

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

#### VIII.1.8. 繁殖毒性及び催奇形性

##### 1) 繁殖毒性

##### ①ラットを用いた2世代繁殖毒性試験

(資料 2-13)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2002年

検体の純度：

供試動物：Crj:CD(SD) [IGS]ラット，1群雌雄各24匹，投与開始時P世代5週齢

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳時までの雌雄ともに18週間  
F1世代；離乳時からF2児離乳時まで雄18週間，雌19週間  
(2001年2月27日～2001年11月7日)

投与方法：検体を0，30，150及び750ppm含有した飼料を自由に摂食させた。

投与量の設定；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表1. にまとめた。

一般状態及び死亡率；P及びF1親動物については1日2回一般状態と死亡の有無を観察した。児動物は哺育期間中毎日一般状態と死亡の有無を観察した。また，親動物・児動物ともに体重を測定する際，個々の動物を手にとって詳細に観察した。

交配及び妊娠の確認；交配は投与第10週終了後の翌日から雄を交配用ケージに移し，雌は膣垢像観察して発情前期の日の夕刻に雄のケージに移し，1対1で同居させた。翌日から膣栓有無と精子により交尾を確認した(妊娠0日)。

妊娠の確認は分娩の有無または子宮内の着床痕の有無によって行った。

繁殖性に関する指標；交配，妊娠及び分娩時期の観察に基づき，次の指標を算出した。

雄の交尾率(%) = (交尾を認めた雄数/交配に用いた雄数) × 100

雌の交尾率(%) = (交尾を認めた雌数/交配に用いた雌数) × 100

交尾の平均日数 = 群毎の同居開始から交尾の証拠が得られた日までの日数

受胎率(%) = (妊娠雌数/交尾を認めた雌数) × 100

出産率(%) = (正常出産雌数/妊娠雌数) × 100

妊娠期間：交尾を認めた日から分娩完了までの日数

平均着床数：子宮内の着床痕の数から，各群の1腹当りに換算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

また、全てのP及びF1雄親動物から、剖検時に精巣精子頭部及び精巣上体精子を採取し、精子頭部数、精子数、運動性及び形態異常を調べた。

臓器重量測定；全てのP及びF1動物の、脳、甲状腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精嚢及び前立腺の重量を測定した。

病理組織学的検査；対照群と高用量群のP及びF1親動物10組について生殖器官（卵巣、卵管、子宮、膈または精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺及び前立腺）、下垂体および副腎の病理標本を作製し、鏡検した。

妊娠の証拠が得られなかった雌雄の組、分娩時に死亡した雌及び異常出産または全哺育児の死亡が認められた雌については、生殖器官、下垂体および副腎の病理組織学的検査を行った。

さらに、次の臓器については全群で病理組織学的検査を行った。

P世代：雌雄親動物の肝臓

F1世代：雌雄親動物の肝臓、雄親動物の精嚢、雌親動物の卵巣及び脾臓

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表1. 交配・調整・選抜および観察・検査項目の概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	育成(10週)		体重・摂餌量を週1回測定
			第8週終了後から発情周期観察
	交配	雌雄1対1で交配。交配は膣栓の有無と精子により確認(妊娠0日)	交配状況の観察 交尾率、同居開始から交尾までの平均日数
	妊娠		雌の体重妊娠0、7、14、20日に測定
	出産		分娩状況の観察
			受胎率、出産率、妊娠期間、着床数、新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児体重測定。
哺育(3週)	哺育4日に哺育児数が8匹になるよう無作為に選抜。	雌の体重哺育0、7、14、21日及び剖検日に測定 F1児は哺育0、4、7、14および21日に体重測定 哺育4及び21日に生存児数測定。 途中死亡及び哺育4日に選抜されなかったF1哺育児を剖検した。	
F1	離乳	群ごとに、21～27日齢のF1離乳児から雌雄それぞれ24匹を選抜。最も多く出産が見られた日を含む6日間に出産した腹から各性1-2匹を無作為に選抜	全てのP親動物及びF1世代親未選抜動物を剖検した。 対照群と高用量群のP親動物10組について病理組織学的検査。 全ての雄動物の精子検査 全群のP親動物の肝臓の病理組織学的検査 離乳児のうち原則各腹雌雄1匹の脳、脾臓、胸腺及び子宮重量測定
	育成(10週)		体重・摂餌量を週1回測定
			雄は包皮分離、雌は膣開口を観察
			第8週終了後から発情周期観察
	交配	雌雄1対1で交配。交配は膣栓の有無と精子により確認(妊娠0日)	交配状況の観察 交尾率、同居開始から交尾までの平均日数測定
	妊娠		雌の体重妊娠0、7、14、20日に測定
	出産		分娩状況の観察
受胎率、出産率、妊娠期間、着床数、新生児数、死産児数、外表異常、性別、同腹生存児体重測定。			
哺育(3週)	哺育4日に哺育児数が8匹になるよう無作為に選抜。	雌の体重哺育0、7、14、21日及び剖検日に測定 F2児は哺育0、4、7、14および21日に体重測定 哺育4及び21日に生存児数測定。 途中死亡及び哺育4日に屠殺した動物全てを剖検した。	
F2	離乳	群ごとに、21～27日齢のF1離乳児から雌雄それぞれ24匹を選抜。最も多く出産が見られた日を含む6日間に出産した腹から各性1-2匹を無作為に選抜	全てのF1親動物の剖検。 全ての雄F1動物の精子検査 対照群と高用量群のF1親動物10組について病理組織学的検査。 全群のF1雌雄親動物の肝臓、雄親動物精囊、雌親動物の卵巣及び脾臓の病理組織学的検査
	育成(25～27日齢)		体重・摂餌量を週1回測定 25～27日齢で剖検

