった。

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

臓器重量：試験終了時にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定した。
また最終体重から対体重比を算出した。
副腎、脳、心臓、肺、腎臓、肝臓、精巣 / 卵巣、精嚢、脾臓、胸腺、
下垂体及び甲状腺

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 6 に示す。

表 6. 臓器重量

	臓器		投与量 (ppm)					
			雄			雌		
			400	1600	6400	400	1600	6400
投与 13 週	肝臓	実重量			(104)			
		対体重比			(105)			
	腎臓	実重量			(108)			↑ 110
		対体重比			↑ 107			(108)
	胸腺	実重量		↓ 76				
		対体重比		↓ 78				
回復 4 週	肝臓	実重量			(113)			
		対体重比			(108)			
	腎臓	実重量			↑ 111			(109)
		対体重比						(110)

↓ ↑ : $p < 0.05$ (Dunnett あるいは Sidak 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意差はないが参考として示した。

表に示したように雄の 6400ppm 群で肝臓及び腎臓の実重量、対体重比の増加または増加傾向、雌 6400ppm 群で腎臓の実重量、対体重比の増加または増加傾向が窺われた。しかし、いずれも病理学的変化を伴っていないことから、これら変動の毒性学的意義は低いと考えられる。雄の胸腺にみられた統計学的に有意な変動は用量相関性がみられないことから偶発的な所見と考えられた。その他の臓器については明らかな重量の変動は観察されなかった。

肉眼的病理検査：途中死亡及び切迫殺動物については発見時、主群の生存動物については投与 13 週後、回復群の生存動物については回復 4 週後に剖検を行なった。

試験期間中に途中死亡、切迫殺動物はみられず、すべての動物が計画殺された。その結果、主群、回復群の生存動物においては、いずれにおいても投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は観察されなかった。

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

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織を摘出し固定した。通常の方法で病理標本を作製し、全ての動物を対象に鏡検した。

副腎、脳、精巣上部、心臓、腸管（空腸、結腸）、腎臓、肝臓、肺、眼及び視神経、膵臓、前立腺、精嚢、脾臓、胃、精巣/卵巣、胸腺、甲状腺、気管、尿管、膀胱、子宮、骨髄（大腿骨）、肉眼的異常部位

その結果、雌雄各投与群共に、検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

以上、のラットに対する90日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に6400ppmでも毒性変化は捉えられなかった。よって本試験の無毒性量は6400ppm（雄546 mg/kg/日、雌で570 mg/kg/日相当）であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
を用いたマウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -5)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：NMRI マウス (Hoe: NMRKf)、投与開始時 5 週齢、体重：投与開始時 雄 21～26g、雌 18～23g、1 群雌雄各 10 匹

投与方法：検体を 0, 320, 1600, 3200 及び 8000ppm の濃度で飼料

投与期間：13 週間 (1988 年 7 月～ 10 月) に混入し、13 週間にわたって摂食させた。
飼料は 4 週毎に調製した。

用量設定の根拠：マウスの急性毒性試験 (資料番号：毒性-20) の結果を参考にして、
本試験の投与量を上記のごとく設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、行動及び神経学的
項目を含む詳細な症状観察を週 1 回行った。

観察期間を通じて、雌雄各投与群において外徴や行動の変化を認めなかった。
また、試験期間を通じて死亡は観察されなかった。

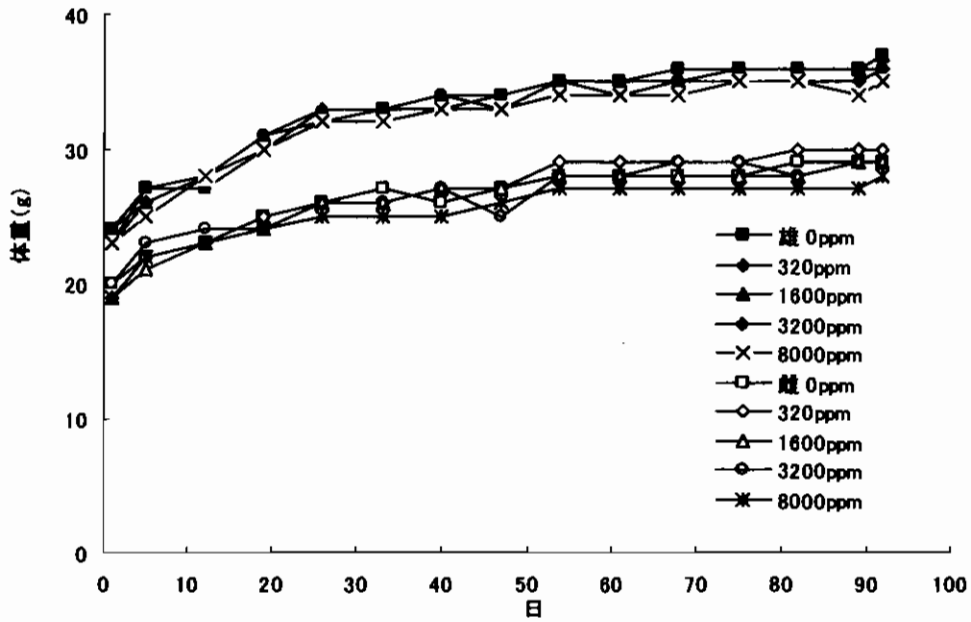
体重： 試験期間中は週 1 回すべての生存動物の体重を測定した。

平均体重の推移を図 1 に示した。

試験期間を通じて雌雄各投与群共、対照群と変わらない体重推移を示した。
増体重についても各投与群共に有意な変動は認められなかった。
わずかに雌雄共に 8000ppm 群で投与期間の後半で対照群に比べ低体重傾向が
みられるが、統計学的有意ではなくまたいずれも対照群の 90%以上にあるこ
とから、毒性学的変化とは捉えられなかった。

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

図 1. 体重推移



摂餌量：試験期間を通じて毎週、摂餌量を記録した。

雌雄各投与群において摂餌量に変動はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		320	1600	3200	8000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	54.7	264.4	521.9	1288
	雌	56.9	279.1	590.0	1540

飲水量：試験期間を通じて毎週、飲水量を記録した。

雌雄各投与群において飲水量に変動はみられなかった。

血液学的検査：投与 13 週後に全生存動物を対象として眼窩静脈叢から採血し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網状赤血球数[#]、メトヘモグロビン[#]、ハインツ小体[#]、白血球数、白血球分画、血小板数、血液凝固時間[#] (：[#]：最高用量群で影響がみられなかったことから他投与群については検査せず。)

雌雄各投与群において血液学的パラメーターの統計学的に有意な変動はみられなかった。

生化学的検査：血液学的検査と同様に採取した血液から得られた血漿または血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン、グルコース、尿素窒素、尿酸(Uric A)、クレアチニン(Cre)、総コレステロール(T. chol)、中性脂肪(TG)、クロル、ナトリウム、カリウム、カルシウム(Ca)、無機リン(IP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、ALP、 γ -GTP、総蛋白(TP)、総脂質(TL)、血清蛋白分画(電気泳動：アルブミン、グロブリン(α_1 G、 α_2 G、 α_3 G、 β_1 G、 γ_1 G)、A/G)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 2 に示す。

表 2. 生化学的検査

検査項目	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	320	1600	3200	8000	320	1600	3200	8000
Uric A				↓ 59				
T. chol						↑ 122	↑ 135	↑ 119
TG							↓ 55	↓ 56
TL	↓ 89						↓ 87	↓ 86
IP			↑ 129					
AST	↓ 73			↓ 73			↓ 48	
ALT							↓ 72	
ALP			↑ 143	↑ 143				
TP		↑ 108						↓ 89
Ca							↑ 106	

↓ ↑ : p<0.05 (Dunnett または Sidak 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

雄の 8000ppm 群で尿酸の減少が統計学的有意に認められたが、本所見は毒性的には通常増加するケースが多いこと、またその他の項目に変化がないことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

その他の項目でも統計学的に有意な増減を散見したが、いずれも用量相関性が明らかでない、背景対照範囲にあることから偶発的な変動、あるいは関連があったとしても毒性学的意義は低いと考えられた。また、蛋白電気泳動の結果においても統計学的に有意な変動はみられたが、一貫した傾向はみられず、いずれも投与に関連したものではないと考えられた。

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

尿検査：投与 12 週時にすべての生存動物を対象として 16 時間尿を採取し、以下の項目を測定・検査した。

外観、色調 [目視]、pH、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノゲン、亜硝酸 [以上、半定量的検査]、沈渣[#] (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶) [鏡検]

(#: 最高用量群で影響がみられず、他投与群については検査せず。)

尿の外観や色調に異常はみられなかった。また半定量検査及び尿沈渣の鏡検においても特記すべき所見はみられなかった。

臓器重量：試験終了時にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定した。

また最終体重から対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、肺、腎臓、肝臓、精巣 / 卵巣、脾臓

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 3 に示す。

表 3. 臓器重量

項目	投与量 (ppm)							
	雄				雌			
	320	1600	3200	8000	320	1600	3200	8000
最終体重				(95)				
腎臓	実重量			(106)				(106)
	対体重比			↑ 111				↑ 112

↑ : p<0.05 (Dunnett)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意差はないが参考として示した。

雌雄共に 8000ppm 群で腎臓重量の対体重比が統計学的に有意に増加した。しかし実重量では雌雄共に対照群に比べて 6% の増加にとどまっていた。また血液生化学的検査、尿検査及び病理組織学的検査で関連するような所見がみられなかったことから、この変動については毒性変化として捉えなかった。

肉眼的病理検査：途中死亡及び切迫殺動物については発見時、主群の生存動物については投与 13 週後、回復群の生存動物については回復 4 週後に剖検を行なった。

試験期間中に途中死亡、切迫殺動物はみられず、すべての動物が計画殺された。その結果、生存動物のいずれにおいても投与に関連したと思われる肉眼

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
的異常所見は観察されなかった。

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織を摘出し固定した。通常の方法で病理標本を作製し、全ての動物を対象に鏡検した。

副腎、脳、精巣上部、心臓、腸管（空腸、結腸）、腎臓、肝臓、肺、眼及び視神経、膵臓、前立腺、精嚢、脾臓、胃、精巣/卵巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、子宮、骨髄（大腿骨）、肉眼的異常部位

その結果、雌雄各投与群共に、検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

以上、 のマウスに対する 90 日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に 8000ppm でも毒性変化は捉えられなかった。 よって本試験の無毒性量は 8000ppm（雄 1288 mg/kg/日、雌で 1540 mg/kg/日相当）であった。

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

を用いたイヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -6)

試験機関

報告書作成年 1988 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬 (Hoe: BEAK)、投与開始時 約 7 ヶ月齢、体重：投与開始時 雄 11.2~14.3 kg、雌 10.5~14.0 kg、主群雌雄各 4 匹、回復群雌雄各 2 匹 (対照、中間用量及び高用量群)

投与期間：13 週間 [1987 年 11 月～ 1988 年 2 月]

投与方法：検体を 0, 100, 400 及び 1600ppm の濃度で飼料に混入し、13 週にわたって摂食させた。回復群については 13 週投与後、4 週の休薬期間を設けた。飼料は毎日調製した。

用量設定の根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。また動物の行動を毎日 2 回観察した。

検体投与に関連した死亡及び症状、行動異常は試験期間を通じて認められなかった。

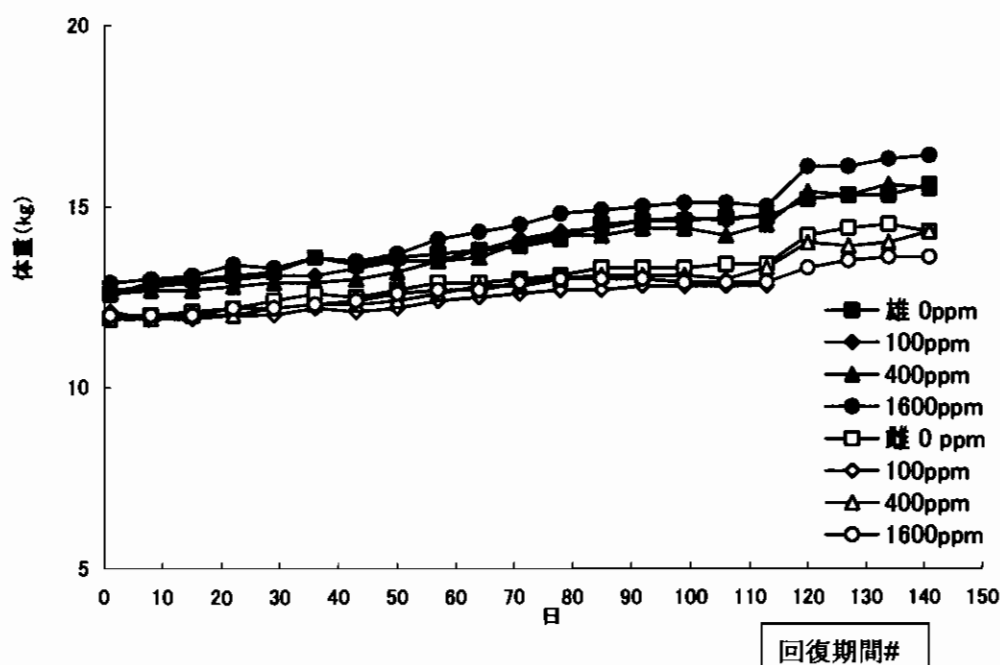
体重変化：試験期間中は毎週、すべての生存動物の体重を測定した。

平均体重の推移を図 1 に示した。

図にみられるように雌雄各投与群の体重の推移は対照群と変わりなかった。また、増体重についても検体投与によ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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 平均体重の推移



: 回復期間は各群 2 匹の平均

摂餌量：投与期間を通じて毎日、摂餌量を記録した。

試験期間を通じて、すべての動物が給餌されたものを残すことなく摂取した。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	400	1600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.3	29.5	115
	雌	6.4	25.4	103

神経学的検査：投与前、投与6週時、投与終了時及び回復期間終了時に下記の各種反射を調べた。また音刺激に対する反応を調べた。

屈筋反射、膝蓋骨反射、肛門反射、皮膚反射、角膜反射、瞳孔反射、閃光反射、正向反射

いずれの時期、いずれの動物においても異常はみられなかった。

血液学的検査：投与前、投与6週時、投与終了時及び回復期間終了時に生存動物を対象として前腕静脈から採血し、以下の項目を測定・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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット (Ht)、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、ハイツ小体、メトヘモグロビン、網状赤血球数、血小板数、トロンボプラスチン時間、白血球数、白血球分画、赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意を認めた項目について次表に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	100	400	1600	100	400	1600
Hb	投与前		(96)			
	投与終了		↓94			
Ht	投与前		(95)			
	投与終了		↓↓92			
RBC	投与前		(96)			
	投与終了		(94)			
MCHC	投与前	↑105				
	投与6週	↑105				

↓↑ : $p < 0.05$ 、↓↓↑ : $p < 0.01$ (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意ではないが参考として記載。

投与終了時において、雄の 1600ppm 群で Hb, Ht 及び RBC の統計学的に有意な減少又はその傾向がみられた。しかし、同群の投与前の検査でも減少がみられていることから、投与に関連しないものと考えられた。その他の項目でも変動をみたがいずれも検体投与による影響は観察されなかった。

生化学的検査：血液学的検査での血液から得られた血清を用い (LDH は血漿)、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン (T. Bil)、間接ビリルビン、グルコース (Glu)、尿素窒素、尿酸 (UA)、クレアチニン、総コレステロール、中性脂肪 (TG)、総脂質、クロル (Cl)、ナトリウム、カリウム、カルシウム (Ca)、無機リン (P)、鉄、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、総蛋白 (TP)、蛋白分画

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

表 3. 生化学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	100	400	1600	100	400	1600
T. Bil	投与 6 週		↓80	↓70		
Glu	投与 6 週		↓88	↓88		
UA	投与 6 週	↑150	↑193			
	投与終了	↑138				
TG	投与前					(128)
	投与 6 週				↑141	↑136
	投与終了			↑141	↑166	↑150
Cl	投与前					↑103
	投与 6 週				↑104	
	投与終了					↑104
Ca	投与前				↓94	
	投与 6 週				↓97	
P	投与終了	↑119	↑126			
AST	投与前			↓67	↓67	
	投与 6 週	↑121		↓79	↓79	
ALT	投与前					↑138
	投与 6 週					↑126
ALP	投与 6 週			↑146		↑128
	投与終了			↑134		
LDH	投与終了					↓71
TP	投与 6 週			↓92		
	投与終了			↓84	↓91	↓89

↓↑ : p<0.05, ↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

() : 統計学的有意差はないが参考として示した。

表 3 に対照群と比較して統計学的有意を認めた項目を示す。

雄については 1600ppm 群で投与終了時に TG の増加、投与 6 週及び終了時に ALP 活性の増加と TP の減少を、また雌では 1600ppm 群で投与 6 週に ALP 活性の増加を統計学的に有意に認めた。しかし、いずれの所見についても明らかな変動ではなく、また病理組織学的検査を含み他に関連した所見がみられていないことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

その他の統計学的に有意な変動については、投与前の検査で同様の傾向がみられる、用量相関性がみられないとの理由から検体投与との関連性は考えられなかった。また、蛋白分画でも変動はみられたが投与に関連したものではないと判断された。

尿検査：投与前、投与 6 週時、投与終了時及び回復期間終了時に生存動物を対象とし

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

て尿を採取し、以下の項目を測定・検査した。

外観、色調 [以上、目視観察]、pH、比重 [以上、定量的検査]、蛋白、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、ウロビリノゲン [以上、半定量的検査]、沈渣 (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶) [鏡検]

表 4 に定量的検査で統計学的有意を示した比重の結果を示した。

表 4. 尿検査—定量的検査

検査項目		投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	100	400	1600	0	100	400	1600
(実測値)	投与前	1.016	1.028 ↑	1.022	1.021	1.017	1.019	1.020	1.021
	投与6週	1.026	1.022	1.023	1.024	1.023	1.019	1.019 ↓	1.022
	投与終了	1.027	1.026	1.023	1.020 ↓	1.030	1.025	1.022	1.029

↑: $p < 0.01$ (Dunnett 検定、申請者実施)

雄 1600ppm 群で投与終了時の比重が統計学的有意に減少した。しかし、腎臓の形態を含み関連するような所見が他にみられず、この変動の毒性学的意義は低いと考えられた。

半定量的検査や沈渣の鏡検において特記すべき所見はみられなかった。

グルタミン合成酵素 (GS) 活性: 投与 3 ヶ月後の主群動物、回復 4 週後の回復群動物に対する剖検時に肝臓、腎臓及び脳の一部を採取し、グルタミン合成酵素活性を測定した。

その結果、雌雄各投与群でいずれの酵素源についても GS 活性の阻害は認められなかった。

眼科学的検査: 投与前、投与 6 週時、投与終了時及び回復期間終了時に検眼鏡等を用いて眼科学的な精査をすべての動物について実施した。

その結果、いずれにおいても異常は認められなかった。

肝機能及び腎機能検査: 投与前、投与 6 週時、投与終了時及び回復期間終了時に生存動物を対象として、肝機能については Bromsulphalein、腎機能については

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

Phenolsulphonphthalein の排泄能を指標として各検査を実施した。

その結果、両検査において検体投与に関連したと思われる変動は全く認められなかった。

臓器重量：投与 3 ヶ月後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象とし、肉眼的病理検査後に以下の臓器を摘出後、重量を測定した。また、最終体重から対体重比を算出した。

