

(9) 1年間反復経口投与毒性および発がん性

ラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験

(資料 13)

報告書作成年：2009 年

純度：

供試動物： Wistar Rj: WI (IOPS HAN)系ラット

最終屠殺群 1 群雌雄各 60 匹、中間屠殺群 1 群雌雄各 10 匹

投与開始時 6 週齢

投与開始時体重 雄 194~253g、雌 144~191g

投与期間： 最終屠殺群 24 ヶ月

中間屠殺群 12 ヶ月

投与方法： 検体を雄では 0、300、3000 および 10000ppm、雌では 0、300、3000 および 10000/6000ppm の濃度で飼料に混入し投与期間全般にわたり随時摂取させた。雌の高用量については当初 10000ppm の濃度で投与したが、一般状態の変化が顕著であったため投与 41 週より 6000ppm に減量した。

用量設定根拠：用量は先に実施したラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験（資料 9）の結果に基づき選定した。この試験では最高 10000ppm の用量で投与し、投与の影響として低体重（雌雄）、摂餌量減少（雌）、TSH レベル上昇（雄、3 週時のみ）、肝重量増加（雌雄）、甲状腺濾胞細胞肥大（雄）等が認められ、無毒性量は雄では 200ppm、雌では 5000ppm と判断された。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率：全ての動物について毎日 2 回（週末および休日は 1 回）、生死および瀕死状態について確認し、毎日 1 回、一般状態について観察した。また、触診を含む詳細な検査を試験期間を通じて毎週実施した。

投与 1 年目；雄では投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。雌では 10000/6000ppm 群で散瞳、自発運動量の低下、四肢の使用減少、非協調性運動、振戦、後肢開脚、敏捷性の低下、被毛・鼻部・肛門性器部の着色、努力性呼吸、呼吸速度の増加、呼吸音の増加、蒼白、衰弱および円背を示す動物数が増加した。これらの臨床所見は、用量を 10000ppm から 6000ppm に変更後軽減された。同様の臨床所見は 3000ppm 群雌でも軽度増加した。

投与 1 年目、雄ではいずれの用量でも投与による死亡率の増加は認められなかった。高用量群雌では投与開始 3 週間に 4 匹が切迫屠殺された。これらの動物では体重減少、衰弱、自発運動量の低下、振戦、肛門性器部の染色、蹲り、非協調性運動、衰退ないし蒼白が認められた。その後の死亡率に投与の影響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。

投与1年目における主な所見

性	雌				
	0	300	3000	10000/6000	
用量 (ppm)	1-378 日			1-280 日	281-378 日 ^a
調査期間	1-378 日			1-280 日	281-378 日 ^a
検査動物数	70	70	70	70	66
散瞳	2	3	7	61**	32**
自発運動量低下	0	0	0	7**	0
四肢の使用減少	0	0	5	58**	36**
非協調運動	0	0	0	11**	0
振戦	0	0	2	62**	30**
後肢開脚	0	0	2	50**	23**
俊敏性の低下	0	0	2	35**	11**
被毛着色	0	0	1	6*	0
鼻部着色	2	0	3	17**	9*
肛門性器部着色	0	1	1	41**	13**
努力性呼吸	0	0	1	27**	4
呼吸速度の増加	0	0	0	4	1
呼吸音増加	0	0	2	43**	9
蒼白	0	0	1	2	1
衰弱	0	1	0	13**	0
円背	0	0	0	3	0

a:高用量雌については281日目より用量を10000ppmから6000ppmに変更した。

*:p<0.05, **:p<0.01 (Fisher Exact test, 申請者実施)

投与54週時における死亡数

性	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
死亡数*	2	1	2	3	1	1	0	4
(死亡率: %)	(2.9)	(1.4)	(2.9)	(4.3)	(1.4)	(1.4)	(0.0)	(5.7)

*: 切迫殺動物を含む。事故等による偶発的な死亡は除外。

投与2年目；高用量群雌雄および中用量群雌で散瞳、四肢の使用減少、振戦、後肢開脚ないし敏捷性の低下を示す動物数が増加した。その他、高用量群雌雄では被毛、鼻部、肛門性器部の着色ないし衰弱が認められた。さらに、同群雄では立毛が、雌では呼吸音の増加、努力性呼吸および蒼白を示す動物数が増加した。投与2年目において高用量群雌の生存率が対照群に対し低下した。死亡に関連する症状として神経症状の増加、増体重抑制または体重減少が認められた。他の群では生存率に対する投与の影響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。

投与 2 年目における主な所見 (投与 380~742 日)

性	雄				雌			
	用量(ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000
検査動物数	59	59	56	56	60	60	59	56
散瞳	1	1	3	5	2	1	6	33**
四肢の使用減少	13	6	9	21	2	3	6	39**
振戦	0	0	0	9**	1	1	3	29**
後肢開脚	0	0	0	6*	0	2	3	30**
敏捷性の低下	0	0	0	5*	0	0	2	22**
被毛染色、限局性	1	2	2	4	1	0	2	1
鼻部染色	4	2	2	4	3	8	8	18*
肛門性器部着色	6	5	11	22**	2	1	5	14**
衰弱	11	6	12	16	3	6	6	11*
呼吸音増加	2	0	2	3	1	0	0	10**
努力性呼吸	1	1	1	1	2	0	1	6
蒼白	4	4	10	6	5	10	8	12
立毛	5	5	4	9	1	0	3	1

*p<0.05, **p<0.01 (Fisher Exact test、申請者実施)

投与 104 週時における生存率 (最終屠殺群)

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
切迫殺数	18	14	16	24	17	22	19	29
早期死亡数	20	26	13	12	5	9	3	6
事故による死亡	0	0	2	1	0	0	1	0
総死亡数	38	40	31	37	22	31	23	35*

*: p<0.05 (Cox's and Tarone's tests)

体重： 各動物について、馴化期間中は少なくとも週 1 回、投与開始後 13 週間は毎週、以降 4 週間毎に体重を測定した。582 日目にも体重を測定した。さらに、剖検前（一晩絶食後）にも測定し最終体重とした。

高用量群雌雄および中用量群雌で体重への影響が認められた。高用量群雄では 2 週から 102 週の体重が対照群に比べ 5~15%減少（全時点で統計学的に有意）した。同群の増体重は投与開始 2 週間では対照群に比べ 67%減少し、26-54 週および 54-78 週ではそれぞれ対照群に対し 15 および 75%減少した。高用量雌では 2 週から 102 週の体重が対照群に比べ 4~20%減少した（多くの時点で統計学的に有意）。同群では 1-2 週に絶対体重が減少し、54-78 週および 78-102 週の増体重は対照群に比べそれぞれ 55%および 81%減少した。中用量群雌では 78 週から 102 週の体重が対照群に比べ 5~10%減少した（98 週以降統計学的有意差あり）。同群では投与 1-2 週、54-78 週および 78-102 週の増体重が対照群に比べそれぞれ 19、32 および 47%減少した。

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。

体重および増体重（統計学的変化のみられた主な週）

性		雄			雌		
用量 (ppm)		300	3000	10000	300	3000	10000/6000
体重	2 週			↓86			↓85
	14 週			↓94			↓92
	26 週			↓95			↓95
	54 週			↓94			↓95
	78 週			↓94		(95)	↓86
	102 週			(94)		↓90	↓80
増体重	1-2 週			↓32		↓81	↓nc
	1-14 週			↓89			↓81
	26-54 週			(85)			(91)
	54-78 週			(25)		↓68	↓45
	78-102 週			nc		(53)	↓19
	1-102 週			(91)		↓86	↓69

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値、()内は参考値、nc；算出不能
 ↑ ↓:p≤0.05、▲ ▼:p≤0.01 (Dunnett's または Dunn's tests)

摂餌量： 摂餌量は投与開始 6 週までは週 2 回、以降 13 週までは週 1 回、その後は 4 週に 1 回記録した。

投与による摂餌量への影響は高用量群雌雄および中用量群雌で認められた。高用量群雄の投与開始直後の摂餌量が対照群に対し最大 34%減少した。同群雌では投与開始直後対照群に対し最大 37%減少した。中用量群雌では投与開始直後の摂餌量に対照群に比べ最大 12%減少した。（申請者による考察：低用量群雌で 568~596 日の摂餌量が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、用量との関連がなく、他の調査時点で同様の変化が認められないことから投与の影響とは考えなかった。）

摂餌量 (g/動物/day、統計学的有意差の認められた期間)

雄			
用量 (ppm)	300	3000	10000
5 日目			↓66
8 日目			↓80
12 日目			↓89
15 日目			↓93
26 日目			↓96
29 日目			↓93
484 日目			↓95
雌			
用量 (ppm)	300	3000	10000/6000
5 日目		↓88	↓63
8 日目		↓92	↓70
12 日目		↓91	↓72
15 日目			↓82
19 日目			↓88
22 日目			↓87
26 日目			↓88
29 日目			↓88
33 日目			↓90
40 日目		↓95	↓91
43 日目		↓92	↓91
50 日目			↓92
113 日目		↓96	↓95
204 日目			↓94
568 日目	↑129		
582 日目	↑108		
596 日目	↑109		
624 日目			↓91

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↑ ↓ : $p \leq 0.05$ 、↑ ↓ : $p \leq 0.01$ (Dunnett's または Dunn's tests)

検体摂取量：各群の検体摂取量は下表の通りであった。

検体摂取量 (mg/kg/day)

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	300	3000	10000	300	3000	10000/6000
1-52 週		14	136	474	19	185	589
1-104 週		12	118	414	17	167	452

眼科学的検査：馴化期間中および投与 24 ヶ月時に全生存動物について眼科学的検査を実施した。投与 12 ヶ月には雄については対照群および高用量群、雌については全群の全生存動物について眼科学的検査を実施した。

雄では 12 ヶ月目検査時には投与の影響は認められなかったが、24 ヶ月検査時に高用量群の 3/26 例で散瞳および瞳孔反射の消失が認められた。同群雌では 12 ヶ月目検査時に散瞳および瞳孔反射の消失を示す動物が 14/66 例に認められた。これ

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。

ら 14 動物の内、4 匹が 24 ヶ月検査時に生存したが、これらの動物では散瞳、瞳孔反射の消失、角膜混濁、角膜浮腫、水晶体核混濁、網膜の過剰反射ないし硝子質内のガラス状断片(hyaloids remnant in vitreus)がみられた。(申請者注: 24 ヶ月検査時における角膜混濁、角膜浮腫の発生頻度については対照群と投与群間に差はみられなかった。)

主な眼科学的变化

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000
12 ヶ月検査								
検査動物数	68	0	0	66	68	70	69	66
散瞳	0			1	0	0	1	14**
瞳孔反射消失	0			1	0	0	0	14**
24 ヶ月検査								
検査動物数	25	26	30	26	38	36	39	26
散瞳	0	0	0	3	0	0	1	1
瞳孔反射の消失	0	0	0	3	0	0	1	1
角膜混濁	1	0	0	0	1	1	0	1
角膜浮腫	0	0	0	0	1	1	0	1
水晶体核混濁	25	26	30	25	38	36	39	26
網膜過剰反射	1	0	2	0	1	0	1	3
硝子質 hyaloid remnant	0	0	0	0	0	0	0	1

** : $p < 0.01$ (Fisher Exact test, 申請者実施)

採血 : 投与 3、6 および 12 ヶ月に中間屠殺群の全生存動物から、投与 3、6、12、18 および 24 ヶ月に最終屠殺群各群雌雄生存動物 10 匹 (動物番号の若い方から選択) を一晩絶食させた後、イソフルランによる麻酔下後眼窩静脈叢への穿刺により血液を採取し、以下の血液学的検査および血液生化学的検査に供した。
別に、投与 3 および 14 週に最終屠殺群の各群雌雄各 10 匹 (動物番号の大きい方から選択) から一晩絶食後、血液を採取し T3、T4 および TSH の血中濃度を測定した。高用量群雌で死亡例が観察されたため、生存動物の健康状態を維持するため以降のホルモン検査用の採血は行わなかった。

血液学的検査 : 以下の項目を検査した。

ヘマトクリット(Ht)、血色素量(Hg)、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、血小板数(PLT)、白血球分画、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、網状赤血球数(RET)、プロトロンビン時間(PT)