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：概要を表 2. に示した。

i. P 及び F1 親動物の一般毒性

P 及び F1 世代親動物の 750ppm 投与群では、検体の投与に関連すると思われる中毒症状は認められなかったが、体重増加抑制と摂餌量の低下が認められた（表 3 及び 4.）。体重増加抑制は、P 雄と F1 雄ではそれぞれ投与開始後から 2 及び 4 週間、P 雌と F1 雌ではそれぞれ育成期間中（投与 1-10 週）と投与 10 週に認められた。P 雌では妊娠 20 日にも有意な体重増加抑制が認められた。また、逆に哺育第 3 週で通常みられる体重増加量の低下は P 雌でやや弱く、哺育 0-21 日の体重増加量は有意に高かった。摂餌量の低下は、P 雄ではみられなかったが、F1 雄の投与 1-4 週と 10 週、P 雌の妊娠 14-20 日及び F1 雌の投与 2 週に認められた（表 4.）。

検体の投与に関連した臓器重量の変化としては、肝臓の絶対重量及び体重比の増加または増加傾向が P 及び F1 世代の雌雄に、卵巣の絶対重量および体重比の増加が P 及び F1 雌にみられたほか（表 2.）、脾臓重量体重比の増加傾向が F1 雌に認められた。これらの臓器を病理組織学的に検査したところ、P 及び F1 雄の肝臓には小葉中心性肝細胞脂肪化、P 及び F1 雌の肝臓には小葉中心性肝細胞肥大、F1 雌の脾臓にはうっ血が高い頻度で観察された。卵巣については、重量増加と関連する所見はみられなかった。また、脳および腎臓絶対重量の低下が F1 親動物の雌雄に、下垂体絶対重量の低下および精嚢重量の体重比の増加が F1 雄親動物に認められた。脳と腎臓に関しては、剖検等で異常はみられなかったものの、胎児期に起きた全身性発育抑制を反映した変化とも考えられ、検体投与の影響の可能性があると考えられた。下垂体については病理組織学的異常がみられないことおよび下垂体ホルモンに連動して変化する精巣や副腎、甲状腺などに異常がみられないことから低体重に伴う変化と考えられた。また、精嚢重量体重比の高値に関しても、病理組織学的異常が認められない上、精巣や精巣上体、前立腺などの関連臓器の重量に変化が見られないことから偶発的な変化と考えられた。

ii. P 及び F1 親動物の繁殖能力（表 2-1.）

P 及び F1 世代の親動物の繁殖能力に関しては、30 及び 150ppm 投与群では検体投与の影響はみられなかった。750ppm 投与群では、雄親動物の性成熟、交尾能力及び精子形成に異常はみられなかった。しかし、雌親動物では、発情周期長の延長が P 雌で認められたほか、P 及び F1 ともに妊娠期間の延長と分娩時の死亡（P 雌 5 匹と F1 雌 4 匹）がみられ、出産率は有意に低下した。750ppm 投与群の交尾率、受胎率、平均着床数は対照群とほぼ同じであり、正常に分娩した雌では児の哺育も正常に行われた。

iii. F1 及び F2 児動物への影響

F1 及び F2 児動物に対する検体投与の影響は、30 及び 150ppm 投与群では認められなかった。一方、750ppm 投与群では、F2 児の哺育 0 日と 4 日における生存率の低下、F1 児雌雄ともに哺育 14 日と 21 日の体重がやや低く、F2 児雌雄では哺育 0 日、14 日及び 21 日に有意に体重が低かった（表 5.）。また、750ppm 投与群でみられる脳重量の有意な低下は、体重が小さいことによる影響と判断された。

脾臓重量体重比が雌雄の F1 及び F2 離乳児で増加した。このため、脾臓を病理組織学的に検査したが、異常は認められなかった。

以上の結果から、2 世代にわたって本検体を飼料中に混入して投与した場合 750ppm 投与群で、親動物の体重増加抑制、脳及び腎臓重量、肝臓および脾臓への影響がみられた。また、同じく 750ppm 投与群雌動物で妊娠期間の延長と分娩時の死亡がみられ、出産率が低下した。

したがって、ラット親動物における本検体の一般毒性的影響に関する中毒量は 750ppm（雄：平均 43.2 mg/kg/日、雌：平均 63.2 mg/kg/日）、無毒性量は 150ppm（雄：平均 8.49 mg/kg/日、雌：平均 12.88 mg/kg/日）と判断される。親動物の繁殖能力に対する無毒性量、ならびに F1 及び F2 児に対する無毒性量はいずれも 150ppm 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株式会社クレハにある。

表 2-1. 結果の概要 (P 及び F1 世代親動物)