副腎、脳（延髄除く）、腎臓、心臓、肺、肝臓、膵臓、脾臓、胸腺、精巣/卵巣、精巣上体/子宮、前立腺、下垂体、甲状腺（上皮小体含む）

対照群と比較して統計学的に有意な差を認めた項目について表 5 に示す。

投与 13 週後に、雄 400ppm 以上の投与群で心臓の実重量の増加、400ppm 群のみに対体重比の増加を、統計学的有意に認めた。また、雌の 400ppm 群で肝臓重量の対体重比が有意に増加した。しかし、いずれの変動についても用量相関性がみられず、また病理組織学的検査においても関連する所見がみられなかったことから検体投与に関連しない偶発的な変動と考えられた。

表 5. 臓器重量（13 週後）

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	400	1600	100	400	1600
心臓	実重量		↓86	↓91			
	対体重比		↓88				
肝臓	対体重比					↑116	

↓ ↑ : p<0.05、: ↓ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

肉眼的病理検査：投与 13 週後及び回復 4 週後にすべての生存動物を対象として剖検を行った。

雌雄共に特記すべき肉眼的異常所見はみられなかった。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査後、全ての動物について以下の臓器/組織の病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、動脈、骨（大腿骨）、骨髄（胸骨）、脳（大脳、小脳、脳幹）、精巣上体、食道、眼球（視神経含む）、乳腺、胆嚢、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（頸部、腸間膜）、卵

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

巢（卵管含む）、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、骨格筋（腰肉、横隔膜）、扁桃、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、膀胱、子宮（子宮頸部を含む）、肉眼的異常部位

雌雄各投与群において検体投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。

以上、のイヌに対する90日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に1600ppmでも毒性変化は捉えられなかった。よって本試験の無毒性量は1600ppm（雄で115 mg/kg/日、雌で103 mg/kg/日）であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
を用いたラットにおける催奇形性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -7)

試験機関

報告書作成年 1994 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Wistar ラット (Hoe WISKf)、体重：交配時 166～210 g、1 群 20～21 匹、

投与期間：妊娠 6～15 日の 10 日間 (1988 年 4 月～ 5 月)

投与方法：検体を蒸留水に溶解し、100、300 及び 900 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した (投与容量：5 mL/kg)。対照群 (0 mg/kg/日) には蒸留水を同様に投与した。陰栓または陰スミア中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量の設定根拠：

観察・検査項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0, 6, 13, 16 (最終投与翌日), 20 日に体重及び摂餌量を記録した。妊娠 20 日に屠殺して肉眼的病理検査を行い、肝臓、腎臓、心臓及び脾臓を摘出し重量を測定した。

妊娠子宮を摘出し、重量を測定した後、精査して黄体数、着床数、胚胎児吸収数、胎盤の重量及び外観、生存及び死亡胎児数を記録した。

生存胎児：性別及び体重、体長 (頭頂部から臀部) を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児群の 1/2 の胎児についてはブアン固定後、内臓異常の有無を検査した。残りの胎児については剖検時に外表異常と内臓異常をみた後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

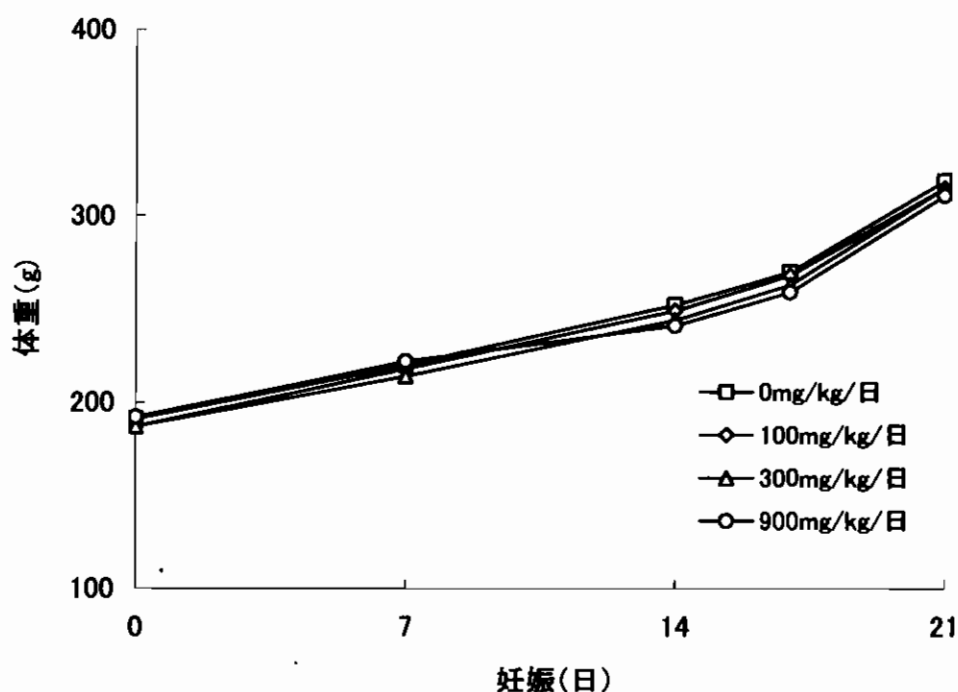
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
結果： 表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

1. 母動物への影響

一般観察において、900 mg/kg/日群では排尿行動の増加や立毛を観察した。また 2 例に生殖部血液様分泌物を認め、これら動物はいずれも全吸収胚を呈していた。また 1 例は排尿行動の増加や立毛に加えてうずくまりを認め、妊娠 10 日（投与開始 4 日後）に死亡した。

100 及び 300 mg/kg/日群では検体投与によると思われる所見は観察されなかった。

次図に試験期間中の体重の推移を示した。



図にみられるように、各投与群共に対照群とほぼ同様の体重の推移を示し、各測定時において統計学的に有意な変動はみられなかった。しかし、900 mg/kg/日群では表にみられるごとく妊娠 6～13 日の増体重が明らかに減少した。これに関連して同期間の摂餌量も 900mg/kg/日群では明らかに減少していた。

100 及び 300 mg/kg/日群では検体投与によると思われる体重や摂餌量への影響は観察されなかった。

帝王切開時の肉眼的病理検査においては特記すべき所見は認められなかったが、腎臓の実重量が 900 mg/kg/日群で統計学的に有意に増加した。同群では一般観察で排尿行動の増加がみられており、この腎臓重量の増加との関連が示唆された。以上、母動物に対し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
ては 900 mg/kg/日 で毒性的影響が観察された。

黄体数、着床数、生存胎児数等の着床所見において、統計学的に有意な変動はみられなかったが、900 mg/kg/日群において全吸収胚動物を 3 例認めており、これに伴う妊娠率の低下及び着床後死胚率の増加傾向は投与の影響と考えられた。胎盤重量には明らかな変動はみられなかった。

2. 胎児への影響

生存胎児の性比、体重及び体長に対しては投与による影響はみられなかった。

外表検査及び内臓検査においてはいずれの群においても奇形所見はみられなかった。変異所見として生長遅延や腎盂拡張等を散見したがいずれも少数例であり用量相関性もみられないことから投与との関連性は否定された。

骨格検査では種々の異形/変異所見と骨化遅延を観察した。しかし、肋骨の波状/肥厚所見を除いては、いずれも用量相関性はみられず、偶発的な所見と考えられた。肋骨の波状/肥厚についてはその出現頻度が 900 mg/kg/日群で統計学的有意に増加した（胎児ベース：14.6%）。しかし、担有所見胎児母動物ベースでは各群ともに 4 ～ 6 例で統計学的に有意な増加はみられなかった。また、試験施設における本所見の背景対照範囲は 0 ～ 18.6%であることから、900 mg/kg/日群でみられた本所見の統計学的に有意な増加については投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

以上、のラットへの経口投与による催奇形性試験において、900 mg/kg/日で母動物に対する毒性影響が観察された。一方、胎児に対しては明らかな影響は認められなかった。従って、母動物に対する無毒性量は 300 mg/kg/日であった。また胎児における無毒性量は 900 mg/kg/日であり検体の催奇形性作用は認められなかった。

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

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	900	
1 群あたりの動物数		20	21	21	20	
母 動 物	一般観察					
	所見/検査動物数	20	21	21	20	
	排尿行動の増加	0	0	0	↑8	
	立毛	0	0	0	↑10	
	生殖部血液様分泌物	0	0	0	2	
	うずくまり	0	0	0	1	
	死亡動物数	0	0	0	1	
	妊娠動物数	20	20	19	16	
	体重増加量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
		妊娠 6~13 日				↓ 59
	摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
		妊娠 6~13 日				↓ 78
		妊娠 13~16 日				↑ 103
		妊娠 16~20 日				↑ 110
	肉眼的病理検査 (帝王切開時) : 特記すべき所見なし					
	臓器重量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
		腎臓 : 実重量				↑ 119

統計学的有意(計量値) : ↑ ↓ : p<0.05 (多重比較 : Puri & Sen, Mantel & Haenszel)

統計学的有意(計数値) : ↑ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

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

表 1. (続) 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	900		
母動物	交尾動物数	20	21	21	20		
	受胎動物数 (a)	20	20	20	19 (1例死亡除く)		
	妊娠動物数 (b)	20	20	19	16		
	全吸収胚動物数	0	0	1	3		
	受胎率 (%)	100	95	95	100		
	妊娠率 (%)	100	100	95	84		
	着床	対象母動物数	20	20	20 (a)	19 (b)	19 (a) 16 (b)
		黄体数	15.2	13.6	-	15.2	- 14.3
	着床所	着床数	13.4	12.1	13.0	13.5	12.4 13.2
		着床前死胚率 (%)	9.9	12.2	-	10.3	- 7.5
見	着床後死胚数	0.5	0.7	0.5	0.4	2.1 0.9	
	着床後死胚率 (%)	4.5	6.1	7.6	2.8	23.2 8.8	
	生存胎児数	12.9	11.4	12.5	13.1	10.3 12.3	
	合計生存胎児数	258	227	249		196	
	胎盤重量 (g)	0.48	0.51	0.48		0.48	

統計学的有意 (計量値) : 多重比較 : Puri & Sen, Mantel & Haenszel

統計学的有意 (計数値) : Fisher の直接確率計算法

- : 全吸収胚動物の黄体数は時として黄体が小さく計測されなかった。

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

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	900	
対象母動物数		20	20	19	16	
胎 児	性比 (雄の割合%)	45.7	44.1	49.8	51.0	
	体重:	有意な変動なし。				
	体長:	有意な変動なし。				
	外表検査/内臓検査 (骨格検査用胎児、剖検時)					
	検査動物数		133	117	130	103
	変異					
	生長遅延		0	2	0	1
	腎盂拡張		2	1	0	0
	血腫 (後肢)		0	1	0	0
	外表検査/内臓検査 (内臓検査用胎児)					
	検査動物数		125	110	119	93
	変異					
	生長遅延		0	1	0	3
腎盂拡張		1	2	1	0	
停留率丸		0	1	0	0	

統計学的有意 (計量値) : 多重比較 : Puri & Sen, Mantel & Haenszel

統計学的有意 (計数値) : Fisher の直接確率計算法

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

表 2. (続) 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	100	300	900
対象となる母動物数		20	20	19	16
胎 児	骨格検査				
	検査動物数	133	117	130	103
	異形 / 変異				
	第 11、12 胸椎体：二分/分胴	1	0	0	2
	第 14 胸椎体原基	2	4	0	2
	胸骨体：二分/分胴/低形成	2	2	1	1
	第 7 胸骨体原基	0	2	0	0
	肋骨：波状/肥厚	6 (5)	7 (4)	9 (5)	↑ 15 (6)
	過剰肋骨（頸肋）	0	0	0	1
	過剰肋骨（腰肋）	48	51	24	43
	骨化遅延				
	頭蓋骨：不完全骨化/未骨	68	49	52	41
	尾椎体：未骨（2 以下）	12	11	5	8
	胸骨体：不完全骨化/未骨	39	41	31	30
	第 5 中手骨：未骨	7 (6)	↑ 17 (6)	↑ 19 (8)	4 (3)

統計学的有意(計数值)：↑：p<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

()：担胎児母動物数

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

を用いたウサギにおける催奇形性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -8)

試験機関

報告書作成年 1994 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : Himalayan ウサギ (Hoe: HIMK)、7 ~8 ヶ月齢、妊娠 0 日体重 2.33~2.93 kg、1 群 15~16 匹

投与期間 : 妊娠 6 日~18 日の 13 日間 (1988 年 8~9 月)。

投与方法 : 検体を蒸留水に溶解し、50, 100 及び 200 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回経口投与 (投与容量 5 mL/kg) した。

対照群には蒸留水のみを同様に投与した。交尾が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定の根拠 :

観察・検査項目 :

母動物 : 一般状態及び生死を毎日観察し、死亡及び切迫殺動物、流産が認められた動物は直ちに屠殺して肉眼的病理検査を行った。妊娠 0, 6, 13, 19 日 (最終投与翌日) 及び 29 日に体重及び摂餌量を記録した。妊娠 29 日に屠殺後、妊娠子宮を摘出し、重量測定後、精査して黄体数、着床数、胎児吸収数、胎盤の重量及び外観、生存及び死亡胎児数を記録した。また肉眼的病理検査を行い、肝臓、腎臓、心臓及び脾臓を摘出し重量を測定した。

生存胎児 : 体重及び体長 (頭頂-臀部) を計測、記録し、外表異常の有無を検査した。さらに Wilson 法に準じてすべての胎児について体幹の軟部組織の異常を検査し、性別を確認した。すべての胎児について体幹または全身の骨格標本作製し、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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

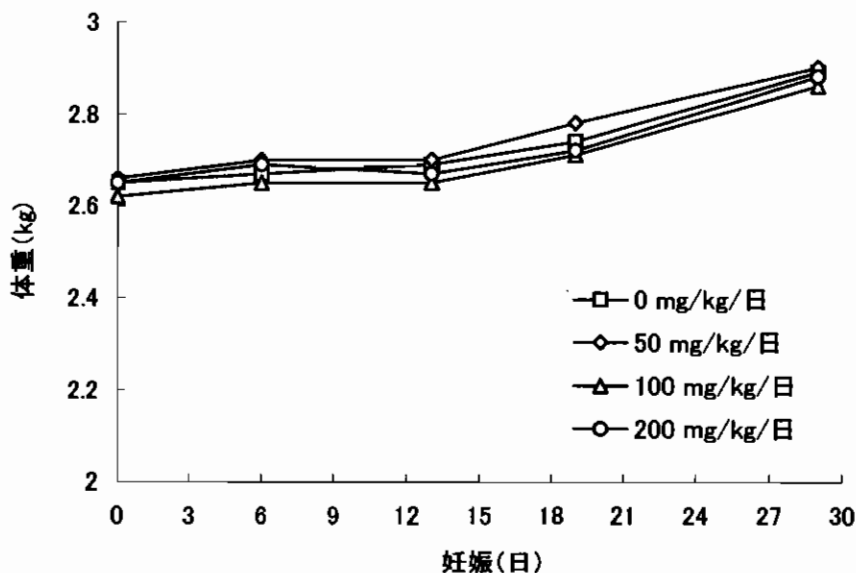
結果：

表1に母動物、表2に胎児に対する検査結果の概要を示した。

1. 母動物への影響

200 mg/kg/日群では投与開始数日後から糞排泄減少を多くの母動物で観察、またうずくまりや、餌や水の摂取行動の減少が認められた。そして計5例が死亡または切迫殺となった。また、4例に赤色の尿排泄がみられたが、これは流産の徴候としての膈からの血液性の排泄と考えられた。これらの動物については流産とみなされて速やかに切迫殺を行なった。また100 mg/kg/日群でも検体投与によると思われる同様の所見を散見した。この群では1例が死亡、1例が流産した。

妊娠動物における体重変化を次図に示した。各投与群共に検体投与によると思われる変化はみられなかった。また、表1に示したように妊娠期間中の増体重にも影響はみられなかった。



摂餌量で統計学的に有意な変動はみられなかったが、200 mg/kg/日群において妊娠6～13日の摂餌量が対照群に比べて減少傾向にあった。

帝王切開時の肉眼的病理検査で、投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。臓器重量については統計学的には有意な変動はみられなかったが、腎の実重量が200 mg/kg/日群でやや増加傾向を示していた。

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

繁殖成績においては上述のとおり、200 mg/kg/日群で死亡及び流産を計9例に認めていることから明らかな妊娠率の低下をみた。さらに生存胎児を有する母動物を対象とした着床所見においても、200 mg/kg/日群では着床後死胚数及び率の増加傾向がみられた。しかし、着床前死胚率が小さかったこともあり、同群の1腹当りの生存胎児数においては対照群との間に差はみられなかった。胎盤重量に変動はみられなかった。

2. 胎児への影響

生存胎児の性比や体重、体長に対しては投与による影響はみられなかった。

外表 / 内臓検査において奇形所見は観察されなかった。

異形や変異としていくつかの内臓異常所見を散見したが、いずれも少数例であり用量相関性もみられないことから偶発的な所見と考えられた。

骨格検査において1例に奇形所見を観察したが偶発的なものと捉えられた。また異形や変異を対照群を含む各試験群で散見したが、これらについても少数例であり用量相関性もみられないことから偶発的な所見と考えられた。

その他に骨化異常を観察しているが、いずれも用量相関性はみられず、検体投与には関連しないものと考えられた。

以上、のウサギに対する経口投与による催奇形性試験において、母動物への影響として、100 mg/kg/日以上で臨床症状がみられ、200 mg/kg/日では加えて死亡や流産の増加が明らかに認められた。しかし胎児への影響はとくに観察されなかった。従って、無毒性量は母動物では50 mg/kg/日、胎児では200 mg/kg/日と考えられる。また本検体のウサギに対する催奇形性作用は認められなかった。

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

表1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	50	100	200	
1群あたりの動物数		15	16	15	15	
母動物	一般状態					
	所見 / 検査動物数	15	16	15	15	
	糞排泄減少	0	0	2	↑11	
	うずくまり	0	0	1	↑6	
	赤色尿排泄	0	0	1	↑4	
	摂餌行動減少	0	0	2	↑4	
	飲水行動減少	0	0	2	↑8	
	受胎動物数	15	15	15	15	
	死亡数	0	0	1	↑5	
	流産動物数	0	0	1	↑4	
	妊娠動物数	15	15	13	↓6	
	体重増加量 (kg)					
	妊娠 0~29日		0.24	0.24	0.24	0.23
	摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
	妊娠 6~13日					(84)
	肉眼的病理検査 (帝王切開時) : 特記すべき所見なし					
	臓器重量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
	腎臓 : 実重量					(108)
	繁殖成績					
	受胎率 (%)		100	94	100	100
妊娠率 (%)		100	100	87	↓40	
着床所見	検査動物数	15	15	13	6	
	黄体数	7.9	8.4	7.8	8.0	
	着床数	6.4	6.9	6.2	7.5	
	着床前死胚率 (%)	19.0	17.3	20.1	7.2	
	着床後死胚数 (早期)		0.9	0.5	0.5	1.8
		(後期)	0.2	0.1	0.2	0.3
	着床後死胚率 (%)	18.8	8.1	11.0	24.7	
	生存胎児数	5.3	6.3	5.5	5.3	
合計生存胎児数		79	95	72	32	
胎盤重量 (g)		6.2	6.0	6.0	5.8	