投与 3、6、12、18 および 24 ヶ月目の血液サンプルについて塗抹標本を作製し、計測値に異常がある場合のみ検査した。また、切迫殺および計画殺動物については白血球分類が必要になる場合に備えて血液塗抹標本を作製したが検査しなかった。

中用量および高用量群雌において投与3、6および12ヶ月目の総白血球数およびリンパ球数(LYM)が対照群に比べ増加または増加傾向を示したが、その程度は僅かであり、2年目の検査で同様の結果が見られなかったため毒性学的意義のある変化とは考えなかった。他に統計学的有意な変化が散見されたがその程度が僅かである、ないし単発的であるとの理由から投与に関連した変化とは判断されなかった。

主な血液学的所見

性	雄			雌			
	用量(ppm)	300	3000	10000	300	3000	10000/ 6000
1年目結果							
WBC	3ヶ月					(119)	↑124
	6ヶ月					(116)	(120)
	12ヶ月					(120)	↑122
LYM	3ヶ月					↑125	▲132
	6ヶ月					(117)	(124)
	12ヶ月					(118)	↑126
Hg	3ヶ月	↑103					
Ht	3ヶ月	↑103					
RET	3ヶ月			↓85			↓82
PLT	3ヶ月					↑111	▲113
PT	3ヶ月			↓96			
	12ヶ月		↓96	↓96			
MCH	12ヶ月						↓97
MCHC	12ヶ月						↓98
2年目結果							
RET	18ヶ月			↓79			
	24ヶ月	↑179	↑193				
%RET	24ヶ月	↑244	↑263				
PT	24ヶ月			↓91			

表中の数値は対照群を100とした場合の値
 ↑↓:p≤0.05、▲▼:p≤0.01 (Dunnett's または Dunn's tests)

血液生化学検査：血漿を用いて、総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、尿素(UREA)、クレアチニン(CREA)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセライド(TRIG)、塩素(CL)、ナトリウム(NA)、カリウム(K)、カルシウム(CA)および無機リン(PHOS)濃度、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、アルカリホスファターゼ(AP)およびγ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)活性を、血清を用いて総タンパク(TPRO)およびアルブミン(ALB)濃度を測定し、グロブリン(GLOB)およびアルブミン/グロブリン比(A/G)を算出した。また、血漿および血清の外観の異常を記録した。

1年目；高用量群雌雄で無機リン(3、6、12ヶ月)が上昇し、総ビリルビン濃度(雄；6、12ヶ月、雌；3、6、12ヶ月)が低下した。同群雌でグルコース濃度(3、

6、12ヶ月)が低下し、総コレステロール(3、6、12ヶ月)およびトリグリセライド濃度(3、6ヶ月)が上昇した。

中用量群雄では総ビリルビン濃度が低下し、同群雌では無機リン、総コレステロール濃度が上昇し、総ビリルビン(12・24ヶ月)、グルコース濃度(3ヶ月)が低下した。同群雌雄でみられたこれらの変化は、その程度が僅かである、散発的であるないし病理組織学的検査で関連する変化が認められないことから毒性学的意義は低いと判断された。

他に統計学的有意な変化が散見されたがその程度が僅かである、ないし単発的であるとの理由から投与に関連した変化とは判断されなかった。

2年目:総ビリルビン濃度の低下が中用量群以上の雄(18ヶ月)および全投与群雄(24ヶ月)でみられた。関連する臓器の機能障害は認められないことから、これら総ビリルビン濃度の低下は投与による毒性影響とは判断されなかった。高用量群雄でカリウム濃度(24ヶ月)が上昇したが、個体間の変動を反映したものであり毒性学的意義は低いと考えられた。

主な生化学的所見

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	300	3000	10000	300	3000	10000/ 6000
1年目結果							
TBIL	3ヶ月					↓63	↓47
	6ヶ月			↓65		↓71	↓50
	12ヶ月		↓71	↓67		↓78	↓59
ASAT	3ヶ月						↑118
	12ヶ月					↓64	
ALAT	12ヶ月				↓73		↓60
AP	12ヶ月		↓79	↓81			
GLUC	3ヶ月					↓92	↓79
	6ヶ月						↓84
	12ヶ月						↓90
CREA	3ヶ月						↓94
CHOL	3ヶ月					(111)	↑129
	6ヶ月					↑119	↑131
	12ヶ月					(110)	(114)
TRIG	3ヶ月						↑150
	6ヶ月						↑129
	12ヶ月			↓69			
TPRO	3ヶ月						↓94
	6ヶ月						↓96
	12ヶ月						↓94
ALB	3ヶ月					↓95	↓95
	6ヶ月						↓93
	12ヶ月						↓91
GLOB	6ヶ月			↓93			
A/G	6ヶ月	↑104	↑104	↑106			↓94
	12ヶ月					↓94	↓94
NA	3ヶ月						↑101

主な生化学的所見(続き)

性		雄			雌		
用量 (ppm)		300	3000	10000	300	3000	10000/ 6000
1 年目結果							
PHOS	3 ヶ月			▲115		(105)	↑111
	6 ヶ月			▲113		↑110	▲112
	12 ヶ月			↑109		(108)	↑111
2 年目結果							
TBIL	18 ヶ月		▼60	▼56		▼62	
	24 ヶ月	▼65	▼60	▼55			
ASAT	18 ヶ月		↓69				
AP	18 ヶ月		▼69	▼63			
GLUC	18 ヶ月		↑118				
K	24 ヶ月			▲112			
PHOS	24 ヶ月		↑113				

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値、()内は参考値
 ↑↓:p≤0.05、▲▼:p≤0.01 (Dunnett's または Dunn's tests)

ホルモン測定：3 週目検査時において 10000ppm 群雄で TSH レベルが上昇傾向を示した。
 他に生物学的有意な変化は認められなかった。

性		雄			雌		
用量 (ppm)		300	3000	10000	300	3000	10000/ 6000
TSH	3 週			(149)			

統計学的有意差なし (ANOVA、p>0.05)

尿検査： 中間屠殺群の全生存動物について 4、6 および 12 ヶ月に、最終屠殺群の各群雌雄生存動物 10 匹 (動物番号の若い方から選択) について 4、6、12、18 および 24 ヶ月に尿を採取した。採尿の間(約 16 時間)、飼料および水は与えなかった。以下の項目を検査した。

性状、容量、pH、屈折率、グルコース、ビリルビン、ケトン体、潜血、タンパク質、ウロビリノーゲン、沈渣の鏡検

雄ではいずれの用量においても投与の影響は認められなかった。10000/6000ppm 群雌において 4~12 ヶ月目の尿量が対照群に比べ増加した。3000ppm 群雌においても尿量の増加が認められたが、一時的な変化であり個体間の変動を反映した変化と考えられた。(申請者による考察：高用量群雄の 4 および 12 ヶ月時の尿 pH が対照群に比べ軽度に低下し、一方、同群雌の 4 ヶ月目の pH が対照群に比べ上昇したが、他の検査時に同様の変化が見られず、雌雄で逆方向の変化であったため投与の影響とは考えられなかった。)

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。

主な尿検査所見

性		雄				雌			
用量(ppm)		0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
尿量 (ml)	4ヶ月					2	2.2	2.4	3.6**
	6ヶ月					2.4	2.5	2.8	4.6**
	12ヶ月					2.4	2.9	4.5*	4.2*
pH	4ヶ月	6.8	6.8	6.7	6.3+	5.9	6	6.2	6.5+
	18ヶ月	7.2	7	6.9	6.2+	6.1	6.7	6.2	5.8

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test), +: p<0.05 (Dunn's test)

計画屠殺：中間屠殺群については投与 376 から 378 日目、最終屠殺群については投与 734 から 747 日目に、全ての生存動物をイソフルラン吸入による深麻酔下放血致死させた。各屠殺日には各群同数程度の動物を無作為に割り当てた。動物は屠殺前夜絶食させた。

臓器重量：計画殺動物について以下の組織の重量を測定した。

肝臓、心臓、脾臓、胸腺、腎臓、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮（頸部を含む）、脳、下垂体、副腎、甲状腺

中間屠殺群；高用量群雄の最終体重が対照群に比べ統計学的有意に減少した（対照群比-13%）。雌の最終体重は対照群と同等であった。

中用量および高用量群雄の肝臓重量（体重比のみ：それぞれ対照群比+12 および+23%）が対照群に比べ増加した。この変化は最終体重の低下に関連した変化と考えられるが、同時に病理組織学的検査における肝細胞肥大にも関連した。

高用量群雄の精巣上体重量（実重量および体重比）および精巣重量（体重比）が対照群に比べ統計学的有意に増加したが、これらの変化は対照群における自然発生の精巣萎縮(0、300、3000 および 10000ppm 群でそれぞれ 3/8、0/9、1/10 および 0/9 例)ならびに精巣上体精子減少による精巣および精巣上体重量の低下によるものであり、投与の影響とは考えられなかった。（申請者による考察：高用量群雄で見られた脳の体重比の増加および脾臓の対脳重量比の減少はいずれの最終体重の低下に関連した変化と考えられた。）

臓器重量（中間屠殺群、統計学的有意差の認められた項目）

性		雄			雌		
用量(ppm)		300	3000	10000	300	3000	10000/ 6000
最終体重				↓ 87			
脳	対体重比			↑ 116			
肝臓	対体重比		↑ 112	▲ 123			
脾臓	対脳重量比			↓ 80			
精巣上体	実重量			↑ 126			
	対体重比			▲ 142			
精巣	対体重比			↑ 138			

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↑ ↓ p≤0.05、▲ ▼ p≤0.01 (Dunnett's test または Dunn's Rank Sum tests)

最終屠殺群：高用量群雌雄の最終体重が対照群に比べ減少または減少傾向を示した。

高用量群雌雄の肝臓重量（体重比のみ）が対照群に比べ増加した。この変化は最終体重の低下に関連した変化と考えられるが、同時に病理組織学的検査における肝細胞肥大にも関連した。

雌に関して他に認められた変化はいずれも最終体重の減少による変動と考えられた。（申請者による考察；高用量群雄で認められた腎臓対体重比の増加も、同群における最終体重の低値傾向による変動と考えられた。低用量群雄の精巣上体の対体重比の減少は、用量との関連がみとめられず偶発的变化と考えられた。）

臓器重量（最終屠殺群、統計学的有意差の認められた項目）

性		雄			雌		
用量(ppm)		300	3000	10000	300	3000	10000/ 6000
体重				(93)		(93)	↓82
脳	対体重比						↑121
心臓	実重量					↓93	↓86
	対脳重量比						↓86
肝臓	対体重比			↑118			↑114
脾臓	実重量					↓89	↓83
	対脳重量比					↓90	↓83
腎臓	対体重比			↑116			↑115
精巣上体	対体重比	↓86					
副腎	対体重比					↓82	↓77

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↑ ↓: p ≤ 0.05, ▲ ▼: p ≤ 0.01 (Dunnett's test または Dunn's Rank Sum tests)

肉眼的病理検査：全ての動物について外表、全開口部、主要臓器・組織および体腔に関し剖検した。

中間屠殺群：

途中死亡動物；中間屠殺群では 8 例の途中死亡例が認められたが、投与に関連した剖検所見は見られなかった。

計画殺動物：10000ppm 群雄の 2/9 例および 10000/6000ppm 群雌の 3/10 例で肝臓腫大が認められた。

中間計画殺動物の肝臓における主な所見

性	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/ 6000
検査動物数	8	9	10	9	7	9	10	10
腫大	0	1	1	2	0	0	1	3

変化のみられた動物数/検査動物数

最終屠殺群：

途中死亡動物；試験終了前に 257 匹の動物が死亡した。

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。

高用量群雌雄で肝臓および腎臓の暗調化が少数例認められ、それぞれ組織病理検査における肝細胞肥大および腎臓の褐色色素沈着と関連した。中用量群雌でも腎臓の暗調化が2/23例にみられたが、関連する病理組織学的変化がなく、投与に関連する変化とはみなさなかつた。

高用量群雄で精嚢の萎縮/小型化の頻度が増加した（対照群 6/38例に対し 13/37例）が、関連する組織病理学的変化を伴わず、投与に関連した変化とは判断しなかつた。

最終屠殺群途中死亡動物における主な剖検所見

性	雄				雌			
	用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000
検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
肝臓 暗調化	0	1	0	5	0	0	0	2
腎臓 暗調化	0	0	0	3	0	0	2	2
精嚢 萎縮/小型化	6	8	9	13				