世代		親:P				児:F1				検定方法	
投与量 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	#1	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
一般状態		投与に関連する症状は見られなかった				投与に関連する症状は見られなかった				#1	
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0	0	0	0	0	#1	
	雌	0	0	0	↑20.8	0	0	0	16.7		
最終平均体重 18W (g)	雄	578	562	577	575	628	614	609	590	#1	
	雌	307	309	303	304	346	345	344	324		
最終平均体重 18W 増加量 (g)	雄	432	416	430	429	542	528	524	513	#1	
	雌	190	192	186	187	265	264	266	252		
検体摂取量(平均) (mg/kg/day)	雄	0	1.73	8.49	43.2	0	1.81	9.05	45.7	#1	
	雌	0	2.54	12.88	63.2	0	2.51	12.67	62.1		
肉眼的病理検査		投与に関連する異常は見られなかった				投与に関連する異常は見られなかった				#2	
臓器重量(数値は対照に対する相対値(%))											
脳 (絶対)	雄									↓94	#1
	雌									↓93	
下垂体 (絶対)	雄									↓91	#1
	雌										
肝臓 (絶対) (体重比)	雄										#1
	雌				↑112						
	雄				↑106						
腎臓 (絶対)	雄									↑112	#1
	雌									↓91	
精囊 (絶対) (体重比)	雄									↓90	#1
	雌										
卵巣 (絶対) (体重比)	雄									↑114	#1
	雌				↑118					↑125	
病理組織学的検査	雄									↑134	#2
	雌										
肝臓:小葉中心性肝細胞脂肪化	雄				↑					↑	#2
	雌										
小葉中心性肝細胞肥大	雄									↑	#2
	雌				↑					↑	
脾臓:うっ血	雄										#2
	雌									↑	
繁殖能力											
平均発情周期長(日)		4.1±0.3	4.1±0.2	4.1±0.2	↑4.4±0.5	4.3±0.6	4.6±1.3	4.1±0.3	4.1±0.2	#3	
交尾率(%)	雄	100.0	100.0	100.0	100.0	95.8	100.0	95.8	100.0	#2	
	雌	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		
同居から交尾までの平均日数(日)		1.0±0.2	1.0±0.2	1.0±0.0	1.3±1.2	2.0±1.7	1.7±1.7	1.4±1.1	↓1.2±0.8	#3	
受胎率(=妊娠雌数/交尾を認めた雌数)		24/24	23/24	24/24	21/24	22/24	23/24	20/24	24/24	#2	
出産率(=正常出産雌数/妊娠雌数)		24/24	23/23	24/24	↓14/21	22/22	23/23	20/20	↓18/24		
妊娠期間(日)		222	223	224	↑230	224	223	223	227	#3	
着床数		14.4±1.8	14.3±2.1	14.3±1.5	13.4±3.6	13.5±3.7	14.0±3.3	14.9±1.6	13.5±2.7	#1	

検定方法:

#1 ①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01 ↑↓:P<0.001

#2 Fisherの直接確立計算法 ↑↓:P<0.05 ↑↓:P<0.01

#3 Mann-WhitneyのU検定法 ↑↓: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株式会社クレハにある。

表 2-2. 結果の概要 (F1 及び F2 児動物)

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2				検定方法
投与量 (ppm)		0	30	150	750	0	30	150	750	
親動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24	
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24	
児	平均産児数(匹)	13.3±2.4	13.4±2.8	13.3±1.5	11.8±3.5	11.7±3.6	13.0±3.2	13.9±1.7	10.3±4.1	#1
	生存児数(匹)	308	304	318	157	253	299	275	169	
	死産児数(匹)	10	4	1	8	4	1	3	↑16	#3
	臨床観察(哺育0日)									#3
	尾端部次失(匹)						1			
	下顎咬傷(匹)							1		
	臨床観察(哺育1-4日)									
	死亡(匹)									
	喰失(匹)	1	2	1	4	0	2	4	3	
	曲尾(匹)				1					
	尾の痂皮形成(匹)								1	
	尾端部次失(匹)						1			
	性比(雄/雌)		0.497	0.516	0.443	0.491	0.508	0.497	0.489	
動物	同腹生存児体重(g)	7.0±0.6	6.9±0.8	7.0±0.5	6.8±0.8	7.4±0.9	7.0±0.7	6.9±0.6	↓6.4±0.7	#1
	4日生存率(%)	99.7	99.5	99.7	96.3	100.0	95.4	98.5	88.5	#3
	21日生存率(%)	94.8	97.8	97.4	98.2	100.0	100.0	97.5	100.0	
	臍開口(日)	雌 31.1±1.1	30.9±1.5	31.1±1.8	31.2±1.4					
	包皮分離(日)	雄 40.8±1.4	40.8±1.6	41.0±1.5	41.7±2.5					
肉眼病理検査	雄	投与に関連する異常は見られなかった				投与に関連する異常は見られなかった				#3
	雌									
臓器重量(25-27日)(数値は対照に対する相対値(%))										
脳: 絶対重量	雄				↓93				↓95	#1
	雌				↓93				↓93	
脾臓: 体重比	雄				↑121					
	雌				↑115				↑115	
病理組織学的検査										
脾臓: 異常なし/検査数	雄	23/23	23/23	23/23	11/11	22/22	22/22	20/20	16/16	#3
	雌	22/22	23/23	24/24	12/12	22/22	22/22	20/20	16/16	

検定方法:

#1 ①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

↑↓: P<0.05    ↑↓: P<0.01    ↑↓: P<0.001

#2 Fisherの直接確率計算法    ↑↓: P<0.05    ↑↓: P<0.01

#3 Mann-WhitneyのU検定法    ↑↓: 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株式会社クレハにある。

表 3-1. 期間毎の平均体重 (g) の推移 (雄)

世代	投与量 (ppm)	育成期間																		繁殖期間						最終体重 (週)													
		投与 週:																		投与 週:																			
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18																			
P	0	146	206	264	318	361	398	430	453	473	488	500	513	527	537	544	557	565	574	578	4	10	15	20	25	29	33	36	37	39	41	42	45	45	46	48	49	49	48
	30	146	206	263	315	356	387	416	437	457	474	488	500	513	523	528	542	551	557	562	4	11	15	20	25	29	33	36	37	39	41	43	45	48	50	52	53	55	56
	150	146	202	259	315	356	391	421	447	467	484	500	512	522	534	542	555	562	571	577	4	9	14	18	20	24	27	31	33	35	38	37	38	38	42	41	43	44	44
	750	146	↓196	↓251	308	355	394	424	448	468	487	502	510	521	534	541	553	560	570	575	4	7	12	18	21	25	28	33	36	39	41	41	44	44	47	47	49	51	51
F1	0	86	140	205	272	334	381	422	455	484	508	529	542	560	573	585	596	609	619	628	10	13	15	18	21	25	31	35	38	40	42	42	45	45	45	48	48	49	50
	30	86	139	202	267	329	379	420	452	480	503	522	534	551	565	576	585	594	605	614	10	16	20	23	26	27	30	31	32	37	40	39	44	47	49	54	56	59	60
	150	86	137	199	263	325	373	412	445	473	494	512	528	546	558	569	578	589	601	609	7	12	15	19	23	27	31	33	37	39	42	45	48	51	53	55	56	58	
	750	↓77	↓123	↓181	↓238	↓299	↓355	↓397	↓427	↓452	↓474	↓491	↓505	↓523	↓536	549	560	568	579	590	8	11	14	17	22	25	30	32	36	39	40	42	44	47	49	52	54	56	58