統計学的有意(計量値) : 多重比較 : Puri & Sen, Mantel & Haenszel

統計学的有意(計数値) : ↑ : p<0.05, ↑↑ : p<0.01 (Fisherの直接確率計算法)

() : 統計学的有意ではないが参考として記載

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

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	50	100	200	
1 群あたりの母動物数		15	15	13	6	
胎 児	性比 (雄の割合%)	57.0	53.7	51.4	50.0	
	体重 (g)	42.6	41.4	42.1	40.5	
	体長 (頭頂-臀部、mm)	97.1	97.1	96.7	96.0	
	外表 / 内臓検査					
		検査動物数	79	95	72	32
	異形					
		心臓：心膜内血液残存	0	2	1	0
		心臓：心尖部血腫	1	0	0	0
		肺：肺葉癒合 (一部/完全)	0	3	0	1
		胃：拡張、横位	3	3	1	2
	変異					
		腎臓：位置異常 (左)	2	1	0	0
	骨格検査					
		検査動物数	79	95	72	32
	奇形					
		左方側彎 (胸椎部)、右側胸椎 体一部癒合、一部肋骨無形成	0	1	0	0
	異形					
		頭頂骨：卵形開口	3	0	0	1
		尾椎骨体：不整、癒合	3	3	1	1
		胸骨体：不整、癒合、低形成	4	2	4	2
		肋骨：遠位部一部癒合	0	0	1	0
		鎖骨：屈曲	1	0	0	0
		鎖骨：結節性肥厚	1	0	1	1
変異						
	腰椎体：5 原基のみ	0	0	0	1	
	過剰肋骨：第 13 胸椎位	2	2	0	0	
骨化異常						
	尾椎骨体：13 以下の骨化	6	↑ 23	6	4	
	胸骨：不完全骨化 / 未骨	43	53	39	13	

統計学的有意 (計量値)：多重比較：Puri & Sen、Mantel & Haenszel

統計学的有意 (計数値)：↑：p<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

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

(4) 変異原性

を用いた 細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

(毒性資料 No. 代謝物 -9)

試験機関

報告書作成年 1984 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 5 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538) と大腸菌 *E. coli* 1 株 (WP2uvrA) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。検体は蒸留水で希釈、調製し、処理容量は 0.1 ml/プレートとした。濃度設定試験では 4~10000 µg/プレートの 6 濃度で実施し、本試験では濃度設定試験の結果から 4~5000 µg/プレートの 6 濃度で実施した。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験 (本試験のみ) 及び溶媒対照試験も同時に実施した。37°C で 48~72 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。溶媒対照に比し 2~3 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠 :

結果 : 結果を次表に示した。

検体処理群では、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

TA1535 の最高濃度で復帰変異コロニー数のわずかな増加がみられたが、抗菌作用が生じている濃度であることから変異原性作用とはみなされなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上、 は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられる。

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

表 1 復帰突然変異試験成績 (濃度設定試験、プレート法)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 (μg /プレ- ート)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml		102	22	34	28	10	12
検 体	4	-	131	19	38	27	7	7
	20		159	25	41	7	10	15
	100		99	24	38	21	8	12
	500		b117	b 17	27	18	10	12
	2500		b 70	b 16	b10	22	b 5	b 5
	10000		b 67	b 36	b12	b24	b 4	b13
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml		119	12	32	26	12	15
検 体	4	+	148	9	42	38	7	17
	20		129	11	44	28	8	12
	100		126	10	36	25	6	25
	500		b111	b 11	30	24	6	22
	2500		b 87	b 21	b 10	b 27	b 2	b 22
	10000		b 76	b 48	b 11	b 13	b 3	b 8

b : 弱い抗菌作用あり、NT : 未実施

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

表 2 復帰突然変異試験成績 (本試験、プレート法)

(表中の値は3枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	-	150	12	33	22	5	8
検 体	4		141	18	41	20	10	14
	20		159	15	32	17	9	11
	100		157	19	38	27	9	10
	500		b 135	b 14	42	16	6	16
	2500		b 111	b 21	b 19	b 18	b 4	b 11
	5000		b 117	b 23	b 20	b 19	b 5	b 11
陽性対照								
NaN ₃	1		587	399	NT	NT	NT	NT
2-NF	5		NT	NT	NT	709	NT	1370
MNNG	2.5	NT	NT	712	NT	NT	NT	
9-AA	50	NT	NT	NT	NT	247	NT	
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	+	152	7	44	24	12	20
検 体	4		166	12	36	35	14	19
	20		163	11	36	27	16	22
	100		131	12	41	22	9	15
	500		b 129	b 6	33	26	9	b 18
	2500		b 93	b 13	b 25	b 22	b 6	b 12
	5000		b 128	b 25	b 17	b 19	b 6	b 12
陽性対照								
2-AA	0.5		463	NT	NT	349	NT	248
	1		NT	156	NT	NT	67	NT
	10	NT	NT	298	NT	NT	NT	
B[a]P	10	344	21	65	598	95	216	

NaN₃: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,
 MNNG: N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA: 9-アミノアクリジン,
 2-AA: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ [a] ピレン
 b: 弱い抗菌作用あり、NT: 未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
を用いたヒトのリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(毒性資料 No. 代謝物 -10)

試験機関： (ドイツ)

報告書作成年：1988 年 [G L P 対応]

検体の純度： %

試験方法：ヒトのリンパ球を用い、染色体異常誘発性をアロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で検索した。検体の溶媒は培養液とした。

S9 mix の存在下および非存在下で検体を 4 時間処理した。検体処理後新しい培地に交換し、検体処理開始から 24 及び 48 時間培養後に染色体標本作製した。標本作製前 3 時間にはコルセミド処理を行なった。試験濃度は S9 mix の非存在下、存在下共に 100-1520 µg/mL とした。また、溶媒対照ならびに陽性対照 (EMS: エチルメタンサルホネート (-S9) および CPA: シクロホスファミド (+S9)) を同時に試験した。

すべて各濃度あたり 2 系列で培養した。1 用量あたり 200 個の分裂中期像を観察した。そしてギャップを除く構造異常を有する細胞の出現頻度が用量相関的に増加した場合、変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠：

結果：本試験の結果を表 1 に示した。

検体処理後の染色体の観察の結果、S9 mix の存在の有無に係らず、24 及び 48 時間培養共に、ギャップを除く構造的染色体異常を有する細胞の出現頻度の増加は認められなかった。

わずかに S9 mix の非存在下、24 時間培養後の 1000 µg/mL 区でギャップを含む構造的染色体異常率の統計学的に有意な増加が認められた。しかし、用量相関性は全く認められず、頻度も少ないことから偶発的な変動と考えられた。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンサルホネート (-S9) およびシクロホスファミド (+S9) は構造的染色体異常の明らかな増加を誘発した。

以上、 は代謝活性化を含む本試験条件下でのヒトのリンパ球に対して、染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

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

表 1. 染色体異常試験結果

薬 剤	濃度 (・g/ml)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	S 9 m i x の 有 無	分 裂 指 数 (%) #	観 察 細 胞 数	ギャ ップ		染色体構造異常									構造異常を有する 細胞頻度 (%)					
							g	i g	染色分体型			染色体型			その他			+G	-G	交換			
									b	f	d	ib	i f	id	ex	ma	cd						
溶媒対照	0	4	24	-	100	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
検体	100				102	200	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	2.0	1.5	0.5			
	1000				88	200	2	00	1	2	0	0	0	0	0	0	2.5*	1.5	0.0				
	1520				105	200	1		1	1	0	0	1	0	0	0	2.0	2.0	0.0				
陽性対照 (EMS)	1240				35	200	4	0	11	12	2	0	6	0	70	9	0	25.0 **	24.5 **	19.5 **			
溶媒対照	0	4	24	+	100	200	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0	
検体	100				135	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0
	1000				100	200	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	0.0	0.0
	1520				62	200	3	0	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5	2.0	0.0
陽性対照 (CPA)	19.4				23	200	1	0	3	1	1	2	6	0	18	2	0	10.5 **	10.0 **	5.5 **			
溶媒対照	0	4	48	-	100	200	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	0.5	0.0	
検体	1520				154	200	2	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2.5	1.5	0.0
陽性対照 (EMS)	1240				44	200	4	0	13	3	0	2	3	0	37	11	0	17.5 **	16.0 **	12.0 **			
溶媒対照	0	4	48	+	100	200	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0	
検体	1520				86	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
陽性対照 (CPA)	19.4				28	200	3	0	5	4	0	1	3	0	23	4	1	12.0 **	11.5 **	7.5 **			

: 溶媒対照の率に対する%、+G: ギャップを含める、 -G: ギャップを含めない

EMS : エチルメタンスルホネート CPA : シクロホスファミド

* : p<0.05, ** : p<0.01 (Fisher 直接確率計算法、申請者実施)

表中の所見に関する省略記号の説明

- g ; 染色分体型ギャップ ig ; 染色体型ギャップ
- b ; 染色分体型切断 .ib ; 染色体型切断
- f ; 染色分体型断片 if ; 染色体型断片
- d ; 染色分体型欠失 id ; 染色体型欠失
- ex ; 交換, ma : 重複異常
- cd ; 染色体破損

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
を用いた哺乳動物細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (HPRT 前進突然変異試験)

(毒性資料 No. 代謝物 -11)

試験機関： (ドイツ)

報告書作成年：1988 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、HPRT 遺伝子座の遺伝子前進突然変異試験を実施した。検体は蒸留水に希釈して 100~1000 µg/mL の濃度で試験を実施した。検体処理は 37°C、4 時間とした。検体処理後、細胞を再播種して 7 日間培養した。同時に一部の細胞を播種し、生存率を求めた。その後、6-チオグアニンを含む選択培地に再播種し、さらに 6~7 日培養後に突然変異コロニーを計数した。各用量 5 枚のプレートを用いた。同時に 6-チオグアニンを含まない培地に細胞を播種し、コロニー形成率を求めた。試験は 2 連で行い、再現性をみるため異なる日に 2 回試験を実施した。その結果、用量相関性があり再現性のある突然変異誘発頻度の増加がみられた場合を変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠：本試験に先立ち細胞毒性を調べた。50-2000 µg/mL の範囲でしらべたが明らかな細胞毒性はみられなかった。また 1500 µg/mL 以上で結晶析出を観察した。この結果から本試験における最高濃度は 1000 µg/mL とした。

結果：結果を次表に示した。

独立した 2 回の突然変異試験の結果、S9 mix の有無にかかわらず突然変異誘発頻度の用量相関性のある有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、突然変異誘発頻度の有意な増加が認められた。

以上、 は、哺乳動物細胞を用いての代謝活性化を含む本試験条件下において遺伝子突然変異誘発性を有しないと考えられる。

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

表 1. 突然変異試験成績 (1 回目試験)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 Mix の有無	相対的 生存率 (%)	コロニー 形成率 (%)	平均突然変 異誘発頻度 ($\times 10^{-6}$)
溶媒対照	0	—	100	83	16.2
検 体	100		103	80	47.4
	250		99	69	26.5
	500		92	66	37.5
	1000		93	86	25.9
陽性対照 (EMS)	1000		93	81	457.5
溶媒対照	0	+	100	80	18.5
検 体	100		96	73	29.5
	250		98	81	34.0
	500		93	57	41.2
	1000		99	71	30.4
陽性対照 (DMBA)	7.7		80	70	417.7

EMS : エチルメタンスルホネート

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

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

表 2. 突然変異試験成績 (2 回目試験)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 Mix の有無	相対的 生存率 (%)	コロニー 形成率 (%)	平均突然変 異誘発頻度 ($\times 10^{-6}$)
溶媒対照	0	-	100	57	91.5
検 体	100		84	73	81.4
	250		88	61	69.3
	500		87	57	149.4
	1000		90	69	123.4
陽性対照 (EMS)	1000		96	64	774.7
溶媒対照	0	+	100	70	97.0
検 体	100		116	88	86.3
	250		113	93	81.7
	500		105	92	55.3
	1000		106	70	70.0
陽性対照 (DMBA)	7.7		74	57	854.2

EMS : エチルメタンサルホネート

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

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

を用いた哺乳動物細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(毒性資料 No. 代謝物 -12)

試験機関： (ドイツ)

報告書作成年：1987 年 [G L P 対応]

検体の純度： %

試験方法：セルライン A549 のヒト細胞を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、³H-チミジンの細胞内への取り込みを指標とした不定期 DNA 合成 (UDS) 試験を実施した。上記のヒト細胞を培養皿 (6 連) に播種、検体、S9 mix (代謝活性化の場合)、³H-チミジンを順次加えて、37℃、3 時間培養を行なった。検体は蒸留水に溶解し、1~2000 µg/mL の濃度範囲で行なった。その後、培養液を除去し、DNA を取り出し、DNA 濃度と放射能 (³H-チミジンの細胞内への取り込み) を計測した。そして DNA の 1 µg 当りの放射能を不定期 DNA 合成の指標とした。また陽性対照物質としては非代謝活性化では 4-ニトロキノリン-N-オキシド (NQO)、代謝活性化ではベンゾ[a]ピレン (BP) を用いた。S9 mix の非存在下、存在下共に再現性をみるため 2 回実施し、その結果、用量相関性があり再現性のある DNA 1 µg 当りの放射能の増加がみられた場合を変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠：1 回目の試験では最高濃度を 1000 µg/mL として実施。2 回目の試験では限度濃度の 10mM (検体濃度 1520 µg/mL 相当) を上回る 2000 µg/mL を最高濃度として実施した。

結果：独立した 2 回の試験結果を次表に示した。

表に示したように 2 回の試験共に、S9 mix の有無にかかわらず ³H-チミジンの細胞内への取り込みの増加はみられなかった。

一方、陽性対照については、いずれも取り込みの有意な増加が認められた。

以上、ヒト細胞を用いた不定期 DNA 合成試験の結果から、代謝活性化の有無に係らずの DNA 損傷性はないと考えられた。

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

表 *in vitro* 不定期 DNA 合成試験成績

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S9 Mix の有無	放射能 [^3H] dpm/ μg DNA	
			1 回目試験	2 回目試験
溶媒 対照	0	-	908	780
検体	1		780	713
	3		900	847
	10		974	823
	30		772	787
	100		850	808
	300		894	780
	1000		764	836
	2000		-	720
陽性対照 (NQO)	1			\uparrow 22439
溶媒 対照	0	+	908	-
検体	1		1038	904
	3		882	819
	10		941	762
	30		781	669
	100		855	643
	300		789	698
	1000		759	712
	2000		-	607
陽性対照 (BP)	10			\uparrow 2146

\uparrow : $P < 0.01$ 統計学的有意 (Student の t テスト)

NQO: 4-ニトロキノリン-N-オキシド

BP: ベンゾ[a]ピレン

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

を用いたマウスを用いた小核試験

(毒性資料 No. 代謝物 -13)

試験機関： (ドイツ)

報告書作成年：1989年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：NMRI マウス (Hoe: NMRkf)、7 週齢 (投与時体重 雄 27~34 g、雌 21~28 g)、
1 群雌雄各 5 匹

試験方法：検体を脱イオン水で希釈し、雌雄マウス共に 200, 600 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。溶媒対照群は媒体である脱イオン水を同様に投与した。陽性対照群は蒸留水で調製したシクロホスファミド (CPA) を 50 mg/kg の用量で単回経口投与した。検体投与群および対照群ともに投与容量は 10 ml/kg とした。

投与 24, 48 及び 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髄を採取して骨髄塗沫標本を作製した (陽性対照群は投与後 24 時間に屠殺し同様に標本作製)。

各標本について鏡検下で多染性赤血球 (PCE) 1000 個を観察し、小核を有する赤血球 (MNPCE) を計数し、小核誘発性を調べた。また正染性赤血球 (NCE) に対する多染性赤血球の割合を算出し、骨髄への影響を観察した。さらに参考として正染性赤血球 1000 個に対する小核を有する赤血球 (MNNCE) も計数した。

そして多染性赤血球 (PCE) に対する小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) が溶媒対照群に比べて明らかな増加がみられた場合、染色体異常誘発性が陽性と判定した。

用量設定根拠：

結果： 検体 200 及び 600 mg/kg の経口投与では雌雄マウス共に症状、死亡はみられなかった。2000 mg/kg 投与では活動性の低下や立毛を散見し、雌 1 例が投与 24 時間後に死亡した。

骨髄標本の観察結果を表 1 及び 2 に示した。

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

雌 2000 mg/kg 群の 24 時間後で小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) の統計学的有意な増加が認められた。しかし、その増加はわずかでありまた背景対照の範囲にあったことから、投与との関連性は否定された。雌のその他の投与群及び雄の各投与群では MNPCE の増加は認められなかった。また、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合の用量相関性のある変動は観察されなかった。

一方、陽性対照物質であるシクロホスファミドを投与した陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の頻度に明らかな増加が認められた。よって、本小核試験は有効であると判断された。

以上、は、本試験条件下において、マウスの骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と考えられた。

表 1. 雄マウスでの小核試験結果

薬剤	投与量 (mg/kg)	標本作 製時間 (h)	PCE/NCE (平均±SD)	1000 PCE に 対する MNPCE (平均±SD)	1000 NCE に 対する MNNCE (平均±SD)
溶媒対照	0	24	1.13 ± 0.06	2.4 ± 1.9	1.6 ± 1.5
検体	200		1.16 ± 0.14	2.4 ± 1.1	1.6 ± 1.5
	600		1.00 ± 0.12	1.8 ± 2.2	0.8 ± 0.8
	2000		1.11 ± 0.21	3.2 ± 1.6	1.6 ± 1.7
陽性対照 (CPA)	50		0.98 ± 0.02*	45.0 ± 12.5*	1.8 ± 2.5
溶媒対照	0	48	1.03 ± 0.12	1.2 ± 1.3	2.4 ± 1.8
検体	200		1.11 ± 0.13	2.6 ± 0.5	0.6 ± 0.9
	600		0.93 ± 0.12	1.0 ± 1.2	0.6 ± 0.5
	2000		0.90 ± 0.11	1.8 ± 0.8	1.2 ± 1.3
溶媒対照	0	72	1.00 ± 0.19	2.4 ± 1.9	1.2 ± 0.4
検体	200		1.00 ± 0.07	1.4 ± 1.7	0.8 ± 0.8
	600		0.98 ± 0.16	1.8 ± 1.5	1.2 ± 1.3
	2000		1.06 ± 0.15	2.0 ± 1.7	1.4 ± 1.1

CPA：シクロホスファミド

PCE：多染性赤血球， NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

MNNCE：小核を有する正染性赤血球

*： p<0.05 (ノンパラメトリック順位和検定)

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

表 2. 雌マウスでの小核試験結果

薬剤	投与量 (mg/kg)	標本作 製時間 (h)	PCE/NCE (平均±SD)	1000 PCE に 対する MNPCE (平均±SD)	1000 NCE に 対する MNNCE (平均±SD)
溶媒対照	0	24	1.51 ± 0.30	1.0 ± 0.7	0.8 ± 0.8
検体	200		1.46 ± 0.10	1.2 ± 0.8	1.8 ± 1.1
	600		1.45 ± 0.17	2.0 ± 1.6	1.6 ± 1.1
	2000		1.32 ± 0.32	2.6 ± 1.1*	1.2 ± 1.1
陽性対照 (CPA)	50		1.04 ± 0.21*	38.4 ± 12.3*	1.0 ± 0.7
溶媒対照	0	48	1.09 ± 0.11	2.0 ± 1.7	1.2 ± 1.3
検体	200		1.11 ± 0.20	1.4 ± 2.1	1.4 ± 1.7
	600		1.31 ± 0.11	2.0 ± 1.9	1.0 ± 0.7
	2000		1.12 ± 0.18	1.6 ± 1.3	1.0 ± 1.0
溶媒対照	0	72	1.13 ± 0.17	1.6 ± 1.5	1.6 ± 0.9
検体	200		1.07 ± 0.32	2.0 ± 1.6	1.2 ± 1.1
	600		1.14 ± 0.22	2.0 ± 1.4	1.0 ± 0.0
	2000		1.35 ± 0.18	2.4 ± 1.8	0.6 ± 0.9