計画殺動物：中用量および高用量群雌雄で肝臓腫大、高用量群雌雄で肝臓の暗調化の発生頻度が増加した。高用量群雌で腎臓暗調化の発生頻度が増加し、病理組織学的検査における褐色色素の沈着と関連した所見と考えられた。腎臓暗調化は低用量および中用量群雌でも認められたが、病理組織学的変化を伴わず投与の影響とは考えられなかつた。中用量以上の投与群雄で精嚢の萎縮/小型化の発生頻度が増加したが病理組織学的変化を伴わないため投与に関連した変化とはみなさなかつた。

最終屠殺群計画殺動物における主な剖検所見

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25	
肝臓	暗調化	0	0	1	5	0	0	2	10**
	腫大	1	1	6	5	10	12	15	16**
腎臓	暗調化	0	0	2	0	0	3	5*	5**
精嚢	萎縮/小型化	0	0	5	7**				

*: P<0.05 (Fisher exact test、申請者実施)

病理組織学的検査：以下の臓器/組織を採取した。

舌、顎下腺、食道、胃、腸（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、肝臓、脾臓、気管、肺、胸部大動脈、心臓、骨髄（胸骨）、リンパ節（顎下、腸間膜）、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上部、前立腺、精嚢、卵巣、子宮（頸部含む）、乳腺、膣、脳、坐骨神経、脊髓（頸部、胸部、腰部）、眼（網膜）、視神経、下垂体、副腎、上皮小体、甲状腺、ハーダー腺、骨（胸骨）、骨格筋、皮膚、肉眼的異常部位、関節面、鼻腔、喉頭/咽頭、眼窩外涙腺

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。

上記の全組織（眼窩外涙腺、喉頭／咽頭および鼻腔を除く）について病理組織スライドを作成しヘマトキシリン－エオシン染色した。

病理組織学的検査は、中間計画殺動物については肝臓、肺、腎臓、甲状腺、肉眼的異常部位を除く組織については対照群と高用量群のみ実施し、中間屠殺群途中死亡動物および最終屠殺群の全動物については全群について実施した。

中間屠殺群：

途中死亡動物；投与に関連した病理組織学的所見は見られなかった。

計画殺動物；3000ppm 以上の投与群雌雄で小葉中心性ないし汎小葉性肝細胞肥大が認められた。10000ppm 群雄で甲状腺の濾胞細胞肥大およびコロイド変化が、10000/6000ppm 群雌で濾胞細胞肥大が認められた。

中間屠殺群（計画殺動物）における主な病理組織学的所見

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数		8	9	10	9	7	9	10	10
肝臓	小葉中心性ないし汎小葉性肝細胞肥大；び慢性								
軽微	0	0	1	5	0	0	1	5	
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0	
合計	0	0	1	6	0	0	1	5	
甲状腺	濾胞細胞肥大；び慢性								
軽微	0	0	0	1	0	0	0	1	
軽度	0	0	0	2	0	0	0	0	
合計	0	0	0	3	0	0	0	1	
甲状腺	コロイド変化								
軽微	2	4	2	3	0	1	0	0	
軽度	0	0	0	3	0	0	0	0	
顕著	0	0	0	1	0	0	0	0	
合計	2	4	2	7	0	1	0	0	

最終屠殺群：（認められた主な非腫瘍性所見を表 1、認められた全ての腫瘍性所見を表 2 に示した。）

計画殺動物＋途中死亡動物（全動物）；

腫瘍性病変

各種陽性病変の発生頻度は対照群と投与群で同等であり、投与の影響は認められなかった。

非腫瘍性病変

投与に関連した変化が肝臓、腎臓、甲状腺、脳、下垂体および眼に認められた。肝臓；高用量および中用量群雌雄で小葉中心性ないし汎小葉性の肝細胞肥大の発生頻度が増加し、同群雌で多核肝細胞および小葉中心性肝細胞巨大空胞の発生頻度の増加および胆管周囲性肝細胞巨大空胞の発生頻度の減少が認められた。小葉中心性肝細胞巨大空胞は高用量群雄でも増加し、高用量群雌では褐色色素沈着および単細胞壊死の発生頻度が増加した。

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

最終屠殺群（全動物）の肝臓に認められた主な非腫瘍性変化

性	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
小葉中心性ないし汎小葉性肝細胞肥大：びまん性								
軽微	0	0	15	29	0	0	18	32
軽度	0	0	0	4	0	0	1	7
合計	0	0	15**	33**	0	0	19**	39**
核大小不同を伴う多核肝細胞								
合計	1	0	3	0	7	9	16*	13*
肝細胞褐色色素沈着								
軽微	0	1	0	2	3	2	4	22
軽度	0	0	0	1	0	1	1	8
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
合計	0	1	0	3	3	3	5	31**
肝細胞単細胞壊死：巣状								
軽微	0	0	1	1	2	0	5	7
軽度	1	0	1	0	0	0	0	2
合計	1	0	2	1	2	0	5	9*
肝細胞巨大空胞：胆管周囲性：びまん性								
軽微	5	5	4	2	22	17	14	2
軽度	1	1	0	2	16	17	4	3
中等度	1	2	1	0	3	0	1	1
顕著	1	0	2	1	0	0	0	0
合計	8	8	7	5	41	34	19**	6**
肝細胞巨大空胞：小葉中心性：びまん性								
軽微	0	0	0	13	0	0	5	9
軽度	0	0	1	3	0	0	3	4
中等度	0	1	0	1	0	0	1	0
合計	0	1	1	17**	0	0	9**	13**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

腎臓：高用量群雌で細胞質内褐色色素沈着の発生頻度が増加した。

最終屠殺群（全動物）の腎臓に認められた主な変化

性	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
用量 (ppm)	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
細胞内褐色色素沈着：皮質尿管：限局性								
軽微	1	0	4	2	7	7	8	12
軽度	0	0	0	0	1	1	1	5
合計	1	0	4	2	8	8	9	17*

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

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。

甲状腺；中用量および高用量群雌雄でコロイド変化の発生頻度が増加し、同群雄ではさらに濾胞細胞肥大が認められた。

最終屠殺群（全動物）の甲状腺における主な変化

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
濾胞細胞肥大：びまん性								
軽微	1	0	2	3	0	0	1	1
軽度	0	1	1	0	0	0	0	0
中等度	0	0	0	2	0	0	0	0
合計	1	1	3	5	0	0	1	1
コロイド変化								
軽微	15	14	20	20	2	1	8	9
軽度	4	6	11	12	1	0	0	3
中等度	0	1	5	3	0	0	0	0
合計	19	21	36**	35**	3	1	8	12**

*: $p \leq 0.05$ 、 **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

眼：高用量群雌で両側性の限局性網膜萎縮および辺縁部網膜萎縮の発生頻度が増加した。網膜萎縮は外網状層および外顆粒層およびかん状体／錐状体層の変性を特徴とし、網膜中央部より辺縁部でより影響を受けていた。

最終屠殺群（全動物）の眼に認められた主な変化

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000/6000
検査動物数	59	59	60	60	60	60	60	60
辺縁部網膜萎縮：両側								
軽微	1	0	1	4	2	3	1	9
軽度	0	0	0	0	1	2	1	6
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
合計	1	0	1	4	3	5	2	16**
網膜萎縮：両側：限局性								
軽度	1	0	0	0	0	0	0	0
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
顕著	0	1	0	0	0	0	1	0
強度	0	0	0	0	0	0	1	4
合計	1	1	0	0	0	0	2	5*

*: $p \leq 0.05$ 、 **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

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。

下垂体：中用量および高用量群雌雄で下垂体後葉空胞化の発生頻度が増加した。
最終屠殺群（全動物）の下垂体に認められた主な変化

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000 /6000
検査動物数	60	60	60	60	59	60	59	60
空胞化：後葉								
軽微	1	0	2	14	0	0	4	11
軽度	0	0	1	0	0	0	0	3
中等度	0	0	0	1	0	0	0	8
顕著	0	0	0	1	0	0	0	1
合計	1	0	3	16**	0	0	4	23**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

脳：高用量群雌雄で脳正中隆起の空胞化が認められた。
最終屠殺群（全動物）の脳に認められた主な変化

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	300	3000	10000	0	300	3000	10000 /6000
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
空胞化：正中隆起：限局性								
軽微	0	0	0	3	0	0	0	3
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
合計	0	0	0	3	0	0	0	4*

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

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。

本試験において投与に関連すると考えられる毒性所見を以下に要約する。

用量 (ppm)	雄	雌
雄：10000 雌：10000/6000	<ul style="list-style-type: none"> 一般状態の変化 低体重、増体重抑制 摂餌量減少 散瞳、瞳孔反射の欠如 PHOS 上昇、TBIL 低下 TSH 上昇傾向(3ヶ月目のみ) 肝重量(最終屠殺群、体重比)増加 肝臓暗調化、腎臓暗調化 甲状腺濾胞細胞肥大、コロイド変化(中間屠殺群) 脳正中隆起限局性空胞化(最終屠殺群) 肝細胞巨大空胞(最終屠殺群) 	<ul style="list-style-type: none"> 死亡率増加 散瞳、瞳孔反射の消失 PHOS、CHOL、TRIG 上昇、TBIL、GLUC 低下 尿量増加 肝重量(最終屠殺群、体重比)増加 肝臓暗調化、腎臓暗調化 甲状腺濾胞細胞肥大(中間屠殺群) 脳中正中隆起局性空胞化(最終屠殺群) 眼網膜萎縮、辺縁部網膜萎縮(最終屠殺群) 腎臓皮質尿管褐色色素沈着(最終屠殺群) 肝細胞褐色色素沈着、単細胞壊死(最終屠殺群)
3000 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝重量(中間屠殺群、体重比)増加 肝腫大 肝細胞肥大(中間、最終屠殺群) 甲状腺濾胞細胞肥大、コロイド変化(最終屠殺群) 下垂体空胞化(最終屠殺群) 	<ul style="list-style-type: none"> 一般状態の変化 低体重、増体重抑制 摂餌量減少 肝腫大 肝細胞肥大(中間、最終屠殺群) 肝臓多核肝細胞、肝細胞巨大空胞(最終屠殺群) 胆管周囲性肝細胞巨大空胞減少(最終屠殺群) 甲状腺コロイド変化(最終屠殺群) 下垂体空胞化(最終屠殺群)
300	<ul style="list-style-type: none"> 投与の影響なし 	<ul style="list-style-type: none"> 投与の影響なし

投与に関連する腫瘍性変化は観察されなかった。

以上より、本試験条件における無毒性量は雌雄とも 300ppm (雄；12mg/kg/day、雌；17mg/kg/day 相当) と判断された。

催腫瘍性は認められなかった。

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

表 1-1. 非腫瘍性病変（最終屠殺群－途中死亡動物）

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
脳	検査動物数	38	33	25	24	16	21	20	26
	空胞化:正中隆起:限局性	0	0	0	1	0	0	0	3
眼	検査動物数	37	39	31	37	22	31	23	35
	網膜萎縮:両側:限局性	0	1	0	0	0	0	0	1
	辺縁部網膜萎縮:両側	0	0	1	1	0	2	0	6
腎臓	検査動物数	38	40	3	37	22	31	23	35
	集合管過形成:両側:限局性	4	2	2	0	1	0	0	4
	細胞内褐色色素沈着:皮質 尿細管:限局性	0	0	2	1	2	2	2	9
肝臓	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	核大小不動を伴う多核肝細胞	1	0	0	0	0	0	3	4
	小葉中心性ないし汎小葉性 肝細胞肥大:び慢性	0	0	5	14	0	0	1	19
	肝細胞褐色色素沈着	0	1	0	1	1	3	2	16
	肝細胞単細胞壊死巣状	1	0	0	1	1	0	2	7
	小葉中心性肝細胞巨大空 胞:び慢性	0	1	0	6	0	0	1	4
	胆管周囲性肝細胞巨大空 胞:び慢性	2	2	2	1	0	2	1	1
下垂 体	検査動物数	38	40	31	37	21	31	22	35
	空胞化:後葉	1	0	1	9	0	0	1	13
甲状 腺	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	濾胞細胞肥大:び慢性	1	1	1	4	0	0	1	1
	コロイド変化	11	12	13	18	1	0	1	6