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett 法または Scheffe 法 ② Dunnett 型または Scheffe 型順位和検定法

↓: P<0.05, ↓↓: P<0.01, ↓↓↓: P<0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 3-2. 期間毎の平均体重 (g) の推移 (雌)

世代	投与量 (ppm)	育成期間																	繁殖期間					最終体重 週
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	0	7	14	20	0	7	14	21				
P	0	117	150	175	196	214	229	243	252	261	266	272	275	305	336	410	300	329	338	311	307			
	4	6	9	8	9	11	12	13	14	12	15	15	15	15	16	18	21	20	18	18	16			
	30	117	150	174	198	216	231	245	259	267	271	279	284	310	341	411	302	330	335	310	309			
	4	8	10	10	13	16	18	23	24	24	25	29	29	27	29	36	27	24	25	23	23			
P	150	117	149	171	194	209	222	236	249	257	263	267	274	300	330	400	290	327	335	307	303			
	3	8	11	11	14	15	18	20	19	18	21	23	23	23	23	25	22	24	26	22	19			
	750	117	146	168	190	205	220	230	240	249	255	259	265	292	321	384	282	323	329	311	304			
	3	5	7	11	11	14	16	16	16	18	16	17	18	15	16	26	18	16	15	15	19			
F1	0	81	122	163	193	222	242	260	274	288	296	305	305	336	366	434	337	363	367	338	346			
	8	9	9	9	11	15	15	18	20	19	20	22	18	20	21	25	26	23	25	22	23			
	30	81	121	160	191	215	238	254	273	284	294	301	304	333	364	437	328	357	366	332	345			
	11	14	14	14	17	18	18	22	23	24	21	21	24	20	23	32	25	20	20	20	23			
F1	150	79	118	158	188	214	238	256	271	283	291	300	304	334	364	438	327	360	370	338	344			
	8	11	14	14	16	20	24	27	27	28	30	30	32	32	35	40	38	36	34	28	32			
	750	72	110	150	178	204	224	238	252	264	272	277	281	308	338	404	309	331	344	321	324			
	8	11	13	13	14	14	17	16	16	18	19	18	20	21	22	32	22	23	20	23	22			

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett 法または Scheffe 法 ② Dunnett 型または Scheffe 型順位和検定法

↓: P<0.05, ↓↓: P<0.01, ↓↓↓: P<0.001



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 3-3. 期間毎の平均体重増加量 (g) の推移 (雄)

世代	投与量 (ppm)	育成期間																		繁殖期間																		投与期間 0-18週
		投与週:																		投与週:																		
		0-1	0-2	0-3	0-4	0-5	0-6	0-7	0-8	0-9	0-10	0-11	0-12	0-13	0-14	0-15	0-16	0-17	0-1	0-2	0-3	0-4	0-5	0-6	0-7	0-8	0-9	0-10	0-11	0-12	0-13	0-14	0-15	0-16	0-17			
P	0	60	118	171	215	251	284	307	327	341	354	367	380	391	398	411	419	428	432	7	12	16	21	25	29	33	36	37	39	41	43	43	44	46	47	48	46	
	30	60	117	169	210	241	270	291	311	328	342	354	367	377	382	396	405	411	416	7	12	17	22	27	31	34	35	38	40	41	44	47	48	51	51	53	55	
	150	56	113	169	210	245	275	301	321	338	354	366	376	388	396	409	416	425	430	6	11	16	19	23	25	29	32	34	37	36	36	37	41	40	42	43	43	
	750	50↓	105↓	162	208	247	278	302	322	340	356	364	375	388	395	407	414	424	429	6	11	17	20	24	27	32	35	38	41	41	40	43	46	46	49	50	51	
F1	0	54	119	185	248	295	335	368	397	422	443	456	473	487	499	510	522	532	542	5	9	14	19	24	30	34	37	40	43	42	45	45	46	49	49	50	51	
	30	53	116	181	243	292	334	366	393	417	436	448	465	478	490	499	508	519	528	6	11	15	19	21	25	27	28	34	36	36	41	44	46	50	52	55	57	
	150	52	114	178	239	288	327	360	388	409	427	442	460	472	483	492	504	516	524	5	9	14	19	24	29	31	35	37	40	44	48	46	49	52	54	55	56	
	750	47↓	104↓	162↓	223↓	278	320	351	376	397	415	428	446	460	472	483	491	503	513	4	8	13	18	23	27	30	34	37	38	40	42	45	48	50	52	54	57	

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnnett法またはScheffe法②Dunnnett型またはScheffe型順位和検定法

