

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

6-3) ビーグル犬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 (資料 10)

試験機関：BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体純度：

供試動物：純系ビーグル犬，1 群雌雄各 5 匹，開始時約 6~7 カ月齢

投与期間：3 カ月間 (1999 年 10 月 27 日~2000 年 1 月 26 日-2 月 1 日)

投与方法：検体を 0, 100, 500 及び 1500 ppm の濃度で飼料に混入し，3 カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠：毒性が予想される最高用量として 1500 ppm を，中間用量として 500 ppm を無毒性量が予想される最低用量として 100 ppm を設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；動物の生死及び一般状態を毎日少なくとも 1 回観察した。一般状態の観察は次の項目について行った。

全身状態，体位及び姿勢，運動性及び行動，粘膜・目及び鼻，反射，呼吸，肉眼的にみえる腫瘍，糞及び尿。

投与期間中，死亡は認められなかった。

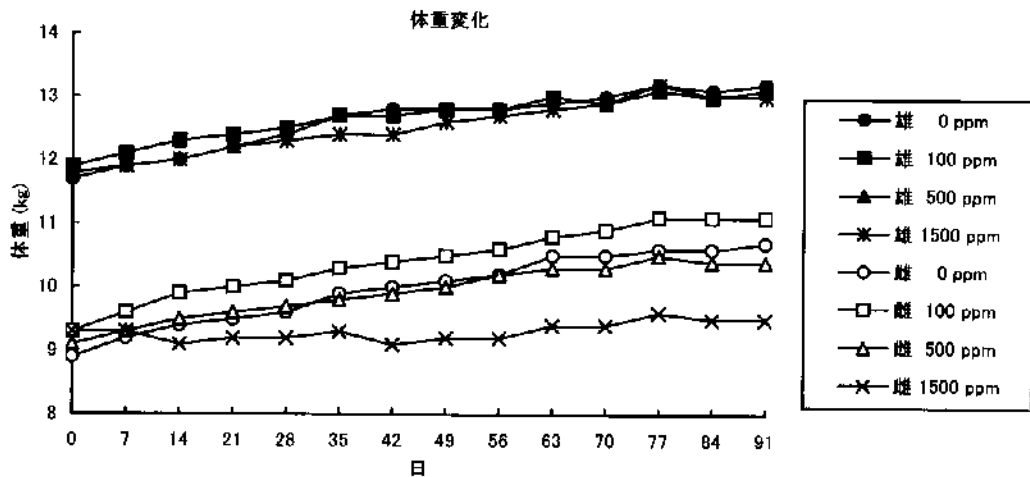
投与直後から 2 週間以内に，1500 ppm 投与群の雄 1 例ならびに同群の雌 3 例に嘔吐が観察された。この症状は検体調製飼料に対する一過性の忌避を反映しているものと解釈され，検体投与に関連すると考えられた。

100 ppm 投与群及び 500 ppm 投与群の雌雄には検体投与に関連すると思われる異常は認められなかった。

体重変化：全動物について投与開始時 (試験 0 日) 及びその後は毎週 1 回体重を測定した。

平均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 BASF アグロ株式会社にある。



平均体重は、いずれの投与群においても対照群と比較して統計学的に有意な変化は認められなかった [統計学的解析法は一元配置分散分析 (ANOVA) 及び Dunnet 検定]。

次表に投与開始時から終了時の平均最終体重増加量を示す。

投与量 (ppm)		0	100	500	1500
平均最終体重増加量 (kg)	雄	1.5	1.1	1.2	1.2
	雌	1.8	1.9	1.4	↓0.2

一元配置分散分析 (ANOVA) 及び Dunnet 検定, ↓: $p \leq 0.01$

体重増加量については、100 及び 500 ppm 投与群の雌では対照群と比較して有意な変化は認められなかった。100 及び 500 ppm 投与群の雄で試験 42 日、並びに 1500 ppm 投与群の雄で試験 35 日及び 42 日に統計学的に有意な変化が認められたが、用量相関性を欠くことから偶発的なものであり、検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

一方、1500 ppm 投与群の雌では、試験期間を通して継続して、統計学的に有意な平均体重増加量の抑制が観察され、検体投与による影響が認められた。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始前に 1 回及び投与開始後は毎日測定した。体重変化および摂餌量から食餌効率も算出した。統計学的解析は行っていない。

投与期間中の平均摂餌量 (%、給餌量を 100% とする) を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	100	500	1500
平均摂餌量 (%)	雄	100	100	100*	98
	雌	100	100	100	89

*四捨五入により 100% となった。統計学的解析は実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

100 ppm 及び 500 ppm 投与群の雌雄には検体投与による影響は認められなかった。一方、1500 ppm 投与群の雄 3 例に摂餌量のわずかな減少が時折認められ、また、同群の雌全例に摂餌量の減少が投与期間中継続して観察され、検体投与に関連するものと解釈された。

また、食餌効率の明らかな低下が、1500 ppm 群の雌で試験期間を通して認められた。

検体摂取量：投与期間中の 1 日当たりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		100	500	1500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.6	27.5	82.8
	雌	6.8	35.6	107.1

血液学的検査：投与開始前、投与 6 週（雄 40/雌 41 日）及び投与 13 週（雄 89/雌 90 日）時に全生存動物を対象として、前腕機側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、白血球型別百分率、活性化部分トロンボプラスチン時間、プロトロンビン時間

対照群と比較し、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

検査項目	検査時期	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		100	500	1500	100	500	1500
白血球数	6 週					↑122	
活性化部分トロンボプラスチン時間	13 週						↓91

Kruskal-Wallis 検定及び Mann-Whitney U 検定（両側） $\uparrow\downarrow$: $p \leq 0.02$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率 (%) を示したものの。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目があったが、いずれも検体投与の影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン、カルシウム、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、トリグリセリド、コレステロール、マグネシウム

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

検査項目	検査時期	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		100	500	1500	100	500	1500
ALP	13 週			↑128			
塩素	6 週			↑102			
	13 週				↓98		↑101
無機リン	6 週	↓87					
カルシウム	6 週			↓94			
	13 週		↓98	↓95			
クレアチニン	13 週						↓84
血糖	6 週						↓94
総蛋白	6 週			↓87			
	13 週			↓90			
アルブミン	6 週			↓90			
グロブリン	6 週			↓83			
	13 週			↓85			
コレステロール	6 週			↓80			

Kruskal-Wallis 検定及び Mann-Whitney U 検定 (両側) ↑↓: $p \leq 0.05$, ↑↓: $p \leq 0.02$
 表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を示したもの。

血液生化学的検査の結果、総蛋白、グロブリン及びカルシウムの有意な減少が 1500 投与群の雄で 6 週ならびに 13 週の検査で認められた。この他に、6 週の検査においてアルブミン及びコレステロール濃度の減少ならびに塩素濃度の上昇が認められた。同群雌においては、血糖の減少 (6 週)、クレアチニンの減少 (13 週) 及び塩素の軽度な増加 (13 週) が認められた。1500 ppm 投与群で認められたこれらの変化は検体投与による動物の一般状態の悪化に起因するものであった。観察された異常は雌よりも雄で明らかであった。

この他の血液性化学的検査項目において、統計学的に有意な差が認められた項目があったが、これらの変化はごく軽度であること、一貫性のないこと、用量相関性を欠いていることから検体に関連した変化ではないと考えられた。

尿検査：投与開始前に 1 回、投与 6 週 (雄 43/雌 44 日) 及び投与 13 週 (雄 85/雌 86 日) に全動物から採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量、色調、濁度、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、尿比重、尿沈査

検体投与に関連する変化は認められなかった (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 BASF アグロ株式会社にある。

臓器重量：投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣、精巣上体、前立腺、甲状腺/上皮小体

下表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	500	1500	100	500	1500
腎臓	対体重比						↑113
甲状腺	対体重比						↑125

Kruskal-Wallis 検定及び Wilcoxon 検定 (両側) ↑: $p \leq 0.05$, ⇑: $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する百分率 (%) を示したものの。

絶対重量に、統計学的に有意な変化は認められなかった。

1500 ppm 投与群の雌において、腎臓及び甲状腺の対体重比の増加が認められた。これは、これらの動物の最終体重が、有意差は認められなかったものの、対照群に比し、軽度に低下したことによるものであり、検体による毒性を示す変化ではなかった。

病理学的検査

肉眼病理検査：投与終了後全動物について剖検を行った。

病理組織学的検査：全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施し、検鏡した。

全ての肉眼的異常部位、脳、下垂体、甲状腺、上皮上体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺及び耳下腺）、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、卵巣、卵管、子宮/腔、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（腸間膜及び腋窩）、骨格筋、坐骨神経、脊髓（頸部、胸部、腰部）、胸骨（骨髓を含む）、大腿骨（膝関節及び骨髓を含む）、骨髓（大腿骨）、眼（視神経）、前立腺、乳腺（雌）、皮膚、喉頭、咽頭、鼻腔（レベルⅢ）。

肉眼病理検査ならびに病理組織学的検査では、何れの投与群においても対照群と比較して統計学的有意差が認められた所見はなかった（Fisher の直接確率計算法；申請者実施）。認められた肉眼的、組織学的変化はすべて、単独の発生であり、また、用量相関性が認められなかったことから、偶発的でなものであるか、自然発生性であると見られ、検体投与に関連するものではなかった。

以上のとおり、検体のイヌに対する 90 日間混餌経口反復投与毒性試験における毒性影響は、1500 ppm 投与群にのみに認められた。同群では、雌における体重減少・体重増加抑制、雄 3 例における摂餌量の軽度な減少、雌における摂餌量の減少、雌雄における投与初期の嘔吐、雌雄における塩素の上昇、雄におけるカルシウム、総蛋白、アルブミン、グロブリン及びコレステロールの低下、雌における血糖及びクレアチニンの減少が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

100 及び 500 ppm 投与群では、検体投与に関連する変化は認められなかった。したがって、本試験における無毒性量は雌雄とも 500 ppm（雄：27.5 mg/kg 体重/日，雌：35.6 mg/kg 体重/日）であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

7) 1 又は 2 年間反復経口投与毒性及び発がん性試験

7-1) ラットを用いた飼料混入投与による 24 カ月間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 11)

試験機関：BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体純度：

供試動物：Wistar Rj:WI ラット，発癌性群：1 群雌雄各 50 匹，衛星群：1 群雌雄各 20 匹
開始時雄 41±2 日齢，雌 43±1 日齢

試験開始時体重範囲 (雄：149.2～236.6 g，雌：147.0～204.4 g)

7500 ppm 群の動物は最大耐量を超えたため投与 16 日目に屠殺し，5000 ppm の動物も最大耐量を超えたため投与 94 日 (雄) 及び 384 日 (雌) に殺処分した。

投与期間：24 カ月間 (1999 年 6 月 29 日～2001 年 7 月 30 日)

投与方法：検体を 0, 100, 500, 2500, 5000 及び 7500 (雌のみ) ppm の濃度で飼料に混入し，24 カ月間にわたって随時摂食させた。なお，5000 および 7500 ppm 群は最大耐量を超えたため，試験途中で殺処分した。混餌は毎週調製した。

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。さらに週 1 回は触診を含む詳細な観察を行った。

対照群と比べ統計学的有意差のみられた所見を表 1 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 BASF アグロ株式会社にある。

表 1. 一般状態

性別 用量 (ppm)	雄				雌				
	0	100	500	2500	0	100	500	2500	5000
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	70
尿: 変色	3 ^a	9	5	↑ 11	4	3	6	9	11 ^b
皮膚: 胼胝 腫脹	25 6	34 4	27 5	25 ↓ 0	37 0	33 0	28 1	↓ 15 1	0 ^b 0
被毛: 立毛	17	17	17	14	17	13	17	↓ 7	4 ^b

a: 所見を呈した動物数

b: 投与 384 日までの発生動物数 (統計学的検定は実施せず)

Fisher の直接確率計算法 ↑ ↓ $p \leq 0.05$ (申請者実施)

いくつかの項目で対照群と比べ統計学的有意差がみられたが、いずれも検体投与に関連するものではなかった。

試験終了時の死亡動物数及び死亡率を表 2 に示す。

表 2. 死亡率

用量群 (ppm)		0	100	500	2500
検査動物数		70	70	70	70
死亡動物数 (死亡率, %)	雄	36 (49)	33 (44)	43 (54)	33 (40)
	雌	24 (34)	25 (34)	27 (37)	15 (21)

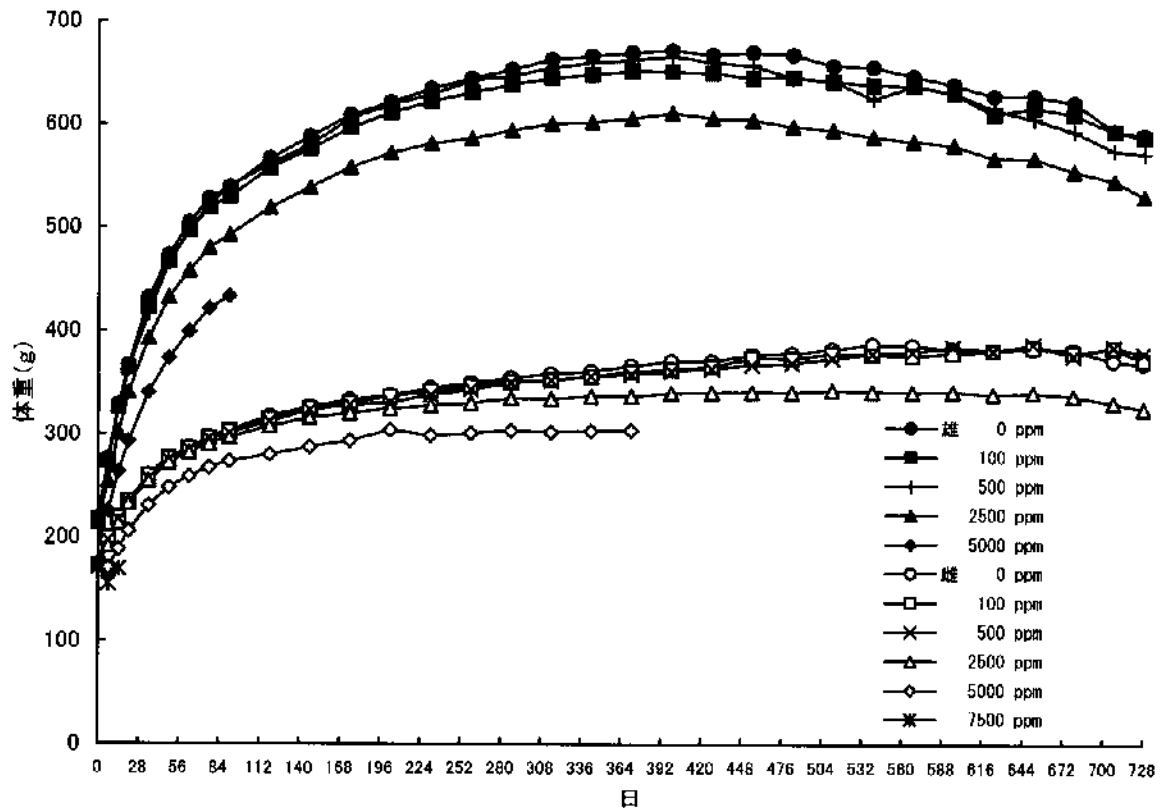
Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

検体投与による影響は認められなかった。

体重変化: 全動物について、投与開始から 13 週までは毎週 1 回、それ以降は 4 週に 1 回の頻度で、さらに剖検前に体重を測定した。Dunnett 法で統計学的検定を行った。体重変化を図 1 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 BASF アグロ株式会社にある。

図 1. 体重変化



7500 ppm 群の雌及び 5000 ppm 群の雌雄では体重、体重増加が投与開始から殺処分するまで統計学的に有意に減少した。これらは最大耐量を超えたので殺処分した。

2500 ppm 群では雄において体重が投与開始から投与終了時まで、雌では 1, 2, 12, 17~25, 33~104 (投与終了) 週で統計学的に有意に減少した。投与終了時には対照群より雄が 10.1%, 雌が 12% 減少した。体重増加は雄では投与開始から試験終了まで、雌では 1, 2, 5, 11, 12, 17~25, 33~104 (投与終了) 週で投与統計学的に有意に減少した。投与終了時には対照群より雄が 15.3%, 雌が 23.2% 減少した。500 ppm 群では雄において投与 5, 77 週に体重および体重増加が統計学的に有意に減少した。500 ppm 以上の投与群では検体投与に関連した影響と考えられた。

100 ppm 群の雌雄では、体重及び体重増加に対照群と比べ差はなかった。

摂餌量及び食餌効率：全動物の摂餌量を投与期間最初の 13 週間は毎週測定し、その後は 4 週毎及び剖検前に測定した。食餌効率も算出した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた測定日を表 3 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 BASF アグロ株式会社にある。

表 3. 摂餌量

性別	雄				雌				
	100	500	2500	5000	100	500	2500	5000	7500
7 日			↓81	↓56			↓81	↓55	↓40
14			↓89	↓71			↓92	↓72	↓61
21		↑103	↓93	↓74			↓96	↓78	a
28			↓93	↓77			↓92	↓77	a
35			↓94	↓78			↓94	↓81	a
42			↓93	↓80			↓93	↓80	a
49			↓95	↓82			↓92	↓80	a
56			↓94	↓84			↓94	↓83	a
63		↑104	↓94	↓82			↓95	↓85	a
70		↑104	↓95	↓84			↓93	↓84	a
77			↓94	↓84			↓94	↓84	a
84		↑104	↓95	↓84	↓94	↓95	↓90	↓82	a
91		↑106	↓96	↓87		↑105	↓95	↓86	a
119			↓95	a		↑103	↓95	↓82	a
147			↓95	a			↓95	↓84	a
175		↑103	↓96	a			↓97	↓87	a
203		↑105		a			↓95	↓86	a
231			↓96	a			↓93	↓84	a
259			↓96	a			↓91	↓82	a
287				a			↓92	↓83	a
315			↓97	a			↓92	↓82	a
343				a			↓92	↓81	a
371		↑104		a			↓91	↓81	a
399				a			↓92	a	a
427				a			↓90	a	a
455				a			↓91	a	a
483				a			↓89	a	a
511				a			↓89	a	a
539		↑113		a			↓86	a	a
567		↑106		a			↓86	a	a
595				a			↓88	a	a
623				a			↓89	a	a
651				a			↓86	a	a
679				a			↓89	a	a
707				a			↓83	a	a
728				a			↓87	a	a

Dunnett 検定 ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

a: 試験途中で殺処分

7500 ppm 群の雌及び 5000 ppm 群の雌雄ラットでは摂餌量が投与開始から殺処分まで統計学的に有意に減少した。

2500 ppm 群の雌雄ラットでは投与期間を通して摂餌量が減少し、統計学的有意差が認められた。高用量では投与 7 日に摂餌量が最も少なかったことから調製飼料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

への忌避と判断した。

500 ppm 群では雄の摂餌量が散発的に有意に増加し、雌では一過性に減少又は増加がみられた。

食餌効率において全ての投与群の一部に有意な変化（増加あるいは減少）が観察されたが、用量相関性がなかったところから、これらの変化は偶発的なものと判断した。

検体摂取量；全投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 4. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	500	2500	5000	7500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	5.2	26.3	132.6	353.5	-
	雌	6.8	34.3	163.0	325.3	541.4

平均検体摂取量の計算に供す測定間隔を一定にするため、100、500、2500 ppm 群は投与 7、35、63、91 日及び 119 から 707 日までの測定値を用い、5000 ppm 群では雄は 7、35、63、91 日、雌は 7、35、63、91、119～371 日の測定値を、7500 ppm 群では 7、14 日の測定値を用いた。

飲水量； 毎日観察した。

投与の影響は認められなかった。

血液学的検査； 衛星群から選択した雌雄各 10 匹について、投与開始後 3、6、12、18 及び 24 カ月時に一晚絶食させ、無麻酔下で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。

白血球数 (WBC)、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)、血小板数 (PLT)、プロトロンビン時間 (PT)

血液塗抹標本を作製し型別白血球百分比及び異常細胞を検査した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 5 示す。

表 5. 血液学的検査

検査項目	検査日	用量群 (ppm)							
		雄				雌			
		100	500	2500	5000	100	500	2500	5000
白血球数	3カ月								↑ 137
	6カ月	↓ 76		↓ 76	a				↑ 133
	18カ月		↑ 128		a				a
	24カ月				a		↑ 102	↓ 66	a

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 5. 血液学的検査 (続き)

検査項目	検査日	用量群 (ppm)							
		雄				雌			
		100	500	2500	5000	100	500	2500	5000
赤血球数 (RBC)	12ヵ月				a			↓ 92	
	18ヵ月			↓ 93	a				a
血色素量 (HGB)	3ヵ月				↓ 92			↓ 94	↓ 94
	6ヵ月			↓ 96	a			↓ 94	↓ 94
	12ヵ月				a			↓ 91	↓ 92
	18ヵ月		↓ 92	↓ 91	a				a
ヘマトクリット (HCT)	3ヵ月				↓ 93				
	6ヵ月				a			↓ 94	
	12ヵ月				a			↓ 92	↓ 94
	18ヵ月		↓ 94	↓ 93	a			↓ 90	a
平均赤血球容積 (MCV)	6ヵ月				a				↓ 97
平均赤血球血色素量 (MCH)	3ヵ月			↓ 96				↓ 96	↓ 96
	6ヵ月				a			↓ 97	↓ 96
	12ヵ月				a				↓ 96
	24ヵ月				a		↑ 105		a
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	3ヵ月							↓ 98	↓ 97
	6ヵ月		↓ 98	↓ 98	a				
	12ヵ月				a				↓ 98
血小板数 (PLT)	3ヵ月				↑ 110				
	12ヵ月				a				↑ 121
プロトロンビン 時間 (PT)	3ヵ月							↓ 87	↓ 85
	6ヵ月				a			↓ 89	↓ 85
	12ヵ月				a			↓ 90	↓ 92
	18ヵ月			↓ 92	a			↓ 84	a

a: 5000 ppm 群は投与 94 日 (雄) 及び 384 日 (雌) に全例屠殺したため検査せず
Kruskal-Wallis 及び Mann-Whitney の u 検定 $\downarrow P \leq 0.05$, $\uparrow P \leq 0.02$, $\uparrow\downarrow P \leq 0.002$
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

