

② マウスにおける発がん性試験

(資料 No.15)

試験機関 : Covance (GLP 対応)

報告書作成年 : 1999 年

検体純度 :

供試動物 : Crl:CD-1[®](ICR)BR マウス、開始時 6 週齢、1 群雌雄各 50 匹、
開始時体重範囲 雄 22.9-31.9g 雌 17.9-25.5g

試験期間 : 78 週間(1996 年 11 月 19 日-1998 年 5 月 26 日)

試験方法 : 検体を 0、10、100、225(雄)および 175(雌)ppm の濃度で飼料に混入し、78 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。
中間屠殺群は設けなかった。

投与量設定根拠 ;

試験項目および結果 :

症状および死亡率 ; 症状はケージサイドから毎日、また触診により毎週観察した。死亡は毎日 2 回観察した。

試験終了時の生存率を下表に示す。

投与量 (ppm)		0	10	100	225/175
生存率 (%)	雄	80	84	94*	90
	雌	82	74	90	78

NCI パッケージ * : $p < 0.05$

100ppm 群雄の生存率が対照群に比較して有意に高かったが、検体投与による影響とは考えられなかった。その他の群の生存率に検体の影響は認められなかった。

また症状にも、検体投与による影響は認められなかった。

体重 ; 投与開始時、投与 14 週までは毎週、それ以降は 4 週間に 1 回、全生存動物について測定した。

主要な期間における体重および累積体重増加量の、対照群に対する変動率(%)を下表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		10	100	225	10	100	175
体 重	1 週	100	98	98	99	98	99
	2 週	100	100	98	100	100	100
	3 週	99	97	95 ↓	99	96 ↓	94 ↓
	4 週	101	98	96 ↓	99	96 ↓	94 ↓
	5 週	100	98	95 ↓	96	95 ↓	92 ↓
	6 週	102	98	95 ↓	99	96 ↓	94 ↓
	9 週	100	97	93 ↓	100	96 ↓	94 ↓
	13 週	101	98	95 ↓	99	96 ↓	93 ↓
	26 週	99	96 ↓	94 ↓	100	97	93 ↓
	38 週	99	97	97	99	96	91 ↓
	50 週	99	99	98	100	100	95 ↓
	66 週	99	97	98	99	96	92 ↓
	78 週	102	100	102	98	101	94 ↓
	79 週	102	98	100	100	98	93 ↓
累 積 体 重 増 加 量	1-13 週	97	92	81 ↓	108	98	89
	1-25 週	96	89	82 ↓	103	94	81 ↓
	1-37 週	98	96	94	101	92	77 ↓
	1-49 週	97	101	97	103	103	88
	1-65 週	97	93	99	103	91	81 ↓
	1-78 週	110	100	107	103	98	84 ↓

Dunnett の多重比較検定 ↓ ↑ : $p < 0.05$

体重は、175ppm 群雌ではほぼ全投与期間にわたって有意に減少した。225ppm 群雄では投与 26 週までの期間、有意に減少した。また、100ppm 群雄では投与 26 週に、100ppm 群雌では投与 3-6、9 および 13 週に有意に減少した。

一方、累積体重増加量は、175ppm 群雌で 1-78 週、225ppm 群雄で 1-25 週の期間、統計学的に有意に減少した。また、100ppm 群でも、雄および雌のそれぞれ投与開始から 25 および 37 週間の体重増加量が、対照群に比較してそれぞれ 11 および 8%減少しており、統計学的には有意ではないものの、検体投与による影響と考えられた。

飼料摂取量および飼料効率 ; 投与 13 週までは毎週、それ以降は 4 週間に 1 回測定した。同期間の飼料効率も算出した。

主要な期間における飼料摂取量および累積飼料摂取量の、対照群に対する変動率(%)を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	10	100	225	10	100	175
1 週	100	97	89 ↓	100	103	103
2 週	100	100	105 ↑	103	106 ↑	108 ↑
3 週	97	103	103	97	100	97
4 週	103	105 ↑	103	103	105	105
5 週	100	98	95	98	98	98
6 週	103	97	100	95	98	100
7 週	100	100	100	105	108 ↑	111 ↑
8 週	100	100	103	105 ↑	105 ↑	113 ↑
9 週	100	105 ↑	103	103	105 ↑	103
10 週	100	108 ↑	100	105 ↑	113 ↑	110 ↑
11 週	98	95	98	98	98	98
12 週	102	95 ↓	95 ↓	98	98	100
13 週	100	100	100	102	102	107 ↑
21 週	97	100	94	106	100	108 ↑
33 週	97	94	91 ↓	100	97	94
37 週	97	91 ↓	100	100	100	100
53 週	97	89 ↓	97	95 ↓	100	97
78 週	103	103	103	103	106	103
1-13 週	101	101	98	102	102	102
1-25 週	100	98	97	102	101	102
1-37 週	99	97	96 ↓	101	101	100
1-49 週	100	98	96 ↓	101	100	100
1-65 週	99	97	96 ↓	102	101	101
1-78 週	99	97	96 ↓	102	101	101

Dunnett の多重比較検定 ↓ ↑ : $p < 0.05$

週毎の飼料摂取量については、しばしば統計学的有意差が観察されたが、散発的であり検体投与による一定の影響は認められなかった。

一方、累積飼料摂取量は、225ppm 群雄で 37 週間以降有意な低値で推移し、総飼料摂取量(1-78 週)は対照群と比較して 4% 有意に減少したことから、検体投与による影響が疑われた。