CPA : シクロホスファミド

PCE : 多染性赤血球, NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

MNNCE : 小核を有する正染性赤血球

* : p<0.05 (ノンパラメトリック順位和検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
を用いたハムスターを用いた *in vivo* 染色体異常試験

(毒性資料 No. 代謝物 MPPA-14)

試験機関：Cytotest Cell Research (ドイツ)

報告書作成年：1988 年 [GLP 対応]

検体の純度：99.8%

供試動物：Chinese ハムスター (Own stock)、約 11 週齢 (投与時体重 約 25 g)、1 群
雌雄各 6 匹

試験方法：検体を脱イオン水で希釈し、雌雄マウス共に 100, 333 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した。溶媒対照群は媒体である脱イオン水を同様に投与した。陽性対照群は生理食塩水で調製したシクロホスファミド(CPA)を 40 mg/kg の用量で単回経口投与した。検体投与群および対照群ともに投与容量は 10 ml/kg とした。

投与 6, 24 及び 48 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取して骨髓塗沫標本を作製した (陽性対照群は投与後 24 時間に屠殺し同様に標本作製)。なお各屠殺前 2.5 時間にあらかじめ紡錘阻害剤コルセミド(2.0 mg/kg)を腹腔内投与した。

雌雄各群 5 匹の標本を無作為に選抜し、1 匹につき 50 個、1 群につき計 500 個の分裂中期像を観察した。そしてギャップを除く構造異常を有する細胞の出現頻度が用量相関的に増加した場合、変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠：本試験に先立ち、1 群雌雄 2 匹のマウスに 1000, 1500, 2000 及び 4000 mg/kg を単回投与した。その結果、1000 mg/kg では死亡はみられなかったが活動性の低下を観察した。1500 mg/kg 以上では加えて閉眼、うずくまりがみられ死亡を観察した。この結果から本試験の最高用量を 1000 mg/kg とし、以下さらに 2 濃度を設定した。

結果：本試験の結果を表 1 に示した。

投与 6、24 及び 48 時間後の染色体の観察の結果、検体による明らかな構造的染色体異常を有する細胞の出現頻度の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドは構造的染色体異常の明らかな増加を誘発した。

以上、
はハムスターを用いた染色体異常試験において、染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

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

表 1. 染色体異常試験結果

薬 剤	投与量 (mg/kg)	標本 作製 時間 (h)	分裂 指数 (%)	観 察 細胞 数	ギャ ップ		染色体構造異常									構造異常を有する 細胞頻度 (%)		
							染色分体型			染色体型			その他					
					g	ig	b	f	d	ib	if	id	e	ma	cd	+G	-G	
溶媒対照	0	6	4.6	500	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.6	0.4
検体	100		5.3	500	7	0	3	0	2	1	1	0	0	0	0	0	2.8	1.4
	333		6.6	500	5	10	2	1	0	1	0	0	1	0	0	0	2.0	1.0
	1000		5.3	500	6		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1.6	0.4
溶媒対照	0	24	4.4	500	5	1	3	0	1	1	0	0	0	0	0	2.2	1.0	
検体	100		4.1	450	6	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2.2	0.9
	333		4.5	500	9	0	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2.6	1.2
	1000		4.5	500	0	0	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0.8	0.8
陽性対照 (CPA)	40		3.4	500	17	0	38	21	1	13	5	0	13	14	2	*16.8	*14.8	
溶媒対照	0	48	4.0	500	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0.6	0.6	
検体	100		4.8	500	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.6	0.2	
	333		4.7	500	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0.8	0.4	
	1000		5.0	500	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.6	

+G: ギャップを含める, -G: ギャップを含めない

CPA: シクロホスファミド

*: p<0.05 (Mann-Whitney 検定)

表中の所見に関する省略記号の説明

- g ; 染色分体型ギャップ ig ; 染色体型ギャップ
- b ; 染色分体型切断 ib ; 染色体型切断
- f ; 染色分体型断片 if ; 染色体型断片
- d ; 染色分体型欠失 id ; 染色体型欠失
- ex ; 交換, ma : 重複異常
- cd ; 染色体破損*-----

2-2.

(1) 急性毒性

を用いたラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -1)

試験機関

報告書作成年 1998年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Sprague Dawley ラット (HSD: SD)、6～10 週齢 (投与時体重：雄 202～213 g、雌 175～187 g)、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を脱イオン水に溶解してこれを単回経口投与した。投与前に一晩絶食した。投与量は 2000 mg/kg とした (投与容量：10 mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。死亡動物及び観察期間終了時のすべての生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雌雄：2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄：>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雄：投与 2 時間～8 時間後 雌：投与 2 時間～8 時間後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

全動物が観察期間終了時まで生存した。

一般症状として雌雄共に投与日に下痢を観察した。雌雄共に体重増加への影響はみられず、観察後の肉眼的病理検査においても特記すべき所見はみられなかった。

以上、このラットに対する単回経口投与での LD₅₀ は 2000 mg/kg 以上であり、その急性経口毒性は弱いと考えられる。

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

(2) 亜急性毒性

を用いたラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物

-2)

試験機関

報告書作成年 2001 年 [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物：Wistar ラット(WI: IOPS Han)、投与開始時 6 週齢、体重：投与開始時 雄
166～223 g、雌 151～183 g、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：13 週間 (2001 年 4 月～7 月)

投与方法：検体を 0, 500, 2000 及び 10000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって
摂食させた。飼料は 4 週毎に調製した。

用量設定の根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、行動及び神経学的
項目を含む詳細な症状観察を週 1 回行った。

観察期間を通じて、雌雄各投与群において検体投与によると思われる外徴や
行動の変化を認めなかった。また、試験期間を通じて死亡は観察されなかつ
た。

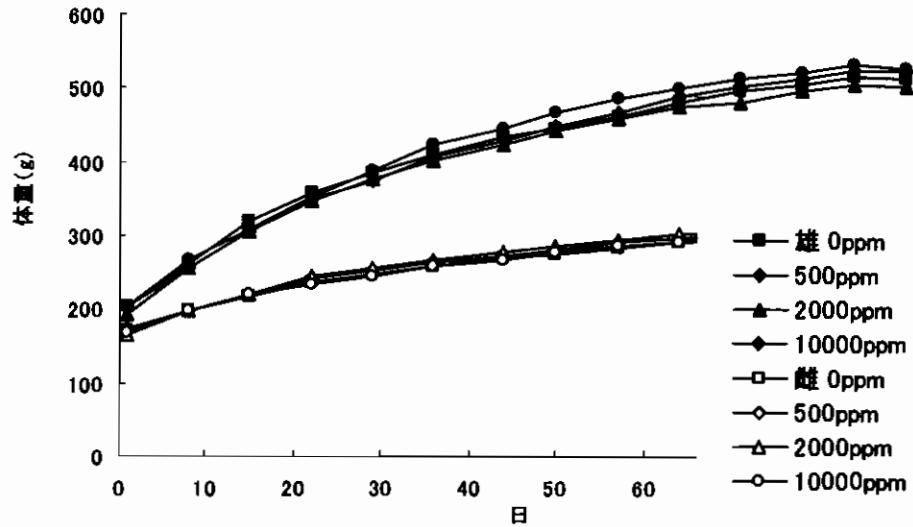
体重： 試験期間中は週一回すべての生存動物の体重を測定した。

平均体重の推移を図 1 に示した。

試験期間を通じて雌雄各投与群共、対照群と変わらない体重推移を示した。
増体重についても各投与群共に有意な変動は認められなかった。

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

図1. 体重推移



摂餌量：試験期間を通じて毎週、摂餌量を記録した。

雌雄各投与群において摂餌量に変動はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		500	2000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	34	140	684
	雌	38	156	772

機能観察総合検査 (Functional Observational Battery : FOB) :

投与12週目に全動物を対象として以下の項目を観察・測定した。

[ケージからの取り出しやすさ、ハンドリング中の反応、被毛の状態、流涙、流涎、立毛、眼球突出、瞳孔径]、[オープンフィールドでの観察(2分間)：身づくろい、閉眼、糞及び尿排泄回数、振せん、痙攣、歩行、反応性、姿勢、常同行動、呼吸異常、歩行麻痺、筋緊張低下]、[反射/生理学的観察及び測定：接触反応、聴覚反応、テイルピンチ反応、瞳孔反応、立ち直り反射、握力、着地開脚幅、体温、自発運動量]

すべての項目に関して、検体投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。

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

血液学的検査：投与 13 週時にすべての動物を対象として眼窩静脈叢から採血し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、白血球数、白血球分画、血小板数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について次表に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	2000	10000	500	2000	10000
RBC			↓92			↓↓95
MCV			↑105			↑103
MCH			↑106			↑105
MCHC		↑101				↑103

↓↑ : p<0.05、↓↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定または Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

雌雄共に 10000ppm 群では統計学的有意な RBC の減少を観察した。またこれに伴ったと思われる赤血球恒数の変動がみられた。しかしいずれも変動は軽度であり、また各値は背景対照の範囲にあった。さらに、病理組織学的検査等からもこれに関連するような所見は全くみとめられなかった。

以上の結果から、雌雄 10000ppm 群にみられた変動は偶発的である、または検体投与に関連があるとしても毒性学的意義は乏しいと思われる。

その他の白血球系、血液凝固系に関する変動は雌雄各投与群共に見出されなかった。

生化学的検査：血液学的検査と同様に採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン、グルコース(Glu)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、総コレステロール(T. Chol)、中性脂肪(TG)、クロル(Cl)、ナトリウム(Na)、カリウム、カルシウム、無機リン(P)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、ALP、総蛋白、アルブミン、A/G

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 3 に示す。

表 3. 生化学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	2000	10000	500	2000	10000
Glu	↑123					
BUN				↑120		
T. Chol		↓83				
TG			↓60	↓83		
Cl			↓99			↓98
Na			↓99			↓99
P			↓91			
ALT				↑153		
A/G				↑112		

↓↑ : p<0.05、↓↑↑ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

10000ppm 群の雌雄で電解質 Na 及び Cl の減少、雄のみに TG 及び電解質 P の減少を統計学的に有意に認めた。しかし変動は小さくまた背景対照範囲にあり、他に関連した所見がみられていないことから、これらの変動はいずれも偶発的な所見あるいは検体投与との関連があるとしても毒性学的意義は低いと考えられた。その他の変動はいずれも用量相関性がみられていないことから、検体投与には関連しない変動と考えられた。

尿検査：投与 13 週時にすべての動物を対象として 14 時間尿を採取し、以下の項目を測定・検査した。(半定量的検査においては 400ppm 群、沈渣の鏡検においては 400 及び 1600ppm 群は実施しなかった。)

外観、色調 [目視]、尿量、pH、比重 [以上、定量的検査]、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノゲン、亜硝酸 [以上、半定量的検査]、沈渣 (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶) [鏡検]

尿の外観や色調に異常はみられなかった。また定量検査、半定量検査及び尿沈渣の鏡検においては特記すべき所見はみられなかった。

眼科学的検査：投与開始前並びに投与 13 週時にすべての動物を対象として検査した

その結果、投与に関連すると考えられる所見は全く認められなかった。

臓器重量：試験終了時にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定した。

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

また最終体重から対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、肺、腎臓、肝臓、精巣 / 卵巣、精巣上体 / 子宮、脾臓、胸腺、甲状腺

いずれの臓器の実重量あるいは対体重比についても統計学的に有意な変動は認められなかった。

肉眼的病理検査：投与 13 週後、すべての動物について剖検を行なった。

その結果、投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は観察されなかった。

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織を摘出し固定した。通常の方法で病理標本を作製した。対照群と高用量群については全ての動物を対象に鏡検した。肉眼的異常部位についてはすべての動物を対象とした。

副腎、大動脈、脳、精巣上体、食道、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（下顎、腸間膜）、眼及びハーダー氏腺、乳腺、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄（頸、胸、腰）、脾臓、胃、精巣/卵巣、胸腺、甲状腺（上皮小体含む）、気管、膀胱、子宮（膈含む）、骨髄（大腿骨、胸骨）、肉眼的異常部位

その結果、雌雄各投与群共に、統計学的有意差を伴った変化、あるいは検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

以上、 のラットに対する 90 日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に 10000ppm でも毒性変化は捉えられなかった。 よって本試験における無毒性量は 10000ppm（雄 684 mg/kg/日、雌で 772 mg/kg/日相当）であった。

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

(3) 変異原性

を用いた 細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

(毒性資料 No. 代謝物 -3)

試験機関

報告書作成年 2001 年 [GLP 対応]

検体の純度 :

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537) と大腸菌 *E. coli* 1 株 (WP2uvrA) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した (但し試験 2 の S9 mix の存在下ではプレインキュベーション法で実施)。

検体は溶媒として蒸留水を用いて調製し、処理容量は 0.1 ml/プレートとした。試験 1 では 1.6~5000 µg/プレートの 6 濃度で実施し、試験 2 では試験 1 の結果から 156.25~5000 µg/プレートの 6 濃度で実施した。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37℃で 72 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。プレインキュベーション法では、プレート播種前に菌株懸濁液に検体を加え 37℃で 1 時間振盪培養した。

溶媒対照に比し 2~3 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠 :

結果 : 結果を表 1 及び 2 に示した。

2 回の独立した復帰突然変異試験の結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても再現性のある復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上、 は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられる。

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

表 1 復帰突然変異試験成績 (試験 1: 濃度設定試験、プレート法)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	-	96	16	15	35	17
検 体	1.6		117	13	18	42	23
	8		117	16	15	43	21
	40		116	15	14	55	24
	200		118	16	13	35	21
	1000		117	15	12	31	23
	5000		120	16	16	32	18
陽性対照							
NaN ₃	2		806	683	NT	NT	NT
NF	5		NT	NT	NT	1033	NT
9-AA	50	NT	NT	NT	NT	196	
NQO	2	NT	NT	1040	NT	NT	
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	+	112	22	19	31	20
検 体	1.6		129	24	17	37	19
	8		118	21	19	29	19
	40		131	24	18	36	22
	200		121	15	19	34	19
	1000		132	21	21	31	18
	5000		122	20	19	33	25
陽性対照							
2-AA	5		2357	212	NT	NT	257
	10		NT	NT	437	NT	NT
B(a)P	10	NT	NT	NT	260	NT	

NaN₃: アジ化ナトリウム, NF: ニトロフラントイン,

9-AA: 9-アミノアクリジン, NQO: 4-ニトロキノリン 1-オキシド

2-AA: 2-アミノアントラセン, B(a)P: ベンゾ(a)ピレン

b: 抗菌作用あり, NT: 未実施

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

表 2 復帰突然変異試験成績 (試験 2: 本試験、S9 mix 非存在下: プレート法、
S9 mix 存在下: プレインキュベーション法)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	-	120	24	14	67	18
検 体	40		NT	NT	NT	54	NT
	156.25		103	21	14	54	12
	312.5		100	21	13	42	16
	625		124	30	11	38	17
	1250		85	28	15	66	13
	2500		104	21	16	64	15
5000	104		19	12	44	13	
陽性対照							
NaN ₃	2		631	658	NT	NT	NT
NF	5	NT	NT	NT	1497	NT	
9-AA	50	NT	NT	NT	NT	208	
NQO	2	NT	NT	666	NT	NT	
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	+	110	23	16	38	16
検 体	156.25		106	16	21	35	18
	312.5		112	25	16	38	12
	625		111	17	19	41	9
	1250		115	17	17	33	13
	2500		100	21	14	33	15
	5000		107	19	19	34	18
陽性対照							
2-AA	5		366	134	NT	NT	137
	10		NT	NT	123	NT	NT
B(a)P	10	NT	NT	NT	168	NT	

NaN₃: アジ化ナトリウム, NF: ニトロフラントイン,
9-AA: 9-アミノアクリジン, NQO: 4-ニトロキノリン 1-オキシド

2-AA: 2-アミノアントラセン, B(a)P: ベンゾ(a)ピレン

b: 抗菌作用あり, NT: 未実施

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

を用いたヒト末梢血培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(毒性資料 No. 代謝物 -4)

試験機関： (ドイツ)

報告書作成年：2001 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：ヒトのリンパ球を用い、染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で検索した。検体の溶媒は培養液とした。

試験 1 では S9 mix の存在下および非存在下で検体を 3 時間処理した。検体処理後新しい培地に交換し、検体処理開始から 20 時間培養後に染色体標本作製した。試験濃度は S9 mix の非存在下、存在下共に 24.33–1821 µg/mL とした。この結果を参考にして試験 2 では、100.1–1821 µg/mL で S9 mix の非存在下では検体を 20 時間連続処理、S9 mix の存在下では試験 1 と同じ条件で実施した。溶媒対照ならびに陽性対照 (NQO: 4-ニトロキノリン 1-オキシド (-S9) 及び CPA: シクロホスファミド (+S9)) を同時に試験した。標本作製前 2 時間にはコルヒシン処理を行なった。

すべて各濃度あたり 2 系列で培養した。1 用量あたり 200 個の分裂中期像を観察した。そしてギャップを除く構造異常を有する細胞の出現頻度が用量相関的に増加し、かつ再現性がみられた場合、変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠：

結果：試験の結果を表 1 及び 2 に示した。

検体の 3 時間あるいは 20 時間処理後の染色体の観察の結果、S9 mix の存在の有無に係らず、明らかな構造的染色体異常率の増加はみられなかった。

一方、陽性対照として用いた NQO (-S9) および CPA (+S9) は構造的染色体異常の明らかな増加を誘発した。

なお、表には示さなかったが検体処理による数的染色体異常率の増加はみられなかった。

以上、 は代謝活性化を含む本試験条件下でのヒトのリンパ球に対して、染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

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

表 1 染色体異常試験結果－試験 1

薬 剂	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処 理 時 間	標 本 製 作 時 間	S9 mix の 有 無	分 裂 指 数 (%)	観 察 細 胞 数	ギ ャ ッ プ	構造異常の分類					構造異常頻 度 (%)	
								染色体型		染色分体型		そ の 他	ギャップ	
								欠 失	置 換	欠 失	置 換		含 む	含 ま な い
溶媒 対照	0	3	20	-	8.4	200	1	0	0	2	0	0	1.5	1.0
検体	1024				8.6	200	2	0	0	3	0	0	2.0	1.5
	1366				8.7	200	1	2	0	1	0	0	2.0	1.5
	1821				7.1	200	0	0	0	1	0	0	0.5	0.5
陽性 対照 (NQO)	5.0				-	200	14	5	0	55	31	4	34.0	29.5**
溶媒 対照	0	3	20	+	9.3	200	1	0	0	0	0	0	0.5	0.0
検体	1024				8.8	200	0	0	0	1	0	0	0.5	0.5
	1366				9.4	200	1	0	0	1	0	0	1.0	0.5
	1821				9.2	200	2	1	0	0	0	0	1.5	0.5
陽性 対照 (CPA)	3.125				-	200	12	5	0	54	9	0	29.5	27.0**

NQO : 4-ニトロキノリン 1-オキシド, CPA : シクロホスファミド

Fisher 直接確率計算法 ** : $p < 0.01$

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

表 2 染色体異常試験結果－試験 2

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	S9 mix の 有 無	分 裂 指 数 (%)	観 察 細 胞 数	ギ ャ ッ プ	構造異常の分類					構造異常頻度 (%)		
								染色体型		染色分体型		そ の 他	ギャップ		
								欠失	置換	欠失	置換		含む	含まない	
溶媒 対照	0	20	20	-	7.7	200	0	0	0	2	0	0	1.0	1.0	
検体	745.9				8.3	200	3	0	0	2	0	0	0	2.0	1.0
	1457				7.6	200	1	1	0	4	1	0	0	3.5	3.0
	1821				6.0	200	3	2	0	2	0	0	0	3.5	2.0
陽性 対照 (NQO)	2.5				-	200	4	8	0	59	16	9	32.0	31.0**	
溶媒 対照	0	3	20	+	8.7	200	3	0	0	0	0	0	1.5	0.0	
検体	1165				9.9	200	2	0	0	1	0	0	0	1.5	0.5
	1457				11.5	200	0	0	0	1	0	0	0	0.5	0.5
	1821				12.8	200	0	0	0	1	0	0	0	0.5	0.5
陽性 対照 (CPA)	6.25				-	200	17	9	0	72	20	1	38.0	34.0**	

NQO : 4-ニトロキノリン 1-オキシド, CP : シクロホスファミド

Fisher 直接確率計算法 ** : $p < 0.01$

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

2-3.