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 1-2. 非腫瘍性病変（最終屠殺群－計画殺動物）

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
脳	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	空胞化:正中隆起:限局性	0	0	0	2	0	0	0	1
眼	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	網膜萎縮:両側:限局性	4	1	6	2	7	3	2	4
	辺縁部網膜萎縮:両側	1	0	0	3	3	3	2	10
腎臓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	集合管過形成:両側:限局性	1	0	1	0	0	0	0	1
	細胞内褐色色素沈着:皮質 尿細管:限局性	1	0	2	1	6	6	7	8
肝臓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	核大小不動を伴う多核肝細胞	0	0	3	0	7	9	13	9
	小葉中心性ないし汎小葉性 肝細胞肥大:び慢性	0	0	10	19	0	0	18	20
	肝細胞褐色色素沈着	0	0	0	2	2	0	3	15
	肝細胞単細胞壊死巣状	0	0	2	0	1	0	3	2
	小葉中心性肝細胞巨大空胞:び慢性	0	0	1	11	0	0	8	9
	胆管周囲性肝細胞巨大空胞:び慢性	4	4	4	1	7	6	9	5
下垂体	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	空胞化:後葉	0	0	2	7	0	0	3	10
甲状腺	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	濾胞細胞肥大:び慢性	0	0	2	1	0	0	0	0
	コロイド変化	8	9	23	17	2	1	7	6

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 1-3. 非腫瘍性病変 (最終屠殺群—全動物 (途中死亡+計画殺動物))

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
脳	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	空胞化:正中隆起:限局性	0	0	0	3	0	0	0	4*
眼	検査動物数	59	59	60	60	60	60	60	60
	網膜萎縮:両側:限局性	1	1	0	0	0	0	2	5*
	辺縁部網膜萎縮:両側	1	0	1	4	3	5	2	16**
腎臓	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	集合管過形成:両側:限局性	5	2	3	0*	1	0	0	5
	細胞内褐色色素沈着:皮質	1	0	4	2	8	8	9	17*
	尿細管:限局性								
肝臓	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	核大小不動を伴う多核肝細胞	1	0	3	0	7	9	16*	13*
	小葉中心性ないし汎小葉性肝細胞肥大:び慢性	0	0	15**	33**	0	0	19**	39**
	肝細胞褐色色素沈着	0	1	0	3	3	3	5	31**
	肝細胞単細胞壊死巣状	1	0	2	1	2	0	5	9*
	小葉中心性肝細胞巨大空胞:び慢性	0	1	1	17**	0	0	9**	13**
	胆管周囲性肝細胞巨大空胞:び慢性	8	8	7	5	41	34	19**	6**
下垂体	検査動物数	60	60	60	60	59	60	59	60
	空胞化:後葉	1	0	3	16**	0	0	4	23**
甲状腺	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	濾胞細胞肥大:び慢性	1	1	3	5	0	0	1	1
	コロイド変化	19	21	36**	35**	3	1	8	12**

*:p≤0.05、**:p≤0.01 (Logistic Regression tests ; 全動物のみ実施)

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 2-1. 腫瘍性病変 (最終屠殺群—途中死亡動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
腹腔	検査動物数	0	0	0	1	1	0	0	0
	悪性神経鞘腫:M	0	0	0	1	1	0	0	0
副腎	検査動物数	37	39	31	37	21	31	23	35
	悪性褐色細胞腫:M	0	1	0	1	0	0	0	0
	良性褐色細胞腫:B	2	1	1	1	0	0	0	0
	束状体腺腫:B	0	1	0	1	0	2	0	0
骨	検査動物数	0	3	0	0	1	0	0	0
	骨肉腫:M	0	3	0	0	0	0	0	0
脳	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	悪性神経鞘腫:M	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性乏突起膠腫:M	1	1	0	0	0	0	0	0
	悪性上衣腫:M	0	0	0	0	0	0	0	0
	悪性星状細胞腫:M	0	0	0	0	0	1	0	1
	顆粒細胞腫:B	0	0	0	0	0	1	0	0
陰核 腺	検査動物数					0	1	0	0
	扁平上皮癌:M					0	1	0	0
耳	検査動物数	0	0	1	0	0	0	0	0
	良性神経鞘腫:B	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣 上体	検査動物数	38	40	31	37				
	悪性中皮腫:M	2	0	0	1				
食道	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	乳頭腫:B	0	0	0	0	0	0	0	0
前肢	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	扁平上皮癌:M	0	0	0	1	0	0	0	0
心臓	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	悪性神経鞘腫:M	0	0	1	1	0	1	1	0
造血 系	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	リンパ腫:M	2	1	0	0	1	0	0	0
空腸	検査動物数	27	26	26	30	18	29	23	32
	腺癌:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	肉腫(分類不能):M	1	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋腫:B	0	1	0	0	0	0	0	0
腎臓	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	尿細管癌:M	1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	肝細胞癌:M	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫:M	1	1	0	0	0	0	0	0
肺	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	扁平上皮癌:M	0	0	0	0	0	1	0	0
	細気管支肺胞上皮腺腫:B	0	0	0	0	1	0	0	0

B:良性腫瘍、M:悪性腫瘍

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 2-1. 腫瘍性病変(続き) (最終屠殺群一途中死亡動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
用量(ppm)									
乳腺	検査動物数	36	37	29	35	22	31	22	34
	腺癌:M	1	0	0	0	3	3	2	5
	線維性血管腫内に発生した 腺癌:M	0	0	0	0	0	1	0	1
	線維性血管腫:B	0	2	0	0	6	10	4	5
	異型を伴う線維性血管腫:B	0	0	0	0	5	6	6	4
	腺腫:B	0	0	0	0	0	0	1	0
腸間 膜リン パ節	検査動物数	38	40	31	36	21	31	23	35
	血管腫:B	0	1	1	0	0	0	0	0
腸間 膜	検査動物数	0	2	1	1	0	0	0	1
	血管腫:B	0	0	1	0	0	0	0	0
口	検査動物数	1	0	1	2	0	0	1	1
	扁平上皮癌:M	0	0	0	1	0	0	1	1
卵巢	検査動物数					22	31	23	35
	悪性顆粒膜細胞腫:M					0	0	0	1
	悪性セルトリ細胞腫:M					0	0	2	0
	良性顆粒膜細胞腫:B					0	0	0	1
	尿細管間質腺腫:B					1	2	0	0
	性索間質性腫瘍:B					0	0	0	0
膵臓	検査動物数	35	33	31	35	20	30	23	35
	島細胞癌:M	2	1	1	0	0	0	0	1
	腺房細胞腺癌:M	0	0	0	0	0	1	0	0
	腺房細胞腺腫:B	0	1	0	0	0	0	0	0
	島細胞腺腫:B	3	2	1	1	0	1	0	1
	腺房・島細胞腺腫:B	0	0	0	1	0	1	0	0
副甲 状腺	検査動物数	36	36	27	34	22	31	23	32
	腺腫:B	0	2	0	0	1	0	0	0
下垂 体	検査動物数	38	40	31	37	21	31	22	35
	末端部癌:M	0	1	1	0	0	0	0	0
	末端部腺腫:B	16	15	14	11	14	20	14	13
	中間部腺腫:B	0	0	0	1	0	0	0	0
前立 腺	検査動物数	38	40	31	37				
	腺腫:B	1	1	1	1				
精囊	検査動物数	37	40	31	37				
	腺癌:M	0	0	0	0				
皮膚	検査動物数	38	39	31	37	21	31	23	34
	基底細胞癌:B	0	0	1	0	0	0	0	0
	ケトアクトマ:B	3	0	1	1	0	0	0	0
脊髄	検査動物数	36	40	30	37	22	31	23	35
	血管腫:B	0	0	0	1	0	0	0	1
脾臓	検査動物数	37	37	31	35	22	31	23	35
	血管肉腫:M	0	0	0	0	0	1	0	0
胃	検査動物数	37	39	31	36	22	31	23	35
	乳頭腫:B	0	0	0	1	0	0	0	0

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

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 2-1. 腫瘍性病変(続き) (最終屠殺群一途中死亡動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
皮下 組織	検査動物数	5	6	7	3	4	2	2	4
	悪性神経鞘腫:M	0	0	2	2	0	1	2	0
	線維肉腫:M	3	1	1	0	1	0	0	2
	肉腫(分類不能):M	0	0	4	0	0	0	0	1
	脂肪肉腫:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性黒色腫:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維腫:B	1	3	1	1	3	1	0	1
精巣	検査動物数	38	40	31	37				
	間質細胞腺腫:B	0	1	0	0				
胸腔	検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
胸腺	検査動物数	35	37	31	34	21	31	22	34
	悪性神経鞘腫:M	0	0	1	0	0	0	0	0
	良性胸腺腫:B	0	1	0	1	0	3	1	2
甲状 腺	検査動物数	38	40	31	37	22	31	23	35
	濾胞細胞癌:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	C細胞癌:M	2	0	0	0	1	0	0	1
	C細胞腺腫:B	1	2	1	0	0	2	3	1
子宮	検査動物数					22	31	23	34
	子宮内膜癌:M					1	0	0	0
	悪性神経鞘腫:M					1	0	1	1
	平滑筋腫:B					0	0	0	3
膣	検査動物数					22	30	23	34
	悪性神経鞘腫:M					1	0	2	0
	顆粒細胞腫:B					1	1	0	0
ジ ン バ ル 腺	検査動物数	0	1	1	0	0	0	0	1
	癌:M	0	1	1	0	0	0	0	1

B:良性腫瘍、M:悪性腫瘍

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 2-2. 腫瘍性病変 (最終屠殺群—計画殺動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
副腎	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	悪性褐色細胞腫:M	0	0	0	0	0	1	1	0
	良性褐色細胞腫:B	1	2	2	2	1	1	0	0
	束状体腺腫:B	0	0	0	0	2	0	1	1
骨	検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
	骨腫:B	0	0	0	0	1	0	0	0
脳	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	悪性上衣腫:M	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性星状細胞腫:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	顆粒細胞腫:B	0	0	0	1	0	0	0	0
精巣 上体	検査動物数	22	20	29	23				
	悪性中皮腫:M	0	0	1	1				
食道	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	乳頭腫:B	0	0	0	0	1	0	0	0
心臓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	悪性神経鞘腫:M	1	0	1	0	0	0	0	0
	良性神経鞘腫:B	0	1	0	0	0	0	0	0
造血 系	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	リンパ腫:M	1	0	1	0	0	0	1	0
	組織球肉腫:M	0	0	2	1	0	0	0	1
空腸	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	肉腫(分類不能):M	1	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋腫:B	0	0	0	0	0	1	1	0
腎臓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	脂肪肉腫:M	0	0	1	1	0	0	0	0
	腎腺腫:B	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	肝細胞癌:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫:M	2	2	1	0	1	2	0	1
肺	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	細気管支肺胞上皮腺腫:B	1	0	1	0	0	0	0	0
乳腺	検査動物数	22	19	27	22	38	29	37	25
	腺癌:M	1	0	0	0	6	4	0	1
	線維性血管腫内に発生した 腺癌:M	0	0	0	0	4	0	1	0
	線維性血管腫:B	2	0	0	0	11	8	12	6
	異型を伴う線維性血管腫:B	0	0	0	0	14	7	13	4
	腺腫:B	0	0	0	0	0	2	0	1
腸間 膜リン パ節	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	血管肉腫:M	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管腫:B	0	0	0	1	0	0	0	0
口	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	扁平上皮癌:M	0	0	0	1	0	0	0	0