5000 ppm 群では、雌雄において血色素量、ヘマトクリット値が有意に減少し、血小板値が増加した。雌において平均赤血球容積、平均赤血球血色素量及び平均赤血球血色素濃度が有意に減少し、白血球数が有意に増加した。

2500 ppm 群では、雌雄において血色素量、赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量及び平均赤血球血色素濃度が有意に減少した。

5000 ppm 群の雌及び 2500 ppm 群の雌雄ではプロトロンビン時間の短縮が認められた。

500 ppm 群では雄において血色素量、ヘマトクリット値が有意に減少した。

以上の変動は検体投与の影響と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

これらの変化に関連し、本検体投与による血中鉄レベル減少について、申請者の見解を病理組織学的検査の末尾に記載した十二指腸粘膜肥厚の中で述べる。

雄では白血球数の有意な変化（増加及び減少）が認められたが、これは投与に関連しないものと考えられた。その他認められた変動は検体投与の影響とは考えられなかった。

100 ppm 群では雌雄とも異常は認められなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査に供した血液の血清を用い以下の項目を検査した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (SGGT)、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン、カルシウム、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、トリグリセライド、コレステロール、マグネシウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 血液生化学的検査

検査項目	検査日	用量群 (ppm)							
		雄				雌			
		100	500	2500	5000	100	500	2500	5000
ALT	3ヵ月			↓ 86	↓ 71			↓ 55	↓ 45
	6ヵ月			↓ 25	a				↓ 33
	12ヵ月				a			↓ 69	↓ 45
	18ヵ月		↓ 68	↓ 63					a
AST	3ヵ月				↓ 60			↓ 56	↓ 46
	6ヵ月			↓ 29	a			↓ 47	↓ 32
	12ヵ月			↓ 61	a			↓ 51	↓ 37
	18ヵ月		↓ 60	↓ 64	a			↓ 58	a
	24ヵ月			↓ 75	a		↓ 80	↓ 80	a
ALP	3ヵ月							↓ 67	
	18ヵ月				a			↓ 67	a
SGGT	3ヵ月			↑ 260	↑ 460		↑ 300	↑ 1400	↑ 3400
	6ヵ月				a			↑ 280	↑ 532
	12ヵ月				a			↑ 354	↑ 908
	24ヵ月				a	↓ 60			a
ナトリウム	12ヵ月				a		↑ 101		
塩素	3ヵ月				↓ 97		↑ 101		
	6ヵ月	↑ 101	↑ 101		a		↑ 101		↓ 98
無機リン	3ヵ月					↓ 83	↓ 78	↓ 78	↓ 87
	12ヵ月				a		↓ 88		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 6. 血液生化学的検査 (続き)

検査項目	検査日	用量群 (ppm)							
		雄				雌			
		100	500	2500	5000	100	500	2500	5000
カルシウム	3ヵ月			↑ 106	↑ 105			↑ 104	↑ 106
	6ヵ月				a			↑ 107	↑ 107
	12ヵ月				a			↑ 105	↑ 106
	18ヵ月				a			↑ 105	a
尿素	6ヵ月				a				↑ 128
	12ヵ月		↑ 104		a				↑ 128
クレアチニン	6ヵ月				a				↓ 92
	12ヵ月				a				↓ 94
血糖	3ヵ月					↑ 108			
	6ヵ月				a				↓ 92
	18ヵ月		↑ 115		a				
総ビリルビン	3ヵ月							↓ 75	↓ 81
	6ヵ月			↓ 78	a			↓ 79	↓ 82
	12ヵ月			↓ 63	a			↓ 73	↓ 77
	18ヵ月				a			↓ 69	a
総蛋白	3ヵ月							↑ 108	↑ 106
	6ヵ月				a			↑ 109	↑ 105
	12ヵ月				a			↑ 106	
アルブミン	3ヵ月			↑ 111	↑ 111			↑ 109	↑ 107
	6ヵ月			↑ 106	a			↑ 110	↑ 107
	12ヵ月			↑ 107	a				
トリグリセライド	3ヵ月				↓ 61				
	6ヵ月			↓ 60	a				
	12ヵ月			↓ 58	a				
コレステロール	3ヵ月				↑ 130			↑ 159	↑ 210
	6ヵ月				a			↑ 161	↑ 208
	12ヵ月		↑ 128		a			↑ 178	↑ 195
	18ヵ月		↑ 133		a		↑ 121	↑ 185	a
	24ヵ月				a			↑ 175	a
マグネシウム	24ヵ月				a			↑ 107	a

a: 5,000 ppm 群は投与 94 日 (雄) 及び 384 日 (雌) に全例屠殺したため検査せず
Kruskal-Wallis 及び Mann-Whitney の μ 検定 $\uparrow \downarrow P \leq 0.05$, $\uparrow \downarrow P \leq 0.02$, $\uparrow \downarrow P \leq 0.002$
表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

5000 ppm 群では、雌雄において ALT, AST が有意に減少し, SGGT, カルシウム, アルブミン, コレステロールが有意に増加した。雄ではトリグリセライドが有意に減少し, 雌では尿素及び総蛋白が有意に増加し, クレアチニン及び総ビリルビンが有意に減少した。

2500 ppm 群では雌雄において ALT, AST, 総ビリルビンが有意に減少し, SGGT, カルシウム, アルブミンが有意に増加した。雄ではトリグリセライドが有意に減少し, 雌では総蛋白及びコレステロールが有意に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

500 ppm 群では雌雄において AST が有意に減少し、雄において ALT が有意に減少した。

その他いくつかの項目に有意な変動が 100ppm 群を含め認められたが、いずれも投与に関連した毒性影響とは考えられなかった。

尿検査：血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量、尿色、透明度、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 7 に示す。

表 7. 尿検査

検査項目	検査日	用量群 (ppm)							
		雄				雌			
		100	500	2500	5000	100	500	2500	5000
蛋白	12ヶ月				a			↑	↑
	18ヶ月				a			↑	a
沈渣	移行上皮細胞	3ヵ月			↑	↑			
		6ヶ月			↑	a			↑
	赤血球	12ヶ月				a			↑

Fisher の直接確率計算法 ↑↓ $P \leq 0.05$, ↑↑ $P \leq 0.01$

5000 及び 2500 ppm の雄において尿沈渣中の移行上皮細胞数の有意な増加がみられ、5000 ppm 群の雌ならびに 2500 ppm 群の雄に尿沈渣中の赤血球の有意な増加がみられた。また、5000 及び 2500 ppm 群の雌で蛋白量が有意に増加した。

500 ppm 以下の投与群では雌雄とも異常は認められなかった。

眼科学的検査：投与開始前に衛星群の雌雄全動物について、また、投与期間終了直前に対照群及び 2500 ppm 群の衛星群の雌雄全生存例について眼科学的検査を実施した。

検体投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量：投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、肝臓、腎臓（両側）、精巣/卵巣（両側）、脳

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 8 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 BASF アグロ株式会社にある。

表 8. 臓器重量

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	500	2500	100	500	2500
体 重				↓89			↓88
副腎	重量						↓81
脳	重量					↑103	↓98
	対体重比			↑109			↑111
腎臓	重量						
	対体重比		↑105	↑111			↑114
肝	重量			↑113			↑125
	対体重比		↑102	↑126			↑141
精巣	重量						
	対体重比			↑117			

Wilcoxon 検定 ↓ P ≤ 0.05, ↑ P ≤ 0.01

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

2500 ppm 群の雌雄では平均最終体重が有意に減少し、肝臓の絶対重量及び対体重比が有意に増加した。対体重比は 500 ppm 群の雄でも有意に増加した。これは投与に関連した影響と考えられた。

その他、副腎、脳、腎臓および精巣の平均重量に有意な変動が認められたが、病理組織学的検査では関連するような所見は認められず、体重が減少したことによる偶発的な所見と考えられた。

100 ppm 群では雌雄とも異常は認められなかった。

肉眼病理学的検査：途中死亡、切迫屠殺、試験終了時の全生存動物について剖検した。5000 ppm 群及び 7500 ppm 群は試験途中で全生存例を屠殺したところから評価の対象にできなかった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目及び検体投与と関連すると考えられた項目を表 9 に示す。

表 9. 肉眼病理学的検査

用量群 (ppm)	雄				雌			
	0	100	500	2500	0	100	500	2500
所見/検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
十二指腸： 壁肥厚	0	1	5	↑34	0	1	1	↑43
肝臓： 斑点	34	32	32	48	50	47	53	49
上皮小体： 腫大	1	4	3	↑7	0	0	0	1
甲状腺： 腫大	2	2	6	6	0	2	0	0

Fisher の直接確率計算法 ↑ P ≤ 0.05, ↑ P ≤ 0.01 (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 BASF アグロ株式会社にある。

十二指腸壁の肥厚が 2500 ppm 群の雌雄で有意に増加した。肝臓の斑点が 2500 ppm 群の雄において、対照群及び低用量群と比べ高頻度で観察された。甲状腺の腫大が 2500 および 500 ppm 群の雄において、対照群及び低用量群と比べ増加した。これらの変化は統計学的に有意ではないが、検体投与の影響と考えられた。

2500 ppm 群の雄において、上皮小体の腫大が投与群において対照群より高頻度で発生したが、病理組織学的に検体投与の影響がみられないことから、これは偶発的なものと考えられた。

100 ppm 以下の投与群では投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

病理組織学的検査：5000 及び 7500 ppm 群は試験途中で全生存例を屠殺したところから評価の対象にしなかった。

対照群及び 2500 ppm 群の全動物、並びにその他の投与群の試験途中死亡・切迫殺動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

全ての肉眼的異常部位、脳、下垂体、甲状腺/上皮上体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣/卵巣、子宮、陰、卵管、精巣上体、前立腺、精のう、皮膚、食道、胃（前胃及び腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（腸間膜および顎下）、乳腺（雌）、骨格筋、坐骨神経、胸骨、骨髓（大腿骨）、眼、膝関節、脊髓（頸部、胸部、腰部）。

また、100 及び 500 ppm 群の全動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

全ての肉眼的異常部位、甲状腺、肺、肝臓、腎臓、卵巣、子宮、十二指腸

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 10 に示す。

十二指腸の粘膜肥厚が 2500 ppm 群の雌雄において統計学的に有意に増加した。その程度は軽度から重度であった^(抄録 85 頁申請者注 1 参照)。また、500ppm 群においてもわずかに発生率が増加傾向を示し、検体の影響が伺われた。

甲状腺の限局性ろ胞細胞過形成の発生頻度が 2500 および 500 ppm 群の雄および 2500 ppm 群の雌で、有意ではないが僅かに増加した。

2500 ppm 群の雌において腎臓の慢性腎症及び腎盂腎炎が軽度に増加した。一方、同群雌で腎盂炎が有意に減少し、雌雄において腎盂鉍質沈着が有意に減少した。

肝臓において、いずれかのタイプの変異細胞巣を有する動物数は 2500 ppm 群の雄で有意に増加した。このうち、好塩基性変異細胞巣が多くを占めており、2500 ppm 及び 500 ppm の雄で有意に増加したが、肝細胞線種の増加はみられなかった。この好塩基性変異細胞巣は最終屠殺動物では 100ppm 群雄でも有意に増加していたが、全動物で有意差がみられないこと及びいずれかのタイプの変異細胞巣を有する動物数でも有意差がないことから 100ppm 群には投与の影響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 BASF アグロ株式会社にある。

2500 ppm 群の雌において下垂体の限局性前葉過形成が対照群に比し有意に増加した。しかし、下垂体腺腫の発生頻度は有意に減少し、過形成と腺腫の合計頻度にも対照群との差は認められなかった。したがって、本病変頻度の増加に検体投与の影響はないと判断した。

その他、対照群と比べ統計学的に有意に変動した所見が散見されたが、低頻度の発生、対照群および低用量群のみの発生、また対照群と投与群間で同等の発生頻度、程度であったことから、検体投与の影響とは考えなかった。

〔腫瘍性病変〕

認められたすべての腫瘍性病変を表 11 に示す。

2500 ppm 群において、雌雄に十二指腸で癌(雄 2/70 例)あるいは腺種(雌 1/70 例)が低頻度でみられた。又、甲状腺のろ胞細胞腺腫が有意に増加した(抄録 86 頁申請者注 2 参照)。

2500 ppm 群の雌において乳腺線維腺腫及び下垂体前葉腺腫の発生頻度が対照群に比し有意に減少した。

申請者注：十二指腸粘膜の肥厚について

十二指腸粘膜の肥厚は鉄欠乏食給餌により十二指腸粘膜肥厚が生じるとの報告がある¹⁾。従って、この肥厚は本剤の投与により誘発される鉄欠乏性小球性貧血と密接に結びついていると考えられる。本剤と同様の鉄欠乏性貧血を呈し、十二指腸粘膜の肥厚を示す化学構造的に類似の検体を用いてこの貧血の機作について検討した²⁾。その結果、腸管から上皮細胞への鉄の吸収と上皮細胞から体内への輸送の両方が抑制されることが明らかとなった。本剤を用いて血清鉄濃度に及ぼす影響について試験した結果(資料 24)、血清鉄濃度が投与初期から著しく低下し、不飽和鉄結合能とトランスフェリン濃度の増加がみられた。さらに、類似検体を用いて鉄剤の同時消化管外投与による影響について検討した³⁾。鉄の補給により、検体投与で低下した血清鉄濃度は増加し、増加した不飽和鉄結合能は低下した。トランスフェリンは、検体投与では明瞭な増加がみられなかったが、鉄補給により減少したことなどから、既に吸収された鉄濃度に本検体が作用していないことが推察された。従って、本剤の投与によって、十二指腸による鉄吸収及び輸送が抑制されることにより、血清鉄濃度が著しく低下し、体内の貯蔵鉄の減少、血色素量の低下を主とする鉄欠乏性貧血が生じたものと推察される。

一方、欠乏した鉄を補うために十二指腸における鉄吸収要求が高まる。本剤の投与を継続することで十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進と絨毛伸長がもたらされ²⁾、十二指腸粘膜肥厚が観察される(資料 22、23)。この十二指腸の病変は投与後休薬することによって回復する(資料 22、23)。又、この病変は鉄剤を同時消化管外投与することで抑制される傾向にあることが、本剤と同じ病変を示す類似検体を用いて確認されている³⁾。

以上から、十二指腸粘膜の肥厚は本剤の連続投与によって、十二指腸における鉄吸収及び輸送が抑制されるために、血清鉄濃度が著しく低下し、鉄吸収要求が高まる。こ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

の要求に対応するために、十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進と絨毛伸長をきたし、十二指腸粘膜の肥厚を生じるものと考察される。

従って、血清鉄濃度の低下と十二指腸粘膜の肥厚は密接に関連した変化で、本剤のマウス又はラットにおける毒性試験の無毒性量(100ppm) ではいずれも無作用量であった。

1)

2)

3)

申請者注 2：甲状腺ろ胞細胞腺腫について

2,500 ppm 群の雄において甲状腺のろ胞細胞腺腫が有意に増加したが、雌の発生頻度に対照群との差はなかった。本腫瘍発生に関し代謝試験で甲状腺の相対組織内分布がやや高かったところから、原因として甲状腺への直接影響も疑われたが、フェノバルビタール類似の間接的効果による腫瘍発生と判断する。

本腫瘍発生の機作を解明するためにラットを用い、まず 4 週間投与による肝臓第 II 相薬物代謝酵素 (UDP-GT) を測定した結果 (資料 35)、投与によって肝臓重量が増加し、第 II 相薬物代謝酵素活性の内 pNP-GT が雌で増加した。このことは T4 代謝が亢進されることを示す。又、4 週間投与/13 週間回復期間を設け甲状腺ホルモンへの影響を検討した結果 (資料 31)、雄では肝臓及び甲状腺が肥大し、T4 濃度が低下したが、TSH の明確な増加を認めなかった。このことから、下垂体からの甲状腺刺激ホルモン分泌が軽度であるが慢性的に持続していると考えられたが、結果からは明確に判断できなかった。

これは、恐らく肝臓薬物代謝酵素活性を介した影響が緩徐であるため、甲状腺ろ胞細胞に効果を及ぼすには長期間投与が必要であると判断し、4ヶ月投与を実施した (資料 33)。その結果、T4 の低下 (雄)、TSH の増加 (雌雄)、肝臓/甲状腺重量の増加 (雌雄/雌)、ろ胞細胞の細胞増殖活性の亢進 (雌雄) が認められた。従って、本剤は連続投与することで TSH が増加し、同時にろ胞細胞の増殖活性も亢進させるものと判断される。この試験では、雄に比し雌で甲状腺への影響がより強い印象を受けるが、TSH 濃度で見ると雄は雌に比し対照群でも高く、絶対的な増殖刺激は雄でより顕著と判断できる。これは、BrdU の標識率でも同じで増殖活性の基本ベースが雄でより高いことが判る。このように雄の甲状腺では雌に比し下垂体からの増殖刺激をより多く受け、常に高い細胞増殖活性を保つところから、増殖刺激がさらに加わった場合に、雄で増殖性病変が強く誘導されたと考えられる。

以上より、甲状腺への影響は肝臓の薬物代謝酵素活性亢進を介した下垂体-甲状腺

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

ネガティブフィードバック機構の活性化に伴う間接的効果による変化と推察された。さらに、過塩素酸カリウム負荷による甲状腺機能試験を行った(資料 34)結果でも、本剤はプロピルチオウラシルのような直接効果ではなく、フェノバルビタールと同様の間接的効果であることが確認された。

従って、雄ラットにおける甲状腺ろ胞細胞腺腫の発生機作は、下垂体-甲状腺ネガティブフィードバック機構の活性化でもたらされたるろ胞細胞への増殖刺激亢進が原因と判断する。その効果はフェノバルビタールと本質的に類似しているが、作用の強度が軽微なため病変進行過程が緩徐であったと解釈する。

これらの甲状腺ホルモンへの影響は高用量(2500ppm)でのみ認められ、24ヶ月反復経口投与毒性/発がん性試験の無毒性量(100ppm)ではいずれも無作用量であった。

以上の結果から、本剤のラットに対する24カ月間混餌経口慢性毒性試験における毒性影響として、500 ppm以上の投与群において摂餌量の減少を伴う体重増加の抑制が認められ、又低色素性小球性(小赤血球性)貧血及び血液生化学的検査項目の変動、並びに肝臓の変異細胞巢の増加が認められた。500 および 2500 ppm 群の雌雄で十二指腸粘膜肥厚が認められ、2500ppm 群で癌(雄)あるいは腺種(雌)が低頻度で発生し、甲状腺ろ胞細胞の過形成の増加傾向及び雄でのみ腺腫が増加した。100 ppm 群の雌雄に異常はなかった。

十二指腸の催腫瘍性は、低色素性小球性貧血に伴い、血中鉄レベルが著しく低下したため十二指腸での鉄吸収要求が高まり、投与を継続することで十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進と絨毛伸長がもたらされことによる二次的な発生と推察される。甲状腺腺腫は下垂体-甲状腺ネガティブフィードバック機構の活性化による二次的作用と考えられる。これらの活性化は休薬により回復する。

したがって、本試験における無毒性量(NOEL)は、雌雄とも十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進も、甲状腺腺腫も認められない100 ppm(雄:5.2 mg/kg/日, 雌6.8 mg/kg/日)と判断される。

表 10. 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
死亡・ 切迫殺	副腎皮質	所見\ 検査動物数	35	33	43	33	24	25	27	15
		うっ血	7	7	9	2	11	4	4	↓ 1
	副腎髄質	所見\ 検査動物数	35	33	42	33	24	25	27	15
		過形成	5	2	1	↓ 0	2	0	1	0
	脳	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		圧迫	12	7	8	↓ 4	11	11	14	3
	肝臓	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		変異細胞巣, NOS ^a	7	5	7	↑15	6	5	10	↓ 0
		変異細胞巣 (好塩基性)	6	4	7	↑13	5	4	7	0
		壊死	11	↓ 2	14	5	6	6	7	5
	肺	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		うっ血	19	20	21	18	14	6	10	8
		血管鉍質沈着	6	7	11	↑13	9	5	5	3
		血管周囲性細胞浸潤	7	6	5	3	2	3	↑9	0
	卵巣	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		のう胞					4	10	↑14	4
びまん性過形成		19					17	19	↓6	
脾臓	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15	
	萎縮	6	8	7	11	7	5	↓0	3	
最終層殺	副腎皮質	所見\ 検査動物数	34	4	6	37	46	52	15	55
		リポフスチン沈着	27	3	5	↓13	41	20	14	42
	脳	所見\ 検査動物数	34	2	0	37	46	11	14	55
		うっ血	2	2	0	1	19	11	14	↓ 9
	十二指腸	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55
		粘膜肥厚	1	0	2	↑19	0	0	1	↑21
	膝関節	所見\ 検査動物数	34	0	0	37	46	0	0	55
		関節症	16	0	0	↓ 7	14	0	0	13

^a 変異細胞巣, NOS: いずれかのタイプの変異細胞巣を有する動物数

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

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
			投与量 (ppm)		0	100	500	2500	0	100	500
最終屠殺	腎臓	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55	
		腎盂炎	8	4	3	5	11	8	↓ 3	↓ 4	
		腎盂鉍質沈着	10	15	5	↓ 3	32	29	27	↓ 13	
		慢性腎症	27	33	25	34	30	23	19	40	
		腎盂腎炎	2	0	3	2	3	1	2	8	
	肝臓	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55	
		変異細胞巣, NOS ^a	18	25	↑ 22	↑ 32	32	33	28	38	
		変異細胞巣 (好塩基性)	9	↑ 18	↑ 18	↑ 18	29	29	26	36	
	肺	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55	
		血管周囲性細胞浸潤	12	7	5	13	15	8	12	↓ 2	
	下垂体	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	44	40	55	
		前葉過形成	4	5	2	7	2	3	2	↑ 11	
	皮膚	所見\ 検査動物数	34	21	17	37	46	30	22	55	
		毛嚢炎	0	1	0	0	8	↓ 0	2	↓ 0	
	甲状腺	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55	
		甲状舌管遺残	3	7	7	3	3	2	4	↑ 11	
		限局性ろ胞細胞過形成	3	1	3	5	2	2	4	4	
		びまん性 C 細胞肥大	5	↑ 14	↑ 11	4	24	21	24	↓ 5	
		限局性 C 細胞過形成	2	3	3	7	1	1	1	1	
	気管	所見\ 検査動物数	34	0	0	37	46	0	0	55	
		腺拡張	1	0	0	1	4	0	0	↓ 0	
	全動物	副腎皮質	所見\ 検査動物数	69	37	49	70	70	50	42	70
			うっ血	7	7	9	2	11	4	4	↓ 1
リポフスチン沈着			36	16	19	↓ 19	53	32	26	47	
副腎髄質		所見\ 検査動物数	69	37	49	70	70	50	42	70	
		過形成	8	2	2	↓ 2	3	0	1	1	