飼料効率には、検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；体重、飼料摂取量および投与濃度から、期間毎の平均検体摂取量を算出した。

結果を次表に示す。

投与量 (ppm)		10	100	225/175
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.5	15.4	35.1
	雌	1.9	19.7	35.7

血液学的検査；投与 52 および 79 週に、給水下で一夜絶食後、眼窩洞穿刺により全動物から採血した。投与 52 週は全動物を対象に、また 79 週は対照群および最高投与群の全動物を対象に、以下の項目について検査した。

血球形態、白血球数(実数および補正值)、白血球百分率、赤血球数対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		10	100	225	10	100	175
赤血球数	52 週			97 ↓			
	79 週						
白血球数	52 週		64 ↓	61 ↓			
	79 週						
リンパ球数	52 週		66 ↓	64 ↓			
	79 週						
好酸球数	52 週						
	79 週					0* ↓	0* ↓

Dunnett の多重比較検定 ↓ ↑ : $p < 0.05$

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。 * : 対照群とも平均値は 0.0。

52 週時、225ppm 群雄で赤血球数が有意に減少し、100 および 225ppm 群の雄で白血球数およびリンパ球数が有意に減少した。これらの変化は 79 週では認められなかったが、検体投与による影響であると考えられた。投与 79 週の 175ppm 群雌で認められた好酸球の有意な減少は、対照群の平均値 0.0 に対する変化であることから、検体投与による影響であるとは考えられなかった。

肉眼的病理検査；全動物を対象として実施した。

種々の臓器で肉眼的病理変化が観察されたが、検体投与による影響は認められなかった。概してこれらは発現頻度が低くかつ散発的であり、また、本系統の動物で一般的に認められる変化であった。

臓器重量；全生存動物を対象として、解剖後、以下の臓器重量を測定し、体重比(相対)ならびに脳重量比(脳比)を算出した。

脳および脳幹、肝臓および胆嚢、脾臓、腎臓、精巣および精巣上体、副腎対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		10	100	225	10	100	175
最終体重							91 ↓
脳	絶対						
	相対						106 ↑
腎臓	絶対		92 ↓	88 ↓			94 ↓
	相対		93 ↓	88 ↓			
	脳比			90 ↓			
肝臓	絶対			112 ↑			
	相対			112 ↑			113 ↑
	脳比			114 ↑			

Dunnett の多重比較検定 ↓ ↑ : $p < 0.05$

表中の数値は対照群に対する変動率 (%) を表す。

脳、肝臓および腎臓で統計学的に有意な変化が認められた。

225ppm 群雄における肝臓および腎臓重量の有意な変化、175ppm 群雌における肝臓体重比の有意な増加、および 100ppm 群雄における腎臓重量の有意な減少は、検体投与に関連した変化であると考えられた。

一方、175ppm 群雌における脳体重比の有意な増加および腎臓絶対重量の有意な減少は、最終体重の有意な減少による二次的影響と考えられた。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下に記載した臓器について、病理標本を作製した。

鏡検は、死亡動物ならびに対照群および最高用量群については全臓器、低および中間用量群については全異常部位、肺、肝臓および腎臓について実施した。

副腎、大動脈、骨髓(大腿骨、胸骨)、脳および脳幹(髄質、橋、大脳および小脳皮質)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、食道、十二指腸、空腸、回腸、結腸、盲腸、直腸、眼(視神経)、心臓、腎臓、肝臓および胆嚢、肺、乳腺(雌)、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、卵巣、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺(下顎)、坐骨神経、精嚢、皮膚、脾臓、胸骨、胃、精巣および精巣上体、大腿筋、胸腺、甲状腺および上皮小体、気管、膀胱、子宮(腔および子宮頸部)、腫瘍および付属組織、病変部

〔非腫瘍性病変〕本試験で認められた主要な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

対照群および投与群において種々の非腫瘍性病変が観察されたが、検体投与との関連は認められなかった。病変の多くは同週齢の本系統のマウスで一般的に観察される変化であった。一部所見は対照群と比較して統計学的に有意な発現頻度を示したが、比較的低頻度であったことから、偶発的発現であり検体投与とは関連しない変化であると考えられた。また、肝臓、脾臓および骨髓における造血亢進は通常皮膚病変（潰瘍もしくは炎症）あるいは他の炎症性病変を持つ動物で認められることから、二次的な反応性変化と考えられた。

〔腫瘍性病変〕本試験で認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

対照群および投与群において種々の腫瘍性病変が観察されたが、それらの発現は偶発的であり、検体投与との関連は認められなかった。腫瘍総数および腫瘍動物総数にも差は認められなかった。225ppm 群雄で肝細胞腺腫の頻度がやや増加したが、統計学的に有意ではなく、肝細胞過形成および変異増殖巣の増加も認められなかった。また、雌の肝細胞腫瘍発生頻度は対照群と同様であった。

肝細胞腺腫の発生頻度を下表に示す。

投与量(ppm)		雄				雌			
		0	10	100	225	0	10	100	175
検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
肝細胞腺腫	78 週	4	6	5	10				1
	死亡	1							
	全動物	5	6	5	10				1