B:良性腫瘍、M:悪性腫瘍

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 2-2. 腫瘍性病変 (最終屠殺群 - 計画殺動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
卵巢	検査動物数					38	29	37	25
	悪性顆粒膜細胞腫:M					0	1	0	0
	良性顆粒膜細胞腫:B					1	0	0	0
	尿細管間質腺腫:B					2	2	2	0
	性索間質性腫瘍:B					2	1	0	1
脾臓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	島細胞癌:M	1	0	0	0	1	0	0	0
	腺房細胞腺腫:B	2	5	2	0	1	0	0	0
	島細胞腺腫:B	6	0	7	3	1	0	0	0
	腺房-島細胞腺腫:B	1	1	1	0	0	0	0	0
副甲状腺	検査動物数	21	20	26	22	37	27	32	23
	腺腫:B	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	末端部癌:M	0	0	0	0	0	1	0	0
	末端部腺腫:B	8	7	7	8	16	18	21	12
	中間部腺腫:B	0	0	1	0	0	0	1	1
前立腺	検査動物数	22	20	29	23				
	腺癌:M	1	0	0	0				
	腺腫:B	0	1	1	1				
精囊	検査動物数	22	20	29	23				
	腺癌:M	0	0	1	0				
骨格筋	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	繊維肉腫:M	0	0	0	0	0	0	1	0
皮膚	検査動物数	22	20	29	23	37	28	36	25
	基底細胞癌:M	0	0	0	0	1	0	0	0
	ケトアクトマ:B	1	1	3	1	2	0	1	0
	皮脂腺腫:B	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳頭腫:B	0	2	2	0	0	0	0	0
	良性毛包腫:B	0	1	0	0	0	0	0	0
脊髓	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	悪性星状細胞腫:M	0	0	0	0	0	0	1	0
	血管腫:B	0	0	0	0	0	1	0	0
胃	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	中皮腫:M	0	0	0	0	0	0	0	1
皮下組織	検査動物数	5	3	8	3	1	0	0	1
	線維肉腫:M	3	2	2	1	1	0	0	1
	血管肉腫:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫:B	0	0	4	2	0	0	0	0
	脂肪腫:B	1	1	1	0	0	0	0	0
顎下腺	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	悪性神経鞘腫:M	0	1	0	0	0	0	0	0
精巣	検査動物数	22	20	29	23				
	間質細胞腺腫:B	0	1	0	0				

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

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 2-2. 腫瘍性病変 (最終屠殺群－計画殺動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
用量(ppm)		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
胸腔	検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性神経内分泌腫瘍:M	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺	検査動物数	21	19	28	23	38	27	37	25
	悪性胸腺腫:M	0	0	0	1	0	0	0	0
	良性胸腺腫:B	4	0	1	0	3	0	4	2
甲状腺	検査動物数	22	20	29	23	38	29	37	25
	C細胞癌:M	2	1	1	1	0	1	3	1
	C細胞腺腫:B	3	2	5	1	2	1	2	1
	濾胞細胞腺腫:B	0	0	1	0	1	0	2	0
膀胱	検査動物数	22	19	29	23	38	29	35	25
	乳頭腫:B	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮	検査動物数					38	29	37	24
	子宮内膜間質腫瘍:M					0	0	1	0
	子宮内膜間質ポリープ:B					7	4	12	5
	腺ポリープ:B					1	0	0	0
	良性神経鞘腫:B					1	0	0	0
膣	検査動物数					37	28	37	25
	悪性神経鞘腫:M					1	0	0	0
	顆粒細胞腫:B					2	0	0	0

B:良性腫瘍、M:悪性腫瘍

表 2-3. 腫瘍性病変 (最終屠殺群—全動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
用量(ppm)		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
腹腔	検査動物数	0	0	0	1	1	0	0	0
	悪性神経鞘腫:M	0	0	0	1	1	0	0	0
副腎	検査動物数	59	59	60	60	59	60	60	60
	悪性褐色細胞腫:M	0	1	0	1	0	1	1	0
	良性褐色細胞腫:B	3	3	3	3	1	1	0	0
	束状体腺腫:B	0	1	0	1	2	2	1	1
骨	検査動物数	0	3	0	0	2	0	0	0
	骨肉腫:M	0	3	0	0	0	0	0	0
	骨腫:B	0	0	0	0	1	0	0	0
脳	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	悪性神経鞘腫:M	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性乏突起膠腫:M	1	1	0	0	0	0	0	0
	悪性上衣腫:M	0	0	0	0	1	0	0	0
	悪性星状細胞腫:M	0	1	0	0	0	1	0	1
	良性乏突起膠腫:B	0	0	0	0	0	0	0	0
	顆粒細胞腫:B	0	0	0	1	0	1	0	0
陰核腺	検査動物数					0	1	0	0
	扁平上皮癌:M					0	1	0	0
耳	検査動物数	0	0	1	0	0	0	0	0
	良性神経鞘腫	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣上体	検査動物数	60	60	60	60				
	悪性中皮腫:M	2	0	1	2				
食道	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	乳頭腫:B	0	0	0	0	1	0	0	0
前肢	検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0
	扁平上皮癌:M	0	0	0	1	0	0	0	0
心臓	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	悪性神経鞘腫:M	1	0	2	1	0	1	1	0
	良性神経鞘腫:B	0	4	0	2	0	0	0	0
造血系	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	リンパ腫:M	3	1	1	0	1	0	1	0
	組織球肉腫:M	0	0	2	1	0	0	0	1
空腸	検査動物数	49	46	55	53	56	58	60	57
	腺癌:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	肉腫(分類不能):M	1	0	0	0	0	0	0	0
	平滑筋腫:B	0	1	0	0	0	1	1	0
腎臓	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	尿細管癌:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	脂肪肉腫:M	0	0	1	1	0	0	0	0
	腎腺腫:B	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	肝細胞癌:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫:M	3	3	1	0	1	2	0	1

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

統計学的有意差なし (Fisher 直接確率法、 $p>0.05$; 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 2-3. 腫瘍性病変(続き) (最終屠殺群—全動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
肺	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	扁平上皮癌:M	0	0	0	0	0	1	0	0
	細気管支肺胞上皮腺腫:B	1	0	1	0	1	0	0	0
乳腺	検査動物数	58	56	56	57	60	60	59	59
	腺癌:M	2	0	0	0	9	7	2*	6
	線維性血管腫内に発生した 腺癌:M	0	0	0	0	4	1	1	1
	線維性血管腫:B	2	2	0	0	17	18	16	11
	異型を伴う線維性血管腫:B	0	0	0	0	19	13	19	8*
	腺腫:B	0	0	0	0	0	2	1	1
腸間 膜リン パ節	検査動物数	60	60	60	59	59	60	60	60
	血管肉腫:M	0	0	0	1	0	0	0	0
	血管腫:B	0	1	1	1	0	0	0	0
腸間 膜	検査動物数	0	2	4	2	0	0	0	1
	血管腫:B	0	0	1	0	0	0	0	0
口	検査動物数	1	0	1	3	0	0	1	1
	扁平上皮癌:M	0	0	0	2	0	0	1	1
卵巢	検査動物数					60	60	60	60
	悪性顆粒膜細胞腫:M					0	1	0	1
	悪性セルトリ細胞腫:M					0	0	2	0
	良性顆粒膜細胞腫:B					1	0	0	1
	尿細管間質腺腫:B					3	4	2	0
	性索間質性腫瘍:B					2	1	0	1
膵臓	検査動物数	57	53	60	58	58	59	60	60
	島細胞癌:M	3	1	1	0	1	0	0	1
	腺房細胞腺癌:M	0	0	0	0	0	1	0	0
	腺房細胞腺腫:B	2	6	2	0	1	0	0	0
	島細胞腺腫:B	9	2*	8	4	1	1	0	1
	腺房-島細胞腺腫:B	1	1	1	1	0	1	0	0
副甲 状腺	検査動物数	57	56	53	56	59	58	55	55
	腺腫:B	0	2	0	0	2	0	0	0
下垂 体	検査動物数	60	60	60	60	59	60	59	60
	末端部癌:M	0	1	1	0	0	1	0	0
	末端部腺腫:B	24	22	21	19	30	38	35	25
	中間部腺腫:B	0	0	1	1	0	0	1	1
包皮 腺	検査動物数	1	1	0	1				
	腺癌:M	0	1	0	0				
前立 腺	検査動物数	60	60	60	60				
	腺癌:M	1	0	0	0				
	腺腫:B	1	2	2	2				
精囊	検査動物数	59	60	60	60				
	腺癌:M	0	0	1	0				

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

統計学的有意差なし (Fisher 直接確率法、 $p>0.05$; 申請者実施)

表 2-3. 腫瘍性病変(続き) (最終屠殺群—全動物)

性		雄				雌			
		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
骨格 筋	検査動物数	60	60	60	58	60	60	60	60
	繊維肉腫:M	0	0	0	0	0	0	1	0
皮膚	検査動物数	60	59	60	60	58	59	59	59
	基底細胞癌:M	1	0	0	0	1	0	0	0
	基底細胞癌:B	0	0	1	0	0	0	0	0
	ケラトアクトマ:B	4	1	4	2	2	0	1	0
	皮脂腺腫:B	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳頭腫:B	0	2	2	0	0	0	0	0
	良性毛包腫:B	0	1	0	0	0	0	0	0
脊髓	検査動物数	58	60	59	60	60	60	60	60
	悪性星状細胞腫:M	0	0	0	0	0	0	1	0
	血管腫:B	0	0	0	1	0	1	0	1
脾臓	検査動物数	59	57	60	58	60	60	60	60
	血管肉腫:M	0	0	0	0	0	1	0	0
胃	検査動物数	59	59	60	59	60	60	60	60
	中皮腫:M	0	0	0	0	0	0	0	1
	乳頭腫:B	0	0	0	1	0	0	0	0
皮下 組織	検査動物数	10	9	15	6	5	2	2	5
	悪性神経鞘腫:M	0	0	2	2	0	1	2	0
	線維肉腫:M	6	3	3	1	2	0	0	3
	肉腫(分類不能):M	0	0	4	0	0	0	0	1
	脂肪肉腫:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性黒色腫:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維腫:B	1	3	5	3	3	1	0	1
脂肪腫:B	1	2	1	0	0	0	0	0	
顎下 腺	検査動物数	60	60	60	60	60	59	60	60
	悪性神経鞘腫:M	0	1	0	0	0	0	0	0
精巣	検査動物数	60	60	60	60				
	間質細胞腺腫:B	0	2	0	0				
胸腔	検査動物数	0	0	0	0	1	0	0	1
	悪性神経内分泌腫瘍:M	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺	検査動物数	56	56	59	57	59	58	59	59
	悪性胸腺腫:M	0	0	0	1	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫:M	0	1	0	0	0	0	0	0
	良性胸腺腫:B	4	1	1	1	3	3	5	4
甲状 腺	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
	濾胞細胞癌:M	1	0	0	0	0	0	0	0
	C細胞癌:M	4	1	1	1	1	1	3	2
	C細胞腺腫:B	4	4	6	1	2	3	5	2
	濾胞細胞腺腫:B	0	0	1	0	1	0	2	0

B: 良性腫瘍、M: 悪性腫瘍

統計学的有意差なし (Fisher 直接確率法、 $p>0.05$; 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 2-3. 腫瘍性病変(続き) (最終屠殺群-全動物)

性		雄				雌			
用量(ppm)		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000
膀胱	検査動物数	58	58	60	57	60	59	57	69
	乳頭腫:B	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮	検査動物数					60	60	60	58
	子宮内膜癌:M					1	0	0	0
	子宮内膜間質腫瘍:M					0	0	1	0
	悪性神経鞘腫:M					1	0	1	1
	子宮内膜間質ポリープ:B					9	7	17	6
	腺ポリープ:B					1	0	0	0
	良性神経鞘腫:B					1	0	0	0
	平滑筋腫:B					1	0	0	1
膣	検査動物数					59	58	60	59
	悪性神経鞘腫:M					2	0	2	0
	顆粒細胞腫:B					3	1	0	0
ジ ン ハ ル 腺	検査動物数	0	1	1	0	0	0	0	1
	癌:M	0	1	1	0	0	0	0	1

B:良性腫瘍、M:悪性腫瘍

統計学的有意差なし (Fisher 直接確率法、 $p>0.05$; 申請者実施)

腫瘍総括表

性		雄				雌				
用量(ppm)		0	30	300	10000	0	300	3000	10000/ 6000	
合計	検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	
	腫瘍数	良性	61	66	65	44	109	102	108	66+
		悪性	29	20	21	17	26	19	18	21
	腫瘍総数	90	86	86	61	135	121	126	87+	
	担腫瘍動物数	良性	40	41	37	30*	54	54	50	39*
		悪性	26	16*	18	15*	23	18	16	19
	担腫瘍動物数	48	48	49	40	57	56	55	43**	

+ $p<0.05$ (Pearson's カイ二乗検定、申請者実施)、* $p<0.05$ 、** $p<0.01$ ((Fisher 直接確率法、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。

マウスを用いた発がん性試験

(資料 14)

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

純度：

供試動物： C57BL/6J 系マウス

最終屠殺群 1 群雌雄各 50 匹、中間屠殺群 1 群雌雄各 10 匹

投与開始時 6 週齢

投与開始時体重 雄 20.0~20.3g、雌 17.2~17.3g (群平均値)