^a 変異細胞巣, NOS: いずれかのタイプの変異細胞巣を有する動物数

Fisher の直接確率計算法: ↑ ↓ $p \leq 0.05$, ↑ ↓ $p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は, 2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について, 中間用量群では肝臓, 腎臓, 肺, 甲状腺, 十二指腸, 卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	骨髓	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	25	27	70
		赤血球系造血亢進	8	1	5	3	0	2	1	4
		骨髓系造血亢進	4	3	6	2	2	5	4	4
	脳	所見\ 検査動物数	70	35	43	70	70	36	41	70
		圧迫	14	9	8	↓ 5	30	22	28	↓12
	十二指腸	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
		粘膜肥厚	1	0	3	↑22	1	0	2	↑26
	膝関節	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	25	27	70
		関節症	24	6	11	↓13	19	4	6	13
	前胃	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	29	27	70
		潰瘍	16	8	12	↓ 7	5	9	4	4
	心臓	所見\ 検査動物数	70	37	43	70	70	25	27	70
		筋細胞崩壊 /線維化	57	24	33	55	41	13	16	↓30
	腎臓	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
		うっ血	12	20	14	7	12	6	12	↓ 2
		腎盂炎	11	9	4	8	17	15	9	↓ 6
		腎盂鉍質沈着	14	23	8	↓ 3	40	44	42	↓19
		尿細管円柱	9	10	8	9	16	22	↑28	14
		尿細管萎縮	11	13	9	11	21	29	↑33	16
		慢性腎症	51	53	57	57	37	35	28	↑49
	腎盂腎炎	2	0	5	3	3	1	4	↑10	
肝臓	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
	脂肪変性	19	11	18	↓ 4	28	18	26	20	
	胆管線維症	45	45	44	40	21	↓10	20	23	
	変異細胞巣, NOS ^a	25	30	29	↑47	38	38	38	38	
	変異細胞巣 (好塩基性)	15	22	↑25	↑31	34	33	33	36	
	壊死	12	↓ 2	14	8	12	8	9	11	
肺	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
	うっ血	19	20	21	18	14	↓ 6	10	8	
	血管周囲性カフ	19	13	↓10	16	17	11	21	↓ 2	

^a 変異細胞巣, NOS: いずれかのタイプの変異細胞巣を有する動物数

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

対照群との有意差検定は, 2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について, 中間用量群では肝臓, 腎臓, 肺, 甲状腺, 十二指腸, 卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 10. 非腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
			0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	乳腺	所見\検査動物数	2	3	3	3	70	54	54	70
		乳瘤	2	3	2	2	31	↓13	27	21
	リンパ節 (腸間膜)	所見\検査動物数	70	33	43	70	70	25	28	70
		リンパ球過形成	31	8	11	24	25	7	8	↑36
	下垂体	所見\検査動物数	70	56	58	70	70	69	67	70
		前葉過形成	5	7	8	7	4	5	6	↑12
	前立腺	所見\検査動物数	70	35	47	70				
		萎縮	6	6	14	6				
	精巣上体	所見\検査動物数	70	37	45	70				
		萎縮	16	16	20	12				
	皮膚	所見\検査動物数	70	54	60	70	70	55	49	70
		皮膚炎	3	3	2	0	24	12	12	↓10
		毛嚢炎	0	1	0	0	9	1	3	↓0
	脾臓	所見\検査動物数	70	52	57	70	70	38	42	70
		ヘモジデリン沈着	55	42	38	↓39	68	28	32	57
		のう胞	21	24	20	14	17	14	20	13
		萎縮	6	8	7	11	7	6	0	3
	胸腺	所見\検査動物数	68	32	39	68	69	29	27	68
		髄質のう胞	3	2	4	↑12	34	12	12	41
		リンパ性萎縮	12	11	13	14	11	6	3	5
甲状腺	所見\検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
	限局性ろ胞細胞過形成	4	3	7	9	2	3	4	6	
	びまん性C細胞肥大	7	14	14	4	25	22	28	↓5	
	限局性C細胞過形成	3	4	5	8	1	1	4	1	

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

表 11. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
死亡・切迫殺	脂肪組織	所見\ 検査動物数	1	0	2	2	0	0	0	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	副腎皮質*	所見\ 検査動物数	70	66	86	66	48	50	54	30
		腺腫 (B)	1	0	0	1	0	1	3	0
		癌 (M)	0	0	2	0	0	0	0	0
	副腎髄質*	所見\ 検査動物数	69	65	83	66	48	50	51	29
		褐色細胞腫 (B)	2	0	4	2	0	0	0	0
	骨	所見\ 検査動物数	2	0	0	1	0	0	0	0
		骨肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脳	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		神経膠腫 (B)	0	1	3	1	0	0	0	0
		悪性乏突起膠細胞腫 (M)	0	1	0	2	0	0	0	0
		顆粒細胞腫瘍 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	大腿骨	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	腺胃	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	心臓	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		心内膜良性神経鞘腫 (B)	0	0	1	0	0	0	0	2
		心内膜悪性神経鞘腫 (M)	2	2	0	1	1	1	0	1
	血液リンパ系	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		悪性リンパ腫 (M)	1	1	0	1	0	1	0	0
組織球性肉腫 (M)		1	0	2	2	0	1	0	0	
腎臓*	所見\ 検査動物数	71	66	86	66	48	50	54	29	
	移行上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0	
	脂肪肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
死亡・切迫殺	肝臓	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		肝細胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肝細胞癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺	所見\ 検査動物数	2	3	3	2	24	25	27	15
		腺腫 (B)	0	0	0	0	1	2	1	0
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	6	1	2	1
		腺癌 (M)	0	0	1	0	0	3	5	1
		癌肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	1
		線維腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	腸間膜	所見\ 検査動物数	3	2	1	1	1	1	1	1
		血管肉腫 (M)	2	1	0	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	膵臓	所見\ 検査動物数	36	32	43	33	24	25	27	15
		島細胞腺腫 (B)	4	2	3	3	1	1	0	0
		島細胞癌 (M)	1	0	1	0	0	1	1	0
		腺房細胞腺腫 (B)	0	0	2	0	0	0	0	0
	上皮小体*	所見\ 検査動物数	49	44	53	42	18	32	30	16
		腺腫 (B)	0	1	1	0	0	0	0	0
	下垂体	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		前葉腺腫 (B)	18	17	15	16	20	22	22	8
	前立腺	所見\ 検査動物数	36	33	43	33				
		腺腫 (B)	1	3	1	0				
		腺癌 (M)	2	0	0	0				
	精囊腺*	所見\ 検査動物数	71	66	86	66				
		腺癌 (M)	0	0	2	0				
	骨格筋	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
悪性神経鞘腫 (M)		0	0	0	0	0	0	0	1	
皮膚	線維腫 (B)	1	1	0	0	0	0	0	1	
	皮脂腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0	
	毛嚢上皮腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
死亡・切迫殺	皮膚 (続き)	扁平上皮癌 (M)	1	1	0	1	1	1	1	0
		癌肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性神経鞘腫 (M)	2	1	5	2	0	1	1	0
		肉腫 (M)	0	0	0	2	0	0	1	0
	脾臓	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	27	15
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	胸骨 (骨髓を含む)	所見\ 検査動物数	36	33	43	33	24	25	26	15
		骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
	顎下腺*	所見\ 検査動物数	72	66	86	66	48	50	54	30
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣*	所見\ 検査動物数	72	66	86	66				
		間細胞腫 (B)	2	2	0	4				
	胸腺	所見\ 検査動物数	34	31	37	32	24	25	27	15
		胸腺腫 (B)	0	1	0	0	2	1	3	0
		胸腺癌 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	1	0	0
	甲状腺*	所見\ 検査動物数	72	66	86	66	48	50	54	30
		C細胞腺腫 (B)	2	1	0	4	4	0	2	0
		C細胞癌 (M)	0	0	2	0	0	1	0	0
		ろ胞細胞腺腫 (B)	1	3	3	6	0	1	0	1
		ろ胞細胞癌 (M)	0	2	0	2	0	0	0	0
	子宮	所見\ 検査動物数					24	25	27	15
		腺癌 (M)					0	1	0	0
間質ポリープ (B)		1					2	3	0	
子宮腺ポリープ (B)		0					1	0	0	
悪性神経鞘腫 (M)		1					1	3	3	
内膜間質肉腫 (M)		1					0	0	0	
膣	所見\ 検査動物数					24	25	27	15	
	悪性神経鞘腫 (M)					1	0	1	2	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
最終層殺	腹腔	所見\ 検査動物数	0	0	0	0	0	0	2	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脂肪組織	所見\ 検査動物数	4	1	1	3	0	0	1	2
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	1
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎皮質*	所見\ 検査動物数	68	8	12	74	92	50	30	110
		腺腫 (B)	0	1	0	1	1	0	0	2
		癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0
	副腎髄質*	所見\ 検査動物数	68	2	4	74	89	0	0	110
		褐色細胞腫 (B)	3	0	1	4	1	0	0	3
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	0	1	2	0	0	0
	骨	所見\ 検査動物数	1	0	0	0	0	0	0	1
		骨肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	1
	結腸	所見\ 検査動物数	34	0	0	37	46	0	1	55
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	十二指腸	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55
		腺種 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		癌 (M)	0	0	0	2	0	0	0	0
	前胃	所見\ 検査動物数	34	0	0	37	46	4	0	55
		扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
心臓	所見\ 検査動物数	34	1	0	37	46	0	0	55	
	心内膜良性神経鞘腫 (B)	0	0	0	0	2	0	0	0	
	心内膜悪性神経鞘腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	1	
血液リンパ系	所見\ 検査動物数	34	1	2	37	46	0	1	55	
	悪性リンパ腫 (M)	1	0	2	0	1	0	0	0	
	組織球性肉腫 (M)	0	1	0	1	0	0	1	0	
空腸	所見\ 検査動物数	34	0	1	37	46	2	1	55	
	平滑筋腫 (B)	0	0	0	1	1	1	0	1	
	平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
最終屠殺	腎臓*	所見\ 検査動物数	68	73	54	74	92	90	86	109
		尿細管癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		脂肪肉腫 (M)	1	0	1	0	0	0	2	0
	肝臓	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	1
		肝細胞腺腫 (B)	0	2	3	2	0	1	1	2
		肝細胞癌 (M)	3	0	0	2	2	1	0	0
	肺	所見\ 検査動物数	34	37	27	37	46	45	43	55
		細気管支肺腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	2
	乳腺	所見\ 検査動物数	0	0	0	1	46	29	27	55
		腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	2	1
		嚢胞状腺腫 (B)	0	0	0	0	1	6	1	0
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	17	12	15	12
		腺癌 (M)	0	0	0	0	5	8	6	10
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	1
		脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腸間膜リンパ節	所見\ 検査動物数	34	0	1	37	46	1	2	55
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	卵巣*	所見\ 検査動物数	/				92	90	86	110
良性顆粒膜細胞腫瘍 (B)		1					3	1	2	
悪性顆粒膜細胞腫瘍 (M)		0					1	0	0	
セルトリ細胞腫 (B)		1					0	0	0	
悪性中皮腫 (M)		0					0	0	2	
膵臓	所見\ 検査動物数	34	7	5	37	46	3	5	55	
	島細胞腺腫 (B)	3	3	0	5	2	1	2	4	
	島細胞癌 (M)	0	2	3	0	0	2	2	0	
	腺房細胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	2	
	腺房細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
最終屠殺	上皮小体*	所見\ 検査動物数	42	4	3	51	63	0	0	77
		腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	1
	下垂体	所見\ 検査動物数	34	23	15	37	46	44	40	55
		前葉腺腫 (B)	15	15	9	15	43	40	37	38
		中間部腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	前立腺	所見\ 検査動物数	34	2	4	37	/			
		腺腫 (B)	5	0	1	5				
		腺癌 (M)	0	0	0	1				
	直腸	所見\ 検査動物数	34	0	0	37	46	0	1	55
		癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨格筋	所見\ 検査動物数	34	1	0	37	46	0	0	55
		悪性神経鞘腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮膚	所見\ 検査動物数	34	21	17	37	46	30	22	55
		乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1
		脂肪腫 (B)	0	1	0	2	0	0	0	0
		線維腫 (B)	0	1	0	1	0	0	0	0
		角化棘細胞腫 (B)	0	0	2	1	0	0	0	0
		皮脂腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	2	2	1	2	3	0	1	0
		神経堤腫瘍 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	脾臓	所見\ 検査動物数	34	19	14	37	46	13	15	55
血管腫 (B)		1	2	0	1	0	0	0	0	
血管肉腫 (M)		0	0	0	1	0	1	0	0	
精巣*	所見\ 検査動物数	68	32	26	74	/				
	間細胞腫 (B)	1	3	1	5					
	中皮腫 (B)	0	2	0	0					
胸腔	所見\ 検査動物数	0	0	0	1	0	0	0	0	
	肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
最終屠殺	胸腺	所見\ 検査動物数	34	1	2	36	45	4	0	53
		胸腺腫 (B)	0	0	0	0	1	3	0	0
		胸腺癌 (M)	0	1	0	0	0	1	0	0
	甲状腺*	所見\ 検査動物数	68	74	54	74	92	90	86	110
		C細胞腺腫 (B)	6	2	1	0	8	7	6	5
		C細胞癌 (M)	2	0	0	2	0	1	0	2
		ろ胞細胞腺腫 (B)	2	1	0	5	0	0	1	1
		ろ胞細胞癌 (M)	0	1	0	0	0	0	1	1
	子宮	所見\ 検査動物数	/				46	45	43	55
		腺癌 (M)					0	2	1	3
		間質ポリープ (B)					11	8	11	13
		子宮腺ポリープ (B)					0	1	0	0
		線維腫 (B)					1	0	0	1
		平滑筋腫 (B)					0	1	0	0
		顆粒細胞腫 (B)					1	4	1	2
		血管肉腫 (M)					0	0	0	1
悪性神経鞘腫 (M)		0					0	2	2	
膣	所見\ 検査動物数	/				46	0	1	55	
	平滑筋腫 (B)					1	0	0	0	
	扁平上皮癌 (M)					1	0	0	0	
	悪性神経鞘腫 (M)					3	0	1	1	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

* : 両側の臓器については左右別々に計数した

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	腹腔	所見\ 検査動物数	0	0	0	0	0	0	2	0
		脂肪腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	脂肪組織	所見\ 検査動物数	5	1	3	5	0	1	1	2
		脂肪腫 (B)	0	0	0	1	0	0	1	1
		悪性神経鞘腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	副腎皮質	所見\ 検査動物数	69	37	49	70	70	50	42	70
		腺腫 (B)	1	1	0	2	1	1	3	2
		癌 (M)	0	0	2	0	0	0	0	0
	副腎髓質	所見\ 検査動物数	69	34	44	70	70	25	26	70
		褐色細胞腫 (B)	5	0	4	5	1	0	0	3
		悪性褐色細胞腫 (M)	0	1	0	1	1	0	0	0
	骨	所見\ 検査動物数	3	0	0	1	0	0	0	1
		骨肉腫 (M)	2	0	0	0	0	0	0	1
		肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脳	所見\ 検査動物数	70	35	43	70	70	36	41	70
		神経膠腫 (M)	0	1	3	1	0	0	0	0
		悪性乏突起膠細胞腫 (M)	0	1	0	2	0	0	0	0
		顆粒細胞腫瘍 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	結腸	所見\ 検査動物数	69	33	43	70	70	25	28	70
		腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
十二指腸	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70	
	腺種 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
	癌 (M)	0	0	0	2	0	0	0	0	
大腿骨	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	25	27	70	
	骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
前胃	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	29	27	70	
	扁平上皮乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0	
腺胃	所見\ 検査動物数	70	39	47	70	70	36	34	70	
	悪性神経鞘腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow p \leq 0.05$, $\uparrow\downarrow p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	心臓	所見\ 検査動物数	70	34	43	70	70	25	27	70
		心内膜良性神経鞘腫 (B)	0	0	1	0	2	0	0	2
		心内膜悪性神経鞘腫 (M)	3	2	0	1	1	1	0	2
	血液リンパ系	所見\ 検査動物数	70	34	45	70	70	25	28	70
		悪性リンパ腫 (M)	2	1	2	1	1	1	0	0
		組織球性肉腫 (M)	1	1	2	2	0	1	1	0
	空腸	所見\ 検査動物数	70	33	44	70	70	27	28	70
		平滑筋腫 (B)	0	0	0	1	1	1	0	1
		平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	腎臓	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
		尿細管癌 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		移行上皮癌 (M)	0	0	0	1	0	0	1	0
		脂肪肉腫 (M)	1	0	1	1	0	0	2	0
	肝臓	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
		胆管腫 (B)	0	0	0	0	0	0	1	1
		肝細胞腺腫 (B)	0	2	3	3	0	1	1	2
		肝細胞癌 (M)	3	0	0	3	2	1	0	0
	肺	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
		細気管支肺胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	2
	乳腺	所見\ 検査動物数	2	3	3	3	70	54	54	70
		腺腫 (B)	0	0	0	1	2	2	3	1
		嚢胞状腺腫 (B)	0	0	0	0	1	6	1	0
		線維腺腫 (B)	0	0	0	0	23	13	17	↓13
		腺癌 (M)	0	0	1	0	5	11	11	11
癌肉腫 (M)		0	0	0	0	0	1	0	1	
脂肪腫 (B)		0	0	0	0	0	0	0	1	
線維腫 (B)		0	0	0	0	0	0	0	1	
血管腫 (B)		0	0	0	0	0	1	0	1	
血管肉腫 (M)		0	0	0	0	1	0	0	0	
脂肪肉腫 (M)		0	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 : $\uparrow\downarrow p \leq 0.05$, $\uparrow\downarrow p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	腸間膜リンパ節	所見\検査動物数	70	33	43	70	70	25	28	69
		血管腫 (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	腸間膜	所見\検査動物数	3	2	3	2	1	1	1	2
		血管肉腫 (M)	2	1	0	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	卵巢	所見\検査動物数	/				70	70	70	70
		良性顆粒膜細胞腫瘍 (B)					1	2	1	2
		悪性顆粒膜細胞腫瘍 (M)					0	1	0	0
		セルトリ細胞腫 (B)					1	0	0	0
		悪性中皮腫 (M)					0	0	0	2
	膵臓	所見\検査動物数	70	39	48	70	70	28	32	70
		島細胞腺腫 (B)	7	5	3	8	3	2	2	4
		島細胞癌 (M)	1	2	4	0	0	3	3	0
		腺房細胞腺腫 (B)	0	1	2	0	0	0	0	2
		腺房細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	上皮小体	所見\検査動物数	60	30	40	65	56	23	21	64
		腺腫 (B)	0	1	1	1	0	0	0	1
	下垂体	所見\検査動物数	70	56	58	70	70	69	67	70
		前葉腺腫 (B)	33	32	24	31	63	62	59	↓46
中間部腺腫 (B)		0	0	0	1	0	0	0	0	
前立腺	所見\検査動物数	70	35	47	70	/				
	腺腫 (B)	6	3	2	5					
	腺癌 (M)	2	0	0	1					
直腸	所見\検査動物数	70	33	43	70	70	25	28	70	
	癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	
精囊腺	所見\検査動物数	70	37	45	70	/				
	腺癌 (M)	0	0	1	0					
骨格筋	所見\検査動物数	70	34	43	70	70	25	27	70	
	悪性神経鞘腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	1	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巢について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	皮膚	所見\ 検査動物数	70	54	60	70	70	55	49	70
		乳頭腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	1
		脂肪腫 (B)	0	1	0	2	0	0	0	0
		線維腫 (B)	1	2	0	1	0	0	0	1
		角化棘細胞腫 (B)	0	0	2	1	0	0	0	0
		皮脂腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		毛嚢上皮腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)	1	1	0	1	2	1	1	0
		癌肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
		血管肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)	4	3	6	4	3	1	2	0
		神経堤腫瘍 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肉腫 (M)	0	0	0	2	0	0	1	0
脾臓	所見\ 検査動物数	70	52	57	70	70	38	42	70	
	血管腫 (B)	1	2	0	2	0	0	0	0	
	血管肉腫 (M)	0	0	0	1	0	2	0	0	
胸骨 (骨髄を 含む)	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	25	26	70	
	骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	
顎下腺	所見\ 検査動物数	70	33	43	70	70	25	27	70	
	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
精巣	所見\ 検査動物数	70	49	56	70	/				
	間細胞腫 (B)	3	5	1	7					
	中皮腫 (B)	0	1	0	0					
胸腔	所見\ 検査動物数	0	1	0	1	0	0	0	0	
	肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	
胸腺	所見\ 検査動物数	68	32	39	68	69	29	27	68	
	胸腺腫 (B)	0	1	0	0	3	4	3	0	
	胸腺癌 (M)	0	1	1	0	0	1	0	0	
	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	1	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow p \leq 0.05$, $\uparrow\downarrow p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 11. 腫瘍性病変 (続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2500	0	100	500	2500
全動物	甲状腺	所見\ 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
		C細胞腺腫 (B)	8	3	1	4	10	6	8	4
		C細胞癌 (M)	2	0	2	2	0	2	0	2
		ろ胞細胞腺腫 (B)	3	3	3	↑11	0	1	1	2
		ろ胞細胞癌 (M)	0	2	0	1	0	0	1	1
	子宮	所見\ 検査動物数	/				70	70	70	70
		腺癌 (M)					0	3	1	3
		間質ポリープ (B)					12	10	14	13
		子宮腺ポリープ (B)					0	2	0	0
		線維腫 (B)					1	0	0	1
		平滑筋腫 (B)					0	1	0	0
		顆粒細胞腫 (B)					1	4	1	2
		血管肉腫 (M)					0	0	0	1
		悪性神経鞘腫 (M)					1	1	5	5
	内膜間質肉腫 (M)	1	0	0	0					
	膺	所見\ 検査動物数	/				70	25	28	70
		平滑筋腫 (B)					1	0	0	0
		扁平上皮癌 (M)					1	0	0	0
		悪性神経鞘腫 (M)					4	0	2	3
	合計	検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
良性腫瘍数		69	65	47	89	127	120	117	111	
悪性腫瘍数		25	21	28	32	24	34	36	34	
腫瘍総数		94	86	75	121	151	154	153	145	
担良性腫瘍動物数		44	44	37	52	64	66	62	59	
担悪性腫瘍動物数		23	21	25	29	21	29	30	27	
担腫瘍動物数		53	53	51	61	64	69	67	65	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$ (申請者実施)