Fisher の直接確率法

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

各群における良性および悪性腫瘍数、腫瘍総数、腫瘍動物数を次表に示す。

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
合 計	腫瘍数	良性	15	11	11	28	16	12	10	15
		悪性	11	6	6	3	11	12	12	13
	腫瘍総数		26	17	17	31	27	24	22	28
	腫瘍動物数	良性	13 (26)	10 (20)	10 (20)	18 (36)	15 (30)	9 (18)	8 (16)	12 (24)
		悪性	7 (14)	5 (10)	5 (10)	3 (6)	10 (20)	11 (22)	12 (24)	10 (20)
	腫瘍動物総数		18 (36)	13 (26)	14 (28)	20 (40)	23 (46)	18 (36)	18 (36)	20 (40)

()内の数字は検査動物総数に対する、腫瘍発生動物数の比率(%)を示す。

以上の結果から、本剤のマウスを用いた 78 週間飼料混餌投与による発がん性試験における影響として、高用量群では、体重増加抑制、飼料摂取量の減少(225ppm 群雄)、赤血球数・白血球数・リンパ球数の減少(225ppm 群雄)、肝臓重量の増加、ならびに腎臓重量の減少(225ppm 群雄)が認められた。また 100ppm 群では、体重増加抑制、白血球数・リンパ球数の減少(雄)、ならびに腎臓重量の減少(雄)が認められた。10ppm 群では、上記の変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄とも 10ppm(雄 1.5mg/kg/day、雌 1.9mg/kg/day)であり、また、催腫瘍性はないと判断された。

表 1-1 主要非腫瘍性病変（死亡）

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		11	8	4	5	9	13	5	12
死亡	肺	検査動物数	11	8	4	4	9	13	5	11
		細気管支/肺胞過形成				1	1			
		間質性炎						1	1	1
	肝臓	検査動物数	10	7	4	3	9	13	5	11
		髄外造血	1	3			1	5		2
		小葉中心性肝細胞肥大	3	1	2		2	2		1
		慢性炎症	1	1		1		4	1	
		好塩基性変異細胞巣	1							
	腎臓	検査動物数	11	7	4	5	9	13	5	11
		慢性腎症	3	1			3	4	1	5
		嚢胞	2					1		
		鉍質沈着	5		2	1	2			1
	脳	検査動物数	10	7	4	3	9	12	4	11
		鉍質沈着	2							
	副腎皮質	検査動物数	11	8	4	5	9	13	5	11
		紡錘形細胞過形成	2	3	1		7	11	4	9
	脾臓	検査動物数	10	7	4	3	9	12	5	11
		髄外造血亢進	4	4	1	1	3	7	2	2
	腸間膜リンパ節	検査動物数	9	6	4	3	8	11	5	10
		化膿性炎				1				
	胸腺	検査動物数	7	5	4	2	8	9	4	10
		網内細胞増生						2		
	眼	検査動物数	11	8	4	5	9	13	5	12
		角膜鉍質沈着	1			1	1		1	1
	坐骨神経	検査動物数	11	8	4	4	7	13	5	11
		軸索変性					1			
	精巣	検査動物数	11	8	4	4	—	—	—	—
		鉍質沈着	1	1			—	—	—	—
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	9	12	5	11
		嚢胞	—	—	—	—	6	9	3	3
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	8	13	5	11
		子宮内膜嚢胞状過形成	—	—	—	—	3	6	1	

Fisher の直接確率法は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

表 1-1 主要非腫瘍性病変（死亡）－続き－

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		11	8	4	5	9	13	5	12
死亡	骨髄 (大腿骨)	検査動物数	11	8	4	3	9	13	5	11
		骨髄球性過形成（骨髄）	5	4	2		3	6		
		骨髄線維症					1			1
	骨髄 (胸骨)	検査動物数	11	8	4	3	9	12	5	11
		骨髄球性過形成（骨髄）	5	4	2	1	3	5		
		骨髄線維症	1				1			1
	皮膚 (その他)	検査動物数	3	5	1	2	3	8	2	2
		慢性活動性炎症	1	3	1		1	2	1	
		潰瘍化	2	4	1		2	3		2
		線維化	1	1	1		1	3		1
		上皮過形成（棘細胞増生）	2	3			2	4	2	1

Fisher の直接確率法は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

表 1-2 主要非腫瘍性病変（最終屠殺）

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		39	42	46	45	41	37	45	38
最終屠殺	肺	検査動物数	39	42	46	45	41	37	45	38
		細気管支/肺胞過形成	2	2	6	1	4	3	3	1
		間質性炎	6	6	10	6	12	5	8	13
	肝臓	検査動物数	39	42	46	45	41	37	45	38
		髓外造血	4	1	2	1		2	2	6
		小葉中心性肝細胞肥大	9	7	3	9	1		2	1
		慢性炎症	28	31	32	28	39	31	37	32
		好酸性変異細胞巢	1	1	1	1				
		好塩基性変異細胞巢			1					
	腎臓	検査動物数	39	42	46	45	41	37	45	38
		慢性腎症	34	35	33	36	24	22	31	19
		嚢胞	9	11	12	5	1	3	8	2
		鉍質沈着	26	30	32	23	8	6	5	9
	脳	検査動物数	39	0	0	45	41	0	0	38
		鉍質沈着	24			19	15			9
	副腎皮質	検査動物数	38	1	0	45	41	1	0	38
		紡錘形細胞過形成	18			26	38			35
		副副腎				1	1			6
	脾臓	検査動物数	39	9	6	45	41	9	10	38
		髓外造血亢進	8	8	5	8	8	7	6	12
	腸間膜リンパ節	検査動物数	39	1	3	44	39	2	0	38
		化膿性炎	1	1	2	6				2
	胸腺	検査動物数	33	0	0	41	40	0	0	36
		網内細胞増生	3			3	13			9
	眼	検査動物数	39	5	2	45	41	3	0	38
		角膜鉍質沈着	8	1		10	7	2		6
	坐骨神経	検査動物数	39	0	0	45	40	0	0	38
		軸索変性	5			6	10			7
	精巣	検査動物数	39	0	1	45	—	—	—	—
		鉍質沈着	11			5	—	—	—	—
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	41	29	34	38
		嚢胞	—	—	—	—	33	26	33	34
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	41	28	35	38
		子宮内膜嚢胞状過形成	—	—	—	—	34	26	33	28