投与期間： 最終屠殺群 18 ヶ月以上

中間屠殺群 12 ヶ月以上

投与方法： 検体を 0、50、250 および 1000ppm の濃度で飼料に混入し投与期間全般にわたり随時摂取させた。

用量設定根拠：用量は先に実施したマウスを用いた 90 日間混餌投与毒性試験の結果に基づいて選定した。この試験では雌雄各 10 匹のマウスに検体を 0、100、500 および 1200ppm の濃度で 90 日間混餌投与した。この結果、1200ppm 群で 1 例の死亡が観察され、体重および摂餌量に対する影響、アルブミン濃度の低値（雄）、総タンパク濃度の低値（雌）が観察された。500 および 100ppm 群では投与の影響は認められなかった。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率：全ての動物について毎日 2 回（週末および休日は 1 回）、生死および瀕死状態について確認し、毎日 1 回、一般状態について観察した。また、触診を含む詳細な検査を試験期間を通じて毎週実施した。

高用量群雌で衰弱を示す動物数が増加した。

性	雄				雌			
	0	50	250	1000	0	50	250	1000
用量 (ppm)								
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
衰弱	2	3	3	4	1	2	3	11

投与による死亡率への影響はみられなかった。

投与 53 週における死亡数

性	雄				雌			
	0	50	250	1000	0	50	250	1000
用量 (ppm)								
検査動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡数	2	4	1	4	2	3	2	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。

最終屠殺群における死亡数（全試験期間）

性	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	50	250	1000	0	50	250	1000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡数	12	7	13	10	6	7	5	10	

体重： 各動物について、馴化期間中は2回、投与開始後13週間は毎週、以降4週間毎に体重を測定した。さらに剖検前（一晚絶食後）にも測定し、最終体重とした。

高用量群雌雄では試験期間中を通して平均体重が対照群に比べ減少（雌雄とも最大-13%）し、試験期間を通じた増体重は対照群に比べ雄では23%、雌では36%減少した。中用量群雌では、投与1週目の増体重が対照群に比べ29%減少し、その後の平均体重が時おり対照群に比べ統計学的に有意に変動した（最大で対対照群比約3%減）がその程度は僅かであり毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。（申請者による考察；その他、低および中用量群の体重および増体重に関し、対照群に比べ統計学的に有意な変化が散見されたが単発的であり体重の変動は最大でも対照群比3%未満であったため投与の影響とは判断しない。）

体重および増体重（統計学的変化のみられた主な週）

性	雄			雌			
	用量 (ppm)	50	250	1000	50	250	1000
体重	2週			↓90			↓90
	14週			↓89			↓89
	26週			↓89			↓90
	54週			↓89			↓88
	78週			↓91			↓87
増体重	1-2週			↓-19		↓71	↓-43
	1-14週			↓57			↓54
	14-26週			↓90			(83)
	26-54週			(89)			↓64
	54-78週	↑0.8	↑0.7	↑0.8			↓57
	1-102週	↑108		↓77			↓64

表中の数値は対照群を100とした場合の値、()内は参考値、
54-78週の雄の増体重（斜体）は実数（単位；g、対照群は0.0g）
↑ ↓: $p \leq 0.05$ 、↓: $p \leq 0.01$ (Dunnett's または Dunn's tests)

摂餌量： 摂餌量は投与開始13週までは週1回、その後は4週に1回記録した。

高用量群では雌雄とも対照群に比べ低値を示した。投与期間を通じた平均では雄では対照群比-9%、雌では-12%となった。

中用量および低用量群では投与の影響は認められなかった。これらの群においても対照群に対して有意な差が時折認められたが個体間の変動を反映したものであり投与の影響とは考えられなかった。

摂餌量 (g/動物/日) (主な週を記載)

性	雄			雌		
	用量 (ppm)	50	250	1000	50	250
2週			↓84			↓88
13週			↓92			↓83
26週			↓90			↓95
54週			↓93			↓88
78週						↓84

↓:p≤0.01 (Dunnett's または Dunn's tests)

検体摂取量：各群の検体摂取量は下表の通りであった。

検体摂取量 (mg/kg/day)

性	雄			雌		
	用量 (ppm)	50	250	1000	50	250
1～13週目	7.9	40	162	9.2	46	184
1～52週目	7.1	36	147	8.7	44	175
1～80週目	6.8	34	142	8.4	42	168

採血： 投与 13 月目 (53、54 または 55 週) に中間屠殺群の全生存動物および最終屠殺群の各群雌雄各 10 匹 (動物番号の若い方から選択)、また投与 19 ヶ月目 (79 または 80 週) に最終屠殺群各群雌雄生存動物 20 匹 (動物番号の若い方から選択) から、イソフルランによる麻酔下後眼窩静脈叢への穿刺により血液を採取した。動物は採血前夜絶食させた。

血液学的検査：以下の項目を検査した。

ヘマトクリット(HCT)、血色素量(HGB)、白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、血小板数(PLT)、白血球分画、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)

高用量群雄で 13 ヶ月目の赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値が対照群に比べ僅かに減少した。この変化は程度が僅かであり一時的であったため毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。他にも統計学的に有意な変化が認められたが、その程度が僅かである、用量や経時的な一貫性が認められない等の理由により投与の影響とはみなさなかった。

(申請者中：高用量雌で認められた MCV および MCH の低値は、いずれの調査時点でも認められたが、その変化は僅かであり、赤血球パラメータに変化が認められたことから毒性学的に意義のある変化とは考えられない。)

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。

血液学的検査結果

性		雄			雌		
用量(ppm)		50	250	1000	50	250	1000
RBC	13ヶ月			↓94			
	19ヶ月						
HGB	13ヶ月			↓93			
	19ヶ月	↑105					
HCT	13ヶ月			↓94	↑103		
	19ヶ月						
MCV	13ヶ月						↓96
	19ヶ月						↓96
MCH	13ヶ月						↓96
	19ヶ月						↓97

↑ ↓: $p \leq 0.05$, ↑ ↓: $p \leq 0.01$ (Dunnett's または Dunn's tests)

中間および最終屠殺：中間屠殺群については 12 ヶ月の投与終了後、最終屠殺群については 18 ヶ月の投与終了後に、全ての生存動物をイソフルランによる深麻酔下放血致死させた。動物は屠殺前夜絶食させた。

臓器重量：計画殺動物について以下の組織の重量を測定した。

肝臓、心臓、脾臓、腎臓、精巣、精巣上体、卵巣、子宮（頸部を含む）、脳、副腎

中間屠殺群；高用量群雌雄の最終体重が対照群に比べ有意に減少した。

高用量群雌雄の腎臓重量（実重量、対体重比および対脳重量比）が対照群に比べ減少した。この変化は 18 ヶ月の投与終了時にも認められ、投与の影響と考えられた。同群雌雄で肝重量（実重量および対脳重量比）が対照群に比べ減少した。この変化は対体重比の変化は伴わなかったものの、18 ヶ月投与終了時にも同様の変化が認められ、病理組織学的変化も観察されたため投与による影響と判断された。腎臓重量（対体重比のみ）は低用量および中用量雌でも対照群に比べ統計学的有意に減少したが、偶発的变化と考えられた。（申請者による考察；この変化が偶発的と考えられる理由として、実重量の変化を伴わなかったこと、また最終屠殺時に同様の変化が挙げられる。）その他、高用量群雌雄で統計学的に有意な変化が散見されたがいずれも偶発的、または最終体重の低値に伴う変動と考えられた。

最終屠殺群：高用量群雌雄の最終体重が対照群に比べ有意に減少した。

高用量群雌雄で肝臓および腎臓重量（実重量、対体重比（但し雄の肝臓を除く）および対脳重量比）が対照群に比べ減少した。これらの変化は組織病理学的変化を伴っており投与の影響と考えられた。他に統計学的有意な変化が散見されたが、いずれも偶発的变化または最終体重の低値による変動と考えられた。

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。

臓器重量

性		雄			雌		
用量(ppm)		50	250	1000	50	250	1000
中間屠殺群							
体重		(97)	(97)	↓86	(103)	(100)	↓85
脳	対体重比			↑114			↑115
	実重量			↓83			↓73
心臓	対脳重量比			↓85			↓74
	実重量			↓88			↓82
肝臓	対脳重量比			↓91			↓84
	実重量			↓75			↓75
脾臓	対体重比						↓88
	対脳重量比			↓76			↓77
	実重量			↓73			↓78
腎臓	対体重比			↓85	↓93	↓94	↓91
	対脳重量比			↓74			↓79
	実重量						↓74
子宮	対脳重量比						↓74
	実重量						↓74
最終屠殺群							
体重		(101)	(101)	↓89	(101)	(97)	↓85
脳	実重量						↓96
	対体重比			↑112			↑113
心臓	実重量			↓85			↓82
	対脳重量比			↓86			↓86
肝臓	実重量			↓87			↓77
	対体重比						↓91
	対脳重量比			↓87			↓80
脾臓	実重量			↓81		↓60	↓41
	対体重比					↓62	↓49
	対脳重量比			↓81		↓61	↓42
腎臓	実重量			↓72			↓78
	対体重比	↓95		↓81			↓93
	対脳重量比			↓73			↓82
精巣	対体重比			↑112			
卵巣	対体重比						↑112
	対脳重量比						↓99
副腎	対体重比						↑119

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

↑ ↓ : $p \leq 0.05$, ↑ ↓ : $p \leq 0.01$ (Dunnett's test または Dunn's Rank Sum tests)

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。

肉眼的病理検査：全ての動物について剖検し、外表、全開口部、主要臓器・組織および体腔について肉眼的病理検査を実施した。

中間屠殺群：

投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

最終屠殺群：

途中死亡動物； 投与による肉眼的病理所見はなかった。

計画殺動物；高用量群雄の15/40匹で肝臓に小葉明瞭像が観察された。また、同群雄の3/40匹および雌の8/40で胃の赤色または黒色病巣が観察され、これらの変化は組織病理学的変化を伴ったため投与による影響と判断した。

他に認められた肉眼的病理変化は偶発的な変化と考えられた。

肉眼的病理検査結果

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
検査動物数		38	43	37	40	44	43	45	40
肝臓	小葉明瞭像	1	3	3	15**	0	0	0	1
胃	赤色病巣	0	1	0	1	0	0	1	4*
	黒色病巣	0	0	0	2	0	1	1	4*

*:p<0.05, **:p<0.01 (Fisher 直接確立法、申請者実施)

病理組織学的検査：以下の臓器／組織を採取した。

舌、顎下腺、食道、胃、腸（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、肝臓、胆嚢、膵臓、気管、肺、鼻腔、喉頭／咽頭、大動脈、心臓、骨髄（胸骨）、リンパ節（顎下、腸間膜）、脾臓、胸腺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮（頸部含む）、乳腺、膣、脳、坐骨神経、脊髄（頸部、胸部、腰部）、眼（網膜）、視神経、下垂体、副腎、眼窩外涙腺、上皮小体、甲状腺、ハーダー腺、骨（胸骨）、骨格筋、皮膚、肉眼的異常部位および腫瘤、関節面（大腿-脛骨）

最終屠殺群の上記組織（眼窩外涙腺、喉頭／咽頭および鼻腔を除く）について病理組織スライドを作成しヘマトキシリン-エオシン染色し、病理組織学的検査を実施した。

途中死亡動物；投与に関連する死因は確認されなかった。

最終屠殺群の主な非腫瘍性所見を後頁の表1に、認められた全ての腫瘍性所見を表2に示した。

最終屠殺+途中死亡動物；

非腫瘍性所見

高用量群で投与による影響が肝臓、腎臓および胃において認められた。

腎臓；高用量群雄で集合管過形成、腎盂上皮過形成、腎乳頭壊死および尿細管内黄褐色物質貯留の発生頻度が増加し、一方、腎皮質上皮空胞化の発生頻度が減少した。

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。

肝臓；高用量群雌雄で小葉中心性肝細胞空胞化の発生頻度および程度が増加し、同時にびまん性肝細胞空胞化の発生頻度が減少した。

最終屠殺群（全動物）の肝臓に認められた主な非腫瘍性変化

性 用量 (ppm)	雄				雌			
	0	50	250	1000	0	50	250	1000
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞空胞化：主に小葉中心性								
軽微	12	12	10	12	4	1	1	1
軽度	1	1	2	11	3	6	6	7
中等度	1	0	0	12	1	2	2	16
顕著	0	0	0	0	0	0	0	11
合計	14	13	12	35**	8	9	9	35**
肝細胞空胞化：びまん性								
軽微	16	18	17	2	12	5	11	2
軽度	1	3	3	0	10	14	16	1
中等度	0	1	1	1	9	8	5	2
顕著	0	0	0	0	2	2	2	0
合計	17	22	21	3**	33	29	34	5**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests)