(1) 急性毒性及び皮膚感作性

を用いたラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -1)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の 純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物： Wistar ラット (Hoe: WISKf)、

6 週齢 (投与時体重：雄 147~152 g、雌 141~149 g)、1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 上記水溶液を脱イオン水に希釈して単回経口投与した。投与前に一晩絶食した。投与量は 2895 mg/kg (水溶液として 5000 mg/kg) とした (投与容量： 10 mL/kg)。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。死亡動物及び観察期間終了時のすべての生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2895
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄： >2895
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雄： 投与 30 分~1 日後 雌： 投与 30 分~1 日後
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄： 2895 雌： 2895

全動物が観察期間終了時まで生存した。

中毒症状として雌雄共に投与日に不規則な呼吸やうずくまり姿勢、活動性の低下等を観察した。投与翌日にはいずれの症状共、消失した。雌雄共に体重増加への影響はみられず、観察後の肉眼的病理検査においても特記すべき所見はみられなかった。

以上、 のラットに対する単回経口投与での LD₅₀ は雌雄共に 2895 mg/kg 以上であり、その急性経口毒性は弱いと考えられる。

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

を用いたマウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -2)

試験機関 (ドイツ)

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体の純度: (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物: NMRI マウス (Hoe: NMRKf)、約 4 週齢 (投与時体重: 雄 19~22 g、雌 19~20 g)、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 上記水溶液を脱イオン水に希釈して単回経口投与した。投与前に一晩絶食した。投与量は 2895 mg/kg (水溶液として 5000 mg/kg) とした (投与容量: 0 mL/kg)。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重を投与前並びに投与後 7 及び 14 日に測定した。死亡動物及び観察期間終了時のすべての生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	強制経口
投与量 (mg/kg)	雌雄: 2895
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄: >2895
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄: 投与 1 時間~2 日後 投与 4 日後~
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄: 2895 雌: 2895

全動物が観察期間終了時まで生存した。中毒症状として雌雄共に投与日及び翌日に活動性の低下やうずくまり姿勢等を観察した。一旦症状は消失したが投与 4 日以降、観察最終日まで呼吸数減少や立毛を観察した。しかし、雌雄共に体重増加への影響はみられず、観察後の肉眼的病理検査においても特記すべき所見はみられなかった。

以上、 のマウスに対する単回経口投与での LD₅₀ は雌雄共に 2895 mg/kg 以上であり、その急性経口毒性は弱いと考えられる。

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

を用いたモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -3)

試験機関 (ドイツ)

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の 純度を示す。以降の感作、惹起濃度はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：Pirbright-White 雌モルモット (Hoe: DHPK)、約 10 週齢、体重：222~270 g、感作群 20 匹、無感作群 10 匹 (他に皮膚感作濃度設定のため 6 匹、皮内感作濃度設定のため 3 匹、惹起濃度確認のため 5 匹を使用)

観察期間：約 24 日間

試験方法：Maximization 法

適用濃度の設定根拠：

皮内注射：

皮膚適用：

感作 (皮内注射)：背部及び側腹部を剪毛・剃毛し、下記の 3 種の調製液について 3 対の皮内注射 (0.1 mL/部位) を行った。

- 感作群
- 1) Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液 (前背部両側)
 - 2) 検体の 2.9%液 (生理食塩水で調製した溶液) (中背部両側)
 - 3) 検体の 2.9%液 (Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液で調製した懸濁液) (後背部両側)
- 無感作群
- 1) Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液 (前背部両側)
 - 2) 生理食塩水 (中背部両側)
 - 3) Freund' s Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合物 (後背部両側)

感作 (局所適用)：皮内注射後 6 日 (感作前日) に再度剪毛・剃毛した。感作当日、皮内注射部位の上に検体の 58%液 (水溶液そのまま) の 0.5 mL を閉塞適用し、

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

そのまま 48 時間経過させた。無感作群動物には生理食塩水のみを 48 時間閉塞適用した。

惹起：最終感作の 2 週間後（皮内注射 3 週後）、惹起前日に両側腹部を剪毛・剃毛した。惹起当日に検体の 58%液の 0.5 mL を左側腹部に 24 時間閉塞適用した。また対照として右側腹部に生理食塩水のみを適用した。

観察項目：惹起開始から 48 及び 72 時間（惹起後から 24 及び 48 時間）に適用部位を肉眼的に観察し、紅斑・腫脹について判定基準に準じて採点した。試験開始時（皮内注射を行った日）及び観察期間終了時に体重を測定した。

結果：

一般状態：感作群および無感作群動物共に、外徴及び行動に特記すべき所見はみられなかった。また、最終体重にも特記すべき所見はみられなかった。

わずかに Freund' s Complete Adjuvant の皮内注射後の適用部位に検体の有無に係らずに発赤及び浮腫、痂皮を散見した。

皮膚観察：惹起開始後の各観察時間における皮膚変化が認められた動物数を下表に示す。

群	供試動物数	皮膚反応動物数								陽性率 (%)
		48 時間				72 時間				
		皮膚反応評点#				皮膚反応評点				
		0	1	2	3	0	1	2	3	
感作	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0
無感作	10	10	0	0	0	10	0	0	0	0

#：0 = 反応なし、1 = 軽度発赤、2 = 中等度発赤、3 = 重度発赤と腫脹

なお、陽性対照（Nickel (II)-sulfate）を用いての感受性の確認は同試験条件で定期的実施されている。直近の試験（資料番号：毒性 3-a として添付）の結果、Nickel (II)-sulfate の 1%皮内感作と 5%貼付感作後、5%貼付惹起により 2 回目惹起で 80% (8/10) の陽性率を示した。

表にみられるように、感作群における陽性率は 0%であった。

以上、

のモルモットに対する皮膚感作性は陰性と考えられる。

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

(2) 亜急性毒性

を用いたラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -4)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：Wistar ラット (Hannover-derived, outbred)、投与開始時 5 週齢、体重：投与開始時 雄 115～150 g、雌 85～124 g、主群雌雄各 10 匹、回復群雌雄各 10 匹 (対照、中間及び高用量群のみ)

投与期間：13 週間 (1991 年 2 月～ 5 月)

投与方法：検体を 0, 400, 2000 及び 10000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。回復群については 13 週にわたり同様に投与した後、4 週の休薬期間を設けた。飼料は毎週調製した。

用量設定の根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、詳細な症状観察を週 1 回行った。

観察期間を通じて、雌雄各投与群において外徴や行動の変化を認めなかった。また死亡例もみられなかった。

体重： 試験期間中は毎週すべての生存動物の体重を測定した。

主群の平均体重の推移を図 1、回復群のそれを図 2 に示す。

図1. 主群の体重推移

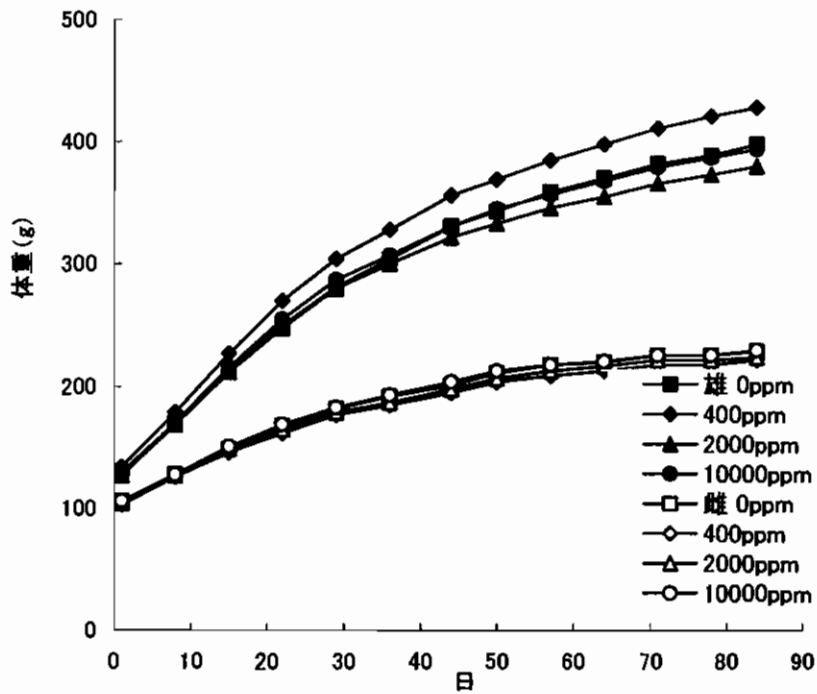
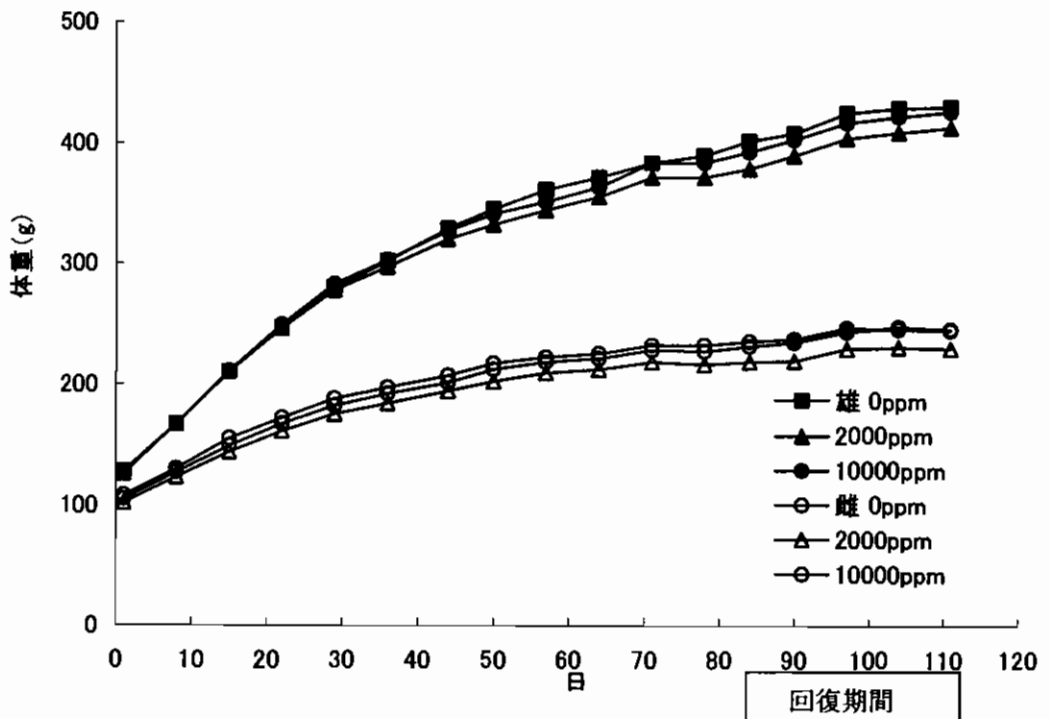


図2. 回復群の体重推移



主群の雄では 400ppm 群で増体重の増加傾向、回復群の雌雄 2000ppm 群で増体重の抑制傾向が窺われた。しかしいずれも用量相関性がみられず、偶発的な変動と考えられ、検体投与による体重への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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

摂餌量：試験期間を通じて毎週、摂餌量を記録した。

主群、回復群共に、雌雄各投与群において摂餌量に変動はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		400	2000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	29.1	147	738
	雌	31.7	162	800

血液学的検査：投与 13 週後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象として眼窩静脈叢から採血し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網状赤血球数、白血球数(WBC)、白血球分画、血小板数、トロンボプラスチン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間、赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について次表に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		400	2000	10000	400	2000	10000
RBC	13 週						↓96
Hb	13 週						↓97
MCV	13 週						↑102
WBC	回復 4 週	-		↑113	-		↓75
PT	13 週			↑102			

↓↑：p<0.05、↓↓：p<0.01 (Dunnett 検定または Steel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

雄では投与 13 週時の 10000ppm 群で PT の有意な増加 (13.1 sec.) がみられたが、変動が小さくまた背景対照範囲 (10.5 - 13.9 sec.) にあることから、偶発的な所見と考えられた。また、雌では投与 13 週に 10000ppm 群で RBC (8.48 million/ μ L) と Hb (9.8 mmol/L) の統計学的に有意な減少がみられた。しかし、これも変動が小さく背景対照範囲 (RBC: 7.76 - 9.19 million/ μ L、Hb: 9.4 - 11.0 mmol/L) にあること、さらに他に関連した所見が得られていないことから、いずれも偶発的な変動であるか、あるいは投与に関与したも

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

のとしても毒性学的意義は低いと考えられた。回復4週時にWBCの増減が雌雄の10000ppm群でみられたが、これは投与に関連しない変動と判断した。

生化学的検査：血液学的検査時に採取した血液から得られた血漿または血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン(T. Bil)、直接ビリルビン、グルコース(Glu)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、総コレステロール(T. Chol)、中性脂肪(TG)、クロル(Cl)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチンキナーゼ、総蛋白、蛋白分画

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表3に示す。

表3. 生化学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		400	2000	10000	400	2000	10000
T. Bil	回復4週	-			-	↓90	↓88
Glu	回復4週	-		↑112	-		
BUN	13週				↑113		
T. Chol	回復4週	-	↓83	↓82	-		
TG	回復4週	-			-	↓88	↓82
LDH	回復4週	-			-		↓73
Cl	回復4週	-		↑101	-		
Na	13週			↓98			
	回復4週	-			-	↓99	
K	13週	↑105					
Ca	13週		↓96			↓96	
	回復4週	-	↓97	↓97	-		
P	13週						↑115

↓↑ : p<0.05、↓↓↑↑ : p<0.01 (Dunnett 検定またはSteel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

各項目で統計学的に有意な変動を散見したが、いずれも用量相関性がみられない、回復4週時のみにみられる、変動が小さい、さらに他に関連した所見が得られていないとの理由から、検体投与に関連しない偶発的な変化、毒性学的に意義のない変動と考えられた。また、蛋白分画でも統計学的に有意な変動がみられたが、これらについても同様の理由から検体による変動とは考

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

尿検査：投与 13 週後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象として尿サンプルを採取し、以下の項目を測定・検査した。

色、外観 [以上、目視]、尿量、比重、[以上、定量的検査]、pH、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、蛋白、ウロビリノゲン [以上、半定量的検査]、沈渣 (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶) [鏡検]

目視観察や尿量、比重、尿沈渣については検体投与に関連すると思われる所見は認められなかった。半定量的検査でも pH を除く項目については特記すべき所見は得られなかった。pH については雌雄 10000ppm 群の投与 13 週時に統計学的に有意な減少がみられた。また雌については回復 4 週でも統計学的に有意な減少がみられた。しかし、いずれについても pH の変動は小さく、他に関連する所見は認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

グルタミン合成酵素 (GS) 活性：投与 13 週後の主群動物、回復 4 週後の回復群動物に対する剖検時に肝臓、腎臓及び脳の一部を採取し、グルタミン合成酵素活性を求めた。

本検査において対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 4 に示す。

眼科学的検査：投与前及び投与 11 週に主群及び回復群のすべての動物、回復 3 週に回復群のすべての動物を対象として検査した。

その結果、投与に関連すると考えられる所見は全く認められなかった。

臓器重量：試験終了時にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定した。また最終体重から対体重比を算出した。

脳、心臓、肺、腎臓、肝臓、脾臓、下垂体、甲状腺、副腎、精巣/卵巣

投与 13 週後の主群動物に対する測定で対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 5 に示す。

投与 13 週後において、雄の 400 及び 10000ppm 群で統計学的に有意な腎臓の実重量の増加がみられたが、明らかな用量相関性はみられなかった。またその対体重比では 2000 及び 10000ppm 群で統計学的に有意な増加がみられた。しかし、これらの腎臓重量の増加については病理組織学的検査で関連する所見が得られていないことから毒性変化とは捉えなかった。

また、雌 10000ppm 群の甲状腺重量の対体重比が統計学的に有意に減少した。しかし病理組織学的検査等で関連する所見はみられておらず、おそらくは偶発的な変化と考えられる。

雄の 400ppm 群にみられた下垂体重量の増加については用量相関性がみられていないことから、これも偶発的な変動と思われる。

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

表 5. 臓器重量 (投与 13 週後)

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		400	2000	10000	400	2000	10000
腎臓	実重量	↑115		↑115			
	対体重比		↑109	↑115			
下垂体	実重量	↑133					
	対体重比	↑150					
甲状腺	対体重比						↓78

↓ ↑ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (Dunnett あるいは Steel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

肉眼的病理検査：主群動物については投与 13 週後、回復群動物については回復 4 週後に剖検を行なった。

主群、回復群のいずれにおいても検体投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は観察されなかった。

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織について通常の方法で病理標本を作製し鏡検した。

副腎、動脈、脳、食道、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、卵巣、膵臓、下垂体、唾液腺、坐骨神経、脾臓、胸骨（骨髄）、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、膀胱、子宮、その他肉眼的異常部位

鏡検は、対照群と 10000ppm 群では全動物についてすべての組織を、400 及び 2000ppm 群の全動物については次の組織を対象として実施した。副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、甲状腺

その結果、主群、回復群のいずれにおいても検体投与に関連したと思われる病理組織学的な異常所見は観察されなかった。

以上、のラットに対する 90 日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に 10000ppm でも毒性変化は捉えられなかった。よって本試験の無毒性量は 10000ppm (雄で 738 mg/kg/日、雌で 800 mg/kg/日) であった。

なお、グルタミン合成酵素活性の阻害作用は雌雄共に 400ppm でも見出されており、無影響量は得られなかった。

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

マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -5)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含むプレミックスが供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：NMRI マウス (Hannover-derived, outbred)、投与開始時 5 週齢、体重：投与開始時 雄 23.2～33.0 g、雌 20.0～29.1 g、1 群雌雄各 20 匹

