

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

(2) マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(資料No. 7-2)

試験機関：Central Toxicology Laboratory(英)

報告書作成年：1999年 [GLP]

検体純度：

試験動物：C57BL/10J;CD-1 Alpk系マウス、1群雌雄各65匹、開始時5～6週齢。

投与開始1年後（52週間後）に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

試験期間：最終屠殺群：80週間投与（1997年2月17～21日～1998年9月2日）

中間屠殺群：52週間投与（1997年4月21～24日～1998年4月24日）

投与方法：検体を70、350、3500及び7000ppmの濃度で飼料に混入し、最終屠殺群は80週間自由摂食させた。検体を混入した飼料は約2カ月に1回調製した。

投与量の設定根拠：

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

一般状態に検体投与の影響は認められなかった。また、生存率に検体投与の影響は認められなかった。

試験終了時のKaplan-Meier法による生存比を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	70	350	3500	7000
生存比	雄	0.84	0.95	0.93	0.88	0.91
	雌	0.89	0.80	0.90	0.85	0.90

体重変化：投与開始直前、投与開始から14週間は毎週、その後は2週毎にすべての生存動物の体重を測定した。

投与量 (ppm)		70	350	3500	7000
最終平均体重	雄	98.8	100.3	↓93.6	↓89.6
	雌	↓97.2	98.6	↓92.4	↓89.9

統計学的検定法：Studentのt-検定 ↓↑：P<0.05 ⇕⇓：P<0.01

表中の数字は、変動の目安として対照群を100とした場合の数値を表したもの。

7000及び3500ppm投与群の雌雄で、投与期間を通じた体重の有意な減少が認められた。

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

対照群と比較した体重の最大変化率は、7000ppm投与群の雄で-12% (55~67週目)、雌で-10% (65, 71, 75~77及び81週目) であり、3500ppm投与群の雄で-9% (57週目)、雌で-8% (71及び81週目) であった。

70ppm投与群の雌で認められた投与期間後半 (59~75週目) の統計学的に有意な体重の低値は、350 ppm投与群に変化が認められないことから検体投与の影響ではないと考えられた。

摂餌量及び摂餌効率：摂餌量を試験開始から14週間は毎週、投与16週目、その後は4週毎に記録した。摂餌量はケージ毎に1週間の平均摂餌量 (g 飼料/匹/日) として算出した。最初の12週間についてケージ毎の食餌効率を、摂餌量100 g に対する1ケージの動物の体重増加量として算出した。次表に、統計学的に有意差が認められた摂餌量 (週のみ表示) 及び摂餌効率を示した。

投与量 (ppm)		70	350	3500	7000
摂餌量変動期間	雄			↑ : 3, 6, 7, 40及び48週、 ↑ : 4, 8, 9~20, 28, 64 及び76週	↑ : 40週 ↑ : 2~20, 28, 64週
	雌		↑ : 6週	↑ : 4, 7, 12~14, 40及び 64週 ↑ : 8, 10, 16及び20週	↑ : 28及び40週 ↑ : 3~5, 16及び20週 ↓ : 52及び72週

性 別		雄				雌			
投与量 (ppm)		70	350	3500	7000	70	350	3500	7000
摂 餌 効 率	1~4 週			↓ 70.8	↓ 41.9			↓ 77.6	↓ 53.8
	5~8 週					↑ 132.0	↑ 128.0	↑ 133.0	↑ 145.0
	9~12 週							↓ 65.4	
	1~12 週			↓ 81.7	↓ 64.9			↓ 85.8	↓ 76.9

統計学的検定法：Studentのt-検定 ↓ ↑ : P<0.05 ↓ ↑ : P<0.01
表中の数字は、変動の目安として対照群を100とした場合の数値を表したもの。

7000及び3500ppm投与群の雌雄の摂餌量は、試験期間を通じて有意に高く、特に試験前半において高値を示した。350ppm投与群の雌で認められた投与6週目の有意な増加は、1週のみであり、検体投与の影響ではないと判断した。

食餌効率は7000及び3500ppm投与群で低下し、7000ppm投与群では低下の程度は大きかった。食餌効率の低下は投与1~4週の間認められ、その結果、投与1~12週の通算の数値も低下した。70及び350ppm投与群の雌では投与5~8週の食餌効率が有意に高かったが、検体投与の影響ではないと考えられた。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		70	350	3500	7000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	9.5	47.5	525.5	1100.2
	雌	12.6	63.8	690.5	1393.2

血液学的検査：中間屠殺及び最終屠殺時に、全生存動物から心臓穿刺によって血液を採取し、以下の項目について測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、白血球数、白血球分画、血小板数