Fisher の直接確率法は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

表 1-2 主要非腫瘍性病変（最終屠殺）－続き－

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		39	42	46	45	41	37	45	38
最終屠殺	骨髓 (大腿骨)	検査動物数	39	0	0	45	41	0	0	38
		骨髓球性過形成（骨髓）	5			3	2			4
		骨髓線維症					12			5
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	39	0	0	45	41	0	0	38
		骨髓球性過形成（骨髓）	5			4	2			5
		骨髓線維症					6			
	皮膚 (その他)	検査動物数	12	9	8	6	3	2	9	6
		慢性活動性炎症	9	9	5	5	1	1	5	5
		潰瘍化	9	7	4	3		1	4	5
		線維化	9	9	5	5	1	1	7	6
		上皮過形成（棘細胞増生）	10	9	6	6	2	1	7	6

Fisher の直接確率法は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

表 1-3 主要非腫瘍性病変（全動物）

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	肺	検査動物数	50	50	50	49	50	50	50	49
		細気管支/肺胞過形成	2	2	6	2	5	3	3	1
		間質性炎	6	6	10	6	12	6	9	14
	肝臓	検査動物数	49	49	50	48	50	50	50	49
		髓外造血	5	4	2	1	1	7	2	8
		小葉中心性肝細胞肥大	12	8	5	9	3	2	2	2
		慢性炎症	29	32	32	29	39	35	38	32
		好酸性変異細胞巢	1	1	1	1				
		好塩基性変異細胞巢	1		1					
	腎臓	検査動物数	50	49	50	50	50	50	50	49
		慢性腎症	37	36	33	36	27	26	32	24
		嚢胞	11	11	12	5	1	4	8	2
		鉍質沈着	31	30	34	24	10	6	5	10
	脳	検査動物数	49	7	4	48	50	12	4	49
		鉍質沈着	26			19	15			9
	副腎皮質	検査動物数	49	9	4	50	50	14	5	49
		紡錘形細胞過形成	20	3	1	26	45	11	4	44
		副副腎				1	1			6
	脾臓	検査動物数	49	16	10	48	50	21	15	49
		髓外造血亢進	12	12	6	9	11	14	8	14
	腸間膜リンパ節	検査動物数	48	7	7	47	47	13	5	48
		化膿性炎	1	1	2	7				2
	胸腺	検査動物数	40	5	4	43	48	9	4	46
		網内細胞増生	3			3	13	2		9
	眼	検査動物数	50	13	6	50	50	16	5	50
		角膜鉍質沈着	9	1		11	8	2	1	7
	坐骨神経	検査動物数	50	8	4	49	47	13	5	49
		軸索変性	5			6	11			7
	精巣	検査動物数	50	8	5	49	—	—	—	—
		鉍質沈着	12	1		5	—	—	—	—
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	50	41	39	49
		嚢胞	—	—	—	—	39	35	36	37
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	49	41	40	49
		子宮内膜嚢胞状過形成	—	—	—	—	37	32	34	28

Fisher の直接確率法

空欄は「0」を示す。

表 1-3 主要非腫瘍性病変（全動物）－続き－

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	骨髓 (大腿骨)	検査動物数	50	8	4	48	50	13	5	49
		骨髓球性過形成（骨髓）	10	4	2	3	5	6		4
		骨髓線維症					13			6
	骨髓 (胸骨)	検査動物数	50	8	4	48	50	12	5	49
		骨髓球性過形成（骨髓）	10	4	2	5	5	5		5
		骨髓線維症	1				7			1
	皮膚 (その他)	検査動物数	15	14	9	8	6	10	11	8
		慢性活動性炎症	10	12	6	5	2	3	6	5
		潰瘍化	11	11	5	3	2	4	4	7
		線維化	10	10	6	5	2	4	7	7
		上皮過形成（棘細胞増生）	12	12	6	6	4	5	9	7

Fisher の直接確率法

空欄は「0」を示す。

表 2-1 腫瘍性病変（死亡）

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		11	8	4	5	9	13	5	12
死 亡	肺	検査動物数	11	8	4	4	9	13	5	11
		B 細気管支/肺胞腺腫	3	1			2	2	1	
		M 細気管支/肺胞癌					1			1
	肝臓	検査動物数	10	7	4	3	9	13	5	11
		M 血管肉腫	1							
		B 肝細胞腺腫	1							
	脾臓	検査動物数	10	7	4	3	9	12	5	11
		M 血管肉腫	1							
	骨格筋	検査動物数	11	8	4	4	9	13	5	11
		M 血管肉腫	1							
		M 横紋筋肉腫	1							
	子宮	検査動物数	—	—	—	—	8	13	5	11
		B 平滑筋腫	—	—	—	—		1		
	子宮 頸部	検査動物数	—	—	—	—	9	13	5	11
		M 平滑筋肉腫	—	—	—	—		1		
	乳腺 (雌)	検査動物数	—	—	—	—	5	8	4	4
		M 癌	—	—	—	—		1		
	皮膚 (その他)	検査動物数	3	5	1	2	3	8	2	2
		M 扁平上皮癌	1							
		M 肉腫 NOS						1		
	血液系 腫瘍	検査動物数	1	1	1	1	3	3	1	1
		M 悪性リンパ腫	1	1			2	3	1	1
		M 組織球性肉腫			1	1	1			
	耳介	検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
		B 無メラニン性黒色腫								1