↓: p ≤ 0.01   ↓↓: p ≤ 0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 3-4. 期間毎の平均体重増加量 (g) の推移 (雌)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間																							
		投与週										妊娠日										哺育日													
		0-1	0-2	0-3	0-4	0-5	0-6	0-7	0-8	0-9	0-10	0-7	0-14	0-20	0-7	0-14	0-21																		
P	0	33	58	79	97	112	126	135	144	149	155	30	61	135	29	39	12	190	5	7	9	11	12	12	13	13	15	15	8	11	16	12	17	12	15
	30	33	57	81	99	114	128	142	150	154	162	26	57	127	27	33	8	192	6	9	12	15	17	21	24	24	28	8	9	20	18	19	17	23	
	150	31	54	77	92	105	119	132	140	146	150	26	56	127	37	45	17	186	5	9	12	13	17	18	17	16	20	21	6	8	13	11	12	11	17
	750	29↓	51↓	73	88↓	103	113↓	123↓	132↓	137	142↓	26	55	118↓	40	47	29↑	187	4	6	10	13	15	15	17	15	15	8	8	21	13	17	17	18	
F1	0	41	81	112	141	160	179	193	206	215	223	31	61	129	26	30	1	265	4	8	11	14	16	19	22	21	22	24	8	12	22	16	17	15	26
	30	40	79	111	135	158	173	192	204	213	220	28	60	132	29	39	4	264	4	7	12	12	13	17	19	19	16	17	8	12	20	17	19	20	18
	150	39	79	109	135	159	177	192	204	212	221	30	60	134	34	44	11	266	4	9	12	15	19	23	23	24	26	26	8	12	17	17	18	20	29
	750	38	78	106	132	152	166	180	191	200	204↓	27	57	124	24	37	14	252	4	8	10	12	14	14	16	17	18	17	6	8	19	10	16	18	19

数値は上から、平均値、標準偏差  
 検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法  
 ↓:  $p \leq 0.05$  ↑:  $p \leq 0.01$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 4-1. 期間毎の平均摂餌量 (雄)

世代	投与量 (ppm)	繁殖期間																	
		育成期間									投与週:								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
P	0	19.7	22.0	24.2	24.5	24.9	24.9	24.7	24.6	23.9	23.6	-	23.9	23.9	23.7	23.4	23.7	23.4	-
		0.6	0.8	0.9	1.1	1.3	1.3	1.3	1.4	1.4	1.1	-	1.5	1.3	1.4	1.9	1.7	1.3	-
30	19.8	22.4	24.4	24.4	24.2	24.3	24.2	23.9	23.8	24.0	-	23.8	23.8	23.7	23.7	23.8	23.4	-	
		0.6	0.6	0.7	1.1	1.4	1.5	1.7	1.6	1.6	1.4	-	1.5	1.6	1.6	1.5	1.5	1.8	-
150	19.6	22.5	24.7	24.3	24.4	24.3	24.4	24.1	23.5	23.5	-	23.5	23.3	23.3	22.9	23.0	22.6	-	
		0.8	0.9	1.0	0.9	1.1	0.8	1.1	0.8	1.2	1.1	-	1.0	1.2	1.3	1.2	1.2	1.1	-
750	19.0	21.6	24.0	24.5	25.5	25.3	24.9	24.1	24.0	23.9	-	23.7	24.0	24.2	23.9	24.2	23.8	-	
		0.8	1.2	1.4	1.4	1.2	1.1	1.1	1.2	1.4	1.4	-	1.3	1.7	1.7	1.6	1.7	1.4	-
F1	0	13.9	19.4	23.7	26.1	26.7	26.0	25.9	25.9	25.2	25.0	-	24.7	25.0	24.7	24.9	24.8	24.6	-
		0.6	0.9	1.4	1.6	1.7	1.5	1.3	1.3	1.1	1.3	-	1.4	0.8	1.0	0.8	0.9	1.1	-
30	14.0	19.3	23.5	26.0	27.0	26.4	26.2	26.4	25.4	24.7	-	24.8	25.2	25.4	25.0	24.7	24.6	-	
		0.5	0.7	0.7	0.7	0.9	0.6	0.7	0.6	0.7	0.6	-	0.9	1.0	0.9	1.1	0.6	0.7	-
150	13.9	19.1	23.1	25.7	26.5	25.8	26.0	25.7	24.9	24.3	-	24.1	24.9	24.8	24.6	24.3	24.1	-	
		0.4	0.9	1.1	1.6	1.8	1.6	1.6	1.5	1.4	1.4	-	1.4	1.6	1.6	1.5	1.5	1.3	-
750	11.8 <sup>↓</sup>	17.2 <sup>↓</sup>	21.1 <sup>↓</sup>	23.6 <sup>↓</sup>	25.5	25.2	25.1	25.1	24.0	23.5 <sup>↓</sup>	-	24.5	25.3	24.5	24.9	24.2	24.4	-	
		0.5	0.8	1.1	1.3	1.0	0.8	0.8	0.8	1.0	0.8	-	0.7	0.6	0.6	0.7	0.7	0.8	-

数値は上から、平均値、標準偏差  
 検定法は①Dunnnett法またはScheffe法②Dunnnett型またはScheffe型順位和検定法  
 ↓: p ≤ 0.05    ↓↓: p ≤ 0.01    ↓↓↓: p ≤ 0.001

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 4-2. 期間毎の平均摂餌量 (雌)