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

性 別	雄								雌							
	投与量 (ppm) 及び 検査時期 (週)															
	70		350		3500		7000		70		350		3500		7000	
検査項目	53週	81週	53週	81週	53週	81週	53週	81週	53週	81週	53週	81週	53週	81週	53週	81週
赤血球数			↓96					↑108								↓95
ヘモグロビン量							↓97									↓94
ヘマトクリット値																↓96
MCV		↓98				↓97		↓96				↓99		↓98		↓97
MCH		↓98		↓98		↓96		↓94						↓99		↓97
MCHC																↓99
血小板数													↑123	↑127	↑129	↑140
好中球数																↓52
好塩基球数		↑233														↓29

統計学的検定法：Studentのt-検定 ↓↑：P<0.05 ↓↓↑↑：P<0.01

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

赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値数の有意な減少が、7000ppm投与群の雌で投与53週目に認められたが、投与81週目には同様の変化は認められなかった。同群の雄でもヘモグロビン量は投与53週目で有意な減少を示したが、投与81週目では対照群よりもやや高い値(有意差無し)を示した。

平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) と平均赤血球容積 (MCV) が、7000ppm及び3500ppm投与群の雌雄において、投与81週時に有意に減少した。

血小板数の有意な増加が、7000ppm及び3500ppm投与群の雌で投与53週及び81週時に認められたが、雄では認められなかった。

350及び70ppm投与群の雄で投与81週目に平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH) 及び/または平均赤血球容積 (MCV) が対照群と比べ僅かに低値を示したが、持続的な変化ではなく、検体の影響を示すほどの変化ではなかった。

好中球数及び好塩基球数の有意な減少が、7000ppm投与群の雌で投与53週時に認められたが、これは対照群の1例でこの両方の数値が高かったため、検体投与の影響ではないと考えられた。

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

臓器重量：中間屠殺及び最終屠殺動物について屠殺時に以下の臓器重量を測定し、対体重比及び体重で補正した臓器重量（以降、体重補正值として表示）を算出した。

副腎、脳、腎臓、肝臓、精巣、卵巣。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄								雌																						
検査時期		53週				81週				53週				81週																		
投与量 (ppm)		70	350	3500	7000	70	350	3500	7000	70	350	3500	7000	70	350	3500	7000															
副腎	絶対重量											↓80				↓92																
	対体重比																															
	体重補正值											↓73	↓80																			
脳	絶対重量		↓96													↓96																
	対体重比																															
	体重補正值																															
脳 (a)	絶対重量	/				/				/				/																		
	対体重比																															
	体重補正值																															↓98
腎臓	絶対重量			↑109		↓96		↓94								↓95																
	対体重比																															
	体重補正值			↑113								↑109	↑111			↑108	↑108															
腎臓 (a)	絶対重量	/				/				/				/																		
	対体重比																															
	体重補正值																														↑105	↑111
肝臓	絶対重量			↑110	↑111		↑108	↑115	↑117			↑115	↑127		↑111	↑111	↑115															
	対体重比																															
	体重補正值			↑109	↑119	↑124		↑110	↑126	↑131			↑121	↑131		↑116	↑128	↑135														
肝臓 (a)	絶対重量	/				/				/				/																		
	対体重比																															
	体重補正值																															↑107
精巣	絶対重量																															
	対体重比																															
	体重補正值				↑119																											
精巣 (a)	絶対重量	/				/				/				/																		
	対体重比																															
	体重補正值																															

(a) 外れ値を除外した場合の臓器重量。

統計学的検定法：Studentのt-検定，↓↑：P<0.05，↓↑↑：P<0.01

表中の数字は、変動の目安として対照群を100とした場合の数値を表したもの。

副腎の体重補正值の低値が、投与53週目に7000ppm及び3500ppm投与群の雌で認められた。しかしながら、同群の雄には認められず、また投与81週目の雌雄にも変化がないことから、検体投与と関係ないものと考えられた。

腎臓の体重補正值の高値が、投与53週目に7000ppm及び3500ppm投与群の雌で認められ、投与81週目においても認められた。外れ値を除外した場合には、350ppm投与群の雌でも高値を示した。腎臓の体重補正值の高値は、3500ppm投与群の雄でも投与53週目に認められたが、投与81週目では認められなかった。腎臓で認められた変化は、病理組織学的検査で関連する所見が認められないことから、毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。