胃；高用量群雌で腺のびらん/壊死の発生頻度が増加した。

高用量群雌で胆嚢の好酸性細胞質変化が 13/46 匹で認められ、対照群 (3/49 匹) にくらべ統計学的有意に増加した。しかし、この変化は雄では認められず、背景データの範囲内 (0/48~13/46 匹) であったため投与の影響とは判断しなかった。

腫瘍性所見 最終屠殺群で認められた全ての腫瘍性病変を後頁の表 2 に示した。高用量群雌で造血系のリンパ腫および下垂体の前葉腺腫の発生頻度が対照群に比べ減少した。その他、投与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。

表 1-1. 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺群、途中死亡動物)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
胆嚢	検査動物数	8	5	10	7	6	7	5	6
	好酸性細胞質変化	1	1	2	2	0	0	0	0
心臓	検査動物数	12	7	13	10	6	7	5	10
	心臓弁アミロイド症	0	2	2	3	1	0	0	1
	変性心筋症	2	2	3	2	1	1	1	0
腎臓	検査動物数	12	7	13	10	6	7	5	10
	集合管過形成	0	0	0	2	0	0	0	0
	腎盂上皮過形成	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳頭壊死:片側	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳頭壊死:両側	0	0	0	1	0	0	0	0
	尿細管内黄褐色物質	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮質上皮空胞化	11	7	11	0	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	12	7	13	10	6	7	5	10
	肝細胞空胞化:主に小葉中心性	1	0	2	1	0	0	0	0
	肝細胞空胞化:び慢性	0	0	1	0	0	0	0	1
	小葉中心性肝細胞変性	0	0	1	0	0	0	0	0
胃	検査動物数	12	7	13	10	6	7	5	10
	アミロイド沈着	2	0	5	4	4	5	2	3
精巣	検査動物数	12	7	13	10				
	間質アミロイド沈着	1	0	2	1				
胸腺	検査動物数	12	7	13	8	6	6	5	9
	萎縮/退縮	12	7	13	8	4	4	4	9

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 1-2. 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺群、計画殺動物)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
胆嚢	検査動物数	36	43	47	48	43	43	44	40
	好酸性細胞質変化	16	15	12	11	3	5	3	13
心臓	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	心臓弁アミロイド症	8	18	10	8	7	3	8	13
	変性心筋症	3	3	3	5	1	2	1	4
腎臓	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	集合管過形成	1	0	1	9	2	1	0	3
	腎盂上皮過形成	0	1	2	7	0	1	0	3
	乳頭壊死:片側	0	0	0	4	1	0	0	1
	乳頭壊死:両側	0	0	0	2	0	1	0	2
	尿細管内黄褐色物質	0	0	1	6	2	2	2	1
	皮質上皮空胞化	38	40	36	3	0	1	0	0
肝臓	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	肝細胞空胞化:主に小葉中心性	13	13	10	34	8	9	9	35
	肝細胞空胞化:び慢性	17	22	20	3	33	29	34	4
	小葉中心性肝細胞変性	2	0	0	4	0	1	0	0
胃	検査動物数	388	43	37	40	44	43	45	39
	アミロイド沈着	26	26	20	31	35	31	37	34
	腺びらん/壊死	1	2	1	4	1	2	1	14
精巣	検査動物数	38	43	37	40				
	間質アミロイド沈着	9	12	14	15				
胸腺	検査動物数	37	42	36	40	43	42	44	39
	萎縮/退縮	36	41	35	39	37	38	42	39

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 1-3. 主な非腫瘍性病変 (最終屠殺群、全動物 (途中死亡+計画殺動物))

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
胆嚢	検査動物数	44	48	47	45	49	50	49	46
	好酸性細胞質変化	17	16	14	13	3	5	3	13**
心臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	心臓弁アミロイド症	8	20**	12	11	9	3	8	14
	変性心筋症	5	5	6	7	2	3	2	4
腎臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	集合管過形成	1	0	1	11**	2	1	1	3
	腎盂上皮過形成	0	1	2	8**	0	1	0	3
	乳頭壊死:片側	0	0	0	5*	1	0	0	1
	乳頭壊死:両側	0	0	0	3	0	1	0	2
	尿細管内黄褐色物質	0	0	1	7**	2	2	2	1
	皮質上皮空胞化	49	47	47	3**	0	1	0	0
肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞空胞化:主に小葉中心性	14	13	12	35**	8	9	9	35**
	肝細胞空胞化:び慢性	17	22	21	3**	33	29	34	5**
	小葉中心性肝細胞変性	2	0	1	4	0	1	0	0
胃	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
	アミロイド沈着	28	26	25	35	39	36	39	37
	腺びらん/壊死	1	2	1	4	1	2	1	14**
精巣	検査動物数	50	50	50	50				
	間質アミロイド沈着	10	12	16	16				
胸腺	検査動物数	49	49	49	48	49	48	49	48
	萎縮/退縮	48	48	48	47	41	42	46	48**

*:p≤0.05、**:p≤0.01 (Logistic Regression tests ; 全動物のみ実施)

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 2-1. 腫瘍性病変 (最終屠殺群—途中死亡動物)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
副腎	検査動物数	12	7	13	10	6	7	4	10
	褐色細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
造血系	検査動物数	12	7	13	10	6	7	5	10
	リンパ腫(M)	1	0	1	0	0	1	0	1
	組織球肉腫(M)	0	0	0	0	1	0	1	1
肝臓	検査動物数	12	7	13	10	6	7	5	10
	肝細胞腺腫(B)	1	0	0	0	1	0	0	0
下垂体	検査動物数	11	7	12	9	6	7	5	9
	前葉腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	1	0
脊椎	検査動物数	12	7	12	10	6	7	5	10
	肉腫:分類不能(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
皮下組織	検査動物数	0	0	3	0	1	0	0	0
	肉腫:分類不能(M)	0	0	1	0	0	0	0	0

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 2-2. 腫瘍性病変 (最終屠殺群—計画殺動物)

性別		雄				雌			
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
副腎	検査動物数	37	43	37	40	44	43	45	40
	皮質腺腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	0
十二指腸	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	1
脂肪組織	検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0
	脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
胆嚢	検査動物数	36	43	37	38	43	43	44	40
	乳頭腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
ハーダー腺	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	腺腫(B)	2	0	1	1	1	0	0	1
造血系	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	リンパ腫(M)	2	6	3	3	12	6	5	2
	組織球肉腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0
回腸	検査動物数	38	43	37	40	44	42	45	40
	腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	肝細胞癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫(B)	0	1	1	1	1	0	0	0
	血管腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
肺	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	呼吸細気管支腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	呼吸細気管支腺腫(B)	4	1	2	0	0	0	0	0
卵巣	検査動物数					44	43	44	40
	尿細管間質腺腫(B)					0	1	0	0
	良性黄体腫(B)					0	1	0	0
	血管腫(B)					1	0	0	2
	嚢胞腺腫(B)					0	1	0	0
	性索間質腺腫(B)					0	1	0	0
下垂体	検査動物数	37	43	37	39	44	41	45	38
	前葉腺腫(B)	0	0	0	1	19	21	24	8
	中間部腺腫(B)	0	0	0	1	0	3	1	0
前立腺	検査動物数	38	43	37	40				
	乳頭腫(B)	1	0	0	0				
胃	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	39
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
甲状腺	検査動物数	38	43	37	40	44	43	45	40
	濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	3	1	0

表 2-3. 腫瘍性病変 (最終屠殺群—全動物 (途中死亡+計画殺動物))

性別		雄				雌			
		0	50	250	1000	0	50	250	1000
用量 (ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000
副腎	検査動物数	49	50	50	50	50	50	49	50
	褐色細胞腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮質腺腫(B)	1	0	1	0	0	0	0	0
十二指腸	検査動物数	49	50	47	49	50	50	49	49
	腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	1
脂肪組織	検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0
	脂肪腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
胆嚢	検査動物数	44	48	47	45	49	50	49	46
	乳頭腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
ハーダー腺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	腺腫(B)	2	0	1	1	1	0	0	1
造血系	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	リンパ腫(M)	3	6	4	3	12	7	5	3
	組織球肉腫(M)	1	0	0	0	2	0	1	1
回腸	検査動物数	49	50	48	50	49	49	49	49
	腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	肝細胞腺腫(B)	1	1	1	1	2	0	0	0
	血管腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
肺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	呼吸細気管支腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	呼吸細気管支腺腫(B)	4	1	2	0	0	0	0	0
卵巣	検査動物数					50	50	48	49
	尿細管間質腺腫(B)					0	1	0	0
	良性黄体腫(B)					0	1	0	0
	血管腫(B)					1	0	0	2
	嚢胞腺腫(B)					0	1	0	0
	性索間質腺腫(B)					0	1	0	0
下垂体	検査動物数	48	50	49	48	50	48	50	47
	前葉腺腫(B)	0	0	0	1	21	21	25	8
	中間部腺腫(B)	0	0	0	1	0	3	1	0
前立腺	検査動物数	50	50	50	50				
	乳頭腫(B)	1	0	0	0				
脊椎	検査動物数	50	49	49	50	49	50	50	50
	肉腫:分類不能(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
胃	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
皮下組織	検査動物数	0	0	3	0	1	0	0	0
	肉腫:分類不能(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
甲状腺	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	濾胞細胞腺腫(B)	0	0	0	0	1	3	1	0

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$ (Logistic Regression tests ; 全動物のみ実施)

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。

腫瘍総括表

性		雄				雌				
		0	50	250	1000	0	50	250	1000	
用量(ppm)		0	50	250	1000	0	50	250	1000	
合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数	良性	10	3	6	4	27	31	28	12*
		悪性	5	7	6	3	15	7	6	5
	腫瘍総数		15	10	12	7	42	38	34	17
	担腫瘍動物数	良性	8	3	6	4	26	27	27	10**
		悪性	5	7	6	3	15	7*	6*	5*
担腫瘍動物数		12	9	12	7	33	33	30	14**	

+;p<0.05 (Pearson's カイ二乗検定、申請者実施)、*p<0.05、**p<0.01 ((Fisher 直接確率法、申請者実施)

本試験において投与に関連すると考えられる毒性所見を以下に要約する。

用量	雄	雌
1000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 体重低下、増体重抑制 ・ 摂餌量低下 ・ 肝臓重量（実重量、対脳重量比）、腎臓重量（実重量、対体重比、対脳重量比）減少 ・ 肝臓 小葉明瞭像 ・ 胃 赤色/黒色病巣 ・ 腎臓 集合管過形成、腎盂上皮過形成、乳頭壊死、尿細管内黄褐色物質貯留増加、皮質上皮空胞化減少 ・ 肝臓 小葉中心性肝細胞空胞化増加、びまん性肝細胞空胞化減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 衰弱 ・ 体重低下、増体重抑制 ・ 摂餌量低下 ・ 肝臓重量（実重量、対体重比、対脳重量比）、腎臓重量（実重量、対体重比、対脳重量比）減少 ・ 胃 赤色/黒色病巣 ・ 肝臓 小葉中心性肝細胞空胞化増加、びまん性肝細胞空胞化減少 ・ 胃 腺びらん/壊死 増加
250ppm	・ 所見なし	・ 所見なし
50ppm	・ 所見なし	・ 所見なし

以上より、本試験条件における無毒性量は雌雄とも 250ppm（雄 34mg/kg/day、雌 42mg/kg/day）と判断された。

催腫瘍性は認められなかった。

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

イヌを用いた飼料混入投与による 1 年間反復経口投与慢性毒性試験 (資料 15)

[GLP 対応]

報告書作成年： 2008 年

検体純度：

供試動物：ビーグル犬 1 群雌雄各 4 匹

投与開始時 7~9 ヶ月齢、体重；雄 6.9~10.1kg、雌 6.0~7.8kg

投与期間：1 年間

投与方法：検体を 0 (対照群)、60、225 および 450ppm の濃度で飼料に混入し 1 年間にわたり随時摂食させた。

用量設定根拠；用量は同一試験機関において先に実施したイヌを用いた 90 日間強制経口投与毒性試験 (資料 10) の結果に基づき選定した。この試験では 15mg/kg/day 以上で神経軸索の変性が、30mg/kg/day で痙攣が観察された。