対照群との有意差検定は、2500 ppm 群では全ての病理組織学的検査対象組織・臓器について、中間用量群では肝臓、腎臓、肺、甲状腺、十二指腸、卵巣について実施した。その他の組織・臓器の肉眼的異常部位の病変については有意差検定を実施していない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

7-2) マウスを用いた飼料混入投与による 18 カ月間発がん性試験 (資料 12)

試験機関：BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

検体純度：

供試動物：C57BL/6 J Rj マウス，1 群雌雄各 50 匹，開始時約 7 週齢

試験開始時体重範囲 (雄；20.0~23.6 g，雌；15.6~19.5 g)

投与期間：18 カ月間 (1999 年 11 月 2 日~2001 年 5 月 22 日)

投与方法：検体を 0, 100, 500 及び 2000 ppm の濃度で飼料に混入し，18 カ月間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 5 週間毎に調製した。

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。さらに週 1 回は触診を含む詳細な観察を行った。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

試験終了時の死亡動物数及び死亡率を表 2 に示す。

表 2. 死亡率

投与量 (ppm)		0	100	500	2000
検査動物数		50	50	50	50
死亡動物数 (死亡率, %)	雄	3 (6)	2 (4)	2 (4)	1 (2)
	雌	1 (2)	3 (6)	4 (8)	6 (12)

Fisher の直接確率計算法 (申請者実施)

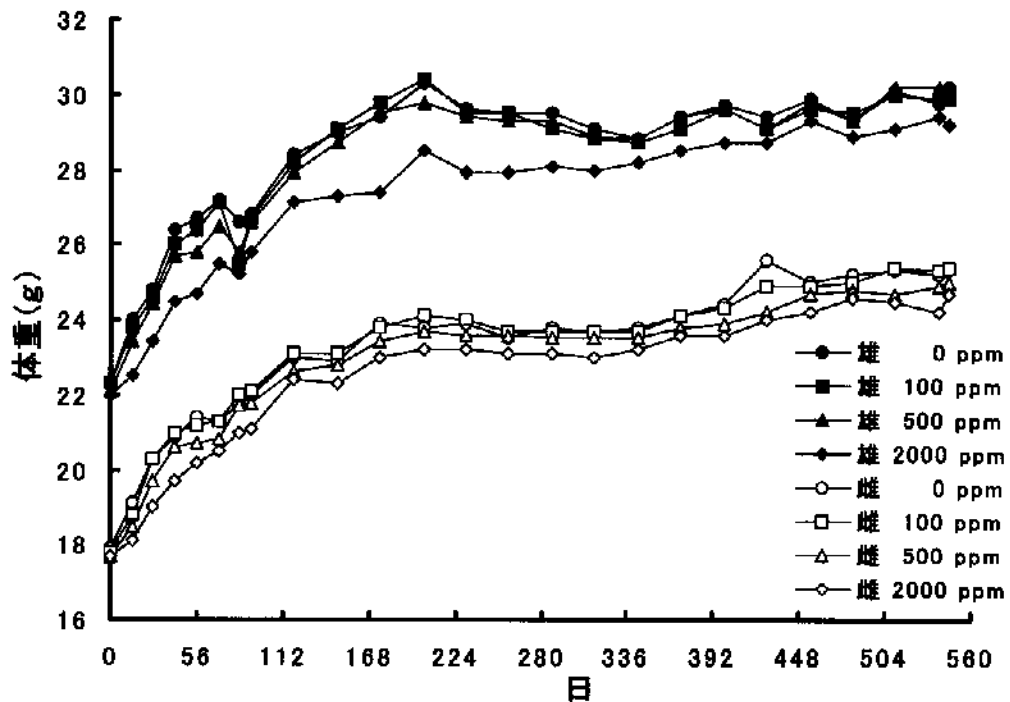
死亡率に検体投与の影響は認められなかった。

体重変化：全動物について，投与開始から 13 週間までは週 1 回，その後は 4 週間に 1 回の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

頻度で体重を測定した。また、剖検前に体重を測定した。体重変化を図 1 に示す。体重及び体重増加は Dunnett 法で検定した。

図 1. 体重変化



2000 ppm 群の雌雄において投与期間中体重及び体重増加の減少がみられ、ほとんどの測定日で有意差が認められた。

500 ppm において雄では投与 7, 14, 42 日および 56~77 日に体重が統計学的に有意に減少し、投与 7, 14, 42, 56, 70 および 77 日には体重増加の有意な減少も認められた。しかしながら、その差は軽微であり統計学的有意差は偶発的なものと考えられた。

500 ppm 群の雌及び 100 ppm 群の雄でも散発的に体重及び体重増加が統計学的に有意に減少したが、自然発生の偶発的な変化と考えた。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を投与開始から 13 週間は毎週測定し、その後は 4 週毎に測定した。また、食餌効率も算出した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた測定日を表 3 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 BASF アグロ株式会社にある。

表 3. 摂餌量

試験日 / 投与群 (ppm)	雄			雌		
	100	500	2000	100	500	2000
7日				↓89	↓93	
14				↓73	↓75	↓82
21				↓87	↓94	↓94
28		↓92				
35	↓90			↓87	↓85	↓79
42				↓92	↓91	↓88
49				↓86	↓87	↓88
56				↓87	↓91	↓88
63				↓88		
77				↓93		
84	↓82					↑109
91				↓92		
119			↑109	↓90		
147		↑114		↓92		↓80
175		↑114		↓90		
203			↑111	↓86	↓90	
231				↓87	↓90	
259				↓90		
287				↓91		
371				↓90		
399			↑112			
427				↓91	↓90	
455			↑112		↓87	↓89
483				↓88	↓83	↓87
511				↓83	↓83	↓82
539				↓91	↓91	

Dunnett 検定 ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$

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

全投与群において対照群と比べ統計学的に有意差が認められた（ほとんどが減少、時々増加）。しかしながら、一貫性及び用量との相関性がみられないことから、変動はすべて偶発的なものと考えられた。

また、食餌効率は全投与群において対照群と比較して統計学的有意差（増加ないし減少）がみられたが、一貫した傾向や用量との相関性がないことから偶発的な変化と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

表 4. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	500	2000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	26	133.1	574.3
	雌	34.2	178.5	739.1

血液学的検査：対照群および高用量群の動物を対象として、投与 12 カ月後に尾静脈穿刺により、また、投与期間終了後の剖検時に断頭により採血し、血液塗抹標本を作製し、白血球百分比を測定した。また、試験途中の切迫殺動物についても血液塗抹標本を作製した。

白血球百分比、白血球及び赤血球形態に投与の影響はなかった。

臓器重量：投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓（両側）、副腎（両側）、精巣/卵巣（両側）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 5 に示す。

表 5. 臓器重量

性別	投与量 (ppm)	雄			雌		
		100	500	2000	100	500	2000
肝臓	重量		↑109	↑123		↑108	↑120
	対体重比		↑107	↑126	↑103	↑111	↑124
腎臓	重量			↓ 95		↓ 96	↓ 95
	対体重比			↓ 97			
精巣	重量		↑105	↑104			
	対体重比			↑106			
心臓	重量		↑105				↑106
脾臓	対体重比			↑119			↑109

Wilcoxon 検定 ↑↓ $p \leq 0.05$; ↑↓ $p \leq 0.01$

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

2000 及び 500 ppm 群の雌雄において肝臓の絶対重量及び対体重比が対照群と比べ統計学的に有意に増加した。2000 ppm 群では病理組織学的検査において対応する所見が観察されており、これらの変動は検体投与の影響と考えられた。雌では 100 ppm 群において肝臓の対体重比が増加したが、対照群との差はごく僅かであり、また、病理組織学的検査にも異常がなかったところから偶発的と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

2000 ppm 群の雄では腎臓の絶対重量および対体重比が有意に減少し、雌では 2000 及び 500 ppm 群において腎臓の絶対重量が有意に減少した。病理組織学的に関連する所見は認められず、雌では対体重比に影響がなかったことから偶発的なものと考えられた。

その他、精巣、心臓及び脾臓に対照群と比べ統計学的に有意な増加（絶対重量または対体重比）がみられたが、いずれも関連する病理組織学的所見はなく偶発的なものと考えられた。

肉眼病理学的検査：途中死亡、切迫屠殺、試験終了時の全生存動物について剖検した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 6 に示す。

表 6. 肉眼病理学的検査

臓器	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	100	500	2000	0	100	500	2000
十二指腸	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
	壁肥厚	0	0	0	↑ 6	2	3	↑ 11	7
卵巣	所見\ 検査動物数					50	50	50	50
	巣状					1	4	↑ 7	6

Fisher の直接確率計算法 ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↑ $p \leq 0.01$ (申請者実施)

十二指腸壁肥厚が 2000 ppm 群の雄及び 500 ppm 群の雌において対照群と比べ統計学的に有意に増加した。影響のみられた動物は全て生存動物であった。

500 ppm 群の雌において卵巣の巣状の発生頻度が有意に増加した。しかし、病理組織学的検査において特異的に増加した病変はなかった。

100 ppm 群では対照群と比べ差はみられなかった。

病理組織学的検査：対照群及び 2000 ppm 群の全動物、並びに 100 及び 500 ppm 群の試験途中死亡・切迫殺動物を対象として、以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

全ての肉眼的異常部位、脳、下垂体、甲状腺/上皮上体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺および舌下腺）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣/卵巣、子宮、膣、卵管、精巣上体、前立腺、精のう、皮膚、食道、胃（前胃及び腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（腸間膜および顎下）、乳腺（雌）、骨格筋、坐骨神経、胸骨、骨髓（大腿骨）、眼、膝関節、脊髄（頸部、胸部、腰部）、胆嚢、咽頭、喉頭、鼻腔。

また、100 及び 500 ppm 群の全動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

全ての肉眼的異常部位、十二指腸、空腸、直腸、肺、肝臓及び腎臓
対照群との有意差検定は、十二指腸、空腸、直腸、肺、肝臓及び腎臓については

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

全投与群について行い、その他の臓器は 2000 ppm 群との間でのみ実施した。

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を表 7 に示す。

2000 ppm 群の雄において十二指腸粘膜の肥厚が対照群と比べ統計学的に有意に増加した。雌においても有意差はないもののわずかに増加した。腺胃から十二指腸への移行部の幽門部限局性過形成が 2000 ppm 群雌で 4 例観察されたが、500 ppm 群の雌において 8 例認められ対照群に比し有意差を示した。本変化は幽門部に観察されたが、粘膜肥厚と同質の変化と考えられる。(下記の真申請者注参照)

2000 ppm 群の雄において肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が、雌において小葉周辺性肝細胞肥大、胆管増殖及び胆嚢の好酸性結晶封入体が有意に増加した。

その他、認められた所見はいずれも偶発的であり、検体の影響ではないと考えられた。

[腫瘍性病変]

認められたすべての腫瘍性病変を表 8 に示す。

十二指腸の腺癌が 2000 ppm の雄で 4 例、雌に 5 例観察された。これらの腺癌は非腫瘍性病変で述べた粘膜肥厚における細胞増殖活性の増加から、その一部が腫瘍化したと推察されるが、それに関する申請者の見解を本項の末尾に記載した。

腫瘍発生数、担腫瘍動物数、担良性・悪性腫瘍動物数に投与群と対照群間に差は見られなかった。

申請者注：十二指腸粘膜の肥厚について

十二指腸粘膜の肥厚は鉄欠乏食給餌により十二指腸粘膜肥厚が生じるとの報告がある¹⁾。従って、この肥厚は本剤の投与により誘発される鉄欠乏性小球性貧血と密接に結びついていると考えられる。本剤と同様の鉄欠乏性貧血を呈し、十二指腸粘膜の肥厚を示す化学構造的に類似の検体を用いてこの貧血の機作について検討した²⁾。その結果、腸管から上皮細胞への鉄の吸収と上皮細胞から体内への輸送の両方が抑制されることが明らかとなった。本剤を用いて血清鉄濃度に及ぼす影響について試験した結果(資料 24)、血清鉄濃度が投与初期から著しく低下し、不飽和鉄結合能とトランスフェリン濃度の増加がみられた。さらに、類似検体を用いて鉄剤の同時消化管外投与による影響について検討した³⁾。鉄の補給により、検体投与で低下した血清鉄濃度は増加し、増加した不飽和鉄結合能は低下した。トランスフェリンは、検体投与では明瞭な増加がみられなかったが、鉄補給により減少したことなどから、既に吸収された鉄濃度に本検体が作用していないことが推察された。従って、本剤の投与によって、十二指腸による鉄吸収及び輸送が抑制されることにより、血清鉄濃度が著しく低下し、体内の貯蔵鉄の減少、血色素量の低下を主とする鉄欠乏性貧血が生じたものと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

一方、欠乏した鉄を補うために十二指腸における鉄吸収要求が高まる。本剤の投与を継続することで十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進と絨毛伸長がもたらされ²⁾、十二指腸粘膜肥厚が観察される(資料 22、23)。この十二指腸の病変は投与後休薬することによって回復する(資料 22、23)。又、この病変は鉄剤を同時消化管外投与することで抑制される傾向にあることが、本剤と同じ病変を示す類似検体を用いて確認されている³⁾。

以上から、十二指腸粘膜の肥厚は本剤の連続投与によって、十二指腸における鉄吸収及び輸送が抑制されるために、血清鉄濃度が著しく低下し、鉄吸収要求が高まる。この要求に対応するために、十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進と絨毛伸長をきたし、十二指腸粘膜の肥厚を生じるものと考察される。

従って、血清鉄濃度の低下と十二指腸粘膜の肥厚は密接に関連した変化で、本剤のマウス又はラットにおける毒性試験の無毒性量(100ppm) ではいずれも無作用量であった。

- 1) Smith M. W. et al., Pflügers Arch. 439, 449-454 (2000): Structural and cellular adaptation of duodenal iron uptake in rats maintained on an iron-deficient diet.
- 2) ロンドン大学生化学/分子生物学(2003):BAS 505 の雌ラットにおける十二指腸粘膜の鉄吸収及び輸送への影響試験(未発表)(オリサストロピンの評価のために必要な事項回答書 参考資料 1 を参照)
- 3) BASF 毒性研究所(2003):ラットに対する BAS 505F の混餌投与及び鉄の同時消化管外投与試験(未発表)(オリサストロピンの評価のために必要な事項回答書 参考資料 2 を参照)

以上の結果から、本剤のマウスに対する 18 カ月間経口発がん性試験における毒性影響として、2000 ppm 群において体重増加抑制、十二指腸の粘膜肥厚及び幽門部限局性過形成並びに腺癌の増加、肝臓の絶対及び対体重比の増加ならびに肝細胞肥大が認められた。

500 ppm 群において肝臓の絶対及び対体重比の増加、十二指腸幽門部限局性過形成が認められた。100ppm では検体投与の影響は認められなかった。

標的臓器は肝臓及び十二指腸であった。雌雄の 2000 ppm 群において十二指腸に催腫瘍性が認められた。これは、ラットのように血中鉄レベルが著しく低下したため十二指腸での鉄吸収要求が高まり、投与を継続することで十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進と絨毛伸長がもたらされことによる二次的な発生と推察される。この増殖活性は休薬により回復する。

したがって、本試験における無毒性量 (NOAEL) は十二指腸粘膜上皮細胞の増殖活性亢進も認められない 100 ppm (雄:26 mg/kg/日, 雌 34.2 mg/kg/日)と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 7. 非腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌				
		投与量 (ppm)	0	100	500	2000	0	100	500	2000	
最終動物	十二指腸	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44	
		粘膜肥厚	0	0	0	↑14	0	0	0	4	
		幽門部限局性過形成	1	0	1	1	0	0	↑8	4	
		限局性過形成	0	0	0	0	0	0	0	2	
	肝臓	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44	
		胆管増殖	10	9	7	10	20	12	13	↑33	
		小葉中心性肝細胞肥大	2	2	3	↑30	0	0	0	1	
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	2	1	1	↑32	
	胆嚢	所見\ 検査動物数	47	0	0	47	49	47	46	44	
		好酸性封入体	9	0	0	5	5	9	10	↑14	
	脾臓	所見\ 検査動物数	47	1	3	48	49	3	4	44	
		造血亢進	0	0	0	1	2	0	1	7	
	副腎皮質	所見\ 検査動物数	47	0	0	47	49	3	4	44	
		アミロイド症	2	0	0	↑10	8	0	0	↓1	
	全動物	十二指腸	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
			粘膜肥厚	0	0	0	↑14	0	0	0	4
幽門部限局性過形成			1	0	1	1	0	0	↑8	4	
限局性過形成			0	0	0	0	0	0	0	2	
肝臓		所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	
		胆管増殖	10	9	7	10	20	12	13	↑33	
		小葉中心性肝細胞肥大	2	2	3	↑30	0	0	0	1	
		小葉周辺性肝細胞肥大	0	0	0	0	2	1	1	↑32	
胆嚢		所見\ 検査動物数	50	3	4	49	50	49	50	50	
		好酸性封入体	19	20	21	18	5	9	10	↑14	
脾臓		所見\ 検査動物数	50	4	7	50	50	5	8	49	
		造血亢進	0	0	0	1	2	0	1	↑8	
副腎皮質		所見\ 検査動物数	50	3	4	49	50	3	4	50	
		アミロイド症	2	0	0	↑10	8	0	0	↓1	

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$ (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 BASF アグロ株式会社にある。

表 8. 腫瘍性病変

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2000	0	100	500	2000
死亡・切迫殺	肝臓	所見\ 検査動物数	3	3	4	2	1	3	4	6
		肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	所見\ 検査動物数	3	3	4	2	1	3	4	6
		細気管支肺胞腺癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\ 検査動物数	3	3	4	2	1	2	4	5
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
血液リンパ系	所見\ 検査動物	3	3	4	2	1	2	4	6	
	全身性悪性リンパ腫 (M)	1	1	2	0	0	1	0	0	
最終屠殺	前胃	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44
		扁平上皮乳頭腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
	十二指腸	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44
		腺癌 (M)	0	0	1	4	0	0	0	↑ 5
	空腸	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	1	0	3	1	1	0	0
	直腸	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	2	1
	肝臓	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44
		肝細胞腺腫 (B)	2	0	2	0	0	0	1	2
		血管腫 (B)	0	1	0	0	0	1	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0
	肺	所見\ 検査動物数	47	47	46	48	49	47	46	44
		細気管支肺胞腺腫 (B)	1	1	4	2	0	0	0	0
		細気管支肺胞腺癌 (M)	0	0	0	2	0	0	0	0
卵巣	所見\ 検査動物数	/				49	9	12	44	
	嚢胞状腺腫 (B)					0	0	1	0	
	良性黄体腫 (B)					2	0	0	0	
	血管腫 (B)					0	0	0	1	
子宮	所見\ 検査動物数	/				49	23	24	44	
	血管腫 (B)					0	1	0	0	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↑↓ $p \leq 0.01$ (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 BASF アグロ株式会社にある。

表 8. 腫瘍性病変(続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2000	0	100	500	2000
最終屠殺	脾臓	所見\ 検査動物数	47	1	3	48	49	3	4	44
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	血液リンパ系	所見\ 検査動物	47	4	4	48	49	10	12	44
		全身性悪性リンパ腫 (M)	3	2	4	2	5	7	11	4
		全身性悪性組織球性肉腫 (M)	1	2	0	0	2	3	1	1
		全身性悪性肥満細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	ハート腺	所見\ 検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	所見\ 検査動物数	47	0	1	48	49	1	0	44
		ろ胞細胞腺腫 (B)	0	0	1	1	2	0	0	2
	下垂体	所見\ 検査動物数	47	0	1	47	49	12	11	44
		前葉腺腫 (B)	1	0	0	0	12	9	4	6
	脂肪組織	所見\ 検査動物数	2	0	0	0	0	0	0	0
		リンパ腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
全動物	前胃	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		扁平上皮乳頭腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0
	十二指腸	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺癌 (M)	0	0	1	4	0	0	0	↑ 5
	空腸	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	0	1
		腺癌 (M)	0	1	0	3	1	1	0	0
	直腸	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	2	1
	肝臓	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		肝細胞腺腫 (B)	2	0	2	0	0	0	1	2
		肝細胞癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫 (B)	0	1	0	0	0	1	0	0
		血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : ↑↓ $p \leq 0.05$, ↑↓ $p \leq 0.01$ (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 BASF アグロ株式会社にある。

表 8. 腫瘍性病変(続き)

検査時期	臓器	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)	0	100	500	2000	0	100	500	2000
全動物	肺	所見\ 検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
		細気管支肺胞腺腫 (B)	1	1	4	2	0	0	0	0
		細気管支肺胞腺癌 (M)	1	0	0	2	0	0	0	0
	卵巣	所見\ 検査動物数	/				50	12	16	50
		嚢胞状腺腫 (B)					0	0	1	0
		良性黄体腫 (B)					2	0	0	0
		血管腫 (B)					0	0	0	1
	子宮	所見\ 検査動物数	/				50	26	28	50
		血管腫 (B)					0	1	0	0
	脾臓	所見\ 検査動物数	50	4	7	50	50	5	8	49
		血管腫 (B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	血液リンパ系	所見\ 検査動物数	50	7	8	50	50	12	16	50
		全身性悪性リンパ腫(M)	4	3	6	2	5	8	11	4
		全身性悪性組織球性肉腫 (M)	1	2	0	0	2	3	2	3
		全身性悪性肥満細胞腫瘍 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	ハート腺	所見\ 検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
		腺腫 (B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	甲状腺	所見\ 検査動物数	50	3	5	50	50	4	4	50
		ろ胞細胞腺腫 (B)	0	0	1	1	2	0	0	2
下垂体	所見\ 検査動物数	50	3	4	49	50	15	14	49	
	前葉腺腫 (B)	1	0	0	0	12	9	4	6	
脂肪組織	所見\ 検査動物数	2	0	0	0	0	0	0	0	
	リンパ腫 (B)	2	0	0	0	0	0	0	0	
合計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
	腫瘍数	良性	9	2	7	3	16	12	6	13
		悪性	8	6	7	11	8	13	16	14
	腫瘍総数		17	8	14	14	24	25	22	27
	担腫瘍動物数	良性	9	2	6	3	14	12	5	12
		悪性	7	6	7	10	8	13	14	11
担腫瘍動物数		16	8	12	13	20	23	19	22	