肝臓の体重補正值の高値が、7000ppm及び3500ppm投与群の雌雄で投与53及び81週目に認められ、350ppm投与群の雌雄でも高値が認められた。350ppm投与群の雌雄で認められた肝臓の体重補正值の高値は、病理組織学的検査で関連する所見が認められないことから、毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。

精巣の体重補正值が、7000ppm投与群で投与53週目に有意に増加した。しかしながら、投与81週目には認められず、病理組織学的検査で関連する所見が認められないことから、毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。

肉眼病理検査：途中死亡、中間屠殺及び最終屠殺の全動物について剖検した。

検体投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。ただ、7000ppm投与群の雌雄及び3500ppm投与群の雄において、腸間膜リンパ節の赤色化の発生率に僅かな減少が認められた。

病理組織学的検査：途中死亡、中間屠殺及び最終屠殺の全動物について、以下の臓器を保存し、標本作製して検査した。

脳（大脳、小脳、脳幹）、下垂体、眼球、唾液腺、甲状腺、上皮小体、頸部、胸腺、心臓、大動脈、肺、気管、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、食道、胃、十二指腸、盲腸、回腸、空腸、直腸、結腸、リンパ節（頸部、腸間膜）、乳腺—鼠径部（雌のみ）、坐骨神経、皮膚—右側腹部、脊椎（頸椎、胸椎、腰椎）、胸骨、骨（後膝関節を含む大腿骨）、骨髓（大腿骨）、精巣、卵巣、前立腺、子宮、精巣上体、精囊、包皮腺、膀胱、随意筋及び肉眼的病変部位。

非腫瘍性所見

認められた主要な非腫瘍性病変を表1（「毒-85～毒-86」頁）に示す。

検体に起因する変化が肝臓に認められた。
核大小不同の増加が認められ、細胞質の好塩基化が認められる場合があった。巨細胞及び細胞質内に好酸性の小球を認めた。

この所見は7000及び3500ppm投与群で確認され、最高用量群においてやや顕著であった。雄と雌の影響は同等であった。

7000及び3500ppm投与群では肝臓の糖原沈着の程度が減少した。さらに7000及び3500ppm投与群の雌において、肝臓の明細胞性細胞巣が軽度増加し、7000ppm群の雌と3500ppm群の雌雄に肝臓の好塩基性細胞巣の増加が認められた。

その他に認められた変化は、何れも毒性学的に意義があるとは考えられなかった。

腫瘍性所見

認められたすべての腫瘍性病変を表2（「毒-87～毒-89」頁）に示す。いずれの検体投与群でも統計学的に有意な腫瘍性変化の増加は認められなかった。ただ、次表に示すように、3500ppm投与群の雄において肝細胞腺癌の発生頻度が背景対照データよりも少し多く発生した。その他に特異的な腫瘍の増加は認められなかった。

肝細胞腺癌の発生頻度及び試験実施機関における背景対照データ範囲

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
臓器	所見/検査動物数	65	55	65	65	65	65	55	65	65	65
肝臓	肝細胞腺癌、 ()内は%	0	0	0	4 (6.2)	0	0	0	0	0	1 (1.5)
背景対照データ範囲(%)		0~2.0					0~1.8				

統計学的検定法：Fisherの確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

肝細胞腺癌の発生頻度増加は統計学的に有意ではなく、3500ppm投与群の雌では認められなかった。さらに、より大きな体重増加量の減少及びより顕著な肝臓への影響が認められた7000ppm群の雌雄では、肝臓腫瘍（肝細胞線腫及び肝細胞腺癌；肝細胞腺腫発生頻度及び試験機関における背景対照データ範囲は次表に示す）の増加は認められなかった。また、肝細胞腺癌は最終屠殺群に認められたことから、途中死亡の原因ではなかった。したがって、今回の肝細胞腺癌の発生頻度増加は検体投与の影響ではないと判断された。

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

肝細胞腺腫の発生頻度及び試験機関における背景対照データ範囲

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
臓器	所見/検査動物数	65	55	65	65	65	65	55	65	65	65
肝臓	肝細胞腺腫、 ()内は%	0	0	0	0	1 (1.5)	0	0	0	1 (1.5)	1 (1.5)
背景対照データ範囲(%)		0~5.5					0~2.0				

統計学的検定法：Fisherの確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

腫瘍発生の総括を下表に示した。

性 別		雄					雌				
投与量 (ppm)		0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
剖検動物数		65	55	65	65	65	65	55	65	65	65
腫瘍数	良 性	7	3	4	2	1	7	9	4	4	1
	悪 性	19	25	14	14	13	32	19	17	19	21
担腫瘍動物数	良 性	5	3	4	2	1	7	8	4	4	1
	悪 性	19	23	14	14	13	31	18	17	18	20
担腫瘍動物数合計		22	25	17	15	14	36	25	20	19	21