投与期間：13 週間 (1991 年 3 月～ 6 月]

投与方法：検体を 0, 500, 2000 及び 8000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。飼料は毎週調製した。

用量設定の根拠：

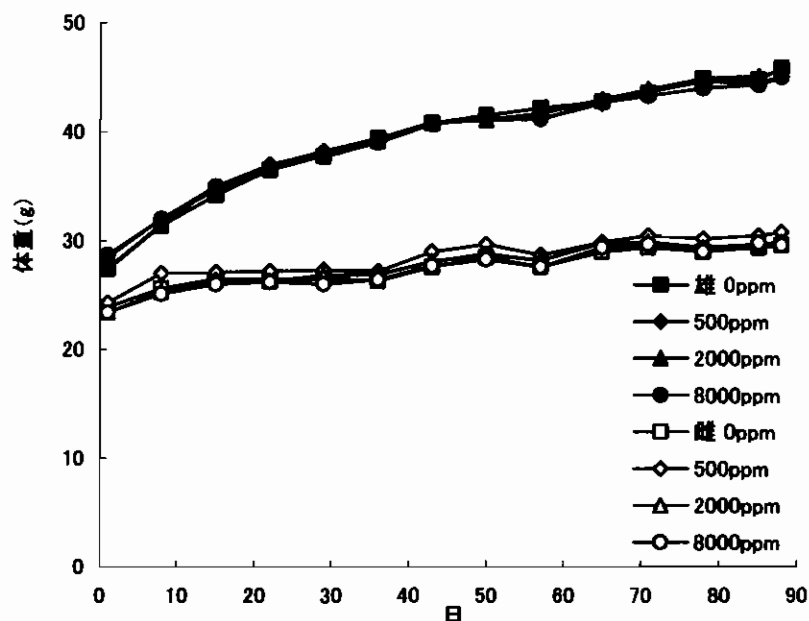
観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、詳細な症状観察を週 1 回行った。

検体投与に関連した死亡及び症状は試験期間を通じて認められなかった。投与終了時の採血後に人為的な事故により雄の 8000ppm 群の 1 例が死亡した。また、投与終了前日に雌の対照群の 1 例が死亡した。しかしその原因は特定できなかった。

体重変化：毎週すべての生存動物の体重を測定した。体重変化を次図に示す。

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



雌雄共に投与に起因した体重の変動は認められなかった。増体重にも影響はみられなかった。

摂餌量：投与期間を通じて毎週、摂餌量を記録した。

雌雄各投与群共に、摂餌量の変動はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		500	2000	8000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	82.9	324	1296
	雌	109.7	436	1743

血液学的検査：投与 13 週後に生存動物（うち雌雄各 10 匹）を対象として眼窩静脈叢から採血した。以下の項目を測定・検査した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン、ヘマトクリット(Ht)、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網状赤血球数、血小板数、白血球数、白血球分画(リンパ球% : Lym、好中球% : Neu)、赤血球形態
対照群と比較して統計学的有意を認めた項目について次表に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	2000	8000	500	2000	8000
RBC		↓ 94				
Ht		↓ 94				
Lym			↓ 95			
Neu			↑ 138			

↓ ↑ : $p < 0.05$ (Dunnett 検定または Steel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

雄では 8000ppm 群でリンパ球の減少 (11%) と好中球の増加 (87%) を統計学的に有意にみたが、変動が小さくまた背景対照範囲にあることから、偶発的な所見と考えられた。また、雄の 2000ppm 群で RBC と Ht の統計学的に有意な減少をみたが用量相関性がみられずこれらも偶発的な所見と考えられた。一方、雌ではいずれの項目についても統計学的に有意な変動を認めなかった。

生化学的検査：投与 13 週後に生存動物（血液学的検査に用いられなかった雌雄各 10 匹）を対象として採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン (T. Bil)、グルコース (Glu)、尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール、中性脂肪、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム (K)、総蛋白、蛋白分画

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 3 に示す。

雄の 2000ppm 以上の投与群で LDH の増加がみられた。しかし背景対照の範囲 (平均値 ± 標準偏差: 9.19 ± 2.31 ukat/L) にあり、むしろ対照群が低値 (5.11 ukat/L) にあったことから、統計学的有意になったものであり、明らかな用量相関性もみられないことから、検体投与には関連しないものと考えられる。

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

表 3. 生化学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	2000	10000	500	2000	10000
T. Bil				↓ 81		↓ 78
Glu				↑ 127		
LDH		↑184	↑183			
K	↑ 117					

↓ ↑ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (Dunnett または Steel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

その他、T. Bil や K に統計学的に有意な変動がみられたが、いずれも用量相関性に乏しく偶発的な変化と捉えられた。

グルタミン合成酵素 (GS) 活性 :

臓器重量 : 試験終了時にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定した。

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

また最終体重から対体重比を算出した。

脳、下垂体、心臓、肺、甲状腺、副腎、腎臓、肝臓、脾臓、精巣/卵巣
統計学的有意差を認めた項目について下表に示す。

表 5. 臓器重量

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		500	2000	8000	500	2000	8000
心臓	実重量				↑111		
肺	対体重比			↑108			

↑ : p<0.05 (Dunnett 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

統計学的に有意な変動を散見したが軽度であり、用量相関性がなく、また関連した病理組織学的所見もみられないことから、いずれも偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査：投与期間中に死亡した動物（対照群雌 1 例、8000ppm 群雄 1 例）及び投与 13 週後の全生存動物を対象として剖検を行った。

検体投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織について通常の方法で病理標本を作製し鏡検した。

副腎、動脈、脳、食道、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、卵巣、膵臓、下垂体、唾液腺、坐骨神経、脾臓、胸骨（骨髄）、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、膀胱、子宮、その他肉眼的異常部位

鏡検は、対照群と 8000ppm 群では全動物についてすべての組織を、500 及び 2000ppm 群の全動物については次の組織を対象として実施した。副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、下垂体、甲状腺

その結果、統計学的有意差を伴った変化、あるいは検体投与に関連したと思われる変化は観察されなかった。

以上、
のマウスに対する 90 日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に 8000ppm でも毒性変化は捉えられなかった。よって本試験の無毒性量は 8000ppm（雄で 1296 mg/kg/日、雌で 1743 mg/kg/日）であった。なおグルタミン合成酵素活性の阻害作用は雌雄共に 500ppm でも見出されており、無影響量は得られなかった。

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

を用いたイヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -6)

試験機関

報告書作成年 1992 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含むプレミックスが供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：ビーグル犬 (Pure-bred beagle dogs)、投与開始時 6~7 ヶ月齢、体重：投与開始時 雄 7.9~10.4 kg、雌 6.8~8.8 kg、主群雌雄各 4 匹、回復群雌雄各 2 匹 (対照、中間用量及び高用量群)

投与期間：13 週間 [1991 年 2 月~ 5 月]

投与方法：検体を 0, 500, 2000 及び 8000ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって摂食させた。回復群については 13 週にわたり同様に投与した後、4 週の休薬期間を設けた。飼料は毎週調製した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日 2 回 (午前及び午後) 観察した。

検体投与に関連した死亡及び症状は試験期間を通じて認められなかった。

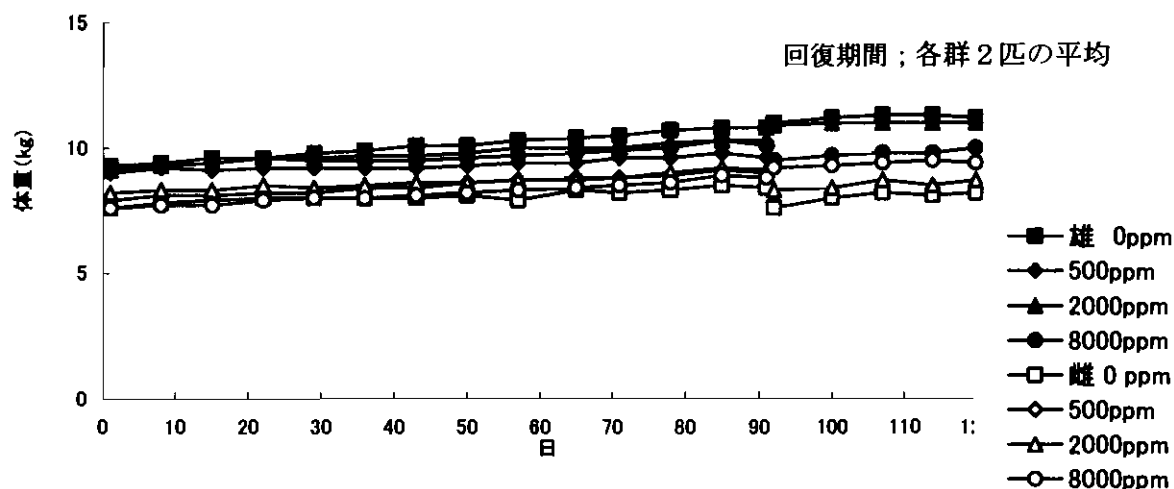
体重変化：試験期間中は毎週、すべての生存動物の体重を測定した。

平均体重の推移を図 1 に示した。

雄では各投与群共に対照群に比べて増体重の抑制傾向、雌では逆に各投与群共増加傾向を示した。しかし、いずれも統計学的に有意ではなく、さらに用量相関性がみられないことから、検体投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

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

図1 イヌの体重推移



摂餌量：投与期間を通じて毎日、摂餌量を記録した。

雌の 8000ppm 群で投与期間を通じて摂餌量の減少傾向がみられた。しかし、この群では投与前の摂餌量がやはり減少傾向にあることや、各週の摂餌量に統計学的に有意な減少がみられていないこと、さらに増体重には影響していないことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		500	2000	8000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	18.8	72.3	289
	雌	20.6	79.0	300

血液学的検査：投与前、投与 4 週及び 13 週時、回復 4 週時に生存動物を対象として頸静脈から採血し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、白血球数、網状赤血球数、血小板数、トロンボプラスチン時間、活性部分トロンボプラスチン時間、白血球分画、赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意を認めた項目について次表に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	2000	8000	500	2000	8000
RBC	投与前					↑ 109
	13 週					↑ 110

↑ : p<0.05 (Student の Dunnett 検定または Steel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

投与 13 週時において、雌の 8000ppm 群で RBC の統計学的に有意な増加がみられた。しかし、同群の投与前の検査で RBC に増加がみられており、投与には関連しないものと考えられた。その他の項目については特記すべき所見は認められず、検体投与による影響は観察されなかった。

生化学的検査：血液学的検査での血液から得られた血漿を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン、グルコース、尿素窒素(BUN)、尿酸、クレアチニン、クレアチンキナーゼ(CK)、総脂質、総コレステロール、中性脂肪(TG)、リン脂質、クロル、ナトリウム、カリウム、カルシウム(Ca)、無機リン、鉄、マグネシウム、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、乳酸脱水素酵素(LDH)、グルタミン酸脱水素酵素、γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ、総蛋白(TP)、蛋白分画

表 3 に対照群と比較して統計学的有意を認めた項目を示す。

表 3. 生化学的検査

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	2000	8000	500	2000	8000
BUN	投与前	(116)	(127)			
	13 週	↑146	↑132			
TG	投与前			(93)		
	4 週			↓84		
LDH	投与前	↑134	↑138			
	13 週	↑178	(128)			
CK	4 週					↓68
GGT	投与前				(79)	(82)
	4 週				↓76	↓73
	13 週				↓72	↓72
Ca	13 週					↑106
TP	投与前				(102)	(102)
	13 週				↑104	↑108

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定または Steel 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意差はないが参考として示した。

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

各項目で統計学的に有意な変動が認められた。しかし、多くの所見については投与前の検査で同様の傾向がみられる、用量相関性がない等の理由から検体投与との関連は否定される。また CK については雌 8000ppm 群で 4 週時に減少がみられたが毒性学的意義は低いと思われる。また、同群で 13 週時に Ca の増加 (2.57mmol/L) がみられたが、変動は小さくまた背景対照の範囲 (2.53 - 3.12mmol/L) にあることから、これについても偶発的な変動と考えられる。以上、血液生化学検査成績からは検体投与に関連した毒性変化は観察されなかった。

尿検査： 投与前、投与 4 週及び 13 週時、回復 4 週時に生存動物を対象として尿を採取し、以下の項目を測定・検査した。

外観、色調 [以上、目視観察]、浸透圧、比重 [以上、定量的検査]、pH、蛋白、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、ウロビリノゲン [以上、半定量的検査]、沈渣 (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶) [鏡検]
表 4 に対照群と比較して統計学的有意を認めた項目を示す。

表 4. 尿検査一定量的検査

検査項目		投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	500	2000	8000	0	500	2000	8000
比重 (実測値)	投与前					1.031	1.029	1.034	1.024
	4 週					1.024	1.029	1.021	↓1.013
	13 週					1.032	1.030	1.027	↓1.017
	回復 4 週		-			1.030	-	1.030	1.014
浸透圧	投与前								(76)
	4 週								↓59
	13 週								↓57
	回復 4 週		-				-		(46)

↓ : p<0.05、↓↓ : p<0.01 (Dunnett 検定または Steel 検定)

表中の数値 (浸透圧) は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの、

() : 統計学的有意差はないが参考として示した。

雌の 8000ppm 群で尿比重と浸透圧の統計学的に有意な減少がみられた。しかしいずれも投与前にも同様の傾向がみられていること、また腎臓の形態やその他の関連した所見が全くみられていないことから、両パラメーターの減少については偶発的な変動の可能性が示唆され、また検体投与との関連があるとしても毒性学的意義は低いと考えられた。

半定量的検査や沈渣の鏡検において特記すべき所見はみられなかった。

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

グルタミン合成酵素 (GS) 活性：投与 13 週後の主群動物、回復 4 週後の回復群動物に対する剖検時に肝臓、腎臓及び脳の一部を採取し、グルタミン合成酵素活性を求めた。脳については大脳皮質、中脳、小脳及び脳幹部について検討した。

本検査において対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 5 に示す。

表 5.

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

眼科学的検査：投与開始前及び投与 4 及び 13 週時、回復 4 週時に検眼鏡等を用いて眼科学的な精査をすべての動物について実施した。

その結果、いずれにおいても異常は認められなかった。

臓器重量：投与 13 週後及び回復 4 週後にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重から対体重比を算出した。

副腎、脳、腎臓、心臓、肝臓、脾臓、精巣（精巣上体含む）、前立腺、下垂体、甲状腺（上皮小体含む）

対照群と比較して統計学的に有意な差を認めた項目について表 6 に示す。

表 6. 臓器重量（13 週後）

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		500	2000	8000	500	2000	8000
甲状腺 (右)	実重量	(123)					
	対体重比	↑138					
前立腺	実重量	(69)	(61)	↓57			
	対体重比	(71)	(71)	(57)			

↓ : $p < 0.05$ 、↑ : $p < 0.01$ (Dunnett 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意差はないが参考として記載。

雄 500ppm 群の右甲状腺重量の対体重比で統計学的に有意な増加がみられた。しかし用量相関性がみられないこと、さらに左甲状腺重量で統計学的に有意な差はみられないことから偶発的な変動と考えられる。

また雄の各投与群で前立腺重量及び対体重比の減少又はその傾向を観察した。しかし、明らかな用量相関性がみられない、病理組織学的検査において関連するような所見が得られていないことから、偶発的な変動、また検体投与との関連があるとしても毒性学的意義は乏しいと考えられた。

肉眼的病理検査：投与 13 週後及び回復 4 週後にすべての生存動物を対象として剖検を行った。

雌雄共に特記すべき肉眼的異常所見はみられなかった。

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

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織の病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、動脈、骨・骨髄（大腿骨、肋骨、胸骨）、脳（大脳、小脳、中脳、延髄、橋）、精巣上体、食道、眼球（視神経含む）、乳腺、胆嚢、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（咽喉後部、腸間膜）、卵巣（卵管含む）、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、膀胱、子宮（子宮頸部を含む）、肉眼的異常部位

雌雄共に 13 週後の 8000ppm 群で下垂体にのう胞を有する個体を各々 4 例中 3 例に観察した（対照群では雄で 4 例中 1 例、雌 0 例）。しかし、回復群動物では本所見が対照群の 2 例のみにみられていることから、今回 13 週後の 8000ppm 群で対照群に比べて高い頻度でみられたのう胞所見は検体投与には関与しない偶発的なものと考えられた。

その他組織においては投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。

以上、イヌに対する 90 日間混餌投与毒性試験において、雌雄共に 8000ppm でも毒性変化は捉えられなかった。よって本試験の無毒性量は 8000ppm（雄で 289 mg/kg/日、雌で 300 mg/kg/日）であった。なお、グルタミン合成酵素活性の阻害作用は雌雄共に 500ppm でも見出されており、無影響量は得られなかった。

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

(3) 慢性毒性及び発がん性

ラットを用いた飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性及び発がん性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -7)

試験機関

報告書作成年 1997 年 [GLP 対応]

検体純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：Sprague-Dawley ラット (Cr1:CD(SD)BR), 1 群雌雄各 100 匹, 開始時 5 週齢、
投与開始時体重範囲 (雄 156-213 g, 雌 123-173 g)

12 ヶ月屠殺群：1 群雌雄各 10 匹、発がん性群：1 群雌雄各 70 匹

及び衛星群 (主に臨床検査のため)：1 群雌雄各 20 匹

投与期間：12 ヶ月屠殺群 [1993 年 10 月から 1994 年 10 月]

発がん性群及び衛星群 [1993 年 10 月から 1995 年 10 月]

投与方法：検体を 0、200、2000 及び 20000ppm の濃度で飼料に混入し、12 ヶ月 (12 ヶ月屠殺群) または 24 ヶ月 (発がん性群及び衛星群) にわたって摂食させた。
検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。さらに、詳細な観察を週 1 回行った。悪化した動物は隔離してより頻繁に観察した。

20000ppm 群の雌雄において投与 8 週以降、最終観察まで軟便の観察頻度が明らかに増加した。これに伴い被毛の褐色状の着色を観察した。しかし雌雄共に 2000ppm 以下の投与群では特記すべき所見は観察されなかった。

12 ヶ月 (52 週)、18 ヶ月 (80 週) 及び 24 ヶ月 (104 週、試験最終) 時の発がん性群における死亡率 (切迫殺含む) を表 1 に示す。

表 1. 死亡率 (%、発がん性群)

投与量 (ppm)		0	200	2000	20000
12 ヶ月 (N=70)	雄	3	1	4	4
	雌	4	1	1	3
18 ヶ月 (N=70)	雄	14	19	10	19
	雌	16	9	14	17
最終 24 ヶ月 (N=70)	雄	51	61	54	61
	雌	54	39	54	49

統計学的有意差なし (Fisher の直接確率計算法 (申請者実施))

表に示したように発がん性群の経時的な累積死亡率において検体投与による影響は認められなかった。なお、12 ヶ月屠殺群及び衛星群についても発がん性群と同様に検体投与に関連した死亡率の変動はみられなかった。

体重変化：投与開始前、投与開始から 3 ヶ月間は週 1 回、その後は 2 週間に 1 回、すべての生存動物の体重を測定した。

試験 12 ヶ月 (52 週)、18 ヶ月 (80 週) 及び 24 ヶ月 (104 週) 時の平均体重と投与期間中の体重増加量を表 2 に、また投与期間中の平均体重の推移を次図に示した。