Dinse-Lagakos 理論的有病率検定は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

B：良性腫瘍 M：悪性腫瘍

表 2-2 腫瘍性病変（最終屠殺）

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		39	42	46	45	41	37	45	38
最終屠殺	肺	検査動物数	39	42	46	45	41	37	45	38
		B 細気管支/肺胞腺腫	5	2	5	5	4	3	6	6
		M 細気管支/肺胞癌		2	2	1	1	1	1	2
	肝臓	検査動物数	39	42	46	45	41	37	45	38
		M 血管肉腫		1	1		1			
		B 肝細胞腺腫	4	6	5	10				1
		M 肝細胞癌		1						1
	胃	検査動物数	39	0	1	45	41	1	2	38
		M 癌								1
	膵臓	検査動物数	39	0	0	45	41	0	0	38
		B 島細胞腺腫					1			
	下垂体	検査動物数	39	0	1	45	41	0	0	37
		B 腺腫					1			
	副腎皮質	検査動物数	38	1	0	45	41	1	0	38
		B 腺腫				2	1			
		B 被膜下細胞腺腫								1
	副腎髄質	検査動物数	38	0	1	45	39	0	0	38
		M 褐色細胞腫			1					
	甲状腺	検査動物数	39	0	0	45	41	0	0	38
		B 濾胞細胞腺腫	1			1	1			
	脾臓	検査動物数	39	9	6	45	41	9	10	38
		M 血管肉腫						1		
	腸間膜リンパ節	検査動物数	39	1	3	44	39	2	0	38
		B 血管腫				1				
	胸腺	検査動物数	33	0	0	41	40	0	0	36
		B 胸腺腫								1
	精巣	検査動物数	39	0	1	45	—	—	—	—
		B 良性間細胞腫			1		—	—	—	—
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	41	29	34	38
		B 顆粒膜/莢膜細胞腫	—	—	—	—				1
		B 腺腫	—	—	—	—		1		
		B 黄体腫	—	—	—	—		1		

Dinse-Lagakos 理論的有病率検定は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

B：良性腫瘍

M：悪性腫瘍

表 2-2 腫瘍性病変（最終屠殺）－続き－

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		39	42	46	45	41	37	45	38
最終屠殺	子宮	検査動物数	—	—	—	—	41	28	35	38
		B 平滑筋腫	—	—	—	—	2	1		2
		B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	2	1	1	
		M シュワン細胞腫	—	—	—	—			1	
		M 血管肉腫	—	—	—	—			1	
	子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	34	0	1	35
		M 平滑筋肉腫	—	—	—	—	2		1	
		B 子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	2			
	乳腺(雌)	検査動物数	—	—	—	—	40	1	2	36
		M 癌	—	—	—	—		1		1
		M 腺癌	—	—	—	—	1			
	皮膚(その他)	検査動物数	12	9	8	6	3	2	9	6
		M 線維肉腫							1	
	血液系腫瘍	検査動物数	2	0	1	1	2	3	5	5
		M 悪性リンパ腫	1		1		1	3	4	5
		M 組織球性肉腫					1		1	1
		M 赤白血病	1							
		M 顆粒球性白血病				1				
	耳介	検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
		B 無メラニン性黒色腫								1
	ハ-タ'-腺	検査動物数	0	1	1	0	0	0	0	0
		B 腺腫		1						
	骨(その他)	検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0
		M 骨肉腫							1	

Dinse-Lagakos 理論的有病率検定は全動物についてのみ実施した。

空欄は「0」を示す。

B：良性腫瘍

M：悪性腫瘍

表 2-3 腫瘍性病変（全動物）

	投与量 (ppm)		雄				雌			
			0	10	100	225	0	10	100	175
	検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	肺	検査動物数	50	50	50	49	50	50	50	49
		B 細気管支/肺胞腺腫	8	3	5	5	6	5	7	6
		M 細気管支/肺胞癌		2	2	1	2	1	1	3
	肝臓	検査動物数	49	49	50	48	50	50	50	49
		M 血管肉腫	1	1	1		1			
		B 肝細胞腺腫	5	6	5	10				1
		M 肝細胞癌		1						1
	胃	検査動物数	49	7	5	48	50	14	7	49
		M 癌								1
	膵臓	検査動物数	50	7	4	48	50	13	5	49
		B 島細胞腺腫					1			
	下垂体	検査動物数	48	8	5	48	49	13	5	48
		B 腺腫					1			
	副腎皮質	検査動物数	49	9	4	50	50	14	5	49
		B 腺腫				2	1			
		B 被膜下細胞腺腫								1
	副腎髄質	検査動物数	49	8	5	50	48	13	5	49
		M 褐色細胞腫			1					
	甲状腺	検査動物数	49	7	4	48	50	13	5	49
		B 濾胞細胞腺腫	1			1	1			
	脾臓	検査動物数	49	16	10	48	50	21	15	49
		M 血管肉腫	1					1		
	腸間膜リンパ節	検査動物数	48	7	7	47	47	13	5	48
		B 血管腫				1				
	胸腺	検査動物数	40	5	4	43	48	9	4	46
		B 胸腺腫								1
	骨格筋	検査動物数	50	8	4	49	50	13	5	49
		M 血管肉腫	1							
		M 横紋筋肉腫	1							
	精巣	検査動物数	50	8	5	49	—	—	—	—
		B 良性間細胞腫			1		—	—	—	—
	卵巢	検査動物数	—	—	—	—	50	41	39	49
		B 顆粒膜/莢膜細胞腫	—	—	—	—				1
		B 腺腫	—	—	—	—		1		
		B 黄体腫	—	—	—	—		1		