統計学的検定法；Fisherの直接確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

以上の結果から、3500ppm群以上の投与群で、体重増加量の有意な減少、病理組織学的検査において検体投与に起因する変化が認められたことより、本試験条件下における検体の無毒性量は雌雄いずれも350ppm（雄47.5mg/kg/day、雌63.8mg/kg/day）と判断された。また、催腫瘍性は認められなかった。

【申請者註】

申請者は、フェンアミドンのマウス発癌性試験における無毒性量は、
雌雄とも70ppm（雄：9.5 mg
/kg/day、雌：12.6mg/kg/day）であると判断する。

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

表1 非腫瘍性病変 (1/2)

検査 時期	臓器	性 別		雄					雌				
		投与量(ppm)		0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
途中 死亡 ・ 切迫 屠殺 動物	剖検動物数		11	3	5	8	5	10	11	7	9	7	
	肝臓	所見名\検査動物数	11	3	5	8	5	10	11	7	9	7	
		核大小不同/好酸性化/ 巨細胞/好酸性小球					4*				4*	4*	
		明細胞性細胞巣											
		好塩基性細胞巣										1	
		糖原沈着	2		4*		1	1	1	1	1	2	
	リンパ節 一腸間膜	所見名\検査動物数	11	3	5	8	4	10	11	7	7	6	
		血液の充満した洞	5	2	1	1		3	4				
	脾臓	所見名\検査動物数	11	3	5	7	5	10	11	7	9	7	
		髓外造血	4		2	3	1	5	6	1	3	3	
	副腎	所見名\検査動物数	11	3	5	8	5	10	11	7	9	7	
		皮質性セロイド沈着	11	3	5	3**	2*	4	6	3	3		
	精巣	所見名\検査動物数	11	3	5	8	5	/					
		両側精細管変性	10	3	3	7	5						
卵巣	所見名\検査動物数	/					10	11	7	9	6		
	出血嚢泡/出血卵胞							2	2				
(53週) 屠殺 動物	剖検動物数		10	0	9	9	10	10	0	10	9	10	
	肝臓	所見名\検査動物数	10	0	9	9	10	10	0	10	9	10	
		核大小不同/好酸性化/ 巨細胞/好酸性小球					3				2	8*	
		明細胞性細胞巣										1	
		好塩基性細胞巣										1	
		糖原沈着											
	リンパ節 一腸間膜	所見名\検査動物数	10		9	8	10	10		10	9	9	
		血液の充満した洞	2		2	1							
	脾臓	所見名\検査動物数	10		9	9	10	10		10	9	10	
		髓外造血	1				1	3		1	1	4	
	副腎	所見名\検査動物数	10		9	9	10	10		10	9	10	
		皮質性セロイド沈着	10		9	7	8	8		9	7	10	
	精巣	所見名\検査動物数	10		9	8	10	/					
		両側精細管変性	10		8	8	10						
卵巣	所見名\検査動物数	/					10		10	9	10		
	出血嚢泡/出血卵胞						1						

空欄は「0」を示す 統計学的検定法 ; Fisherの直接確率検定 又は χ^2 検定 (申請者が実施)
* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

表1 非腫瘍性病変 (2/2)