表 2. 平均体重及び体重増加量 (全動物)

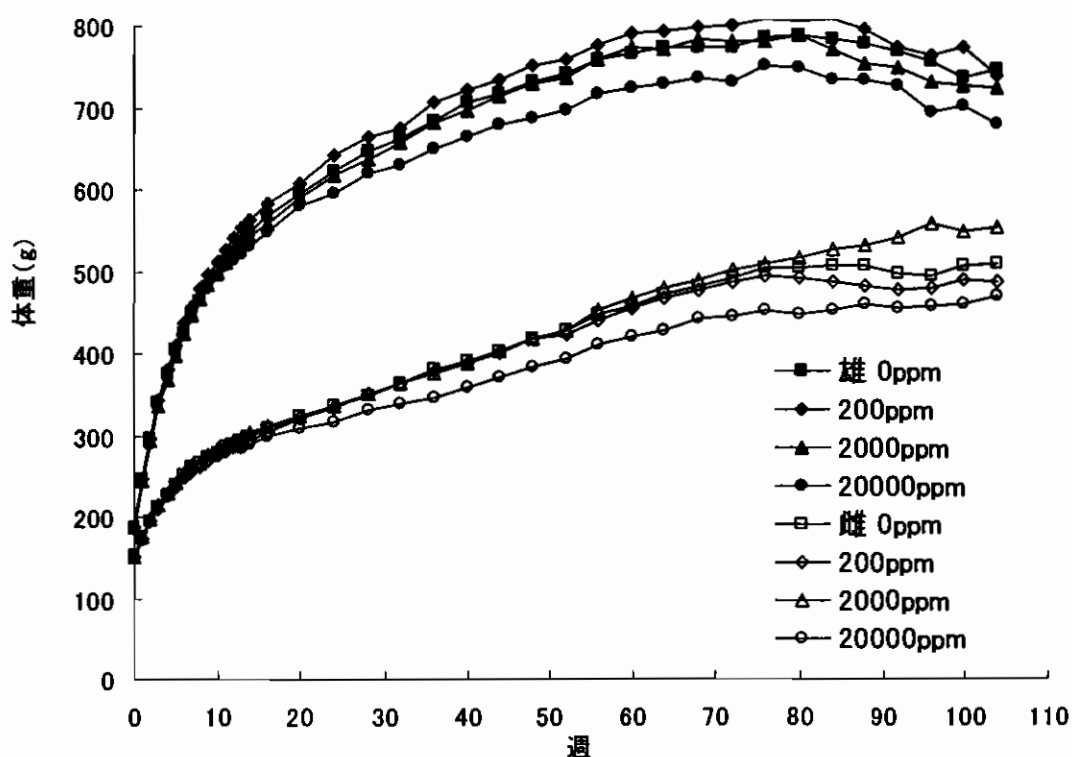
性別	雄			雌		
	200	2000	20000	200	2000	20000
12 ヶ月			↓94			↓92
18 ヶ月			(95)			↓89
24 ヶ月			(91)			(92)
0-24 ヶ月 (体重増加量)			↓88			(90)

↓ : p<0.05、↓↓ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意ではなかったが参考として記載。

体重推移



雌雄共 20000 ppm 群で投与期間を通じて増体重の抑制またはその傾向が認められ(対照群に比し雄 12%減, 雌 10%減), 検体投与の影響と考えられた。一方、200 及び 2000ppm 群では雌雄共に検体投与による体重への影響はみられなかった。

摂餌量：すべての動物について、投与開始から 14 週までは毎週、その後は 2 週間に 1 回の割合で測定した。

その結果、雌雄共に 20000ppm 群でとくに投与 1 年目において摂餌量の増加またはその傾向が認められた。しかしながらこの摂餌量の増加の毒性学的な意義はないと考えられた。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量

投与量 (ppm)		200	2000	20000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	9	91	998
	雌	11	108	1212

血液学的検査：投与 6 ヶ月 (25 週) 及び 12 ヶ月 (51 週) に 12 ヶ月屠殺群及び衛星群の各群各性 10 例ずつを眼窩静脈叢から採血した。また、18 ヶ月 (78 週) 及び 24 ヶ月 (102 週) に衛星群の生存する全例について眼窩静脈叢から採血した。これらの血液について以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、白血球数 (WBC)、血小板数 (PLT)、プロトロンビン時間 (PT)、白血球分画、赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を次表に示す。

表 4. 血液学的検査

項目	時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		200	2000	20000	200	2000	20000
Ht	6			↓96			↓97
	24					↑154	↑136
MCV	24					↑138	↑143
MCH	6						↑102
MCHC	6		↑102	↑102		↑102	↑103
	12					↑101	↑101
	18				↑101	↑102	
	24					↓69	↓68
WBC	24			↓67			
PLT	12						↑114
	18						↑127
	24						↑127
PT	12			↓95			↓97
	24					↑109	↑110

↑ ↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

6 ヶ月時の雌雄共 20000ppm 群で Ht の統計学的に有意な減少がみられた。しかし、その変動幅は小さく一過性であることから毒性学的意義は低いと考えられた。また、24 ヶ月時の検査で 2000ppm ないし 20000ppm の雌に Ht 及び MCV の増加と MCHC の減少が観察されたが、これらは老齢ラットの背景対照の

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

範囲内の変化であり毒性的意義は低いと判断した。また、雌の 20000ppm 群で対照群に比べて PLT の増加を観察した。しかし、PLT の増加に関連するような血液凝固系への影響はみられず、この変動の毒性学的意義は低いものと考えられた。その他の項目にも投与期間中雌雄の投与群において対照群に比し統計学的に有意差が認められたが、その程度はごく軽度で、かつ同年齢の本系統ラットの背景対照の範囲にあり偶発的変化と解釈した。

生化学的検査：血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目を測定した。

尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cre)、血糖(Glu)、総ビリルビン(T. Bil)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチンホスホキナーゼ(CK)、カルシウム(Ca)、無機リン(P)、総コレステロール、総蛋白(TP)、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、グロブリン、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)

表 5 に統計学的有意差の認められた項目を示す。

投与期間中、雌雄の投与群において AST、ALT、ALP、LDH 及び CK が、1 回以上の検査時期で対照群に比し統計学的に有意に低下したがこれらの変動の毒性学的意義はいずれも乏しいと判断した。

その他、基質や電解質に関し、各検査時期に投与群において対照群に比し統計学的有意な変動を示す項目がみられた。しかしいずれも一過性である、あるいは用量相関性が明らかでない、また同年齢の本系統ラットの背景対照の範囲内にある、さらには他の検査結果との関連性がないとの理由から、検体投与の影響とは判断しなかった。

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

表 5. 血液生化学的検査

項目	時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		200	2000	20000	200	2000	20000
BUN	6			↑112			
	12			↑117			
Cre	6						↓83
Glu	12			↑113			
	18		↑123	↑118		↑115	↑115
T. Bil	12		↑115				
	24			↑157			
AST	12				↓70		↓62
	18						↓65
	24	↓66	↓62	↓76			
ALT	12				↓53	(63)	↓44
	18						↓37
	24					↓40	
ALP	6						↓78
	12						↓73
LDH	12			(73)			↓67
	18	↓76		↓68			↓60
	24	↓57	↓39	↓51			
CK	12			(74)			↓68
	18			↓73		↓78	↓58
	24	↓54	↓41	↓49			
Ca	6			↑103			↑104
	12			↑106			
	24		↑106	↑106			
P	6			↑109			
	18		↓85				
TP	24			↑107			

↑ ↓ : p<0.05, ↑↓ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。
 () は統計学的な有意ではなかったが参考として記載。

表 5. 血液生化学的検査成績 (つづき)

項目	時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		200	2000	20000	200	2000	20000
Na	12						↑102
	18					↑101	↑101
	24		↑102	↑103	↑101	↑102	↑103
K	24			↓90			
Cl	6			↓98			
	18					↑102	
	24					↑104	↑104

↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものを。

尿検査 : 投与 6 ヶ月 (25 週)、12 ヶ月 (51 週)、18 ヶ月 (78 週) 及び最終の 24 ヶ月 (102 週) に血液学的検査で対象とした動物について尿検査を実施した。以下の項目を測定・検査した。

色調及び外観、pH、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、潜血、亜硝酸塩、尿量、比重、蛋白質、ビリルビン、尿沈渣の鏡検

いずれの検査時期においても検体投与の影響はみられなかった。

眼科学的検査 : 投与開始前に全動物、投与 12 ヶ月 (50 週) 時に 12 ヶ月屠殺群の動物、さらに投与 24 ヶ月 (101 週) 時に衛星群の全生存動物について、眼底像 (間接検眼鏡) とスリット検査による眼科学的検査を実施した。

投与に関連すると考えられる所見は全く認められなかった。

臓器重量 : 1 年投与後に 12 ヶ月屠殺群の全生存動物について以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比を算出した。

副腎 (両側)、脳、心臓、腎臓 (両側)、肝臓、卵巣 (両側)、脾臓、精巣 (両側)、甲状腺 (上皮小体を含む)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 6 に示す。

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

表 6. 臓器重量 (12ヶ月屠殺群)

臓器		用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		200	2000	20000	200	2000	20000
腎臓 (左)	実重量			(109)			↑105
	対体重比			(109)			↑121
	対脳重量比			(108)			↑120
腎臓 (右)	対体重比量			(107)		↑119	↑121
	対脳重量比			(106)			↑120
肝臓	対体重比						↑105
甲状腺 (右)	対脳重量比			↓79			

↑↓: p<0.05、↑: p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものを。

() は統計学的な有意ではなかったが参考として記載。

雌の 20000ppm 群で腎臓の実重量や対体重比、対脳重量比が軽度ながら増加した。また雄の 20000ppm 群でも統計学的に有意ではなかったが増加傾向が窺われた。これらの変動については病理組織学的検査で所見がみられたことから、検体投与の影響と判断した。しかし、2000ppm 群の雌において右側腎臓の対体重比が統計学的有意に増加したが、左側腎臓重量に変化がみられなかったこと、また病理組織学的検査結果との関連がみられなかったことから検体投与の影響とは捉えなかった。

20000ppm 群の雄において右側甲状腺の対脳重量比が統計学的に増加したが、左側甲状腺重量では有意な差はみられず、個体間変動も大きかったこと、さらには病理組織学的検査で特記すべき変化がみられなかったことから検体投与の影響とは判断しなかった。

肉眼病理学的検査：すべての動物について剖検した。

12ヶ月屠殺群に対する剖検では、20000ppm 群の雌に腎臓の淡色物付着、陥凹部及び腎盂拡張が観察された。

発がん性群では、20000ppm 群の途中死亡例及び 24ヶ月(104週)後最終計画殺例において、雌雄に腎臓の褪色及び表面粗造、雄にのう胞、変色斑及び淡色物付着、並びに雌で肥大を散見した。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織を採取し、注(*)をつけた組織を除き中性緩衝 10%ホルマリンで固定した。

肉眼的異常部位、副腎(両側)、大動脈、骨及び骨髄(胸骨)、脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、盲腸、大腸、十二指腸、精巣上体(両側)*、食道、眼球

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

(両側) *, 大腿骨 (骨髄を含む), 心臓, 回腸, 空腸, 腎臓 (両側), 肝臓 (2葉を採取), 肺 (2葉を採取)**, リンパ節 (頸部及び腸間膜), 乳腺, 視神経 (両側) *, 卵巣 (両側), 膵臓, 下垂体, 前立腺, 直腸, 唾液腺, 坐骨神経, 精のう, 骨格筋, 脊髄 (頸部, 胸部及び腰部), 脾臓, 胃, 精巣 (両側) *, 胸腺, 甲状腺及び上皮小体 (両側), 舌, 気管, 膀胱, 子宮, 膣,

*: Zenker 固定液 (計画殺動物のみ)

** : 肺は中性緩衝 10%ホルマリンを気管内注入 (計画殺動物のみ)

上記の固定した臓器・組織について以下を病理組織学的検査に供した。

- 対照群及び 20000ppm 群の動物全例
- 200ppm 及び 2000ppm 群の投与期間中の死亡・切迫殺動物
- 200ppm 及び 2000ppm 群の肺, 腎臓 (両側), 肝臓及び副腎 (両側)
- 全ての肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

12 ヶ月屠殺群及び発がん性群において、発生頻度に統計学的有意差あるいはその傾向の認められた非腫瘍性病変を表 8 に示す。

1 年投与後の 12 ヶ月屠殺群では慢性進行性腎症の頻度が雄の各投与群で増加したが、明らかな用量相関性を示さなかった。また、雌では 20000ppm 群で慢性進行性腎症と腎盂拡張の頻度が増加傾向を示した。

2 年投与後の発がん性群においては雌雄 20000ppm 群で腎盂結石の頻度の増加がみられ、重量増加との関連性が示唆された。また、進行性慢性腎症が雌雄の 20000ppm 群及び雄の 2000ppm 群で頻度の増加傾向がみられ、雌の 20000ppm 群では統計学的に有意であった。この病変の程度を、1-軽微, 2-軽度, 3-中等度, 4-重度で評価し、その雌雄の各投与群における平均値を次表 7 に示した。

表 7. 慢性進行性腎症の程度の平均値 (発がん性群)

所 見	投与群 (ppm)							
	雄				雌			
	0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
慢性進行性腎症	2.3	2.3	2.7	2.5	2.0	1.3	1.5	2.3

表に示したごとく病変の程度に明確な用量依存性は認められなかった。この結果と慢性進行性腎症が本系統ラットにおいて代表的な加齢性病変であることを考慮すると、本所見の頻度の増加傾向が真に検体投与の影響でもたらされたかは判断しがたい。一方、本病変に関連する二次的な所見 (上皮小体過形成, 心臓心筋症, 大動脈及び腎臓に鉍質沈着) の頻度が 20000ppm 群で

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

増加ないし増加傾向にあることから、検体投与による慢性進行性腎症の増悪の可能性を完全に否定できないと考えられる。

この慢性進行性腎症に関しては後日 2001 年にピアレビュー（資料番号：毒性 7-1）が実施されており、その結果、雌雄共に検体投与に起因した慢性進行性腎症及びその前駆病変（ヒアリン円柱、尿細管再生、リンパ球細胞浸潤）の頻度の増加はみられなかったと結論づけている。そしてこの所見の差については前回の検査では前駆病変も含めて慢性進行性腎症と診断したのに対して、ピアレビューでは区別して所見をとったことによるためではないかと考察している。

その他の投与群における発生頻度の統計学的に有意な増減は、明瞭な用量相関性を欠くところから非特異的変化と解釈した。

なお、衛星群（途中死亡及び 24 ヶ月計画殺）についても病理組織学的検査が行なわれているが、発がん性群とほぼ同様な結果が得られた。

（申請者註：慢性進行性腎症の頻度の増加については、ピアレビューの結果から、検体投与との関連性は否定された。しかしながら、雌雄共に 20000ppm で腎臓重量の増加またはその傾向、さらに肉眼的病理検査でいくつかの所見がみられていることから、20000ppm では雌雄共に腎臓への影響を完全には否定できないと考える。

また、発がん性群の雌雄 20000ppm 群で脾臓の髓外造血亢進の頻度が統計学的に有意に増加した。内訳をみると雄では途中死亡動物、雌では途中死亡、計画殺動物共に対照群に比べて増加を示した。しかし血液学的検査では貧血を示唆するような明らかな所見は得られていない。ただ、24 ヶ月時には背景対照範囲ではあるものの血液成分の増減がとくに雌の 20000ppm 群でみられており、これとの関連が示唆される。

さらに雌の 20000ppm 群では心筋症（31%）及び上皮小体の過形成（9.8%）の増加がみられた。しかし両所見共に背景対照範囲（1-70%及び1-12%）にあることから、いずれも偶発的な変動と考えられた。）

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

〔腫瘍性病変〕

12 ヶ月屠殺群における腫瘍性病変を表 9-1 に、発がん性群におけるそれを表 9-2 に示した。なお、発がん性群については死亡・切迫殺動物の結果を表 9-2-a、計画殺動物の結果を表 9-2-b、全動物について集計したものを表 9-2-c として記した。

12 ヶ月屠殺群及び発がん性群共に検体投与によると思われる腫瘍性病変の頻度の増加は認められなかった。また、腫瘍をもつ動物数の増加認められなかった。

以上、のラットに対する飼料混入による 1 年間反復経口投
与毒性及び発がん性試験において、雌雄 20000ppm で軟便と増体重の抑制を観察、さらに腎臓の形態学的変化（重量の増加またはその傾向、褪色や表面粗、腎盂結石等）が認められた。よって本試験における無毒性量は雌雄共に 2000ppm（雄 91 mg/kg/日、雌 108 mg/kg/日）と考えられる。また、本試験の結果から、検体のラットに対する発がん性はないものと考えられる。

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

表 8. 非腫瘍性病変（12ヶ月屠殺群及び発がん性群）

時期	臓器	所見/投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
12ヶ月群	所見/検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	腎臓	慢性進行性腎症	3	7	↑8	↑8	2	1	1	6
		腎盂結石	0	0	0	2	1	3	0	3
		腎盂拡張	0	0	0	0	0	0	1	3
発がん性群・全動物	所見/検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	副腎	限局性皮質過形成	17	18	↑29	27	15	20	17	14
	所見/検査動物数		70	45	40	70	70	29	38	70
	大動脈	鈣質沈着	8	4	(↑)11	9	1	0	0	5
	所見/検査動物数		70	46	45	70	70	30	41	70
	心臓	心筋症	46	35	34	43	12	5	6	↑22
	所見/検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	腎臓	慢性進行性腎症	55	55	62	62	16	22	19	↑41
		腎盂結石	8	3	7	↑17	24	27	24	↑43
	所見検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	肝臓	のう胞状変性	13	13	↑24	20	1	4	3	1
		肝細胞小増殖巣 (明細胞)	0	2	4	2	0	↑6	3	0
		肝細胞小増殖巣 (好酸性細胞)	0	0	0	2	0	2	↑5	4
	所見/検査動物数		62	37	32	64	52	26	31	61
	上皮小体	過形成	13	8	(↑)16	20	1	0	0	6
	所見/検査動物数		69	48	41	70	70	36	41	70
	顎下リンパ節	髓質形質細胞/組織球浸潤	15	11	9	↓5	16	13	9	15
	所見/検査動物数		70	53	48	70	70	34	41	70
	脾臓	髓外造血亢進	10	13	8	↑20	7	4	16	↑20
		被膜のう胞	9	6	5	↓1	2	0	1	1

↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

() : 200 及び 2000ppm 群については計画殺をいれていないことから統計学的有意は参考。

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

表 9-1. 腫瘍性病変 (12ヶ月屠殺群)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
12 ヶ月 屠殺 群・ 全動 物	検査動物数		10	0	1	10	10	0	0	10
	空腸	腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		10	1	1	10	10	4	3	10
	下垂体	前葉腺腫(B)	0	1	1	0	2	0	0	2
	検査動物数		10	7	3	10				
	前立腺	腺癌(M)	0	1	0	0				
	検査動物数		10	2	3	10	10	0	0	10
	甲状腺	ろ胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	1	0	0
	皮下織	線維腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		10	(10)	(10)	10	10	(10)	(10)	10
	良性腫瘍数		1	1	2	0	2	1	0	2
	悪性腫瘍数		0	1	0	0	0	0	0	0
	腫瘍総数		1	2	2	0	2	1	0	2
	担腫瘍動物数 良性		1	1	2	0	2	1	0	2
	悪性		0	1	0	0	0	0	0	0
担腫瘍動物数		1	2	2	0	2	1	0	2	