(B) : 良性腫瘍 (M) : 悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法 : $\uparrow\downarrow p \leq 0.05$, $\uparrow\downarrow p \leq 0.01$ (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 BASF アグロ株式会社にある。

7-3) ビーグル犬を用いた飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験 (資料 13)

試験機関: BASF 毒性研究所(ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: 純系ビーグル犬, 1 群雌雄各 5 匹, 開始時約 6~8 カ月齢

投与期間: 12 カ月間 (2000 年 6 月 13 日~2001 年 6 月 17-21 日)

投与方法: 検体を 0, 100, 400 及び 1600 (雄) または 1500 (雌) ppm の濃度で飼料に混入し, 12 カ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

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; 一般状態および動物の生死を毎日少なくとも 1 回観察した。

詳細な状態の観察は投与開始前および投与期間中は週 1 回, 全ての動物について詳細な状態の観察 (オープンフィールド観察) を実施した。観察された所見は可能であれば程度によりランク付けした。

- | | | |
|------------|----------|-------------|
| ・ 取り扱い時の行動 | ・ 被毛 | ・ 皮膚 |
| ・ 姿勢 | ・ 粘膜 | ・ 流涎 |
| ・ 行動/覚醒レベル | ・ 振戦 | ・ 痙攣 |
| ・ 目に見える腫瘍 | ・ 歩行異常 | ・ 流涙 |
| ・ 尿 (量/色) | ・ 瞳孔の大きさ | ・ 糞 (外観/硬度) |

投与期間中, 死亡は認められなかった。

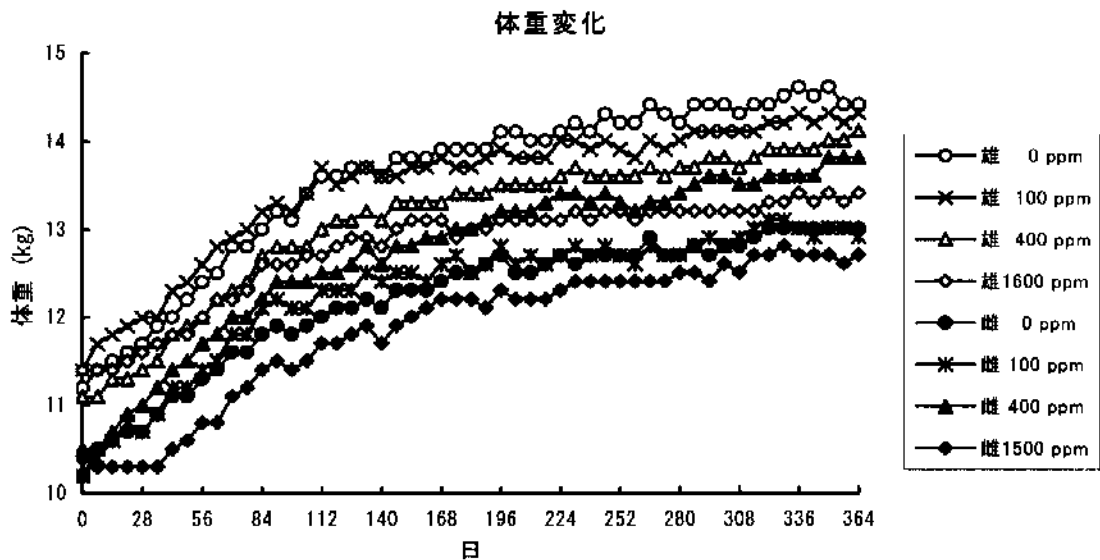
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

嘔吐が試験 0 日から 3 日に、高用量群（雄 1600 ppm/雌 1500 ppm）の雄 2 例ならびに雌全例に認められた。この症状は検体調製飼料に対する一過性の忌避を反映しているものと解釈され、検体投与に関連すると考えられた。

100 ppm 投与群および 400 ppm 投与群の雌雄には検体投与に関連すると思われる異常は認められなかった。

体重変化：全動物について投与開始時（試験 0 日）及びその後は毎週 1 回体重を測定した。

平均体重の変化を次図に示す。



いずれの投与群においても体重に、対照群と比較して統計学的に有意な変化は認められなかった [統計学的解析法は一元配置分散分析 (ANOVA) 及び Dunnet 検定]。

次表に投与開始時から投与終了時の平均最終体重増加量を示す。

投与量 (ppm)		0	100	400	1600/1500
平均最終体重増加 (kg)	雄	3.3	2.8	3.0	2.0
	雌	2.8	2.7	3.4	2.3

一元配置分散分析 (ANOVA) および Dunnet 検定

平均最終体重増加に統計学的に有意な変化は認められなかった。各体重測定時には、100 ppm および 400 ppm 投与群では対照群と比較して統計学的に有意な変化は認められなかった。高用量群 (1600 ppm) の雄では、投与期間全体を通して体重増加抑制が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。高用量群 (1500 ppm) の雌では、統計学的有意差が認められたのは 1 度のみ (試験 7 日) 減少がみられ、その後試験 35 日まではそのまま体重の増加はみられなかった。試験 42 日から投与期間終了までは、体重増加抑制が認められた。

したがって、高用量群 (雄 1600 ppm/雌 1500 ppm) 雌雄における変化は検体投与による成長抑制を示しているものと解釈された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率; 全動物の摂餌量を投与開始前に 1 回及び投与開始後は毎日測定した。
体重変化および摂餌量から食餌効率も算出した。統計学的解析は行なっていない。

投与期間中の平均摂餌量 (%、給餌量を 100%とする) を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	100	400	1600/1500
平均摂餌量 (%)	雄	100	100	100	100*
	雌	100*	98	100*	91

*四捨五入により 100%となった。統計学的解析は実施していない

対照群 (0 ppm) および 100 ppm 投与群の雌雄全例ならびに 500 ppm 群の雄ほぼ全例および雌全例は、投与期間中に給与された飼料を全て摂取した。

試験 0 から 2 日に、500 ppm 群の雄 1 例で摂餌量の減少が認められたが、試験期間を通して単独に発生したものであることから、検体投与によるものではないと判断された。一方、高用量群 (1600 ppm) の雄 3 例に摂餌量のわずかな減少が時折認められ、また、同群 (1500 ppm) の雌全例に摂餌量の減少が投与期間中継続して観察され、検体投与に関連するものと解釈された。

検体摂取量 ; 投与期間中の 1 日当たりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		100	400	1600/1500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.6	10.8	44.3
	雌	2.8	11.1	40.9

血液学的検査 ; 投与開始前、投与 3 ヶ月 (雄 90/雌 92 日)、投与 6 ヶ月 (雄 181/雌 183 日) および投与 12 ヶ月 (雌雄とも 363 日) 時に全生存動物を対象として、前腕橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、白血球型別百分率、活性化部分トロンボプラスチン時間、プロトロンビン時間

対照群と比較し、統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

検査項目	検査 時期	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		100	400	1600	100	400	1500
赤血球数	12ヶ月	↑111	↑110	↑111			
血色素量	12ヶ月			↑110			
平均赤血球血色素濃度	3ヶ月	↑105					
	12ヶ月				↑102		

Kruskal-Wallis 検定及び Mann-Whitney U 検定 (両側) ↑: $p \leq 0.02$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率 (%) を示したものを。

対照群と比較して、投与群で上表のように有意差の認められた項目があったが、いずれも検体投与前の値が対照群より高いこと、対照群の変動の範囲内にあること、及び一過性の変化であることから検体投与の影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査：血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン、カルシウム、尿素、クレアチニン、血糖、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、トリグリセリド、コレステロール、マグネシウム

統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査 時期	用量群 (ppm)					
		雄			雌		
		100	400	1600	100	400	1500
AST	3ヶ月	↓78	↓77	↓82			
	6ヶ月	↓71	↓74				
	12ヶ月	↓79	↓79				
カリウム	3ヶ月						↑108
	12ヶ月			↑109			
カルシウム	3ヶ月			↓95			
	6ヶ月			↓94			
クレアチニン	6ヶ月		↓94	↓93			
総蛋白	3ヶ月			↓93			
	6ヶ月			↓89			
	12ヶ月			↓92			
アルブミン	3ヶ月			↓91			
	6ヶ月			↓86			
グロブリン	3ヶ月		↑109				

Kruskal-Wallis 検定及び Mann-Whitney U 検定 (両側) ↑↓: $p \leq 0.05$, ↑↓: $p \leq 0.02$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率 (%) を示したものを。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

血液生化学的検査の結果、末梢血中の総蛋白の有意な減少が投与期間を通して高用量群の雄に認められた。さらに血清中のカルシウムおよびアルブミンの減少が高用量群の雄において投与期間の各検査時期に認められた。しかしながら、試験 12 ヶ月時の検査では、カルシウムおよびアルブミンの減少に有意差は認められず、低い傾向が認められる程度であった。

この他に、群間に統計学的に有意な差が認められた項目があったが、これらの変化はごく軽度な変化であり、他の性と比較した場合に偶発性あるいは非一貫性の変化であり、また用量相関性を欠いていた。したがって、これらの所見に毒性学的意義はないものと考えられた。

尿検査：投与開始前に 1 回、投与 3 ヶ月（雄 93/雌 94 日）、6 ヶ月（雄 184/雌 185 日）および 12 ヶ月（雄 359/雌 360 日）時に全動物から採取した尿について以下の項目を検査した。

尿量、色、濁度、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、尿比重、尿沈査

検体投与に関連する変化は認められなかった（統計学的手法：Fisher の直接確率計算法）。

眼科学的検査：投与開始前及び投与期間終了時に全動物を対象に眼科学的検査を実施した。

異常は認められなかった。

臓器重量：投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣、精巣上体、甲状腺/上皮小体、前立腺

次表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	400	1600	100	400	1500
肝臓	重量			106			117
	対体重比			↑ 114			113
甲状腺	重量			118			108
	対体重比			↑ 117			100

Kruskal-Wallis 検定及び Wilcoxon 検定（両側）↑: $p \leq 0.05$

表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する百分率（%）を示した。矢印のない数値は有意差なし。

肝臓の絶対重量は、統計学的に有意な変化は認められなかったが、高用量群（1600/1500 ppm）の雌雄において、軽度増加する傾向が認められた。対体重比は雄では有意に増加し、雌では有意はないものの増加傾向が認められた。この変化は検体投与による毒性というよりも、適応であると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

甲状腺についても絶対重量は増加傾向にあったが、対体重比は有意に増加していた。

病理学的検査

肉眼病理検査：投与終了後全動物について剖検を行った。

何れの投与群においても対照群と比較して統計学的有意差が認められた所見はなく（Fisher の直接確率計算法；申請者実施）、また、検体投与の影響と思われる所見も観察されなかった。

病理組織学的検査：全動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施し、検鏡した。

全ての肉眼的異常部位、脳、下垂体、甲状腺、上皮上体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺および耳下腺）、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、卵巣、卵管、子宮/膈、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、リンパ節（腸間膜および腋窩）、骨格筋、坐骨神経、脊髓（頸部、胸部、腰部）、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（膝関節および骨髄を含む）、眼（視神経を含む）、前立腺、乳腺（雌）、皮膚、喉頭、咽頭、鼻腔（レベルⅢ）、骨髄（大腿骨）。

病理組織学的検査において、何れの投与群においても対照群と比較して統計学的有意差が認められた所見はなく（Fisher の直接確率計算法；申請者実施）、また、検体投与の影響と思われる所見も観察されなかった。特に、最高用量群の動物における肝臓及び甲状腺の重量の増加と関連する形態学的所見はなかった。

その他の臓器で認められる病理組織学的所見は単発性であるか、各用量間に等しく認められたため、自然発生性の変化であると考えられた。

以上のとおり、検体のイヌに対する 1 年間混餌経口反復投与毒性試験における毒性影響は、高用量群（雄 1600 ppm/雌 1500 ppm）のみに認められた。雄における体重増加抑制、雌における体重減少/体重増加抑制、雄 1 例における摂餌量の軽度な減少、雌における摂餌量の減少、雌雄における食餌効率の低下、雄 2 例および雌全例における嘔吐、雄におけるカルシウム、総蛋白およびアルブミンの減少、肝臓（雌雄）及び甲状腺（雄）の重量及び対体重比の増加又は増加傾向が認められた。

100 および 400 ppm 投与群では、検体投与に関連する変化は認められなかった。

したがって、本試験における無毒性量は 400 ppm（雄：10.8 mg/kg 体重/日、雌：11.1 mg/kg 体重/日）と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

8) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

8-1) ラットを用いた繁殖毒性試験

(資料 14)

試験機関：BASF毒性研究所（ドイツ）

[GLP対応]

報告書作成年：2002年

検体純度：

試験動物：Wistar系 (CrI/Glx/Brl/Han:WI) ラット，1群当り雌雄各25匹，

投与開始時36 (±2) 日齢，

雄 113.5 (102.9~128.2) g, 雌 97.8 (88.7~106.7) g

投与期間：F0世代：投与開始からF1児離乳後の剖検までの約19週間

F1世代：離乳時からF2児離乳後の剖検までの約19週間

(動物試験期間2000年8月2日～2001年4月20日)

投与方法：検体を0, 100, 500または1500 ppmの濃度で混合した飼料を自由に摂取させた。なお，対照群の動物には基礎飼料のみを同様に摂取させた。

用量設定根拠：

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を次頁の表にまとめた。

親動物：

一般状態及び死亡；

全動物の一般状態及び生死を試験期間中毎日観察した。瀕死動物は，発見後速やかに剖検した。

体重；

雄は投与開始時及びそれ以降毎週，雌は投与開始時及びそれ以降交配前期間（0-10週）中毎週、妊娠0日，7日，14日，20日及び哺育1日，4日，7日，14日，21日に測定した。

摂餌量；

雌雄とも交配前期間中毎週，さらに雌は妊娠0-7日，7-14日，14-20日，0-20日及び哺育1-4日，4-7日，7-14日，1-14日について測定した。

検体摂取量；

雌雄とも交配前期間中，また雌は妊娠及び哺育期間中について，体重，摂餌量及び飼料中の設定濃度から1日当り，体重1 kg当りの検体摂取量 (mg/kg/日) を算出した。

試験の概要

世代	期間(週)	作業手順	試験項目
F0	生育(10)	一般状態及び生死の観察(投与期間中毎日) 体重及び摂餌量測定(投与期間中原則として毎週)	一般状態, 死亡 体重, 体重増加, 摂餌量, 検体摂取量
	交配(1)	性周期の観察(交配前少なくとも3週間) 雌雄1対1で1晩同居交配, 翌朝腔垢中の精子で交尾を確認(妊娠0日)	性周期 交尾率, 交尾成立までの期間
	妊娠(3)		受精率, 妊娠率
	出産 哺育(3)	出産状況の観察(哺育0日) 出産児の生死, 性別, 外表所見, 生存(生後0,4,7,14, 21日)の観察, 体重測定(生後1,4,7,14, 21日), 死亡児の剖検 同腹児数調整(生後4日, 原則として雌雄各4匹) 選抜しなかった4日齢児の剖検	出産率, 妊娠期間 児の一般状態, 死亡, 産児数, 生存児出産率, 性比, 生存率, 体重, 体重増加, 剖検所見, 哺育率
	離乳	生後21日 F1親動物の選抜(各腹各性1匹または2匹を選抜) 選抜しなかったF1離乳児の剖検, 臓器重量測定 F0親の精子検査, 血液学的検査, 性周期段階の確認, 剖検, 臓器重量測定, 病理組織学的検査 (卵胞の計数を含む)	剖検所見, 臓器重量 精子の数, 運動率及び形態; 着床数, 着床後胚死亡率; 血液学的所見, 剖検所見, 臓器重量, 病理組織学的所見(卵胞数を含む)
F1	生育(10)	性成熟(雄, 包皮分離; 雌, 腔開口)の観察 (兄妹交配は避けた) (F0親動物及びF1児動物に準ずる)	包皮分離/腔開口の日齢 (F0親動物及びF1児動物に準ずる)
	交配(2) 妊娠(3) 出産 哺育(3) 離乳		
F2			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

交配及び妊娠の確認；

雌を同群の雄と1対1で同居させて交配を行なった（最長2週間）。同居の翌朝、膣垢中の精子により交尾を確認し、妊娠0日とした。妊娠は、分娩によって、また剖検時に子宮内の着床痕の有無を調べて確認した。

繁殖性に関する指標；生育，交配，妊娠及び哺育の各期間と剖検時の観察に基づき，次の指標を算出した。

性成熟；雄の包皮分離と雌の腔開口の日齢（F1動物についてのみ）

性周期；交配前に少なくとも3週間性周期を観察し，性周期の平均日数を算出

交尾成立までの期間；雌雄を同居後，雌の膣垢中に精子が確認されるまでの日数

交尾率（%）＝（交尾を認めた雄（雌）数/交配に用いた雄（雌）数）× 100

受精率（%）＝（雌を妊娠させた雄数/交配に用いた雄数）× 100

精子；運動率（自動性を示す精子の百分率），形態（正常及び異常形態精子の百分率）及び数（精巢の精子細胞頭部数，精巢上体尾部の精子頭部数）（形態と数は対照群と高用量群のみ）

妊娠率（%）＝（妊娠雌数/交尾を認めた雌数）× 100

出産率（%）＝（生存児を出産した雌数/妊娠雌数）× 100

妊娠期間；交尾確認日（妊娠0日）から分娩完了日（哺育0日）までの日数

着床数；子宮内の着床痕の数

着床後胚損失率（%）＝〔（着床数－産児数）/着床数〕× 100

類別卵胞数；対照群と高用量群の全F0及びF1雌親動物ならびに低用量群と中間用量群における妊娠しなかったF0及びF1雌親動物について，卵巢の連続組織切片を顕微鏡で観察し，原始卵胞及び発育卵胞を計数し，それらの合計を算出した。

血液学的検査；投与終了の最終剖検時に全生存動物の後眼窩静脈叢から採血して，以下の指標について検査した。

赤血球数，血色素量，ヘマトクリット値，平均赤血球容積，平均赤血球血色素量，平均赤血球血色素濃度，血小板数，赤血球の形態

病理学的検査；

剖検所見；すべてのF0及びF1親動物の外表及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。

臓器重量；最終剖検時まで生存したすべてのF0及びF1親動物の脳，下垂体，甲状腺（上皮小体を含む），肝臓，脾臓，副腎，腎臓，卵巢，子宮（頸部と卵管を含む），精巢，精巢上体（全体及び尾部），精のう（凝固腺と分泌物を含む）及び前立腺の重量を測定した。又，対体重比を算出した。

病理組織学的所見；対照群と高用量群の全F0及びF1親動物ならびに低用量群と中間用量群で児が得られなかった雌雄親動物の生殖器官（卵巢，卵管，子宮，子宮頸，膣または左精巢，左精巢上体，精囊，凝固腺，前立腺），下垂体及び副腎，対照群と高用量群の全F0及びF1親動物ならびに低用量群と中間用量群の全F0及びF1雌親動物の肝臓，対照群と高用量群の全F0及びF1親動物の腎臓，対照群と高用量群の全F1親動物の脳，さらにすべての肉眼的病変部について，それぞれ病理組織学的に検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

児動物：

一般状態及び死亡：

全ての児動物の一般状態と生死を哺育期間中毎日観察した。死亡児は、発見後速やかに剖検した。

産児数：

産児数＝出生日（生後0日）における生存児と死亡児の合計

平均産児数＝総産児数/生存児出産母動物数

生存児出産率（%）＝（出産時生存児数/産児数）× 100

性比：

生後0日と21日における生存児（雄＋雌）に対する雄または雌の割合（%）

生存率（%）＝（生後4日の調整前生存児数/出生日の生存児数）× 100

哺育率（%）＝（生後21日の生存児数/生後4日の調整後生存児数）× 100

体重：

生後1日、4日（児数調整前後）、7日、14日及び21日に個体別に体重を測定し、腹別に雌雄別平均値を算出し、これを基に、群別平均値を算出した。

体重増加：

生後1-4日、4-7日、7-14日、14-21日及び4-21日について、雌雄別に平均体重増加を算出した。

剖検所見：

すべてのF1及びF2児動物の外表面及び内臓・組織の肉眼による病理学的変化を記録した。異常所見を有する児動物については、必要により詳細に検査した。

臓器重量：

離乳後の剖検時まで生存したF1及びF2児動物の中から、各腹から雌雄各1匹を選抜して脳、胸腺及び脾臓の重量を測定し、対体重比を算出した。

結果：概要を次頁以下の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果：

世代			親：F0 児：F1				親：F1 児：F2			
投与量 (ppm)			0	100	500	1500	0	100	500	1500
動物数	雄		25	25	25	25	25	25	25	25
	雌		25	25	25	25	25	25	25	25
死亡数	雄		0	1	0	1	0	0	0	0
	雌		0	1	0	0	0	1	0	0
一般状態			検体投与に起因する異常は認められなかった							
体重 (試験10週時)	雄	生育時				↓93				↓89
		妊娠時				101				95
	雌	生育時				101				↓94
		哺育時				102				↓95
体重増加	雄	生育時 ^a				93				94
		妊娠時				102				100
	雌	生育時 ^a				102				96
		哺育時				↑145				↑159
摂餌量	雄	生育時 ^b				94				93
		妊娠時				96				94
	雌	生育時 ^b				97				93
		哺育時				95				86
検体摂取量 (mg/kg)	雄	生育時 ^b	0	9.7	48.3	141.7	0	11.2	56.9	176.0
		妊娠時	0	10.8	52.4	152.2	0	12.0	59.9	183.0
	雌	生育時 ^b	0	8.8	43.7	127.0	0	9.0	44.3	133.2
		哺育時	0	16.3	78.7	228.7	0	15.4	79.1	219.1

^a 雄：F0は試験0～17週、F1は試験0～18週；雌：試験0～10週の体重増加

^b 試験0～10週の平均

体重、体重増加、摂餌量は変動の目安として対照群に対する比率(%)を示した。矢印のない値は有意差なし。なお、空欄には有意差は認められなかった。

Dunnett検定：体重、体重増加、摂餌量 ↑↓：P≤0.05、↑↓：P≤0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果 (続き) :