検査時期	臓器	性別		雄					雌				
		投与量(ppm)		0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
最終屠殺動物 (81週)	剖検動物数		44	52	51	48	50	45	44	48	47	48	
	肝臓	所見名\検査動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	47	
		核大小不同/好酸生ヒ/巨細胞/好酸生小球				43**	50**				44**	47**	
		明細胞性細胞巣	1	1	2	1	3				3	4	
		好塩基性細胞巣		1		3					1	1	
		糖原沈着	44	49	51	47	43	45	44	48	47	47	
	リン節	所見名\検査動物数	42	52	50	46	50	45	41	45	47	47	
		一腸胃膜 血液の充満した洞	27	29	29	20	13**	33	25	37	20**	15**	
	脾臓	所見名\検査動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	48	
		髄外造血	7	15	3**	7	4**	21	14	8**	11*	8**	
	副腎	所見名\検査動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	47	
		皮質生ヒロイド沈着	44	52	51	40	30**	41	41	46	40	32**	
	精巣	所見名\検査動物数	44	52	50	48	50	/					
		両側精細管変性 (計)	44	51	47	46	47						
	卵巣	所見名\検査動物数	/					45	43	47	46	48	
		出血嚢泡/出血卵胞						12	11	16	12	24*	
	全動物	剖検動物数		65	55	65	65	65	65	65	65	65	
		肝臓	所見名\検査動物数	65	55	65	65	65	65	55	65	65	65
核大小不同/好酸生ヒ/巨細胞/好酸生小球						43**	57**				50**	59**	
明細胞性細胞巣			1	1	2	1	3				3	5	
好塩基性細胞巣				1		3					1	3	
糖原沈着			46	49	55	48	44	46	45	49	48	49	
リン節		所見名\検査動物数	65	55	64	62	64	65	52	62	63	62	
		一腸胃膜 血液の充満した洞	34	31	32	22	13**	36	29	37	20**	15**	
脾臓		所見名\検査動物数	65	55	65	64	65	65	55	65	65	65	
		髄外造血	12	15	5	10	6	29	20	10**	15**	15**	
副腎		所見名\検査動物数	65	55	65	65	65	64	55	63	65	64	
		皮質生ヒロイド沈着	65	55	65	50**	40**	53	47	58	50	42*	
精巣		所見名\検査動物数	65	55	64	64	65	/					
		両側精細管変性 (計)	64	54	58	61	62						
卵巣		所見名\検査動物数	/					65	54	64	64	63	
		出血嚢泡/出血卵胞						13	13	18	12	24*	

空欄は「0」を示す 統計学的検定法; Fisherの直接確率検定 又は χ^2 検定 (申請者が実施)
 *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

表 2 腫瘍性病変 (1/4)

検査時期	臓器	性 別	雄					雌				
		投与量(ppm)	0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
		剖検動物数	11	3	5	8	5	10	11	7	9	7
途	脳	検査動物数	11	3	5	8	5	10	11	7	9	7
		悪性髄膜腫 (M)								1		
中	ハグー腺	検査動物数	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0
		腺腫 (B)			3							
死	空腸	検査動物数	10	3	5	7	5	0	0	0	0	0
		腺腫 (B)				1						
亡	肝臓	検査動物数	11	3	5	8	5	9	11	7	9	7
		肝細胞腺腫 (B)									1	
・	肺	検査動物数	11	3	5	8	5	10	11	7	9	7
		腺腫 (B)	1									
切	リンパ球系	検査動物数	7	2	1	3	2	7	7	4	4	4
		リンパ肉腫 (M)	7			3	2	5	4	4	4	2
		組織球性肉腫 (M)	0	2	1			2	3			2
迫	脾臓	検査動物数	11	3	5	7	5	10	11	7	9	7
		血管肉腫 (M)										1
屠	皮下組織	検査動物数	0	0	0	1	2	2	1	0	0	0
		血管肉腫 (M)						1				
殺	血管	検査動物数	5	1	1	1	2	0	2	0	0	1
		血管肉腫 (M)	2				2		2			

(M) : 悪性 (B) : 良性 空欄は「0」を示す。
統計学的検定法 ; Fisherの直接確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

表 2 腫瘍性病変 (2/4)

検査時期	臓器	性 別	雄					雌				
		投与量(ppm)	0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
		剖検動物数	10	0	9	9	10	10	0	10	9	10
中間屠殺	リンパ球系	検査動物数	1	0	0	0	0	3	0	1	0	0
		リンパ肉腫 (M)	1					2				
		組織球性肉腫 (M)						1		1		
53週	脾臓	検査動物数	10	0	9	9	10	10	0	10	9	10
		血管腫 (B)	1									

(M) : 悪性 (B) : 良性 空欄は「0」を示す。
統計学的検定法 ; Fisherの直接確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

表 2 腫瘍性病変 (3/4)

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		投与量(ppm)	0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
		剖検動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	48
最終層殺	ハダ腺	検査動物数	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0
		腺腫 (B)	1	1					1		1	
	肝臓	検査動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	47
		肝細胞腺腫 (B)					1					1
		肝細胞腺癌 (M)				4						1
	肺	検査動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	48
		腺腫 (B)				1						
	リンパ節	検査動物数	42	52	50	46	50	45	41	45	47	47
		一腸間膜血管腫 (B)			1							
	リンパ球系	検査動物数	8	21	13	7	9	18	7	11	14	12
		リンパ肉腫 (M)	6	21	11	6	8	12	6	7	10	9
		繊維肉腫 (M)	2		2	1	1	7	2	4	5	5
	下垂体	検査動物数	42	51	50	44	48	44	44	47	46	48
		腺腫 (B)						7	5	3	2	
	唾液腺	検査動物数	44	51	51	48	50	45	44	47	47	48
		血管腫 (B)	1									
	脾臓	検査動物数	44	52	51	48	50	45	44	48	47	48
		良性紡錘細胞腫瘍 (B)		1								
	甲状腺	検査動物数	42	52	49	47	50	44	44	47	47	48
		濾胞細胞腺腫 (B)	1						1			
血管	検査動物数	1	3	0	0	0	2	2	0	0	2	
	血管肉腫 (M)	1	2				2	2			2	
精巣	検査動物数	44	52	50	48	50	/					
	良性行化細胞腫瘍 (B)	1	1									
子宮	検査動物数	/					45	44	48	47	48	
	血管腫 (B)							2	1			