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍 (Fisherの直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-a. 腫瘍性病変 (発がん性群 - 死亡・切迫殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・死亡・切迫殺動物	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	副腎	褐色細胞腫 (B)	1	1	2	1	0	1	0	1
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	1	1	1	1	0	0
		皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	1	1
		皮質腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		1	1	2	1	0	0	0	0
	骨(その他)	骨肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	脳	悪性髄膜腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		星状膠細胞腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	1	1	1	0	1
	腹腔	脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性中皮腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		未分化肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		0	1	1	1	0	0	0	0
	鼻腔	扁平上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		3	2	4	3	0	0	0	0
	脂肪織	脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	空腸	腺癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		平滑筋肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	腎臓	脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		良性間葉腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		尿細管上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34	
肝臓	肝細胞腺腫 (B)	1	2	1	1	2	2	1	0	
	肝細胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-a. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 死亡・切迫殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・死亡・切迫殺動物	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	肝臓 (続き)	脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		胆管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	肺	肺胞/気管支腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	2	0
	検査動物数		19	25	21	24	25	18	25	22
	リンパ節	リンパ肉腫(M)	1	2	1	0	1	0	0	0
		組織球系細胞肉腫(M)	2	2	0	1	1	0	2	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	乳腺	線維腺腫(B)	0	0	0	1	16	13	12	11
		腺腫(B)	0	0	3	0	3	5	3	3
		腺癌(M)	1	0	0	0	8	3	7	6
		腺扁平上皮癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	膵臓	島細胞腺腫(B)	1	2	1	0	0	1	0	0
		島細胞癌(M)	5	4	5	5	0	1	0	1
		外分泌細胞腺癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	下垂体	前葉腺腫(B)	23	29	24	19	35	24	33	28
	検査動物数		36	44	39	43				
	前立腺	腺癌(M)	1	0	0	0				
	検査動物数		30	36	31	26	13	13	17	10
	皮膚 その他	角化棘細胞腫(B)	3	2	1	3	1	0	0	0
基底細胞腺腫(B)		0	0	1	0	0	0	0	0	
扁平上皮乳頭腫(B)		0	2	0	1	0	0	0	0	
脂腺癌(M)		0	0	0	0	1	0	0	0	
扁平上皮癌(M)		1	1	1	0	0	0	1	0	
検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34	
脾臓	血管肉腫(M)	0	0	1	1	0	0	0	0	
検査動物数		7	9	5	9	4	4	4	1	
皮下織	線維腫(B)	2	2	0	5	0	1	0	0	
	線維肉腫(M)	2	2	1	1	1	1	2	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-a. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 死亡・切迫殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・死亡・切迫殺動物	検査動物数		7	9	5	9	4	4	4	1
	皮下織 (続き)	悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		36	44	39	43				
	精巣	間細胞腫 (B)	0	1	3	3				
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0				
	検査動物数		36	44	39	43	39	29	38	34
	甲状腺	ろ胞腺腫 (B)	0	4	1	1	0	0	0	0
		ろ胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		C細胞腺腫 (B)	3	1	2	3	0	1	↑7	3
	検査動物数		36	44	39	42	39	29	38	34
	舌	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数						39	29	38	34
	子宮	良性内膜間質ポリープ (B)					1	1	2	2
		平滑筋肉腫 (M)					0	1	0	0
	検査動物数						39	29	38	34
	陰	悪性神経鞘腫 (M)					0	0	1	0
	検査動物数		1	0	0	0	0	0	0	0
	ジンバル腺	癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
検査動物数		0	0	0	0	0	0	0	1	
起源不明	未分化肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

↓↑ : p<0.05、↓↓↑ : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-b. 腫瘍性病変（発がん性群 - 計画殺動物）

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・計画殺動物	検査動物数		34	26	31	27	31	41	32	36
	副腎	褐色細胞腫(B)	2	5	3	4	0	0	0	1
		悪性褐色細胞腫(M)	0	0	0	2	0	0	0	0
		皮質腺腫(B)	0	0	0	1	0	1	0	0
		皮質腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		34	0	0	27	31	0	0	36
	脳	星状膠細胞腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		乏突起膠細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		0	0	0	0	0	1	0	0
	胸腔	線維腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		1	3	3	1	1	2	2	1
	脂肪織	脂肪肉腫(M)	0	1	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		34	2	6	27	31	0	0	36
	心臓	悪性心内膜神経鞘腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		34	0	0	27	31	0	1	36
	空腸	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	検査動物数		34	26	31	27	31	41	32	36
	腎臓	脂肪腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	1	0
	検査動物数		34	26	31	27	31	41	32	36
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	3	0	0	0	2	1	2	0
		脂肪肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		胆管癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		34	26	31	27	31	41	32	36
	肺	肺胞/気管支腺腫(B)	0	0	2	0	0	0	0	1
		肺胞/気管支腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
検査動物数		19	18	18	20	22	27	20	23	
リンパ節	組織球系細胞肉腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	2	
検査動物数		34	1	1	27	31	0	0	36	
リンパ節	血管腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	0	
(腸間膜)	血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	

(B)： 良性腫瘍， (M)： 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-b. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 計画殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・計画殺動物	検査動物数		34	2	1	27	31	26	19	36
	乳腺	線維腺腫(B)	0	0	0	0	15	21	13	18
		腺腫(B)	0	0	0	0	7	2	0	2
		腺癌(M)	0	1	0	1	1	9	5	6
	検査動物数		34	0	0	27	31	0	0	36
	骨格筋	未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数						31	11	7	36
	卵巣	悪性顆粒膜細胞腫/ 卵胞膜細胞腫(M)					0	0	0	1
		未分化癌(M)					0	0	1	0
		検査動物数	34	8	8	27	31	1	4	36
	膵臓	島細胞腺腫(B)	3	3	3	↑8	2	0	3	1
		島細胞腺癌(M)	7	5	4	2	1	1	1	3
		外分泌細胞腺癌(M)	0	1	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		34	14	25	27	31	38	30	36
	下垂体	前葉腺腫(B)	21	9	19	18	25	31	28	22
	検査動物数		34	26	29	22	15	14	14	7
	皮膚 (その他)	角化棘細胞腫(B)	1	3	0	↑6	0	0	1	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	2	0	0	1	0	1	0	1
		扁平上皮癌(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
		基底細胞癌(M)	0	0	2	1	0	1	0	0
	検査動物数		34	9	9	27	31	5	3	36
	脾臓	血管肉腫(M)	0	1	1	0	1	0	0	0
	検査動物数		34	0	0	27	31	7	6	36
	胃	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		5	3	7	7	3	4	9	4
	皮下織	線維腫(B)	2	1	5	3	1	0	3	2
線維肉腫(M)		1	0	0	1	0	0	0	1	
悪性神経鞘腫(M)		0	1	0	1	0	0	1	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍

↑ : p<0.05 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-b. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 計画殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・計画殺動物	検査動物数		5	3	7	7	3	4	9	4
	皮下織 (続き)	脂肪腫(B)	1	0	0	0	1	2	6	0
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		未分化肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		34	9	11	27				
	精巣	間細胞腫(B)	1	4	2	1				
	検査動物数		34	1	5	27	31	0	0	36
	胸腺	悪性胸腺腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		34	3	4	27	31	6	2	36
	甲状腺	ろ胞腺腫(B)	2	0	0	0	0	1	0	0
		ろ胞癌(M)	0	0	0	1	1	0	0	1
		C細胞腺腫(B)	5	2	1	4	3	4	2	2
		C細胞癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		34	0	0	27	31	0	1	36
	膀胱	移行上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	2
	検査動物数						31	22	15	36
	子宮	良性内膜間質ポリープ(B)					1	5	4	5
		血管腫(B)					0	0	0	1
		腺癌(M)					0	0	1	0
	検査動物数		34	1	0	27	31	0	0	36
脊髄(腰部)	脊索腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-c. 腫瘍性病変（発がん性群 - 全動物）

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・全動物	検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	副腎	褐色細胞腫(B)	3	6	5	5	0	1	0	2
		悪性褐色細胞腫(M)	0	1	1	3	1	1	0	0
		皮質腺腫(B)	0	0	0	1	0	2	1	1
		皮質腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	1
	検査動物数		1	1	2	1	0	0	0	0
	骨(その他)	骨肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	44	39	70	70	70	70	70
	脳	悪性髄膜腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		乏突起膠細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		星状膠細胞腫(M)	0	1	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		1	0	0	2	1	1	0	1
	腹腔	脂肪肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		悪性中皮腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		未分化肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		0	1	1	1	0	0	0	0
	鼻腔	扁平上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	1	1	0
	胸腔	線維腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		4	5	7	4	1	6	3	1
	脂肪織	脂肪腫(B)	0	0	1	0	0	1	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	46	45	70	70	29	38	70
	心臓	悪性心内膜神経鞘腫(M)	1	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		70	44	39	70	70	29	39	70
空腸	腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	平滑筋肉腫(M)	1	0	0	0	0	0	1	0	

(B)： 良性腫瘍， (M)： 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-c. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 全動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発がん性群・全動物	検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	腎臓	脂肪腫(B)	0	0	1	0	0	1	0	0
		脂肪肉腫(M)	1	0	0	1	0	0	1	0
		良性間葉腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		尿細管上皮癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	4	2	1	1	4	3	3	0
		肝細胞癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		胆管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		胆管癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		脂肪肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	肺	肺泡/気管支腺腫(B)	0	1	2	0	0	0	2	1
		肺泡/気管支腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		38	43	39	44	47	45	45	45
	リンパ節	リンパ肉腫(M)	1	2	1	0	1	0	0	0
		組織球系細胞肉腫(M)	3	2	0	1	2	0	2	2
	検査動物数		70	45	40	69	70	29	37	70
	リンパ節 (腸管膜)	血管腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	46	40	70	70	55	57	70
	乳腺	線維腺腫(B)	0	0	0	1	31	34	25	29
		腺腫(B)	0	0	3	0	10	7	3	5
		腺癌(M)	1	1	0	1	9	12	12	12
		腺扁平上皮癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	44	39	70	67	29	37	70
骨格筋	未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	
検査動物数						70	40	45	70	
卵巣	悪性顆粒膜細胞腫/ 卵胞膜細胞腫(M)					0	0	0	1	
	未分化癌(M)					0	0	1	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-c. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 全動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
発 が ん 性 群 ・ 全 動 物	検査動物数		70	52	47	70	70	30	42	70
	膵臓	島細胞腺腫(B)	4	5	4	8	2	1	3	1
		島細胞癌(M)	12	9	9	7	1	2	1	4
		外分泌細胞腺癌(M)	0	1	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		70	58	64	70	70	67	68	70
	下垂体	前葉腺腫(B)	44	38	43	37	60	55	61	50
	検査動物数		70	68	62	70				
	前立腺	腺癌(M)	1	0	0	0				
	検査動物数		64	62	60	48	28	27	31	17
	皮膚	角化棘細胞腫(B)	4	5	1	9	1	0	1	0
	その他	基底細胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	2	2	0	2	0	1	0	0
		脂腺癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		基底細胞癌(M)	0	0	2	1	0	1	0	0
		扁平上皮癌(M)	2	1	1	1	0	0	1	0
	検査動物数		70	53	48	70	70	34	41	70
	脾臓	血管肉腫(M)	0	1	2	1	1	0	0	0
	検査動物数		70	44	39	70	70	36	44	70
	胃	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		12	12	12	16	7	8	13	5
	皮下織	線維腫(B)	4	3	5	8	1	1	3	2
		線維肉腫(M)	3	2	1	2	1	1	2	1
		悪性神経鞘腫(M)	0	1	0	2	0	0	1	0
		脂肪腫(B)	1	0	1	0	1	2	6	0
		血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
未分化肉腫(M)		0	0	1	0	0	0	0	0	
検査動物数		70	53	50	70					
精巣	間細胞腫(B)	1	5	5	4					
	血管肉腫(M)	1	0	0	0					

(B): 良性腫瘍, (M): 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 9-2-c. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 全動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌				
			0	200	2000	20000	0	200	2000	20000	
発 が ん 性 群 ・ 全 動 物	検査動物数		70	45	44	70	70	29	38	70	
	胸腺	悪性胸腺腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	
	検査動物数		70	47	43	70	70	35	40	70	
	甲状腺	ろ胞腺腫 (B)		2	4	1	1	0	1	0	0
		ろ胞癌 (M)		0	0	0	1	2	0	0	1
		C細胞腺腫 (B)		8	3	3	7	3	5	9	5
		C細胞癌 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	44	39	69	70	29	38	70	
	舌	扁平上皮癌 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	44	39	70	70	29	39	70	
	膀胱	移行上皮乳頭腫 (B)		0	0	0	0	0	0	0	2
	検査動物数						70	51	53	70	
	子宮	良性内膜間質*リーフ (B)						2	6	6	7
		平滑筋肉腫 (M)						0	1	0	0
		血管腫 (B)						0	0	0	1
		腺癌 (M)						0	0	1	0
	検査動物数						69	30	38	70	
	陰	悪性神経鞘腫 (M)						0	0	1	0
	検査動物数		1	0	0	0	0	0	0	0	
	ジンバル腺	癌 (M)		1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	45	39	70	31	29	38	36	
	脊髄(腰部)	脊索腫 (M)		0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	0	0	1	
	起源不明	未分化肉腫 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		70	(70)	(70)	70	70	(70)	(70)	70	
	検査動物数		75	68	71	81	115	116	123	103	
検査動物数		26	26	18	17	18	19	22	26		
検査動物数		101	94	89	98	133	135	145	129		
担腫瘍動物数		53	51	50	49	62	64	65	60		
担腫瘍動物数		28	24	16	22	15	15	21	21		
担腫瘍動物数		64	59	56	59	65	66	68	65		

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

ピアレビュー：NAG を用いたラット 1 年間反復経口投与毒性及び発がん性試験にみられた進行性慢性腎症の再評価

(毒性資料 No. 代謝物 -7-1)

試験機関：

報告書作成年：2001 年

対象となる組織標本：上記試験（
、1997 年）における 12 ヶ月屠殺群、発がん性群及び衛星群（24 ヶ月混餌）すべての SD ラット（計雄 100 匹、雌 100 匹）の腎臓

評価者： Dr. Hans-Joerg Chevalier（
Dr. Klaus Weber（クロスチェック者）
（

目的： 上記試験において、慢性進行性腎症の頻度が雄の 2000ppm 以上、雌の 20000ppm でやや増加傾向を示した。そこで精査するため本所見とこの前駆所見としてのヒアリン円柱、尿細管再生、リンパ球細胞浸潤の有無及び程度を再検した。

結果： 次表に再度鏡検した結果を示す。

表 1. 慢性進行性腎症と前駆病変の出現頻度

	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
全動物	所見\検査動物数	100	100	100	99	100	99	99	100
	慢性進行性腎症	72	73	82	79	38	35	28	43
	ヒアリン円柱	15	12	10	13	20	19	23	19
	尿細管再生	2	3	1	3	5	6	2	9
	リンパ球細胞浸潤	0	2	2	3	6	11	7	11

統計学的有意差なし (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

慢性進行性腎症及びその前駆病変について雌雄各投与群に明らかな頻度の増加は認められなかった。ゆえに本検体投与による慢性進行性腎症の増悪はないと考えられる。

また、Bio-Research Laboratories (BRL) における病理所見との間にわずかな差がみられたが、BRL では前駆病変を慢性進行性腎症の一環として捉えて分類していることにより、とくに雌の 20000ppm 群において頻度の増加傾向がみられたものと考えられる。このことはとくに雌の慢性進行性腎症の頻度

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

が背景対照の比較で他の機関に比べて高いことから窺われる。

(申請者註：上記のごとくピアレビューがなされ、全動物についての出現頻度から検体投与との関連が否定された。しかし、申請者としてはこの再検結果から 12 ヶ月屠殺群、発がん性群及び衛星群に分け、さらにグレードを加味して考察を加えたい。表 2 に群毎の各所見の頻度と平均グレードを示す。

12 ヶ月屠殺群においては、雄の 2000 及び 20000ppm 群で慢性進行性腎症の統計学的に有意な頻度の増加がみられた。この結果は BRL での評価とほぼ同じであった。しかし、所見をもったものの平均グレードではむしろ対照群の方が大きかった。さらに明らかな用量相関性がみられておらず、むしろ対照群での本所見の低頻度が統計学的に有意の結果となったことが示唆される。一方、雌では特記すべき変動はみられなかった。

発がん性群では、雌雄各投与群において慢性進行性腎症や前駆病変の出現頻度の増加は認められなかった。わずかに雌 20000ppm 群で慢性進行性腎症のグレードがやや増加傾向を示した。衛星群では発がん性群とほぼ同様な傾向を示した。

以上、再考察の結果においても、この慢性進行性腎症に対する検体投与の関与を示唆する明らかな知見は得られなかった。)

表 2. 慢性進行性腎症と前駆病変の出現頻度と平均グレード

	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	200	2000	20000	0	200	2000	20000
12ヶ月屠殺群	所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	慢性進行性腎症	2 (3.0)	6 (1.7)	↑7 (1.7)	↑8 (2.0)	4 (1.3)	2 (1.5)	1 (3.0)	4 (1.0)
	ヒアリン円柱	3 (1.0)	2 (1.5)	3 (1.0)	1 (2.0)	0	0	2 (2.0)	2 (2.0)
	尿細管再生	1 (2.0)	1 (2.0)	0	1 (2.0)	1 (1.0)	1 (2.0)	0	1 (2.0)
	リンパ球細胞浸潤	0	0	1 (2.0)	1 (2.0)	1 (2.0)	1 (1.0)	0	1 (2.0)
発がん性群	所見\検査動物数	70	70	70	70	70	69	69	70
	慢性進行性腎症	55 (2.5)	53 (3.0)	59 (3.1)	53 (2.9)	26 (2.2)	23 (1.8)	19 (2.2)	31 (2.9)
	ヒアリン円柱	9 (1.4)	8 (1.8)	5 (1.4)	11 (1.9)	14 (1.5)	16 (1.3)	18 (1.5)	14 (1.5)
	尿細管再生	1 (2.0)	2 (2.0)	1 (2.0)	2 (1.5)	3 (1.3)	4 (1.5)	2 (1.0)	5 (2.2)
	リンパ球細胞浸潤	0	2 (2.0)	1 (2.0)	2 (2.0)	3 (2.0)	9 (1.6)	6 (1.7)	7 (1.0)
衛星群	所見\検査動物数	20	20	20	19	20	20	20	20
	慢性進行性腎症	15 (2.9)	14 (3.3)	16 (3.3)	18 (3.4)	8 (2.5)	10 (2.4)	8 (2.0)	8 (3.0)
	ヒアリン円柱	3 (2.0)	2 (2.0)	2 (2.0)	1 (1.9)	6 (1.3)	3 (1.3)	3 (1.3)	3 (2.0)
	尿細管再生	0	0	0	0	1 (2.0)	1 (2.0)	0	3 (1.3)
	リンパ球細胞浸潤	0	0	0	0	2 (1.0)	1 (2.0)	1 (4.0)	3 (1.3)

()内の数値は所見のあったものの平均グレード。

グレード：1-軽微、2-軽度、3-中程度、4-重度（著明）、5-最重度

↑：p<0.05 (Fisherの直接確率計算法、申請者実施)