世代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2			
投与量 (ppm)		0	100	500	1500	0	100	500	1500
親 動物 の 所 見	RBC 雄				↓97				
	HGB 雄				↓97				
	雌				↓93				
	HCT 雄				↓96				
	雌		↓98		↓96				↓92
	MCV 雌				↓93				↓94
	MCH 雌				↓91				↓92
	MCHC 雌				↓97				↓98
PLT 雌				↑109					
臓 器 重 量	脳								
	雄 重量								↓95
	雌 重量								↓97
	脾臓								
	雌 重量 対体重			↑106 0.224					
	肝臓								
	雄 重量 対体重			↑107 ↑108	↑113 ↑120			107 ↑106	107 ↑117
	雌 重量 対体重			↑108 ↑108	↑127 ↑126			↑108 ↑108	↑120 ↑124
	腎臓								
	雄 対体重				↑108				
	精巣								
	雄 対体重								↑108
	精嚢								
雄 対体重								↑111	
原始卵胞数	-	-	-	-	161	-	-	-	177
発育卵胞数	-	-	-	-	32	-	-	-	34
合計	-	-	-	-	193	-	-	-	212
剖検所見	検体投与に起因する異常は認められなかった								
病理組織学的所見									
小葉中心性肝細胞肥大									
雄	0/25	-	-	0/25	2/25	-	-	-	2/25
雌	0/25	0/25	↑10/25	↑25/25	0/24	0/25	↑11/24	↑25/25	

表中の数値は対照群に対する比率として示した。矢印のない数値は有意差なし。

a: 平均; RBC, 赤血球 ($10^{12}/L$); HGB, 血色素 (mmol/L); HCT, ヘマトクリット (l/L); MCV, 平均赤血球容積 (fl); MCH, 平均赤血球血色素量 (fmol); MCHC, 平均赤血球血色素濃度 (mmol/L); PLT, 血小板 ($10^9/L$)

Kruskal-Wallis H検定及びMann-WhitneyのU検定: 血液学的所見

Kruskal-Wallis H検定及びWilcoxon検定: 臓器重量 ↑↓: $P \leq 0.05$

↑↓: $P \leq 0.01$ (0.02, 血液学的所見), ↑↓: $P \leq 0.001$ (0.002, 血液学的所見)

Wilcoxon検定: 卵胞数, 剖検所見

Fisherの直接確率計算法: 病理組織学的所見

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果（続き）：

世代		親：F0 児：F1				親：F1 児：F2				
投与量 (ppm)		0	100	500	1500	0	100	500	1500	
親動物	繁殖能力									
	雄	交尾率	25/25	24/24	25/25	25/25	25/25	23/24	23/25	25/25
		受精率	23/25	21/24	24/25	25/25	24/25	22/24	22/25	22/25
		精子数 ($\times 10^6$) ^{a,c}	112	—	—	116	113	—	—	124
			566	—	—	589	677	—	—	741
		精子運動率 (%) ^a	81	86	85	87	86	83	85	88
		正常形態精子 (%) ^a	94.8	—	—	98.0	97.5	—	—	97.8
	異常形態精子 (%) ^a	5.2	—	—	2.0	2.5	—	—	2.3	
	雌	性周期 (日) ^a	4.2	4.5	4.3	4.0	4.2	4.3	4.3	4.1
		交尾成立までの日数 ^a	2.6	2.5	2.7	2.0	2.7	2.1	2.3	2.8
		交尾率	25/25	24/24	25/25	25/25	25/25	23/24	23/25	25/25
		妊娠率	23/25	21/24	24/25	25/25	24/25	22/23	22/23	22/25
		出産率	23/23	21/21	24/24	25/25	24/24	22/22	22/22	21/22
		妊娠期間 (日) ^a	21.8	21.8	21.8	21.8	22.1	22.0	22.0	22.0
		着床数 ^a	10.9	11.1	10.9	10.9	11.0	10.4	11.1	10.9
		着床後胚損失率 (%) ^a	4.1	7.2	7.5	2.5	7.4	2.6	4.5	8.8

a: 平均

b: 上段は日齢, 下段は体重 (g)

c: 上段は精巢1 g当りの総精子細胞数, 下段は精巢上部尾部1 g当りの総精子数

Dunnett検定: 包皮分離, 膣開口, 性周期, 交尾成立までの日数, 妊娠期間, 着床数, 着床後胚損失率

Fisherの直接確率計算法: 交尾率, 受精率, 妊娠率, 出産率

Wilcoxon 検定: 精子数, 正常形態精子, 異常形態精子

Wilcoxon 検定 (Bonferroni-Holmの補正付): 精子運動率

↑↓: $P \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果 (続き) :

世代		親 : F0 児 : F1				親 : F1 児 : F2				
投与量 (ppm)		0	100	500	1500	0	100	500	1500	
児動物	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった								
	産児数 ^a	10.4	10.4	10.1	10.6	10.1	10.1	10.6	10.4	
	生存児出産率 (%)	99	100	97	100	100	99	100	100	
	性比 (%) ^b									
	哺育 0日	48.9	46.8	49.1	47.0	51.7	43.6	53.9	46.3	
	哺育 21日	50.3	49.7	49.7	47.7	51.1	46.7	52.3	45.3	
	生後4日生存率 (%)	98	100	99	100	98	97	98	88	
	生後21日哺育率 (%)	98	100	100	99	100	99	99	99	
	体重 (g) ^a									
	雄	生後1日	6.2	6.2	6.3	6.1	6.4	6.5	6.3	↓5.8
		生後4日 ^c	9.1	9.4	9.2	8.4	9.7	9.9	9.4	↓8.1
		生後7日	14.1	14.8	14.0	↓12.7	15.0	15.5	14.5	↓12.5
		生後14日	28.4	29.6	28.1	↓24.9	29.2	30.3	28.1	↓24.3
		生後21日	45.5	46.7	43.9	↓36.5	47.0	48.2	44.0	↓36.1
	雌	生後1日	5.9	5.9	6.0	5.8	6.1	6.1	6.0	5.6
		生後4日 ^c	8.7	8.9	9.0	8.1	9.3	9.6	9.0	↓8.0
		生後7日	13.6	14.2	13.8	↓12.3	14.6	14.9	14.0	↓11.7
		生後14日	27.6	28.7	27.7	↓24.3	28.5	29.3	27.5	↓23.0
		生後21日	43.8	44.8	43.0	↓35.3	45.1	45.9	42.8	↓34.2
	体重増加 (g) ^a									
雄	生後1-4日	2.9	3.1	2.9	↓2.3	3.3	3.4	3.0	↓2.2	
	生後4-7日	5.0	5.4	4.8	↓4.3	5.4	5.6	5.2	↓4.1	
	生後7-14日	14.3	14.8	14.1	↓12.2	14.2	14.8	13.6	↓11.8	
	生後14-21日	17.1	17.1	↓15.8	↓11.6	17.8	17.8	↓15.9	↓11.8	
	生後4-21日	36.4	37.3	34.7	↓28.1	37.3	38.3	↓34.6	↓27.7	
雌	生後1-4日	2.9	3.0	3.0	↓2.3	3.3	3.4	3.0	↓2.3	
	生後4-7日	4.9	5.2	4.8	↓4.3	5.2	5.3	5.0	↓3.8	
	生後7-14日	14.0	14.5	13.9	↓12.0	13.9	14.5	13.4	↓11.2	
	生後14-21日	16.2	16.1	15.3	↓11.0	16.6	16.6	↓15.3	↓11.2	
	生後4-21日	35.1	35.9	34.0	↓27.3	35.8	36.3	33.8	↓26.2	
雄	包皮分離	日齢 ^a	42.8	43.1	43.7	↑45.5	-	-	-	
		体重 (g) ^a	169.2	171.9	172.4	↓153.8	-	-	-	
雌	腔開口	日齢 ^a	32.0	32.9	33.4	↑37.7	-	-	-	
		体重 (g) ^a	91.8	95.4	97.1	99.4	-	-	-	

a: 平均, b: 雄/生存児数, c: 児数調整前

Dunnett検定: 産児数, 体重, 体重増加

Fisherの直接確率計算法: 生存児出産率, 生存率, 哺育率

↓: $P \leq 0.05$, ↓↓: $P \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果（続き）：

世代		親：F0 児：F1				親：F1 児：F2			
投与量 (ppm)		0	100	500	1500	0	100	500	1500
児動物	臓器重量 ^a								
	脳								
	雄 重量				↓ 96				↓ 95
	対体重				↑118			↑107	↑125
	雌 重量				↓ 95				↓ 92
	対体重				↑118				↑124
	胸腺								
	雄 重量				↓ 61			↓ 85	↓ 57
	対体重				↓ 75			↓ 90	↓ 74
	雌 重量				↓ 62			↓ 86	↓ 55
	対体重				↓ 76			↓ 91	↓ 74
	脾臓								
	雄 重量				↓ 65				↓ 56
	対体重				↓ 78				↓ 72
雌 重量				↓ 62				↓ 63	
対体重				↓ 76				↓ 83	
剖検所見									
腹水／胸水白濁									
腹数	0/23	0/21	0/24	↑5/25	0/24	0/22	0/22	↑4/21	
児数/腹 (%)	0.0	0.0	0.0	↑5.0	0.0	0.0	0.0	↑3.0	
肝臓淡黄色									
腹数	0/23	0/21	0/24	↑5/25	0/24	0/22	0/22	↑8/21	
児数/腹 (%)	0.0	0.0	0.0	↑4.8	0.0	0.0	0.0	↑6.8	
腎盂拡張									
腹数	0/23	1/21	1/24	3/25	1/24	3/22	3/22	2/21	
児数/腹 (%)	0.0	0.6	0.6	↑1.7	0.5	1.4	2.9	0.9	
腎臓淡黄色									
腹数	0/23	0/21	0/24	↑6/25	0/24	0/22	0/22	↑8/21	
児数/腹 (%)	0.0	0.0	0.0	↑5.3	0.0	0.0	0.0	↑6.8	

^a 表中の数値は対照群に対する比率として示した。

Kruskal-Wallis検定及びWilcoxon検定：臓器重量

Wilcoxon検定：剖検所見（児数/腹）

Fisherの直接確率計算法：剖検所見（腹数）

↑↓：P≤0.05, ↑↓↓：P≤0.01

親動物

繁殖への影響に関し、投与群におけるF0またはF1親動物の繁殖能力または妊性に投与の影響はなかった。精子の指標や生殖器官の重量、肉眼的所見及び病理組織学的所見（類別卵胞数を含む）、また性周期データ、交尾行動、受胎、妊娠、出産、哺育ならびに離乳についても、投与群と対照群間に差はなかった。

一般毒性に関して、1500 ppm群でF0及びF1の雌雄とも平均摂餌量には統計学的有意差は認められなかったが、雄では生育期前半に有意な減少があり、これに伴い体重の有意な抑制が認められた。又雌でも有意差が散見され低い傾向がみられたが、F0母動物では体重への影響は認められなかった。しかし、F1世代では離乳時の低体重を反映して、投与当初から有意差が認められ、その影響がその後も持続した。100及び500 ppm群のF0雄の体重増加に一過性の変化が散見されたが、偶発的なものと考えられた。

血液学的検査で、1500 ppm群においてF0及びF1雌の血色素濃度、ヘマトクリット値、赤血球容積、赤血球血色素量及び赤血球血色素濃度が有意に減少し、小赤血球性低色素性貧血を呈した。さらに、雌の末梢血で小赤血球症と血色素減少症が観察された。一方雄では、1500 ppm群のF0雄で赤血球、血色素濃度及びヘマトクリット値が減少したものの、F1雄では末梢血において赤血球染色不同症のわずかな増加と血色素増加症が観察されただけであった。血液学的検査では雌における変化が雄に比しやや重度であった。100ppm群のF0雌においてヘマトクリット値の有意な低値がみられたが、用量関連性もなく偶発的と思われた。

1500 ppm群と500 ppm群のF0及びF1雌雄親動物ににおいて、肝臓の重量及び対体重比が有意に増加し、両世代の雌では小葉中心性肝細胞肥大を伴っていた。この程度の病変は500ppm群では軽微であり投与を中止すると急速に回復すると考えられることから、この変化は毒性ではなく、適応反応と想定される。その他の変化はいずれも、単独の発生、非常に低い発生率または対照群同等の発生率であり、検体投与の影響ではないと考えられた。申請者注

申請者注 肝臓重量の変化に関する見解

雌では500ppm以上の用量で用量相関的に肝重量及び比重量共に増加し、この増加に関連のある小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度及びその程度ともに増加していることから、500ppmは毒性量と判断する。従って、雌の無毒性量は100ppmである。

雄では、500ppm以上の用量で用量相関的に肝の比重量に増加がみられるが、肝重量は必ずしも増加傾向はみられず、病理組織学的にも肝重量の増加に結びつく所見が認められないこと、又90日間反復投与毒性試験において、1000ppmの用量でも肝重量の増加は認められず、肝臓の病理組織学的所見にも異常は認められていないことから、500ppmは肝臓に対して報告書どおり無毒性量である。

児動物

児動物の体重及び体重増加は1500 ppm群でF1及びF2両世代、500 ppm群でF2世代において低値が認められた。500 ppm群のF1雄児動物で生後14～21日の体重増加に統計学的に有意な低値がみられたが、生後21日の体重に対照群との差がないことから検体投与の影響ではないと考えられた。

胸腺と脾臓の絶対及び対体重比が1500 ppm群のF1及びF2児動物で、又胸腺の絶対及び対体重比が500 ppm群のF2児動物で有意に低下した^(申請者注参照)。脳の重量は減少し、対体重比に増加がみられた。これは、体重減少の影響によるものと考えられた。

膈開口/包皮分離の遅延が、1500 ppm群のF1雌雄においてみられたが、この用量における児体重の抑制による発育の全般的な遅延の結果であり、検体の直接的な性成熟への影響とは考えられなかった。

剖検で、1500 ppm群のF1及びF2児動物に肝臓と腎臓の淡黄色化ならびに腹水/胸水白濁の出現頻度に有意な増加が認められた。これらの所見は、本試験の親動物に観察され、また他のいくつかの反復投与毒性試験において認められた小赤血球性低色素性貧血に関連していると考えられる。また、1500 ppm群のF1児動物で、腎盂拡張の出現頻度(児数/腹)が有意に高かったが、F2児動物に対照群との差はなかった。

これら以外に、検体の影響と考えられる変化は認められなかった。

(申請者注) 児動物の胸腺・脾臓重量低下に関する見解

これらの児動物の親動物(F0, F1)では1500 ppm群において、特にF1雌で妊娠時から哺育時の体重が有意に減少し、有意ではないが摂餌量の低下を伴っていた。また、500 ppm群親動物には体重への影響はみられなかったが、F1及びF2児動物とも哺育時の体重あるいは体重増加が有意に抑制されていた。この児動物の体重増加が低いことが胸腺及び脾臓の重量低下に関連しており、これが上記リンパ系組織の発達をやや遅らせた結果になったと判断する。また、本試験における21日齢児動物の胸腺及び脾臓重量は次表のように背景データの範囲内であった。

さらに、本変化の毒性影響については、F1児動物が成長した後では胸腺及び脾臓重量に異常を認めないこと、90日間反復経口投与試験において3000 ppm群でもこれらの臓器に異常がなかったこと、さらに、慢性毒性/発がん性併合試験では2500 ppm群のリンパ系臓器に特異的変化がなかったこと、及び免疫毒性試験で免疫系に影響がないこと(資料36)から顕著な毒性影響とは考えられない。

従って、繁殖試験において500 ppm以上の投与群の児動物にみられた胸腺及び脾臓重量の低下は、哺育期間中における児動物の体重増加の有意な抑制を反映した二次的変化であると判断いたします。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

重量	臓器	性	腹数	背景データ		本試験	
				平均	範囲	F1児平均	F2児平均
絶対重量	胸腺	雄	119	0.206	0.126-0.351	0.134	0.128
		雌	121	0.218	0.113-0.305	0.142	0.132
	脾臓	雄	119	0.199	0.089-0.386	0.127	0.122
		雌	121	0.203	0.100-0.352	0.119	0.131
対体重比	胸腺	雄	119	0.459	0.305-0.718	0.362	0.354
		雌	121	0.495	0.315-0.660	0.397	0.386
	脾臓	雄	119	0.440	0.268-0.723	0.338	0.331
		雌	121	0.461	0.261-0.680	0.332	0.379

背景データは2000年5月から2001年2月までに実施した5試験の平均値及び各試験の平均値の範囲である。

以上の結果から、本試験条件下で繁殖能力及び妊性に関する無毒性量（NOEL）はF0及びF1親動物とも1500 ppm（F0:雄141.7 mg/kg/日、雌152.2mg/kg/日； F1:176.0mg/kg/日、雌183.0mg/kg/日）、一般毒性は1500ppm群で摂餌量の低下を伴う体重増加の抑制、貧血、肝臓重量の増加を伴い小葉中心性肝細胞肥大がみられることから、無毒性量はF0及びF1雄親動物は500 ppm（F0:48.3 mg/kg/日、F1:56.9mg/kg/日）と雌親動物は100 ppm（F0:10.8 mg/kg/日、F1:12.0mg/kg/日）判断される。発生毒性に関する無毒性量は児の発育遅滞及びこれに伴う性成熟の遅滞並びに臓器重量の低下からF1児動物について500 ppm（約50 mg/kg/日）及びF2児動物について100 ppm（約11 mg/kg/日）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BASFアグロ株式会社にある。

8-2) ラットを用いた催奇形性試験

(資料 15)

試験機関: BASF毒性研究所 (ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年: 2002年

検体純度:

供試動物: Wistar系 (CrI Glx BrI Han:WI) ラット, 1群当り交尾確認雌25匹
妊娠0日: 10~12週齢, 体重 141.6~192.6 g

投与期間: 16日間 (2001年6月12日~2001年6月27日)

投与方法: 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース蒸留水溶液に懸濁し, 0, 60, 120及び240 mg/kg/日の投与用量で, 妊娠6~19日まで (着床から出産予定日の1日前まで) の14日間毎日1回, 10 ml/kg体重の容量で強制経口投与した (膣栓/膣垢中精子の確認日を妊娠0日とした)。なお, 対照群の動物には媒体の0.5%カルボキシメチルセルロース蒸留水溶液を同様に投与した。

用量設定根拠:

観察・検査項目:

母動物: 試験期間 (妊娠0~20日) 中, 一般状態及び生死について毎日観察した。体重は妊娠0, 1, 3, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 19及び20日に測定した。摂餌量は, 妊娠0日を除き体重測定日と同日に測定した。妊娠20日に帝王切開して肉眼的病理検査を行い, ついで黄体数, 妊娠子宮重量, 着床数, 死亡胚 (早期吸収胚, 後期吸収胚, 死亡胎児) 数, 生存胎児数及び胎盤重量を記録した。

胎児: 体重を測定し, 性別, 外表の異常について検査した。各腹約半数の胎児については内臓の異常を, 残り約半数の胎児については骨格標本を作製し, 骨格の異常について検査した。

試験結果: 概要を以下の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

母動物；

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	60	120	240	
1群当り雌動物数	25	25	25	25	
妊娠雌動物数	24	24	23	21	
死亡雌動物数	0	0	0	1(妊娠10日)	
全胚吸収の腹数	0	0	0	0	
最終屠殺時妊娠雌動物数	24	24	23	20	
生存胎児のある腹数	24	24	23	20	
一般状態：流産				5/25 (妊娠16-19日)	
体重	—				
体重 妊娠6~19日 増加 ^a 妊娠0~20日	—			91 94	
摂餌量 ^a 妊娠6~19日 妊娠0~20日	—		97 97	89 91	
剖検所見	—	検体投与に起因する異常は認められなかった			
妊娠子宮重量 (g)	53.7	51.3	53.0	51.7	
補正体重増加 ^b (g)	35.6	37.3	38.7	↓29.6	
カーカス重量 ^c (g)	226.0	227.7	231.1	223.0	
胎盤重量 (g)	0.43	0.43	↑0.48	0.45	
着床 所見 (腹 当り)	黄体数	11.0	10.2	10.3	10.5
	着床数	10.2	9.7	9.8	9.7
	着床前胚損失率(%) ^d	7.2	5.0	5.0	7.8
	着床後胚損失率(%) ^e	3.8	4.4	4.9	4.7
	総胚吸収数(%)	0.4(3.8)	0.4(4.4)	0.5(4.9)	0.4(4.7)
	早期胚吸収数(%)	0.3(3.2)	0.4(4.0)	0.4(4.1)	0.3(4.2)
	後期胚吸収数(%)	0.1(0.6)	0.0(0.4)	0.1(0.8)	0.1(0.5)
死亡胎児数	0	0	0	0	

^a 試験期間の合計体重増加及び摂餌量には統計学的有意差は認められなかったが、投与期間中に有意差が散見された場合にのみ、対照群に対する比率を目安として示した。

^b 補正体重増加=妊娠20日の体重-(妊娠子宮重量+妊娠6日の体重)

^c カーカス重量=妊娠20日の体重-妊娠子宮重量

^d 着床前胚損失率(%)=[(黄体数-着床数)/黄体数] x100

^e 着床後胚損失率(%)=[(着床数-生存胎児数)/着床数] x100

Dunnett検定：体重、体重増加、摂餌量、妊娠子宮重量、補正体重増加、カーカス重量、黄体数、着床数、着床前(後)胚死亡率、胚吸収数(率)、生存胎児数、胎児体重、胎盤重量

↑↓：P≤0.05, ↓：P≤0.01で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果：(続き)

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	60	120	240	
生存胎児数	9.8	9.3	9.3	9.3	
性比 (%)	雄	51.9	50.9	53.7	49.5
	雌	48.1	49.1	46.3	50.5
体重 (g)	雄	3.6	3.6	3.7	3.6
	雌	3.5	3.4	3.5	3.4
検査胎児(腹)数	235 (24)	222 (24)	214 (23)	186 (20)	
全奇形					
胎児数(腹数)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	1 (1)	
腹当り平均発生率 (%)	0.4	0.9	0.4	0.4	
全変異					
胎児数(腹数)	131 (24)	106 (24)	119 (23)	96 (20)	
腹当り平均発生率 (%)	56.5	47.1	55.8	52.0	
検査胎児(腹)数	235 (24)	222 (24)	214 (23)	186 (20)	
外表奇形					
胎児数(腹数)	0 (0)	2 (2)	1 (1)	0 (0)	
腹当り平均発生率 (%)	0.0	0.9	0.4	0.0	
顔面裂 胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
全身浮腫 胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
小下顎症 胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
巨舌 胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
口蓋裂 胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
無眼球症 胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
検査胎児(腹)数	110 (24)	106 (24)	101 (23)	89 (20)	
内臓奇形					
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
腹当り平均発生率 (%)	0.0	0.0	0.9	0.0	
卵巣位置異常 胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
卵巣肥大 胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
内臓変異					
胎児数(腹数)	21 (14)	14 (8)	17 (12)	11 (6)	
腹当り平均発生率 (%)	22.2	12.2	16.1	11.3	
心室肥大 胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	
腎盂拡張 胎児数(腹数)	21 (14)	14 (8)	16 (12)	11 (6)	
尿管拡張 胎児数(腹数)	4 (4)	2 (2)	4 (4)	4 (4)	