(M) : 悪性 (B) : 良性 空欄は「0」を示す。
 統計学的検定法 ; Fisherの直接確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

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

表2 腫瘍性病変 (4/4)

検査時期	臓器	性別		雄					雌				
		投与量 (ppm)		0	70	350	3500	7000	0	70	350	3500	7000
		剖検動物数		65	55	65	65	65	65	65	65	65	65
全動物	脳	検査動物数	65	55	65	65	65	65	65	65	65	65	65
		悪性髄膜腫 (M)									1		
	ハグー腺	検査動物数	1	1	4	0	0	0	1	0	1	0	
		腺腫 (B)	1	1	3				1		1		
	空腸	検査動物数	64	55	64	65	65	62	54	64	65	64	
		腺腫 (B)				1							
	肝臓	検査動物数	65	55	65	65	65	65	55	65	65	64	
		肝細胞腺腫 (B)					1				1	1	
		肝細胞腺癌 (M)				4							1
	肺	検査動物数	65	55	65	65	65	65	55	65	65	65	
		腺腫 (B)	1			1							
	リンパ節 一腸間膜	検査動物数	63	55	64	62	64	65	52	63	63	62	
		血管腫 (B)			1								
	リンパ 球系	検査動物数	16	23	14	10	11	28	14	16	18	16	
		リンパ肉腫 (M)	14	21	11	9	10	19	10	11	14	11	
		組織球性肉腫 (M)	2	2	3	1	1	10	5	5	5	7	
	下垂体	検査動物数	62	54	63	58	62	61	55	60	63	65	
		腺腫 (B)						7	5	3	2		
	唾液腺	検査動物数	44	51	51	48	50	45	44	47	47	48	
		血管腫 (B)	1										
脾臓	検査動物数	65	55	65	64	65	65	55	65	65	65		
	血管腫 (B)	2											
	良性紡錘細胞腫瘍 (B)		1										
	血管肉腫 (M)											1	
甲状腺	検査動物数	63	55	63	64	65	64	54	64	65	63		
	濾胞細胞腺腫 (B)	1						1					
血管	検査動物数	6	4	1	1	2	2	4	0	0	3		
	血管肉腫 (M)	3	2			2	2	4			2		
皮下 組織	検査動物数	0	0	0	1	2	2	1	0	0	0		
	血管肉腫 (M)						1						
精巣	検査動物数	65	55	64	64	65							
	良性ライシ細胞腫瘍 (B)	1	1										
子宮	検査動物数						65	55	65	65	65		
	血管腫 (B)							2	1				

(M) : 悪性 (B) : 良性 空欄は「0」を示す。
統計学的検定法 ; Fisherの直接確率検定、Cochran-Armitageの傾向検定

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

(3) イヌを用いたカプセル投与による52週間経口毒性試験

(資料No. 7-3)

試験機関：C. I. T (仏)

報告書作成年：1999年 [GLP]

検体純度：

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各4匹、開始時約7か月齢
開始時体重範囲 雄7.1～9.1kg 雌6.5～7.7kg

試験期間：52週間投与（1997年2月11日～1998年2月9、10、11日）

投与方法：直前に測定した体重に基づき検体をゼラチンカプセルに充填して10、100または1000mg/kg/day用量で、1日1回ほぼ同時刻に経口投与した。

投与量の設定根拠：

試験項目および結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

1000mg/kg/day投与群では全匹で流涎過多が頻回に観察され、嘔吐が雄で3～12回、雌で6～17回の頻度で認められた。

投与期間を通して、いずれの群にも死亡は発生しなかった。

体重変化：群分け前に1回、投与開始日、その後試験終了まで週1回すべての生存動物の体重を測定した。試験期間中の平均体重増加量を次表に示す。

性 別 投 与 量 (mg/kg/day)	雄				雌			
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
1～14週	+1.5	+1.6	+1.6	+1.4	+1.3	+1.7	+1.4	+1.2
14～53週	+1.5	+1.5	+1.5	+2.1	+0.8	+1.7	+2.0	+0.8
1～53週通算	+3.0	+3.1	+3.1	+3.5	+2.1	+3.4	+3.4	+2.0