Dinse-Lagakos 理論の有病率検定
B：良性腫瘍 M：悪性腫瘍

空欄は「0」を示す。

表 2-3 腫瘍性病変（全動物）－続き－

	投与量 (ppm)		雄				雌				
			0	10	100	225	0	10	100	175	
	検査動物総数		50	50	50	50	50	50	50	50	
全動物	子宮	検査動物数	—	—	—	—	49	41	40	49	
		B	平滑筋腫	—	—	—	—	2	2		2
		B	子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	2	1	1	
		M	シュワン細胞腫	—	—	—	—			1	
		M	血管肉腫	—	—	—	—			1	
	子宮頸部	検査動物数	—	—	—	—	43	13	6	46	
		M	平滑筋肉腫	—	—	—	—	2	1	1	
		B	子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	2			
	乳腺(雌)	検査動物数	—	—	—	—	45	9	6	40	
		M	癌	—	—	—	—		2		1
		M	腺癌	—	—	—	—	1			
	皮膚(その他)	検査動物数	15	14	9	8	6	10	11	8	
		M	扁平上皮癌	1							
		M	肉腫 NOS						1		
		M	線維肉腫							1	
	血液系腫瘍	検査動物数	3	1	2	2	5	6	6	6	
		M	悪性リンパ腫	2	1	1		3	6	5	6
		M	組織球性肉腫			1	1	2		1	1
		M	赤白血病	1							
		M	顆粒球性白血病				1				
	耳介	検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	2	
		B	無メラニン性黒色腫								2
	ハ-ダ'-腺	検査動物数	0	1	1	0	0	0	0	1	
		B	腺腫		1						
	骨髄(その他)	検査動物数	0	0	0	0	0	0	1	0	
		M	骨肉腫							1	

Dinse-Lagakos 理論的有病率検定
B：良性腫瘍 M：悪性腫瘍

空欄は「0」を示す。

③ イヌにおける慢性毒性試験

(資料 No.16)

試験機関 : MPI Research (GLP 対応)

報告書作成年 : 1999 年

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬、1 群雌雄各 5 匹、開始時約 5-6 ヶ月齢

開始時体重範囲 雄 ; 8.4-11.1 kg 雌 ; 6.8-8.4 kg

試験期間 : 52 週間 (1997 年 5 月 28 日-1998 年 6 月 2 日)

試験方法 : 検体を 0、40、400、1000ppm の濃度で飼料に混入し、52 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠 ;

試験項目および結果 :

症状および死亡率 ; 症状および死亡を 1 日 2 回観察した。また、週 1 回詳細な観察を行った。

検体投与に関連した死亡および症状は認められなかった。

体重 ; 投与開始前およびその後は週 1 回測定した。

投与期間通期での体重増加量の、対照群に対する変動率(%)を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	400	1000	40	400	1000
0-52 週	119	86	86	119	81	77

Dunnett または Welch 検定

体重増加量は、統計学的に有意ではなかったが、400 および 1000 ppm 群の雄でそれぞれ 14%、雌でそれぞれ 19 および 23%、対照群に比較して軽度減少した。

一方、40ppm 群では、雌雄とも各々19%対照群に比較して軽度に増加した。

飼料摂取量および飼料効率 ; 個体別に飼料摂取量を週 1 回測定し^{注14}、飼料効率も算出した。

投与期間通期での飼料摂取量の、対照群に対する変動率(%)を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	400	1000	40	400	1000
平均飼料摂取量	97	83	88	105	94	103

Dunnett または Welch 検定

注14 : 40 ppm 群については毎日測定し、他群同様 1 週間毎の値 (7 日間の平均) を算出した。

飼料摂取量は、統計学的に有意ではなかったが、400 および 1000 ppm 群雄で各々17 および 12%、対照群に比較して減少した。

飼料効率に、検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；体重、飼料摂取量および投与濃度から平均検体摂取量を算出した。

結果を次表に示した。

投与量 (ppm)		40	400	1000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.014	8.949	23.942
	雌	1.051	10.422	29.192

眼科学的検査；投与前および投与 6 および 12 ヶ月に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

身体検査；投与開始前および投与 3、6、9、12 ヶ月に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前および 3、6、12 ヶ月に全動物を対象として、一夜絶食後、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均血球容積(MCV)、平均血球血色素量(MCH)、平均血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、白血球百分率、網状赤血球数、プロトロンビン時間

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

1000ppm 群雌雄では、ほぼ全検査時期において、赤血球数、ヘモグロビンおよびヘマトクリットが有意に減少した。また投与 3 ヶ月には、400ppm 群雌雄で赤血球数が、400ppm 群雌でヘモグロビンおよびヘマトクリットが有意に減少した。また、400 および 1000ppm 群雌雄では、網状赤血球数および MCV が有意に増加し、赤血球系パラメータの減少に対応する変化と考えられた。さらに末梢血の塗抹標本観察では、ほぼ全検査時期において、有核赤血球数が 400 および 1000 ppm 群雌雄で増加した。