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；全動物について毎日一般状態及び生死を観察した。また、詳細な身体検査を毎週行った。

検体投与に関連した一般状態観察所見は認められなかった。

高用量群の雄 1 匹 (FY3004) では、試験 190 日目に痙攣とそれに関連する流涎が観察され、切迫屠殺した。剖検において自然発生と考えられる両側性の脳室拡張が観察されており、痙攣との関連が疑われた。痙攣は強制経口投与による 90 日間反復経口投与毒性試験でも 30mg/kg/day において認められたが、本試験の高用量に相当する 15mg/kg/day では痙攣は認められておらず、されに本試験において痙攣が観察されたのは高用量群の動物 8 匹のうちの 1 匹においてのみであることを考慮して、本試験で認められた痙攣は投与の影響とは判断しなかった。

体重；投与前ならびに投与期間中毎週および最終屠殺前に全動物の体重を給餌前に測定した。

投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を毎日測定した。

投与の影響は認められなかった。日々の測定値に対照群からの統計学的有意差が時折みられたが、散発的であり偶発的変動と考えられた。

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。

検体摂取量：各群の試験期間を通じた平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量(ppm)		60	225	450
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2	6	12
	雌	2	7	11

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全生存動物について眼科学的検査を実施した。

投与の影響は認められなかった。

神経学的検査；試験 7、8、9、10、11 ヶ月および試験終了前に全動物について以下の項目を含む神経学的検査を実施した。

意識状態/行動、姿勢、歩行、姿勢反応、脳神経系反応、脊髄反射、感覚反射、心肺系

投与の影響は認められなかった。

血液検査；投与前、投与 13、26、39 および 52 週目に全生存動物の頸静脈より採血し、以下の血液学的及び血液生化学的項目について検査した。採血前夜は絶食させた。

血液学的検査；

赤血球数 (RBC)、血色素量 (HGB)、ヘマトクリット値 (HCT)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、網状赤血球数(RET)、白血球総数 (WBC)、白血球百分比 (Differential.C)、血小板数(PLT)、プロトロンビン時間(PT)、トロンボプラスチン時間、血球形態、赤血球分布幅(RDW)、血色素分布幅(HDW)

投与に関連のある変化は認められなかった。

高用量群においてリンパ球または好中球の絶対数または相対数に変動が認められ、一部は統計学的に有意であったが、いずれも背景対照値の範囲内であり生物学的に意義のある変動とは考えられなかった。

(申請者注；52 週に低用量群雌のリンパ球数が対照群に比べ統計学的有意に低下したが、用量との関連がなく投与の影響とは考えられなかった。)

血液学的検査結果 (統計学的有意差の認められた項目)

性	検査時期	項目	単位	用量(ppm)				背景対照値
				0	60	225	450	
雄	13 週	白血球百分率 リンパ球	%	26.5	30.4	27.2	34.7*	12.5-46.1
雌	52 週	リンパ球数	10 ³ /mm ³	2.84	2.06*	2.65	2.84	—

*:p<0.05 (ANOVA+Student's t-test)

血液生化学的検査；

総ビリルビン(TBIL)、グルコース(GLUC)、尿素(UREA)、クレアチニン(CREA)、総コレステロール(CHOL)、トリグリセライド(TRIG)、塩素(CL)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、無機リン(PHOS)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)、アルカリホスファターゼ(AP)、クレアチンホスホキナーゼ(CK)、乳酸脱水素酵素(LD)、総蛋白(TPRO)、アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、尿酸 (UricA) 投与の影響は認められなかった。

対照群に比べ統計学的有意な変動が散見されたが、いずれも投与前の群間差を反映したものである、用量との関連性がない、経時的な生物学的変化を伴わない、ないし背景データの範囲内であることから生物学的に意義のある変動とはみなさなかつた。

生化学的検査結果 (統計学的有意差の認められた項目)

性	項目	単位	検査時期	用量(ppm)				背景対照値
				0	60	225	450	
雄	CL	mmol/L	13 週	112	114*	112	116*	108-120
			39 週	114	114	113	116*	111-116
	GLUC	mg/dL	投与前	94	106	106	99	77-120
			13 週	80	91*	92	97*	77-120
			26 週	76	91*	93*	91*	79-109
			39 週	84	97*	102*	106*	79-109
			52 週	85	86	96	101*	79-109
	AST	U/L	13 週	35	41*	39	41*	22-93
	CREA	mg/dL	投与前	1.0	1.1*	1.0	1.0*	0.8-1.2
			26 週	0.9	1.1*	0.9	1.0*	0.9-1.1
	CK	U/L	13 週	161	284*	195	153	76-837
	LD	U/L	投与前	75	199*	116	94	38-322
39 週			102	232*	127	117	43-215	
CA	mg/dL	投与前	10.4	10.8	10.4	10.1*	9.0-11.5	
雌	UricA	mg/dL	投与前	0.1	0.2*	0.2	0.1	0.1-0.4
			13 週	0.0	0.1*	0.1	0.0	0.1-0.4
	UN	mg/dL	投与前	14	15	18	13	8-24
			52 週	16	15*	18*	14*	12-20

*:p<0.05 (ANOVA+Student's t-test)

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

尿検査；投与前、投与 13、26、39 および 52 週目に全生存動物から前夜の尿を採取し、以下の項目について検査した。採尿時に飲水の制限は行わなかった。

性状、尿量、比重／浸透圧、pH、沈渣、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、血液、窒素、ウロビリノーゲン、白血球

投与の影響は認められなかった。

高用量群雄において、尿量が減少し尿比重が増加する傾向が認められたが、他のパラメータは変化を伴わない、統計学的有意差がない、関連する病理組織学的所見がないため毒性学的に意義のある変化とはみなさなかった。雌では、尿の pH が時折統計学的に有意に低下したが、用量との関連性がなく、投与前の測定値の範囲と近似している等から投与の影響とは考えられなかった。(申請者による考察；中用量群雌の 26 週時のビリルビンが対照群に比べ統計学的有意に変動したが、他の調査時点では認められないことから投与の影響とは考えられなかった。)

性	項目	検査時期	用量(ppm)				背景対照値
			0	60	225	450	
雌	pH	26 週	8.0	7.4*	7.3*	8.1	5.0-9.0
		39 週	7.9	7.8	7.1*	8.3	5.0-9.0
	ビリルビン	26 週	0	0	1*	1	0-1

*:p<0.05 (ANOVA+Student's t-test)

剖検；投与終了時に全動物を Fatal-Plus®の静脈内注射により安楽死させ、全身の健康状態、開口部、外部器官、内部器官および組織の肉眼検査を実施した。

投与の影響はみられなかった。

試験 190 日目に切迫殺した雄 FY3004 で脳の側脳室拡張および下垂体嚢胞が観察された。

臓器重量；以下の臓器重量を測定した。

肝臓、肺、心臓、脾臓、胸腺、精巣上部、腎臓、卵巣、前立腺、精巣、子宮、副腎、甲状腺、脳、下垂体

投与の影響はみられなかった。

低用量群雌の脳重量（体重比のみ）が対照群に比べ統計学的有意に減少した（対照群比 83%、p<0.05(Student's t-test)）。(申請者による考察；この変動は用量との関連が無く、絶対臓器重量には影響が認められなかったため投与の影響とは考えなかった。)

病理組織学的検査；全動物について、以下の組織を採取した。対照群および高用量群について病理組織学的検査を実施した。高用量群について投与に関連し

た影響がみられた組織については低用量および中用量についても検査を実施した。

盲腸、結腸、十二指腸、食道、胆嚢、回腸、空腸、肝臓、脾臓、直腸、唾腺、胃、喉頭、肺、鼻咽頭、気管、大動脈、骨髄、心臓、リンパ節（腸間膜、咽頭後）、脾臓、胸腺、子宮頸部、精巣上体、卵管、腎臓、乳腺、卵巣、前立腺、精巣、尿管、膀胱、子宮、膾*、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、脳（小脳、大脳—中脳、延髄/脳橋）、眼、視神経、坐骨神経、下垂体、脊髄（頸部、胸部、腰部）、肋骨、胸骨、肉眼的異常部位、筋肉、皮膚（*膾については病理組織学的検査せず）

認められた変化を後頁の表に示す。

中用量および高用量群雌雄で主に脊髄後索の軸索変性（個々の神経線維の軸索線維の断片化および溶解）が認められ、一部貧食マクロファージによる消化を伴った。高用量群では脳および坐骨神経でも軸索変性が認められたが、その程度は脊髄における変化に比べ軽微であった。

その他、投与に関連のない一般的に認められる病変として甲状腺C細胞過形成、下垂体嚢胞、胸腺の導管残遺、前立腺炎症、上皮小体の細胞変化、肺の炎症性細胞浸潤等が認められた。

一般状態の悪化により切迫殺した高用量群雄 FY3004 は、剖検において脳側脳室の拡張が観察された。この所見はビーグル犬に時おりみられる所見であり、さらに、病理組織学的検査において投与の影響がみられた他の個体で一般状態の変化や側脳室拡張を示した動物がなかったことから、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。

本試験において投与に関連すると考えられる毒性所見を以下に要約する。

用量 (ppm)	雄	雌
450ppm	・ 脳、坐骨神経 軸索変性	・ 脳、坐骨神経 軸索変性
225ppm 以上	・ 脊髄軸索変性	・ 脊髄軸索変性
60ppm	・ 投与の影響なし	・ 投与の影響なし

以上より、本試験条件における無毒性量は雌雄とも 60ppm (雌雄とも 2mg/kg/day 相当) と判断された。

病理組織学的所見（全動物）

		雄				雌			
用量(ppm)		0	60	225	450	0	60	225	450
臓器	所見								
脳	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	嚢胞	1	0	0	0	0	0	0	0
	拡張	0	0	0	1	0	0	0	0
	神経膠症	0	0	0	0	0	0	1	0
	リンパ球性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0
	軸索変性	0	0	0	1	0	0	0	1
十二指腸	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	腺拡張	2			2	1			0
精巣上体	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	炎症、肉芽腫	1			0				
	リンパ球性炎症	0			1				
	空胞化	1			0				
眼	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	嚢胞	2			0	0			0
膀胱	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	腺拡張	0			1	0			0
心臓	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	線維症	0			1	0			0
腎臓	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	リンパ球性炎症	0			0	1			0
	色素沈着	1			0	0			0
	糸球体ヒドrosis	0			0	0			1
	腎盂鉍質沈着	1			1	0			1
肝臓	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	炎症	0			0	0			2
	色素沈着	0			0	1			0
	小肉芽腫	2			0	2			1
肺	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	浸潤	0			0	2			1
	炎症	0			0	1			0
	慢性活動性炎症	0			1	0			0
坐骨神経	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	軸索変性	0	0	0	1	0	0	0	1
上皮小体	検査動物数	4	0	0	3	4	0	0	4
	嚢胞	0			0	0			1
	好塩基性細胞質変化	2			0	1			1
	導管残遺	0			1	0			0
下垂体	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	嚢胞	1			2	2			3
	類洞拡張	1			0	0			0
前立腺	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	腺拡張	0			1	0			0
	リンパ球性炎症	2			0				

統計学的有意差なし（Fisher 直接確立法）

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。

病理組織学的所見（全動物）（続き）

		雄				雌			
用量(ppm)		0	60	225	450	0	60	225	450
臓器	所見								
唾液腺	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	リンパ球性炎症	0			1	1			1
骨格筋	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	変性	0			1	0			0
皮膚	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	拡張	1			0	0			0
脊椎	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	軸索変性	0	0	3	3	0	0	1	4*
脾臓	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	色素沈着	0			0	0			1
	プラーク(fibrosiderotic)	2			1	1			0
胸腺	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	導管残遺	1			0	2			1
	退縮	2			0	1			0
甲状腺	検査動物数	4	0	0	4	4	0	0	4
	嚢胞	0			1	0			0
	導管残遺	2			3	0			1
	C細胞過形成	4			2	2			3
子宮	検査動物数	0	0	0	0	4	0	0	4
	拡張					1			1
	腺拡張					1			0

*:p<0.05 (Fisher直接確立法)