Fisherの直接確率計算法：胎児所見のある腹数

Wilcoxon検定：腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率

結果：(続き)

胎児(続き)；

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	60	120	240
検査胎児(腹)数	125 (24)	116 (24)	113 (23)	97 (20)
骨格奇形				
胎児数(腹数)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
腹当り平均発生率(%)	0.7	0.8	0.0	0.7
下顎骨癒合	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
胸椎半椎/片側椎体軟骨	胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
胸椎形態異常	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腰椎半椎/片側椎体軟骨	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
腰椎形態異常	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
仙椎形態異常	胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
肋骨欠損	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
骨格変異				
胎児数(腹数)	110 (24)	92 (24)	102 (23)	85 (20)
腹当り平均発生率(%)	87.0	78.6	91.2	88.6
胸椎椎体骨化不全(軟骨は変化なし)	胎児数(腹数)	2 (2)	9 (6)	1 (1)
	腹当り平均発生率(%)	1.4	↑7.8	0.9
胸骨分節片側性骨化(軟骨は変化なし)	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	3 (3)
	腹当り平均発生率(%)	0.0	0.7	↑2.8
頸肋(軟骨なし)	胎児数(腹数)	1 (1)	6 (5)	5 (4)
	腹当り平均発生率(%)	0.7	↑6.0	4.6
その他				
胎児数(腹数)	17 (12)	23 (13)	28 (17)	13 (8)
腹当り平均発生率(%)	13.8	20.2	↑26.1	12.3
二分胸骨剣状突起	胎児数(腹数)	14 (10)	19 (12)	24 (16)
	腹当り平均発生率(%)	11.2	16.9	↑22.2

“変異”及び“その他”の所見は、統計学的に有意差のみられたものだけを示した。

Fisherの直接確率計算法：胎児所見のある腹数

Wilcoxon検定：腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率

↑：p≤0.05で対照群と比較して統計学的に有意差あり

母動物

検体投与に関連する母体毒性の徴候は240 mg/kg群でのみ認められ、1例が妊娠10日(投与後5日)に死亡し、5例が妊娠16~19日(投与後11~14日)の投与直後に一過性の流産を示した。さらに、母動物の摂餌量は投与直後から有意な減少がみられ、体重増加は投与期間中に増減が散見されたが、いずれも投与期間の平均値には有意差はみられなかった(全投与期間について対照より摂餌量は約11%、体重増加は約9%低い)。補正体重増加(対照より約17%低い)は有意に減少した。120 mg/kg群で、投与開始直後の妊娠6~8日の摂餌量に一過性の有意な減少がみられたが、投与期間中の摂餌量に対照群との差はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

240 mg/kgまでの投与によって、妊娠率、平均黄体数、総着床数、胚吸収、または着床前及び着床後胚損失率などの妊娠指標に影響は何らみられなかった。

胎盤重量に、被験物質に関連する差はなかった（120 mg/kg群における胎盤重量の統計学的に有意な高値0.48 gは、背景対照：平均0.44 g、0.30～1.22 gの範囲内にあり、偶発的なものと考えられる）。

胎児動物

生存胎児数、性比及び胎児体重に投与の影響はみられなかった。

外表、内臓及び骨格（軟骨を含む）検査で、検体投与に関連すると考えられる変化は何ら認められなかった。観察された奇形及び変異は、それらの出現頻度に用量との明らかな関連性はみられず、またいずれも背景データの範囲内であった。

統計学的に有意差のみられた変異の背景データとの比較を以下に示した。

所見	対照 (0mg/kg)	60 mg/kg	120 mg/kg	240 mg/kg	背景対照データ* 平均（範囲）
骨格変異					
胸椎椎体骨化不全 (軟骨は変化なし)	1.4	↑7.8	0.9	0.0	3.6 (0.0-9.5)
胸骨分節片側性骨化 (軟骨は変化なし)	0.0	0.7	↑2.8	0.0	2.2 (0.0-5.0)
頸肋(軟骨なし)	0.7	↑6.0	4.6	↑4.8	3.8 (0.0-7.8)
その他 (奇形、変異以外)	13.8	20.2	↑26.1	12.3	38.7 (0.0-65.0)
二分胸骨剣状突起	11.2	16.9	↑22.2	10.6	31.0 (0.0-58.3)

数値は腹当りの平均発生率(%)

* 17試験（2000～2001年）に基づく

↑：p≤0.05で対照群と比較して統計学的に有意差あり

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したとき、母動物に対し240mg/kg/日では摂餌量の減少を伴う体重の低下が認められることから無毒性量（NOAEL）は120 mg/kg/日、胎児には試験した最高用量で一般毒性もなく、催奇形性もみられなかったため、無毒性量（NOAEL）は240 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BASFアグロ株式会社にある。

8-3) ウサギを用いた催奇形性試験

(資料16)

試験機関 BASF毒性研究所 (ドイツ)

[GLP対応]

報告書作成年 2002年

検体純度 :

供試動物 : Himalayanウサギ[Chbb:HM (異系交配)], 1群当り人工妊娠雌25匹
妊娠0日 : 19~22週齢, 体重 2260~2747 g

投与期間 : 32日間 (2001年4月15日~2001年5月16日)

投与方法 : 検体を0.5%カルボキシメチルセルロース蒸留水溶液に懸濁し, 0, 5, 15及び50 mg/kg/日の投与用量で, 妊娠6~28日まで (着床から出産予定日の1日前まで) の23日間毎日1回, 10 ml/kg体重の容量で強制経口投与した (人工授精を行った日を妊娠0日とした)。なお, 対照群の動物には媒体の0.5%カルボキシメチルセルロース蒸留水溶液のみ同様に投与した。

用量設定根拠 :

観察・検査項目 :

母動物 : 一般状態及び生死を毎日観察した。体重は妊娠0, 2, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19, 21, 23, 25, 28及び29日に, 摂餌量は毎日測定した。妊娠29日に帝王切開して, 肉眼的病理検査を行い, 黄体数, 妊娠子宮重量, 着床数, 死亡胚 (早期吸収胚, 後期吸収胚, 死亡胎児) 数, 生存胎児数及び胎盤重量を検査した。

胎児 : 体重を測定し, 性別, 外表の異常について検査した。全胎児について内臓の異常を (各腹約半数の胎児の頭部は頭部断面を検査した), さらに, 全胎児 (上記の各腹約半数の胎児の頭部を除く) の骨格標本作製し, 骨格の異常について検査した。

試験結果 : 概要を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

母動物：

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	5	15	50	
1群当り雌動物数	25	25	25	25	
妊娠雌動物数	23	24	25	24	
死亡雌動物数	0	0	0	0	
全胚吸収腹数	1	0	0	0	
生存胎児のある腹数	22	24	25	24	
一般状態	—	検体投与に起因する異常はみられなかった			
体重	—				
体重増加 ^a 妊娠6~28日	—			95	
妊娠0~29日				101	
摂餌量 ^a 妊娠6~28日	—			92	
妊娠0~29日				94	
剖検所見	—	検体投与に起因する異常はみられなかった			
妊娠子宮重量 (g)	308.3	299.4	298.8	333.0	
補正体重増加 (g) ^b	-104.0	-66.3	-72.3	-135.1	
カーカス重量 (g) ^c	2471.1	2504.5	2519.2	2430.0	
胎盤重量 (g)	4.5	4.7	4.8	4.3	
着床所見 (腹当り)	黄体数	8.8	8.4	8.3	9.1
	着床数	7.3	7.0	6.9	8.0
	着床前胚損失率 (%) ^d	15.1	17.6	19.0	11.6
	着床後胚損失率 (%) ^e	14.9	14.3	12.4	11.7
	総胚吸収数 (%)	1.0(14.9)	1.0(14.3)	0.9(12.4)	0.8(11.7)
	早期胚吸収数 (%)	0.8(12.7)	0.9(13.4)	0.8(10.8)	0.5(8.0)
	後期胚吸収数 (%)	0.2(2.3)	0.1(0.9)	0.1(1.6)	0.3(3.7)
	死亡胎児数	0	0	0	0
生存胎児数	6.6	6.0	6.0	7.2	

^a 試験期間の合計体重増加及び摂餌量には統計学的有意差は認められなかったが、投与期間中に有意差が散見された場合にのみ、対照群に対する比率を目安として示した。

^b 補正体重増加 = 妊娠20日の体重 - (妊娠子宮重量 + 妊娠6日の体重)

^c カーカス重量 = 妊娠20日の体重 - 妊娠子宮重量

^d 着床前胚損失率 (%) = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] x 100

^e 着床後胚損失率 (%) = [(着床数 - 生存胎児数) / 着床数] x 100

Dunnett検定：体重、体重増加、摂餌量、妊娠子宮重量、補正体重増加、カーカス重量、黄体数、着床数、着床前(後)胚死亡率、胚吸収数(率)、生存胎児数、胎児体重、胎盤重量

↓ : p ≤ 0.05, ↓↓ : p ≤ 0.01で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結果：(続き)

胎児：

投与量 (mg/kg/日)		対照 (0)	5	15	50
性比 (%)	雄	52.7	47.2	52.3	42.8
	雌	47.3	52.8	47.7	57.2
体重 (g)	雄	35.0	36.5	36.2	34.2
	雌	35.0	36.6	35.2	33.7
検査胎児(腹)数		146 (22)	144 (24)	151 (25)	173 (24)
全奇形					
胎児数(腹数)		9 (7)	10 (6)	4 (4)	11 (8)
腹当り平均発生率 (%)		6.0	6.7	2.4	6.0
全変異					
胎児数(腹数)		124 (21)	113 (24)	112 (24)	137 (24)
腹当り平均発生率 (%)		82.3	75.5	73.1	77.5
検査胎児(腹)数		146 (22)	144 (24)	151 (25)	173 (24)
外表奇形					
胎児数(腹数)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)		0.0	0.0	0.0	0.5
二分脊椎	胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
外表変異					
胎児数(腹数)		3 (2)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
腹当り平均発生率 (%)		2.2	0.9	0.5	0.0
手根過屈曲	胎児数(腹数)	3 (2)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
検査胎児(腹)数		146 (22)	144 (24)	151 (25)	173 (24)
骨格奇形					
胎児数(腹数)		3 (3)	5 (4)	1 (1)	1 (1)
腹当り平均発生率 (%)		2.3	3.3	0.6	0.7
脊柱及び(または)肋骨の重度奇形	胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
腰椎欠損	胎児数(腹数)	2 (2)	1 (1)	0 (0)	1 (1)
仙椎形態異常	胎児数(腹数)	1 (1)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
胸骨分節重度癒合(骨板):軟骨変化なし	胎児数(腹数)	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
骨格変異					
胎児数(腹数)		114 (21)	102 (24)	93 (24)	123 (24)
腹当り平均発生率 (%)		75.0	68.0	62.0	69.3
胸骨分節癒合:軟骨変化なし	胎児数(腹数)	2 (2)	14 (↑8)	9 (6)	19 (↑10)
	腹当り平均発生率 (%)	1.0	↑12.9	6.2	↑13.1

骨格変異については、統計学的に有意差のみられたものだけを示した。

Fisherの直接確率計算法：胎児所見のある腹数

Wilcoxon検定：腹当りの奇形及び(または)変異胎児の発生率

↑：p≤0.05, ↑↑：p≤0.01で対照群と比較して統計学的に有意差あり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

結 果：(続き)

胎 児：

投与量 (mg/kg/日)	対照 (0)	5	15	50
検査胎児(腹)数	146 (22)	144 (24)	151 (25)	173 (24)
内臓奇形				
胎児数(腹数)	7 (6)	6 (3)	3 (3)	9 (8)
腹当り平均発生率 (%)	4.6	4.0	1.9	4.8
網膜ひだ				
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
位置異常水晶体				
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
水晶体形態異常				
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
食道後大動脈弓				
胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
鎖骨下動脈欠損				
胎児数(腹数)	3 (3)	1 (1)	1 (1)	3 (3)
右側大動脈弓				
胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
大動脈弓閉鎖				
胎児数(腹数)	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
右側肺動脈幹				
胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
動脈幹遺残				
胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
筋性心室中隔欠損				
胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
二室三腔心				
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
小型肺				
胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
横隔膜ヘルニア				
胎児数(腹数)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
無脾				
胎児数(腹数)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
胆嚢欠損				
胎児数(腹数)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	0 (0)
腎臓欠損				
胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
位置異常腎臓				
胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
尿管欠損				
胎児数(腹数)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
卵巣欠損				
胎児数(腹数)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	0 (0)
内臓変異				
胎児数(腹数)	42 (19)	28 (16)	44 (23)	34 (18)
腹当り平均発生率 (%)	27.3	18.8	33.2	20.3

内臓変異は、脳の嚢胞性拡張、大動脈弓拡張、頸動脈分岐位置異常、肺動脈幹狭小、肺葉欠損、小型胆嚢及び腎盂拡張が観察されたが、どれにも統計学的有意差はみられなかった。

Fisherの直接確率計算法：胎児所見のある腹数

Wilcoxon検定：腹当りの奇形及び（または）変異胎児の発生率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

母動物

50 mg/kg群で、摂餌量は投与開始直後（妊娠後6～7日）に有意に減少し、その後も多くの測定時点で少ない傾向がみられたが、投与期間の平均値には有意差はみられなかった（全投与期間で、対照群の値より約8%低い）。その結果、投与開始直後（妊娠後6～9日）の体重増加も有意に抑制されが、その後は回復し、対照群と差はみられなかった（全投与期間では対照群の値より約5%低い）。

5及び15 mg/kg群では、検体投与に関連する母体毒性の徴候はみられなかった。

いずれの投与群とも、妊娠率、黄体数、総着床数、胚吸収、着床前及び着床後胚損失率、胎盤重量に影響は認められなかった。

胎児動物

生存胎児数、性比及び胎児体重に投与の影響はみられなかった。

外表、内臓及び骨格（軟骨を含む）検査で、検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。観察された奇形及び変異は、それらの出現頻度に用量との明らかな関連性はみられず、またいずれも背景データの範囲内であった。5及び50 mg/kg群で、胸骨分節癒合の腹における発生率と腹当りの平均発生率が統計学的に有意に高かった。これらの発生率は背景データ：腹当り平均発生率2.7%（0.0-9.0%）より高かったが、軟骨には変化がみられなかったこと、15 mg/kg群で有意な差が認められないこと、さらに骨格変異全体の発生率にも対照群と検体投与群の間で有意な差が認められないことから、今回の試験における対照群での胸骨分節癒合の発生率：腹当りの平均発生率1.0%が偶発的に低かったことによるもので、検体投与との関連はないと考えられた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したとき、母動物に対し50mg/kg/日では投与開始直後摂餌量が減少し、その後減少傾向がみられ、これに伴い投与初期の体重の低下がみられることから無毒性量（NOAEL）は15 mg/kg/日、胎児には試験した最高用量で一般毒性もなく、催奇形性もみられなかったので無毒性量（NOAEL）は50 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 BASF アグロ株式会社にある。

9) 変異原性に関する試験

9-1) BAS 520 F の細菌を用いた復帰変異試験

(資料 17)

試験機関：BASF 毒性研究所(ドイツ)
[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

検体純度：

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 [*Salmonella typhimurium*(TA1535, TA100, TA1537, TA98 株)] 及びトリプトファン要求性の大腸菌 [*Escherichia coli*(WP2 uvrA 株)] を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9 Mix)の存在下及び非存在下で、標準プレート法及びプレインキュベーション法により Ames らの方法で変異原性を検定した。溶媒として DMSO を用い、試験濃度は最高 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

結果：結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性化系の存在下及び非存在下の試験において、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-アミノアントラセン(2-AA)、9-アミノアクリジン(AAC)、4-ニトロキノリン-N-オキシド(4-NQO)、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン(MNNG)及び 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(NOPD)では、全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

標準プレート法

[数値は3プレートの平均]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	28	17	111	10	27
検体	20	-	34	15	104	10	23
	100	-	35	15	104	9	23
	500	-	35	13	107	9	22
	2500*1	-	31	14	99	7	20
	5000*1	-	30	15	90	7	18
対照 (DMSO)		+	35	16	126	12	42
検体	20	+	30	17	107	11	31
	100	+	38	16	107	12	36
	500	+	30	17	103	11	34
	2500*1	+	32	12	99	9	31
	5000*1	+	27	14	96	11	35
陽性対照*2	2-AA 2.5	+	NT	125	563	93	568
	2-AA 60	+	241	NT	NT	NT	NT
	AAC 100	-	NT	NT	NT	398	NT
	4-NQO 5.0	-	804	NT	NT	NT	NT
	MNNG 5.0	-	NT	941	1094	NT	NT
	NOPD 10	-	NT	NT	NT	NT	530

プレインキュベーション法

[数値は3プレートの平均]

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ plate)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数/plate				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)		-	39	16	108	13	30
検体	20	-	31	10	105	8	28
	100	-	32	13	101	8	22
	500	-	35	13	95	9	24
	2500*1	-	30	16	112	7	22
	5000*1	-	29	15	109	8	25
対照 (DMSO)		+	24	17	114	9	33
検体	20	+	22	15	95	8	30
	100	+	23	14	99	11	30
	500	+	25	13	112	12	36
	2500*1	+	19	17	108	9	33
	5000*1	+	23	13	106	10	33
陽性対照*2	2-AA 2.5	+	NT	224	971	178	612
	2-AA 60	+	220	NT	NT	NT	NT
	AAC 100	-	NT	NT	NT	423	NT
	4-NQO 5.0	-	478	NT	NT	NT	NT
	MNNG 5.0	-	NT	1069	668	NT	NT
	NOPD 10	-	NT	NT	NT	NT	662

*1. 不溶性沈殿物を認める。 NT:試験を行っていない

*2. 2-AA: 2-aminoanthracene AAC: 9-aminoacridine
 4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
 NOPD: 4-nitro-o-phenyldiamine

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

9-2) チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料 18)

試験機関：BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体純度：

試験方法：チャイニーズハムスター由来の V79 細胞を用いて、検体の染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下及び非存在下で検索した。検体は水に対する溶解性が低いため、DMSO に溶解した。

実験 1 では細胞播種約 24~30 時間後に血清の入っていない新しい培地と交換し、S9 mix を含む培地及び含まない培地に検体を添加し、4 時間処理した。4 時間後に血清を含む新しい培地と交換し、14 時間培養後、細胞を回収して染色体標本を作製した。

実験 2 では実験 1 の結果を確認するために、実験 1 と同様の方法で、より狭い用量範囲を設定し、試験を実施した。

実験 3 は実験 1 及び実験 2 の結果を確認するために、同様の方法で実験を実施した。

陽性対照として、S9 mix を添加しない場合はエチルメタンサルホネート (EMS) を、S9 mix を添加する場合はシクロホスファミド (CPP) を用いた。また、溶媒対照を設け、同様に試験した。

試験はすべて、各濃度あたり 2 連で実施した。

観察は、検体処理群及び陰性対照群は各培養あたり 100 個 (各濃度あたり合計 200 個)、陽性対照群は各培養につき 50 個 (合計 100 個) のよく広がった中期分裂像について行った。

用量設定根拠：

実験 1 で陽性の結果が得られたため、実験 2 (-S9 mix, 2.0, 4.0, 6.0 µg/ml; +S9 mix, 65.0, 70.0, 75.0 µg/ml) 及び実験 3 (-S9 mix, 4.5, 6.0, 7.5 µg/ml; +S9 mix, 65.0, 70.0, 75.0 µg/ml) を上記の濃度で実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

結果： 結果を次頁の表に示した。

実験 1 において、S9 mix 非存在下では、染色体異常を有する細胞数に、軽度ではあるが、統計学的に有意な増加が認められた。S9 mix 存在下では染色体異常誘発性は、最高用量である 75 µg/ml の用量で認められた。

実験 2 では、用量相関性が得られるようにより狭い用量を設定したが、S9 mix 非存在下では、染色体異常を有する細胞数の増加は認められなかった。S9 mix 存在下では 75 µg/ml の用量で、染色体異常を有する細胞数が統計学的に有意ではないものの、軽度に増加した。

さらに結果を確認するために実施した実験 3 において、S9 mix 非存在下では、染色体異常を有する細胞数は同時に実施した陰性対照及び背景対照値に比べ増加した。特にギャップを除く場合ならびに交換型異常は 3 用量すべてで有意に増加したが、用量相関性は認められなかった。S9 mix 存在下においては、検体は用量相関性を伴う統計学的に有意な構造的染色体異常を有する細胞の増加を誘発した。

以上のように、検体は、軽度ではあるが、統計学的に有意な構造的染色体異常（ギャップを含む場合及び含まない場合）の増加を、S9 mix 非存在下ならびに存在下で誘発した。数的異常の増加は認められなかった。

陽性対照物質である EMS 及び CPP は何れも、明らかな染色体異常出現頻度の増加を誘発した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本実験条件下において構造的染色体異常誘発性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

表-1 染色体異常試験結果 (実験1)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処 理 時 間 (h)	標 本 作 製 時 間 (h)	S9 mix の有 無	異 数 体 細 胞 (%)	倍 数 体 細 胞 (%)	判 定	各染色体異常を有する細胞出現頻度(%)										異常細胞の 出現頻度(%)		判 定
								染色体型				交換		その他	+Gap	-Gap				
								断片		欠失	断片	欠失	断片				欠失			
								切斷	断片									切斷	断片	
溶媒対照 (DMSO)		4	18	-	0.0	2.4		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	4.0	1.0		
検体	2.5				0.5	8.2		0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.5*	0.0	0.0	9.0*	5.0*		
	5.0	4	18	-	0.0	5.7	-	2.5	0.0	0.0	0.5	0.0	5.5*	0.0	0.0	15.0**	9.0**			
	7.5	4			0.0	2.4		1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.5**	0.5 ¹⁾	0.0	9.5*	9.0**	+		
陽性対照 (EMS)	350	4	18	-	0.0	0.0	-	ND	ND	ND	ND	ND	18.0**	0.0	0.0	20.0**	20.0**	+		
溶媒対照 (DMSO)		4	18	+	0.5	2.9		1.5	0.5	0.0	0.0	0.5	2.0	0.0	0.0	5.5	4.5			
検体	25.0				0.0	5.7		1.0	0.5	0.0	0.5	0.0	3.5	0.0	0.0	7.5	6.0			
	50.0	4	18	+	0.0	3.8	-	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	8.5	6.5	+		
	75.0				0.5	2.0		3.0	0.5	0.0	4.0	0.5	9.5**	1.0 ¹⁾	1.0 ¹⁾	19.0**	17.0**			
陽性対照 (GPP)	0.5	4	18	+	0.0	0.0	-	ND	ND	ND	ND	15.0**	1.0 ¹⁾	1.0 ¹⁾	24.0**	23.0**	+			