400 および 1000 ppm 群雄において白血球数および分葉好中球数が有意に増加し、1000ppm 群雌でも白血球数が有意に、分葉好中球数が有意ではないが増加した。また 400ppm 群雄および 1000ppm 群雌雄でリンパ球数も中等度に増加した。

その他、400 および 1000 ppm 群雌雄において血小板数が有意に増加した。

これらの変化は再生性変化を伴う貧血を示すものであり、病理組織学的観察において認められた肝臓および腎臓における褐色色素の増加ならびに骨髄での過形成に対応するものであった。

その他の項目でも統計学的に有意な変化一部で認められたが、これらは検体投与とは関連しない偶発的变化と考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	400	1000	40	400	1000
白血球数	3ヶ月		153↑	164↑			147↑
	6ヶ月		168↑	166↑			(131)
	12ヶ月		(139)	157↑			(139)
赤血球数	3ヶ月		85↓	74↓		77↓	74↓
	6ヶ月		(92)	80↓		(89)	84↓
	12ヶ月		(87)	75↓		(92)	78↓
ヘモグロビン	3ヶ月			80↓		91↓	84↓
	6ヶ月			84↓		(89)	86↓
	12ヶ月			78↓		(92)	80↓
ヘマトクリット	3ヶ月			79↓		89↓	83↓
	6ヶ月			84↓		(94)	(89)
	12ヶ月			78↓		(97)	82↓
MCV	3ヶ月		109↑	107↑		114↑	113↑
	6ヶ月		106↑	(105)		108↑	106↑
	12ヶ月		106↑	(104)		105↑	105↑
MCH	3ヶ月					117↑	114↑
	6ヶ月					(105)	(102)
	12ヶ月					(109)	(106)
MCHC	3ヶ月						(101)
	6ヶ月						97↓
	12ヶ月						(98)
血小板数	3ヶ月		178↑	224↑		162↑	164↑
	6ヶ月		(147)	182↑		166↑	160↑
	12ヶ月		154↑	200↑		157↑	168↑
網状赤血球数	3ヶ月		280↑	267↑		(290)	370↑
	6ヶ月		(500)	(600)		700↑	1200↑
	12ヶ月		(350)	550↑		(567)	1033↑
プロトロンビン 時間	3ヶ月						94↓
	6ヶ月						(97)
	12ヶ月						(100)
分葉好中球数	3ヶ月		150↑	153↑			(157)
	6ヶ月		189↑	174↑			(133)
	12ヶ月		(146)	175↑			(123)
リンパ球	3ヶ月		150↑	184↑			(136)
	6ヶ月		(130)	(160)			(120)
	12ヶ月		(115)	(119)			172↑

Dunnett または Welch 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$ 合↓ : $p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

()内の数字は参考値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

血液生化学的検査；投与開始前および3、6、12ヶ月に全動物を対象として、一夜絶食後、頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

Na、K、Cl、Ca、無機リン、アルカリフォスファターゼ、総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、クレアチンホスホキナーゼ、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、コレステロール、グルコース、蛋白電気泳動対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	400	1000	40	400	1000
総ビリルビン	3ヶ月		200↑	167↑		150↑	175↑
	6ヶ月		(150)	(150)		150↑	150↑
	12ヶ月		(150)	200↑		200↑	200↑
クレアチンホスホキナーゼ	3ヶ月	181↑					
	6ヶ月						
	12ヶ月						
クレアチニン	3ヶ月						
	6ヶ月						
	12ヶ月				114↑		
グルコース	3ヶ月		86↓	80↓		(90)	(91)
	6ヶ月		(94)	(83)		(89)	(86)
	12ヶ月		(94)	(93)		81↓	(83)
蛋白 Peak 3 ^{注1} (α2-グロブリン)	3ヶ月			144↑			
	6ヶ月			(125)			
	12ヶ月			125↑			
蛋白 Peak 4 ^{注1} (β1-グロブリン)	3ヶ月		55↓	51↓		62↓	61↓
	6ヶ月		68↓	68↓		(77)	(74)
	12ヶ月		68↓	66↓		69↓	62↓

Dunnett または Welch 検定 ↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

()内の数字は参考値

400 および 1000ppm 群雌雄で総ビリルビンが有意に増加し、グルコースがわずかに減少した。ビリルビンの増加は溶血性貧血を示す赤血球系パラメーターの減少に関連する変化と考えられたが、グルコースについては反応が明確ではなく、投与との関連は不明であった。また、400 および 1000ppm 群雌雄で、蛋白電気泳動におけるβ1-グロブリンの割合が有意に減少し、1000ppm 群雄でα2-グロブリンの割合が有意に増加した。β-グロブリンはヘムあるいは鉄の輸送に関連することから、β1-グロブリンの減少は、溶血性貧血の二次的変化として利用率が増加したことによるものと考えられた。α2-グロブリンの増加に関しては、意義は不明であるが、検体投与による影響と考えた。