世代	投与量 (ppm)	育成期間										繁殖期間					
		投与週:										妊娠日:					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	0-7	7-14	14-20	0-7	7-14	14-21
P	0	14.2	14.8	15.1	15.6	15.6	15.7	15.5	15.7	14.8	14.5	17.9	20.7	21.6	34.1	51.8	64.5
	0.3	0.4	0.4	0.6	1.0	0.8	0.9	0.5	0.9	0.6	0.6	2.5	1.9	1.8	4.6	4.0	4.8
	30	14.4	15.2	15.7	16.1	16.1	16.5	16.4	16.2	15.4	15.8	18.3	20.4	21.6	35.3	51.7	65.3
	0.8	0.7	0.8	0.9	1.1	1.3	1.4	1.2	1.1	1.2	1.2	2.4	2.0	2.1	5.8	6.5	8.3
	150	14.4	14.9	15.6	15.7	15.6	16.1	16.1	16.0	15.1	15.1	17.9	19.7	20.9	36.9	52.6	65.7
	0.4	0.8	0.8	0.8	0.8	0.6	0.4	0.8	0.7	0.9	0.9	2.3	1.8	1.7	4.7	6.6	7.3
	750	14.0	14.5	15.1	15.1	15.2	15.2	15.3	14.4	15.0	15.0	17.7	19.6	19.9↓	35.9	50.2	62.9
	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.5	0.9	0.9	0.7	0.9	0.9	1.6	1.5	2.0	4.9	6.7	10.4
F1	0	11.1	15.3	16.2	17.0	16.9	17.2	17.1	17.5	16.6	16.4	18.4	22.4	22.8	33.9	50.3	61.1
	0.5	0.6	0.6	0.9	0.9	0.9	1.0	1.1	1.2	1.0	1.0	1.9	2.8	2.1	5.4	8.1	10.3
	30	11.5	15.4	16.1	16.6	17.4	17.3	17.6	17.3	17.0	16.6	17.5	21.3	22.9	35.6	54.3	64.8
	0.7	0.7	0.9	0.8	0.9	1.0	1.0	1.0	1.1	0.8	0.7	2.1	2.2	2.5	5.1	4.8	6.3
	150	11.5	15.2	16.2	17.0	17.7	17.6	17.5	17.8	17.5	17.2	18.6	21.5	23.4	36.2	53.6	64.4
	0.6	0.7	1.2	1.2	1.3	1.3	1.4	1.2	1.6	1.0	1.0	1.2	2.4	2.8	5.0	3.7	4.2
	750	10.5	14.5↓	15.4	16.0	16.1	16.3	16.5	16.4	16.0	15.7	17.4	20.8	21.6	31.8	47.3	57.2
	0.4	0.4	0.4	0.5	0.6	0.5	0.7	0.6	0.7	0.6	0.6	2.0	2.1	2.3	5.6	9.2	12.2

数値は上から、平均値、標準偏差  
 検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法  
 ↓:  $p \leq 0.05$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

表 5. F1 及び F2 児の平均体重

同腹仔	投与量 (ppm)	雄哺育児体重 哺育日:					雌哺育児体重 哺育日:				
		0	4	7	14	21	0	4	7	14	21
F1児	0	7.0	11.3	18.7	39.0	63.3	6.6	11.0	18.2	38.1	61.4
		0.6	1.2	2.2	2.6	3.6	0.6	1.2	2.1	2.4	3.2
	30	6.9	11.8	19.5	39.9	64.8	6.6	11.2	18.4	38.2	61.7
		0.8	1.6	1.9	2.1	3.9	0.8	1.7	2.6	3.4	5.3
	150	7.0	11.5	18.9	39.4	65.2	6.7	11.2	18.5	38.0	62.2
		0.5	1.2	2.1	3.2	5.0	0.6	1.2	2.0	3.3	5.1
	750	6.8	11.7	18.2	37.5	60.5	6.4	10.8	17.5	35.9	57.4
		0.8	1.4	2.3	2.8	4.8	0.7	0.9	1.6	2.3	3.9
F2児	0	7.4	12.7	20.3	41.4	68.0	7.1	12.3	19.8	40.4	65.7
		0.9	2.1	2.6	3.3	6.3	0.9	2.0	2.4	3.0	4.8
	30	7.0	11.8	19.7	40.7	67.1	6.7	11.2	18.5	38.9	63.5
		0.7	1.3	1.9	2.7	4.6	0.7	1.4	2.2	3.0	4.4
	150	6.9	11.5	19.0	40.3	66.6	6.5	11.0	17.9	38.7	63.6
		0.6	1.2	1.8	3.3	5.4	0.7	1.3	2.0	3.4	5.1
	750	6.4↓	11.8	18.8	37.7↓	60.9↓	6.3↓	11.2	18.1	36.5↓	58.1↓
		0.7	1.4	1.7	3.1	4.5	0.5	1.3	2.0	3.6	5.3

数値は上から、平均値、標準偏差

検定法は①Dunnett法またはScheffe法②Dunnett型またはScheffe型順位和検定法

↓:  $p \leq 0.05$       ↓:  $p \leq 0.01$       ↓:  $p \leq 0.001$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

## 2) 催奇形性

### ①ラットにおける催奇形性試験

(資料 2-14)

試験機関:Huntingdon Life Sciences Ltd.

[GLP 対応]

報告書作成年:2002年

検体純度:

供試動物:Sprague-Dawley [Cr1:CD<sup>®</sup>(SD)IGS BR] ラット, 1群当り自然交配雌 22匹  
妊娠0日:9~10週齢, 体重 232~289 g

試験期間:動物試験期間 28日間 (2002年2月4日~3月3日)  
投与期間 妊娠6日から19日までの14日間

投与方法:検体を1%メチルセルロース溶液に懸濁し, 0, 1, 4, 16 または 64 mg/kg/日の用量で,  
妊娠6日から19日までの14日間毎日1回4 mL/kg 体重の容量で強制経口投与した(腔  
垢中精子または腔栓確認日を妊娠0日とした)。なお, 対照群の動物には媒体の1%メチ  
ルセルロース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:妊娠0~20日の間, 一般状態及び死亡について毎日少なくとも2回観察して所見を記録  
した。各雌の体重を妊娠0日, 3日, 6~20日に測定し, それらの体重値から体重増加  
量を算出した。各雌の摂餌量を妊娠0~2, 3~5, 6~9, 10~13, 14~17, 18~19日の  
期間について記録した。妊娠20日に母動物を安楽死させて剖検し, 妊娠の成否と肉眼  
による病理学的変化について調べた。卵巣と子宮を摘出して, 卵巣について黄体数を数  
え, 子宮については妊娠子宮重量, 着床数, 吸収・死亡胚数及び生存胎児数を記録した。