検体処理解群及び陰性対照群は各培養あたり100個(各濃度あたり計200個)、陽性対照群は各培養あたり50個(計100個)の細胞について構造的染色体異常を観察、同時に、構造的染色体異常観察時に見られる異数体細胞(本数が増えた場合のみ)及び倍数体細胞を計数

標本作製時間は検体処理時間を含む、+Gap:ギャップを含む、-Gap:ギャップを含まない、¹⁾交換を除き、5個以上の異常が認められた

ND:データなし、EMS:エチルメタンサルホネート、GPP:シクロホスファミド

陰性対照群に対し、*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ で有意 (Bonferroni-Holm 補正後 Fisher's 直接確率検定 (片側))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

表-2 染色体異常試験結果 (実験 2)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処 理 時 間 (h)	標 本 作 製 時 間 (h)	S9 mix の有 無	異数体 細胞 (%)	倍數体 細胞 (%)	判定	各染色体異常を有する細胞出現頻度 (%)										異常細胞の 出現頻度 (%)		判定				
								染色体分型					染色体型					交換	その他		+Gap	-Gap		
								切斷		断片		欠失		切斷		断片							欠失	
								切斷	断片	欠失	切斷	断片	欠失	切斷	断片	欠失	切斷						断片	欠失
溶媒対照 (DMSO)		4	18	-	0.0	0.5			0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.5	1.0					
検体	2.0	4	18	-	0.0	4.8		0.5	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	2.0	1.0	0.0	5.5	4.0					
	4.0				0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.5	2.5	0.0	0.0	7.5	4.5						
	6.0				0.0	0.5	1.0	0.0	0.0	1.0	0.5	1.0	1.5	0.0	8.0	4.5								
陽性対照 (EMS)	350	4	18	-	0.0	0.0		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.0 ^{**}	0.0	17.0 ^{**}	17.0 ^{**}		+				
溶媒対照 (DMSO)		4	18	+	0.0	2.9		0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	3.5	0.0	7.0	4.5						
検体	65.0	4	18	+	0.0	1.0		0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	3.0	0.5 ¹⁾	8.5	5.0						
	70.0				0.0	0.0	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.5	0.0	0.0	7.5	4.0						
	75.0				0.0	4.8	1.0	0.0	0.0	0.0	1.5	0.0	4.5	0.0	10.0	7.0								
陽性対照 (CPP)	0.5	4	18	+	0.0	0.0		ND	ND	ND	ND	ND	ND	14.0 ^{**}	0.0	20.0 ^{**}	20.0 ^{**}		+					

検体処理群及び陰性対照群は各培養あたり100個、各濃度あたり計200個、陽性対照群は各培養あたり50個、計100個の細胞について構造的染色体異常を観察、同時に、構造的染色体異常観察時に見られる異数体細胞(本数が増えた場合のみ)及び倍數体細胞を計数
標本作製時間は検体処理時間を含む、+Gap:ギャップを含める、-Gap:ギャップを含めない、¹⁾交換を除き、5個以上の異常が認められた
ND:データなし、EMS:エチルメタンサルホネート、CPP:シクロホスファミド

陰性対照群に対し、*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ 有意 (Bonferroni-Holm 補正後 Fisher's 直接確率検定 (片側))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFアグロ株式会社にある。

表-3 染色体異常試験結果 (実験 3)

薬剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処 理 時 間 (h)	標 本 作 製 時 間 (h)	S9 mix の有 無	異数体 細胞 (%)	倍 数 体 細胞 (%)	判定	各染色体異常を有する細胞出現頻度 (%)										異常細胞の 出現頻度 (%)		判定				
								染色体分型				染色体型			交換	その他	+Gap	-Gap						
								染色体分型		染色体型		欠失	断片	欠失										
								切斷	断片	切斷	断片				欠失	断片	欠失							
溶媒対照 (DMSO)		4	18	-	0.0	1.0			0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	5.0	1.5					
核体	4.5	4	18	-	0.0	4.3			1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.5**	0.0	0.0	12.0*	9.5**					
	6.0				0.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.5*	0.0	0.0	0.0	7.5	7.0**							
	7.5				0.0	2.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.5	0.0	0.0	9.0**	0.0	0.0	14.0**	12.0**				+
陽性対照 (EMS)	350	4	18	-	0.0	0.0			ND	ND	ND	ND	ND	13.0**	0.0	0.0	17.0**	15.0**				+		
溶媒対照 (DMSO)		4	18	+	0.0	0.0			0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	3.5	2.5					
核体	65.0	4	18	+	0.0	0.0			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	4.5**	0.0	0.0	11.0**	5.5					
	70.0				0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0	7.5**	0.0	0.0	12.0**	9.5**				+
	75.0				0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	1.0	0.0	0.0	0.5	11.5**	0.0	0.0	20.0**	18.0**				
陽性対照 (CPP)	0.5	4	18	+	0.0	0.0			ND	ND	ND	ND	ND	16.0**	0.0	0.0	20.0**	20.0**				+		

検体処理解群及び陰性対照群は各培養あたり計 200 個、各濃度あたり計 100 個、各濃度あたり 50 個、計 100 個の細胞について構造的染色体異常を観察、同時に、構造的染色体異常観察時に見られる異数体細胞 (本数が増えた場合のみ) 及び倍数体細胞を計数

標準作製時間は検体処理時間を含む、+Gap: ギヤツプを含む、-Gap: ギヤツプを含まない、) 交換を除き、5 個以上の異常が認められた

ND: データなし、EMS: エチルメタンスルホネート、CPP: シクロホスファミド

陰性対照群に対し、*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$ で有意 (Bonferroni-Holm 補正後 Fisher's 直接確率検定 (片側))

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

9-3) マウスを用いた小核試験

(資料 19)

試験機関：BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検体純度：

試験動物：雄の NMR1 系マウス，平均体重 28.4 g，1 群雄 5 匹

試験方法：検体は 0.5% カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し，37.5，75 及び 150 mg/kg の 3 用量で 1 群 5 匹の雄マウスに 24 時間間隔で 2 回経口投与した。陰性対照群は媒体のみを同様に 2 回投与し，陽性対照としてシクロホスファミド 20 mg/kg 及びピンクリスチン(紡錘体毒作用の陽性対照として) 0.15 mg/kg を単回投与した。投与容量は何れの群も 10 ml/kg とした。

最終投与 24 時間後に屠殺して各動物の大腿骨から骨髓を採取してスライドグラス上に固定後，エオジン及びメチレンブルー溶液で 5 分間染色後すすぎ，最後に 7.5% ギムザ溶液で染色した。

各標本について多染性赤血球 2000 個を観察し，小核の有無及び小核の大(小核の半径 \geq 細胞の半径/4)小(小核の半径 $<$ 細胞の半径/4)を検査した。この結果から，全赤血球に対する多染性赤血球の割合及び多染性赤血球に対する小核を有する多染性赤血球の割合について求めた。

用量設定根拠：

結果：結果を表に示した。

検体投与による症状として，75 及び 150 mg/kg 群で立毛のみが観察された。陰性対照群及び陽性対照群の動物には毒性症状は認められなかった。

中間用量である 75 mg/kg 投与群で，小核を有する多染性赤血球の頻度に，溶媒対照と比べ統計学的に有意な増加が認められたが，用量相関性が認められないことならびに陰性背景対照値の範囲内であることから，生物学的に有意な増加ではないと考えられた。検体投与群のその他の用量では，小核を有する多染性赤血球の頻度に統計学的に有意な増加は認められなかった。

一方，シクロホスファミドあるいはピンクリスチン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。

小核を有する正染性赤血球数は陰性対照群及び各投与群ともに同様であり，また，正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合は全投与群で対照群と同様であり，赤血球造血抑制は認められなかった。

以上の結果より，検体は本試験条件下において，雄マウスの骨髓細胞において，小核を誘発しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

小核試験結果

薬 剤	用 量 (mg/kg)	MNPCE/PCE (%)			PCE/(PCE+NCE) (%) 平均±SD#
		小型 ^a 平均	大型 ^b 平均	合計 平均±SD	
陰性対照 (0.5%CMC)		0.09	0.00	0.09±0.02	63.8± 7.3
検体	37.5	0.09	0.00	0.09±0.04	63.2± 3.9
	75.0	0.16	0.00	0.16±0.04*	64.1±11.3
	150	0.10	0.00	0.10±0.05	70.8± 3.8
陽性対照					
CPP	20	1.24**	0.00	1.24±0.11**	72.1± 6.0
VCR	0.15	5.70**	0.96**	6.66±2.69**	54.0± 4.3

最終投与 24 時間後に骨髓塗抹標本を作製した。

Wilcoxon test (片側) : * : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$

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

小型^a : 小核の半径 < 細胞の半径/4, 大型^b : 小核の半径 \geq 細胞の半径/4

CMC : カルボキシメチルセルロース

CPP : シクロホスファミド

VCR : ビンクリスチン

(平均±SD# : 申請者が計算)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

9-4) ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (資料 20)

試験機関: BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体純度:

試験方法: ラット初代培養肝細胞を用いて不定期 DNA 合成誘発能をオートラジオグラフィ測定法により検索した。検体は DMSO に溶解した。

細胞付着期間経過後, 培養液を捨てて未付着細胞を除き, 各濃度の検体溶液及び ^3H -チミジン添加血清無添加培地と交換した。18 から 20 時間処理後, オートラジオグラフィにより ^3H -チミジンの取り込みを測定した。実験は下記濃度で 2 回行なった。

各処理群につき 2~3 枚のスライドについてスライドあたり 25~50 個の正常形態細胞を無作為に選択し, 合計 100 個の細胞を観察し, 核上銀粒子数 (NG) 及び細胞質粒子数 (CG) を計数した。これらの値から平均核上銀粒子数 (NG), 平均細胞質粒子数 (CG), 平均正味核上銀粒子数 (NNG; NG-CG), 修復細胞 (正味核上銀粒子数が 0 個以上, 正味核上銀粒子数が 5 個以上) の割合を算出した。

陰性対照群 (無処理対照及び溶媒対照) 及び陽性対照群 (2-アセチルアミノフルオレン) についても同時に同様に試験した。

同時に細胞毒性試験を行い, 培養液中の LDH 活性, 乳酸塩濃度を測定すると共に検体処理後の細胞の形態学的変化の有無を観察した。この結果から UDS を評価する 4 用量を選択した。

実験濃度及び UDS 評価濃度

実験	実験濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	UDS 評価濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
1	0, 0.391, 0.781, 1.563, 3.125, 6.250, 12.50, 25.0, 50.0	0, 0.391, 0.781, 1.563, 3.125
2	0, 0.039, 0.078, 0.156, 0.313, 0.625, 1.250, 2.50, 5.0	0, 0.625, 1.250, 2.50, 5.0

用量設定根拠:

結果: 結果を次頁以降の表に示した。

LDH 活性は $12.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量で増加し, 乳酸塩濃度は $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量で減少し, 細胞形態は $6.25\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量で影響がみられた。従って, 細胞毒性は $6.25\sim 12.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の用量で認められた。

2 回の UDS 試験の結果, 検体はいかなる用量においても有意な平均核上銀粒子数の増加を誘発しなかった。また, 陰性対照群の UDS 活性は予想される範囲内であり, また,

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

陽性対照物質は平均核上銀粒子数及び正味の核上銀粒子数の明らかな増加を誘発した。

以上の結果より、本試験条件下では、本検体はラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験において陰性であると結論された。

表-1 UDS 試験成績 (実験 1)

試験群 用量	NG 数 平均 ¹⁾ ±SD	CG 数 平均 ¹⁾ ±SD	NNG 数 平均 ¹⁾ ±SD	修復細胞 (%)		細胞毒性 (%)	
				NNG≥0	NNG≥5	LDH 活性	乳酸塩濃度
無処理対照	11.06± 5.85	17.43± 4.67	-6.37± 3.78	5	0	-	-
溶媒対照 (DMSO)	7.31± 3.01	13.58± 2.79	-6.27± 3.68	4	0	100.0	100.0
検体							
0.391 µg/ml	10.07± 4.76	16.95± 4.49	-6.88± 4.06	4	0	67.9	71.3
0.781 µg/ml	8.56± 3.76	15.84± 3.66	-7.28± 3.62	4	0	80.0	87.8
1.563 µg/ml	8.25± 3.92	16.35± 5.05	-8.10± 4.63	2	0	90.3	86.6
3.125 µg/ml	11.26± 4.50	19.96± 5.16	-8.70± 4.54	4	0	115.7	101.8
6.250 µg/ml*	-	-	-	-	-	114.4	37.2
12.500 µg/ml*	-	-	-	-	-	149.0	46.3
25.000 µg/ml*	-	-	-	-	-	217.9	59.8
50.000 µg/ml*	-	-	-	-	-	214.6	53.0
陽性対照 (2-AAF) 1.000 µg/ml	24.43±12.11	19.43± 7.60	5.00± 7.86	73	49	-	-

表-2 UDS 試験成績 (実験 2)

試験群 用量	NG 数 平均 ¹⁾ ±SD	CG 数 平均 ¹⁾ ±SD	NNG 数 平均 ¹⁾ ±SD	修復細胞 (%)		細胞毒性 (%)	
				NNG≥0	NNG≥5	LDH 活性	乳酸塩濃度
無処理対照	6.98± 3.32	13.14± 4.13	-6.16± 3.78	4	0	-	-
溶媒対照 (DMSO)	7.70± 2.77	14.80± 4.10	-7.10± 4.39	5	0	100.0	100.0
検体							
0.039 µg/ml	-	-	-	-	-	103.7	94.6
0.078 µg/ml	-	-	-	-	-	85.4	91.3
0.156 µg/ml	-	-	-	-	-	100.8	91.3
0.313 µg/ml	-	-	-	-	-	103.5	99.2
0.625 µg/ml	7.65± 3.46	12.74± 3.81	-5.09± 3.20	4	0	105.0	101.2
1.250 µg/ml	8.40± 3.95	15.95± 4.03	-7.55± 4.03	3	0	106.9	107.9
2.500 µg/ml	9.82± 3.89	15.95± 4.47	-6.13± 4.46	7	0	123.9	118.2
5.000 µg/ml	8.91± 3.85	14.22± 4.03	-5.31± 4.29	8	1	129.7	109.5
陽性対照 (2-AAF) 2.000 µg/ml	22.60± 8.51	15.29± 5.67	7.32± 5.83	89	73	-	-

NG = 核上銀粒子数, CG = 細胞質粒子数, NNG = 正味核上銀粒子数,

¹⁾ = 100 個の細胞の平均, SD = 標準偏差, LDH = 乳酸脱水素酵素,

* = 細胞毒性のために評価できない (形態学的変化が著しいため評価可能な細胞がない/あるいはほとんどない)

2-AAF : 2-アセチルアミノフルオレン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

9-5) オリサストロピンのチャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用いた

in vitro 遺伝子突然変異試験 (HPRT 遺伝子突然変異試験)

(資料 32)

試験機関: BASF 毒性研究所 (ドイツ)

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999年

被験物質の純度:

方法: チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) のヒポキサンチン-グアニン ホスホリボシル トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を実施した。試験は Aroclor で誘導したラット肝臓の S-9 Mix の存在下及び非存在下で行い、2 回の独立した試験を実施した。

全ての培地には 1% (v/v) ペニシリン/ストレプトマイシン (10000 IU/10000 μ g/mL) 及び 1% (v/v) アンホテリシン B (250 μ g/mL) を添加した。

用量設定試験として 5 μ g/mL ~ 5000 μ g/mL の範囲で 4 時間曝露させた後コロニー形成率の他各種のパラメーターを検査した。コロニー形成率は S-9mix 非存在下で 100 μ g/mL 以上で、S-9mix 存在下では 500 μ g/mL 以上で影響を受け、1000 μ g/mL 以上で被験物質の析出が認められたことより以下の用量を選択した。

1 回目: S-9mix 非存在下: 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 μ g/mL

S-9mix 存在下: 0, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 μ g/mL

2 回目は 1 回目の結果に基づき以下の用量を評価した。

2 回目: S-9mix 非存在下: 0, 9.38, 18.75, 37.5, 75, 150 μ g/mL

S-9mix 存在下: 0, 18.75, 37.5, 75, 150, 300 μ g/mL

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

陽性対照として、S-9 Mix 非存在下ではエチルメタンスルフォネート (EMS) を 300 μ g/mL、S-9 Mix 存在下ではメチルコラントレン (MCA) 10 μ g/mL の濃度で用いた。また、溶媒対照 (DMSO) を設け、いずれも同様に試験した。

陽性であるとする判定基準は以下のとおりとした。

- ・ 補正突然変異頻度が同時に実施した陰性対照の値あるいは 10^6 個細胞あたり15を越えている、突然変異頻度の上昇に用量—反応関係があるのいずれかまたは両方を満たしている
- ・ 突然変異頻度の上昇に再現性がある
- ・ 突然変異頻度が統計学的に有意に上昇し (ただし、明らかに陰性の場合には統計学的解析は行わない)、用量—反応関係がある

結 果：結果を表1~4に示した。

本被験物質は独立した2回の試験において、S-9 Mixの有無にかかわらず、突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。

一方、陽性対照として用いたEMS及びMCA処理群では突然変異頻度が上昇し、本試験方法の感受性ならびに使用したS-9 Mixの代謝活性について確認できた。また、溶媒対照群における絶対コロニー形成率は50%以上であり、突然変異頻度は 10^6 個細胞あたり0~15の範囲であった。したがって、本試験の有効性が確認された。

以上の結果より、本被験物質は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず突然変異コロニーの増加を誘発しなかった。したがって、本実験条件下において、本被験物質はCHO細胞を用いた *in vitro* HPRT 遺伝子突然変異試験において突然変異誘発性を持たないと結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 1 突然変異頻度 - 1 回目の試験, S-9 Mix 非存在下

試験区用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
溶媒対照 (DMSO)	76.9	100.0	97.4	100.0	0.00	0.00
6.25µg/mL	76.7	99.7	106.3	109.1	0.00	0.00
12.50µg/mL	65.9	85.7	94.3	96.8	0.56	0.60
25.00µg/mL	68.3	88.8	90.0	92.4	4.17	4.54
50.00µg/mL	69.0	89.7	91.5	93.9	0.56	0.64
100.00µg/mL	30.0	39.0	84.2	86.4	0.28	0.31
200.00µg/mL	1.2	1.6	-	-	-	-
陽性対照 (EMS) 300.0µg/mL	63.4	82.4	97.4	100.0	199.45	204.78

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

- = 細胞毒性が極端に強かったので評価せず。

表 2 突然変異頻度 - 1 回目の試験, S-9 Mix 存在下

試験区用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
溶媒対 (DMSO)	76.8	100.0	100.5	100.0	1.39	1.64
12.5µg/mL	80.8	105.2	89.2	88.8	1.12	1.46
25.0µg/mL	76.2	99.2	96.0	95.5	5.28	4.87
50.0µg/mL	69.2	90.1	85.9	85.5	3.06	3.81
100.0µg/mL	80.2	104.4	81.9	81.5	1.39	1.70
200.0µg/mL	57.3	74.6	91.0	90.5	1.39	1.60
400.0µg/mL	6.8	8.9	-	-	-	-
陽性対照 (MCA) 10.0µg/mL	76.9	100.1	83.9	83.5	70.84	85.51

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して, 各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し, 1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

- = 細胞毒性が極端に強かったので評価せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF アグロ株式会社にある。

表 3 突然変異頻度 - 2 回目の試験, S-9 Mix 非存在下

試験区用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
溶媒対照 (DMSO)	77.4	100.0	100.7	100.0	2.22	2.06
9.38µg/mL	80.3	103.7	93.0	92.4	3.62	3.79
18.75µg/mL	74.9	96.8	98.9	98.2	6.95	6.86
37.50µg/mL	75.4	97.4	91.0	90.4	0.00	0.00
75.00µg/mL	72.7	93.9	93.8	93.1	3.34	3.70
150.00µg/mL	24.1	31.1	-	-	-	-
陽性対照 (EMS) 300.0µg/mL	75.7	97.8	94.2	93.5	270.00	286.47

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し、1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して、各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し、1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

- = 細胞毒性が極端に強かったので評価せず。

表 4 突然変異頻度 - 2 回目の試験, S-9 Mix 存在下

試験区用量	細胞毒性 1 ^a		細胞毒性 2 ^b		突然変異頻度 (/10 ⁶ 細胞)	
	コロニー形成率 (%)		コロニー形成率 (%)		無補正	補正 ^c
	絶対	相対	絶対	相対		
溶媒対 (DMSO)	76.4	100.0	82.8	100.0	0.56	0.56
18.75µg/mL	72.8	95.3	94.7	114.4	1.12	1.19
37.50µg/mL	72.5	94.9	100.3	121.1	1.39	1.39
75.00µg/mL	66.7	87.3	92.7	112.0	0.56	0.61
150.00µg/mL	60.8	79.6	79.4	95.9	7.50	9.41
300.00µg/mL	12.3	16.1	-	-	-	-
陽性対照 (MCA) 10.0µg/mL	80.4	105.2	95.3	115.1	106.95	112.64

^a = 被験物質処理終了後 17-24 時間培養後のコロニー形成率 (被験物質処理後 17-24 時間培養後に各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し、1 週間培養してコロニーを形成させた)

^b = 突然変異発現時間終了時のコロニー形成率 (突然変異体の選択と平行して、各試験群につき約 200 個の細胞を 2 系列播種し、1 週間培養してコロニーを形成させた)

^c = 突然変異発現時間終了時の絶対コロニー形成率 (細胞毒性 2) を基に補正

- = 細胞毒性が極端に強かったので評価せず。