100及び10mg/kg/day投与群の雌では全例で対照群の動物より体重増加量が高かったが、1000mg/kg/day投与群の雌では増加は認められなかったことから、検体投与によるものではないと考えられた。

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

摂餌量：投与開始前1週間及び投与全期間、摂餌量を毎日測定した。

検体投与に伴う摂餌量の変化は認められなかった。

血液学的検査：投与開始前、投与13、26及び52週目に全動物を対象として、頸静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘモグロビン量、平均赤血球容積、充填赤血球量、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球ヘモグロビン量、血小板数、白血球数、白血球分画 (絶対数及び比率) (好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、単球)、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、フィブリノーゲン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄									雌									
	10			100			1000			10			100			1000			
検査時期 (週)	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	
赤血球数																			↓81
ヘモグロビン量									↓89										↓79 ↓88
充填赤血球量																			↓83
MCHC									↓96 ↓94										
血小板数																			↑144
好中球数																			↑133
好酸球数																			↓31
プロトロンビン時間																			↓97 ↓97

統計学的検定法；Dunn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。

1000mg/kg/day投与群の雄で、投与13週目にヘモグロビン量の減少、雌で投与26週目に赤血球数、ヘモグロビン量及び充填赤血球量の減少、投与52週時にヘモグロビン量の統計学的に有意な減少が認められた。

しかしながら、これらの変化は対照群との差が僅かであり、投与52週時には変化が認められないか、又はその差が投与26週目に比べ小さくなり、発現時期に投与との関連性が認められなかった。また、個体別の数値は背景データの範囲内にあり、さらに投与開始前の値と同等であったため、検体投与との関係はないと判断された。

1000mg/kg/day投与群の雄で、投与13週及び26週目に赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) の低下、52週目に好酸球数の減少、雌で投与13週目に好中球数の増加が認められた。しかしながら、これらの変化は、対照群との差は僅かで、発現時期に投与との関連がなく、毒性学的な重要性はないと考えられた。

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

また、1000mg/kg/day投与群の雌で、投与13および26週目に、平均血小板数のやや高い値が検出された（対照群と比較してそれぞれ+46%および+44%、投与開始前と比較してそれぞれ+38%および+25%）。この高値は、投与13週および26週目の2/4例の雌に認められた。個体別の数値は投与26週目の方が低く、52週目においては変化が認められないことから、この一過性の変化には毒性学的重要性はないと判断された。

なお、100mg/kg/day投与の雌で、投与13及び26週目にプロトロンビン時間の統計学的に有意な短縮が認められたが、投与前にも認められた変化であり、検体投与と関連はないと考えられた。

血液生化学検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、全動物について以下の項目の測定を行った。

ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、グルコース、尿素、クレアチニン、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、コレステロール、トリグリセリド、アルカリフォスファターゼ (ALP)、アスパルタートアミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、クレアチニンキナーゼ (CK)、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT (γ -GTP))

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄									雌														
	10			100			1000			10			100			1000								
投与量 (mg/kg/day)																								
検査時期 (週)	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52						
コレステロール	↑125																							
尿素				↑135						↑147			↑147											
クレアチニン													↓87											
A/G比							↓80																	
トリグリセリド							↑152			↑166														
ナトリウム							↑102																	
ALP							↑253			↑273						↑212			↑226			↑278		

統計学的検体法；Dunn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。

1000mg/kg/day投与群で、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の統計学的に有意な上昇が雄で投与26及び52週時に、雌で投与13、26及び52週時に認められた。対照群に比べ ALPが高い値を示した原因は、対照群ではALP値が月齢に伴って低下したのに対し、1000 mg/kg/day投与群では投与開始前の値がほぼ維持されたためであり、このことは病理組織学的検査で認められた肝臓での胆管増殖が関連していると考えられた。

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

その他、統計学的に有意な変化として次のものが認められた。

10mg/kg/day投与群では、雄において投与13週目にコレステロールの増加、雌において投与13及び52週目に尿素の増加、26週目にトリグリセリドの増加が認められた。

100mg/kg/day投与群では、雄において投与26週目に尿素の増加、雌において投与13週目にクレアチニンの減少が認められた。

1000mg/kg/day投与群では、雄において投与52週目にナトリウムの増加、雌において投与26週目にA/G比の減少、トリグリセリドの増加が認められた。

これらの変化はいずれも軽度であり、用量との関連がないこと、個体別の値が背景データの範囲内にあることから検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