胎児:各生存胎児の体重を測定し, 性を判定して外表異常について検査した。各腹半数の胎児  
について, 未固定の状態の内臓を検査した。各腹残り半数の胎児を変性アルコールで固  
定した後, アリザリンレッドSとアルシアンブルーで骨・軟骨の二重染色を施した標本  
を作製し, 骨格の変化について検査した。構造の変化は, 下記のとおり分類した。

奇形:稀でおそらく致死性のもの(たとえば外脳症)。

異常:骨格検査(たとえば二分椎体)または内臓検査(たとえば尿管拡張)によっ  
て比較的頻繁に認められる「正常」との違い。

骨格変異:対照集団に恒常的に発生している代替的構造(たとえば腰肋や第5及び  
第6胸骨分節不完全骨化)。

本試験で“心室中隔膜性部の狭小な穿孔”と“心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔”  
が観察された(申請者注:明らかな母体毒性がみられた64 mg/kgに限られている)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

これらは心臓の膜性中隔と筋性中隔の結合部にみられる欠損である [W. J. Larsen 著 Human Embryology, Churchill Livingstone Inc., 1993, 157~158 頁参照]。“心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔”は、膜性中隔と筋性中隔の結合部の極めて狭小な穿孔で、細い毛で注意深く探って認められる程度の開存であり、胎児/新生児がさらに発育すれば存続するとは考えられないものであった。“心室中隔膜性部の狭小な穿孔”は、膜性中隔と筋性中隔の結合部の穿孔がやや大きいものの、やはり狭小な穿孔であり、出生後の生存に支障をきたすほど重篤ではなかった。したがって、これらは異常に分類した。

結果：概要を次ページ以下の表に示す。

64 mg/kg で母体毒性が明らかであった。投与開始後に体重減少または体重増加の停滞と摂餌量の減少が観察された。死亡が1例(妊娠18日に動物愛護の理由で屠殺)あったが、投与との関連は明確にできなかった。胎児への影響は、着床後胚死亡が明らかに増加し、早期及び後期胚吸収率の有意な増加によって生存同腹児数が有意に減少した。胎盤重量が有意に増加し、すべての胎盤に腫大、またいくつかには退色や斑紋もみられた。胎児体重は対照より有意に低かった。検体投与に関連する外表、内臓及び骨格の奇形は認められなかったが、心臓の異常(心室中隔膜性部の狭小な、あるいは極めて狭小な穿孔)、肋骨の異常・変異(頸肋、腰肋など)及び胸骨分節の異常・変異(異常配列、不完全骨化)の発生率が増加した。

(申請者注：心室中隔膜性部の狭小な異常を除き、これらの異常・変異の発生率の増加は統計学的に有意であった。4 mg/kg 投与群で仙椎・尾椎及び腸骨・坐骨・恥骨の骨化不全の胎児出現頻度が統計学的に有意に高かったが、16及び64 mg/kg 投与群で有意な増加がみられていないことから毒性学的意義はない。また、1または16 mg/kg 投与群で他(第5/第6以外)の胸骨分節不完全骨化及び頭蓋中心部の骨化不全の出現頻度にもみられた統計学的に有意な低値についても減少の変化であり、毒性学的意義はない。)

内臓検査で腎乳頭/腎盂、また軽度ながら尿管に緑色の“沈着”のある胎児が高頻度で観察された。この所見は、対照群または他の投与群では観察されず、背景対照にもみられていない。これらの胎児はブアン液で固定されていることから、この緑色沈着は固定処理に関連があると考えられる。選抜された胎児の顕微鏡による検査によって、沈着物はリポフスチン(脂質及びリポ蛋白の酸化による分解産物)であることが示されたが、胎児腎臓の構造に影響はないようであった。64 mg/kg 投与で胎盤が明らかに生理的ストレスを受けていることから、この所見は必ずしも直接的な胎児への影響を示しているわけではない。すべての胎盤が腫大しており、観察された胎盤重量の増加と一致した所見であり、また剖検時に多くが退色または斑紋を呈していた。これらの胎盤では老廃物の除去機能が落ちており、その結果腎盂内に残屑が蓄積する可能性があり、あるいはその物質は、胎盤移行中にまたは羊水を経て受け取られている胎盤由来の可能性もある。16 mg/kg/日で、胎盤は剖検時に肉眼的には正常なようであり、対照よりわずか5%重いだけであった。すなわち16 mg/kg/日以下の用量では、母動物及び胎児におけるすべての試験成績は、本質的に対照と同様であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