その他いくつかの検査項目で有意な変動が認められたが、偶発的なものであり、検体投与による影響とは考えられなかった。

注1: 蛋白分画7ピークの成分名は、Peak1から順番に、アルブミン、α1-、α2-、β1-、β2-、γ1-、γ2-グロブリンであることを試験機関に確認した。

尿検査 ; 投与開始前および3、6、12ヶ月に全動物を対象として、絶食条件下で一夜尿を採取し、以下の項目を検査した。

外観／色、尿量、比重、沈渣の鏡検、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン、亜硝酸

対照群と比較して、明らかな変化が認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		0	40	400	1000	0	40	400	1000
尿の褐色化 (匹)	3ヶ月			1	4			1	3
	6ヶ月			1	3			1	4
	12ヶ月								
ビリルビン* (程度／匹)	3ヶ月	1.0	0.8	1.8	2.0	0.4	0.0	0.2	1.0
	6ヶ月	1.2	0.6	1.8	2.2	0.2	0.2	0.8	0.8
	12ヶ月	1.0	1.0	1.6	2.4	0.0	0.4	1.3	1.0

*: ビリルビンの値は、各動物の程度(0~3)の平均を各群検査時期毎に申請者が算出した。

400 および 1000ppm 群雌雄で尿の褐色化およびビリルビンが増加した。

これらの所見は検体投与による影響である溶血性貧血と一致するものであり、赤血球系パラメーターの減少と対応していた。

肉眼的病理検査; 全動物を対象として実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量; 最終屠殺時に全動物を解剖し、脂肪除去後、以下の臓器重量を測定し、体重比(相対) および脳重量比(脳比)を算出した。

副腎、脳(前、中および後)、性腺(卵巣および精巣)、心臓、腎臓、肝臓、下垂体、顎下腺、甲状腺および上皮小体

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	400	1000	40	400	1000
肝臓	絶対						(115)
	相対						124 ↑
	脳比						(122)

Dunnett または Welch 検定 ↑ ↓: p<0.05

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

()内の数字は参考値

1000ppm 群雌で肝臓の体重比が有意に増加した。

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製し鏡検した。

副腎、大動脈、骨および骨髓（大腿骨、肋骨、胸骨）、骨髓塗抹、脳、眼球（視神経および瞬膜腺を含む）胆嚢、消化管（食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、性腺（卵巣、精巣および精巣上体）、肉眼的病変部、心臓、腎臓、肝臓、肺および気管支、リンパ節（腸間膜、気管気管支、病変部）、乳腺（雌）、睪臓、下垂体、前立腺、顎下腺（および顎下リンパ節）、坐骨神経、骨格筋（大腿部）、皮膚、脊髓（頸部、胸部および腰部）、脾臓、胸腺、甲状腺／上皮小体、腫瘤、舌、気管、膀胱、子宮、子宮頸部、膣

検体投与に起因する変化は、骨髓、腎臓および肝臓で認められた。

これら臓器における全病理組織学的変化を下表に示す。

投与量 (ppm)				雄				雌			
				0	40	400	1000	0	40	400	1000
検査動物数				5	5	5	5	5	5	5	
骨 髄	大腿骨	過形成	軽微					1			
			軽度			4			2		
			中等度			1	5		1	5	
						↑	↑			↑	
	肋骨	過形成	軽微					1			
			軽度			4	2				
			中等度			1	3		3	5	
						↑	↑			↑	
	胸骨	過形成	軽度			4	1	1		2	
			中等度			1	4		1	5	
						↑	↑			↑	
腎 臓	尿細管拡張		軽微					1		1	
	小結石		軽微	3	4	3	4	4	4	5	3
	急性炎症		軽度	1							
	皮質尿細管 好塩基性変化		軽微	2		3	1	1	1	1	1
	近位尿細管上皮 色素沈着	軽微		1	4	3			2	4	
		軽度				1					
					↑	↑				↑	
	腎盂炎		軽微				2				
	軽度			1					1		
肝 臓	線維化		軽微		1						
	単核細胞浸潤		軽微			1					
	亜急性炎症		軽微					1			
	褐色色素沈着		軽微			4↑	5↑			5↑	5↑

Wilcoxon の順位和検定(申請者が実施)

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01

表中の数字は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

400 および 1000ppm 群の雌雄において、大腿骨、肋骨および胸骨の骨髄では軽度から中等度の赤芽球系および顆粒球系細胞の過形成が、腎臓では軽微から軽度の近位尿細管上皮の褐色色素沈着が、また肝臓では主としてクッパー細胞に軽微な褐色色素沈着が認められた。これらは臨床病理所見に対応する変化であり、検体投与による影響と考えられた。

400 ppm 群雄および 1000 ppm 群雌雄で 1-2 例に腎盂炎が観察されたが、軽微から軽度、急性から亜急性の病変であり、検体投与との関連は明らかでなく、毒性学的意義は不明であった。

その他、検体投与による影響を示唆する変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のイヌを用いた 52 週間飼料混餌投与による慢性毒性試験における影響として、400 および 1000ppm 群では、体重増加抑制、飼料摂取量の減少(400 および 1000 ppm 群雄)、赤血球数・ヘモグロビン(400 ppm 群雄除く)・ヘマトクリットの減少、網状赤血球数・MCV・有核赤血球数・血小板数の増加、白血球数・分葉好中球数・リンパ球数の増加(400ppm 群雌除く)、総ビリルビンの増加、 β 1-グロブリンの減少、 α 2-グロブリンの増加(1000 ppm 群雄)、尿の褐色化および尿ビリルビンの増加、肝臓重量の増加(1000 ppm 群雌)、大腿骨・肋骨・胸骨の骨髄過形成、腎臓の近位尿細管上皮の褐色色素沈着、ならびに肝臓のクッパー細胞内褐色色素沈着が認められた。40ppm 群では雌雄ともに明らかな変化は認められなかった。

従って、無毒性量は 40ppm(雄 1.014mg/kg/day、雌 1.051mg/kg/day)であると判断された。