尿検査：投与開始前、投与13、26及び52週目に以下の項目を検査した。

定量項目：尿量、pH、比重

半定量項目：蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、亜硝酸塩、血液、ウロビリノーゲン

沈渣：白血球、赤血球、円柱、磷酸マグネシウムアンモニウム結晶、磷酸カルシウム結晶、碳酸カルシウム結晶、細胞

定性項目：外観、色

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄									雌								
	10			100			1000			10			100			1000		
投与量 (mg/kg/day)																		
検査時期 (週)	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52	13	26	52
比重																		

統計学的検定法；Dunnett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。

10mg/kg/day群の雌で、投与26週目に尿比重の有意な増加が認められた。しかしながら、その差は小さくまた用量との関連も認められないことから、検体投与との関係はないと考えられた。

眼科学的検査：投与開始前、投与13、26及び52週目に眼科学的検査を行った。

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：試験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、対体重比を算出した。

脳（髄質、脳橋、小脳皮質および大脳皮質を含む）、胸腺、上皮小体を含む甲状腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣、精巣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/day)		10	100	1000	10	100	1000
最終体重					↑ 119		
肝臓	絶対重量			↑ 133		↑ 140	
	対体重比						
脾臓	絶対重量			↑ 143			
	対体重比						
心臓	絶対重量				↑ 118		
	対体重比						
腎臓	絶対重量					↑ 112	
	対体重比						

統計学的検定法 ; Dunnett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。

1000mg/kg/day投与群の雄並びに100mg/kg/day投与群の雌で肝臓の絶対重量が有意に増加し、また、1000mg/kg/day投与群の雌でも雄と同程度の増加（対照群に対して+32%、統計学的有意差は無し）が認められた。肝臓の対体重比では有意差は認められないが、肝臓重量には一貫した増加傾向が認められることより、この変化は検体投与の影響と考えられた。

1000mg/kg/day投与群の雄で脾臓の絶対重量が有意に増加したが、対体重比に有意な差はなく、同群の雌では絶対重量及び対体重比共に増加は認められなかった。また、用量との関連もなく、関連した病理組織学的変化も認められないことから、検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

100mg/kg/day投与群の雌で腎臓の絶対重量の増加及び10mg/kg/day投与群の雌で心臓の絶対重量の増加が認められたが、軽度であり、対体重比に変化がないこと、用量との関連も認められないことから、生物学的意義のある変化ではないと考えられた。

肉眼病理検査：試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

諸臓器あるいは器官に変化が認められたが、頻度、例数ともに少なく、用量との関係が明確でなかった。認められた変化はいずれもこの月齢の実験用ビーグル犬に通常発生する変化であった。

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

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳、(髄質、脳橋、小脳皮質および大脳皮質を含む)、下垂体、眼球及び視神経、甲状腺(上皮小体を含む)、唾液腺(耳下および下顎)、胸腺、心臓、大動脈、肺(気管支を含む)、気管、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、膀胱、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎、腸間膜)、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(関節を含む)、脊髄(頸椎、胸椎、腰椎)、精巣、卵巣、精巣上体、前立腺、子宮(角及び頸)、膣、皮膚、乳腺、坐骨神経、骨格筋及び肉眼的病変の認められた組織

認められた主な病変を次に記す。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)		0	10	100	1000	0	10	100	1000
臓器	所見\検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓	胆管増殖	1			4		1		1
	炎症性細胞浸潤	3	3	3	4	4	3	4	4
	門脈周囲肝細胞空胞化					1			
腎臓	間質炎症性細胞浸潤	1						1	
	毛細血管鉍質沈着	4	4	2	4	4	4	3	3
	骨化成					1			1
甲状腺	濾胞拡張	1					1	1	

空欄は「0」を示す。

1000mg/kg/day投与群において、肝臓の胆管増殖が雄 2例(程度：軽微)、並びに雄 2例及び雌 1例(程度：軽度)に認められた。対照群では雄1例に認められた(程度：軽微)のみであったことから、その発現率及び障害の程度から検体投与による影響と考えられた。この変化は検体の胆汁排泄に関連したものと考えられた。

その他の病理組織学的所見は、実験用ビーグルに通常認められる変化であった。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する52週間経口投与毒性試験(カプセル投与)における影響として、1000mg/kg/day投与群で、肝臓の軽微～軽度の胆管増殖及びアルカリフォスファターゼ(ALP)の増加が認められた。従って、本剤の無毒性量は100mg/kg/dayであると判断された。