母動物：

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64		
1群当り交配雌動物数	22	22	22	22	22		
死亡雌動物数	0	0	0	0	1		
生存雌動物数	22	22	22	22	21		
妊娠雌動物数	22	22	22	22	22		
生存胎児のある雌動物数 (帝王切開時)	22	22	22	22	21		
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	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 7-20 日		
補正体重 <sup>a</sup> (g)	329	333	334	323	↓299		
体重増加量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 7-20 日		
補正体重増加量 <sup>a</sup> (g)	38	41	42	33	↓11		
摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 6-19 日		
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 <sup>a</sup> (g)	85.7	85.6	85.5	91.6	↓77.0		
着床所見	検査腹数	22	22	22	22	21	
	黄体数 <sup>a</sup>	15.9	16.0	15.7	16.6	15.5	
	着床数 <sup>a</sup>	15.7	15.5	15.5	15.9	15.4	
	胚死亡率 <sup>a</sup> (%)						
		着床前	2.9	4.7	3.3	4.2	2.0
		着床後	4.4	6.1	3.3	3.6	↑17.7
	腹当り吸収胚数 <sup>a</sup>						
		早期	0.7	1.0	0.5	0.5	↑1.6
		後期	0.0	0.0	0.0	0.0	±1.0
	生存胎児数 <sup>a</sup>	15.0	14.5	15.0	15.3	↓12.8	
	性比(%雄) <sup>a</sup>	48.1	51.1	49.7	49.3	50.8	
	同腹児重量 <sup>a</sup> (g)	54.20	54.64	54.66	56.39	↓38.55	
	胎児体重 <sup>a</sup> (g)：雄	3.73	3.87	3.75	3.79	↓2.99	
雌		3.55	3.63	3.58	3.58	↓2.95	
胎盤重量 <sup>a</sup> (g)	0.55	0.55	0.55	↑0.58	↑0.80		

<sup>a</sup> 平均

Williams 検定：体重，補正体重，体重増加量，補正体重増加量，摂餌量，妊娠子宮重量，黄体数，着床数，胚死亡率，腹当り吸収胚数，生存胎児数，性比，同腹児重量，胎児体重，胎盤重量  
 ↑↓：p<0.05，↑↓：p<0.01，±：p<0.001 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株式会社クレハにある。

結果：

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64
外表所見：検査胎児(腹)数	329 (22)	320 (22)	329 (22)	337 (22)	268 (21)
奇形：					
尾無発生，鎖肛	0	0	0	1	0
痕跡/糸状尾，鎖肛	0	0	0	0	2(2)
内臓所見：検査胎児(腹)数	163 (22)	159 (22)	163 (22)	168 (22)	136 (21)
奇形：					
上行大動脈転位/肺動脈幹背方偏位/心室中隔欠損	0	0	0	1	0
食道後大動脈弓	0	1	0	0	0
重複後大静脈	0	1	0	0	0
横隔膜ヘルニア	0	0	0	0	1
異常：					
眼，大きさの変異	0	0	2(1)	0	3(2)
眼，水晶体不整	0	1	0	0	1
甲状腺，小型葉	0	1	1	1	0
食道，右側	0	0	0	0	1
胸腺，部分的下降不全	2(2)	2(2)	5(4)	2(2)	1
腕頭動脈，欠損/痕跡的	3(2)	0	2(2)	0	5(3)
鎖骨下動脈，起始変異	0	0	0	0	2(2)
心臓，心室中隔膜性部の狭小な穿孔	0	0	0	0	3(3)
心臓，心室中隔膜性部の極めて狭小な穿孔	0	0	0	0	↑8 (↑6)
横隔膜，肝臓突出を伴う菲薄化	6(4)	1	4(4)	3(3)	1
肝臓，過剰葉	2(2)	1	1	1	3(3)
肝臓，葉の形態異常	0	0	0	0	1
腎臓，腎乳頭痕跡的/欠損	4(4)	0	2(2)	0	0
尿管，拡張	1	1	0	0	4(2)
腎臓/尿管，緑色沈着物	0	0	0	0	↑61 (↑20)
精巣，位置異常	3(3)	8(5)	4(4)	1	8(7)
臍動脈，左側	2(2)	2(2)	0	3(2)	2(2)

括弧内の数値は腹数を表す。

Fisher の直接確率計算法またはカイ二乗検定：胎児の外表，内臓所見

↑：p<0.01，↑↑：p<0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり（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株式会社クレハにある。

結果：  
胎児；

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64
骨格所見：検査胎児(腹)数	166 (22)	159 (22)	165 (22)	167 (22)	129 (21)
<b>奇形：</b>					
外脳症；小顎症/下顎骨癒合；底蝶形骨奇形；底後頭骨，頸椎～第4胸椎(軟骨)分離/部分的分離	0	0	1	0	0
正常脊柱末端腰部で停止/後肢回転異常	0	0	0	0	1
正常脊柱末端腰部で停止	0	0	0	1	1
<b>異常/変異：</b>					
頭蓋，縫合骨	1	0	3(3)	0	0
頭蓋，頭頂間骨二分骨化	0	0	0	0	1
椎骨，胸椎異常	1	1	0	1	4(4)
胸椎軟骨，不完全癒合	1	1	0	0	0
肋骨，肥厚/屈曲	4(2)	1	2(2)	1	0
胸骨分節，配列異常	1	0	0	1	1
肋軟骨，配列異常	0	0	0	0	1
剣状突起軟骨，穿孔	4(4)	4(3)	6(5)	2(2)	4(3)
頸肋	2(2)	0	0	1	↑25(↑12)
第13肋骨短小/肋軟骨欠損	0	1	0	0	0
完全第14肋骨/肋軟骨	0	0	0	0	2(2)
過剰仮肋(1)/遊離肋骨/肋軟骨欠損(1)	7(5)	5(4)	4(4)	4(4)	2(1)
仮肋欠損(1)/過剰遊離肋骨/肋軟骨(1)	1	0	2(2)	1	↑7(5)
胸骨への結合のない第7肋軟骨	2(2)	3(1)	4(3)	3(2)	2(1)
軟骨性棘突起の方向尾方へ転換	2(1)	1	1	1	4(3)
胸椎・腰椎数 20	0	0	0	0	3(2)
胸椎・腰椎数 21	1	0	0	0	0
後肢帯配列異常	0	0	0	0	2(2)

括弧内の数値は腹数を表す。

Fisher の直接確率計算法またはカイ二乗検定：胎児の骨格所見

↑：p<0.05，↑↑：p<0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり（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株式会社クレハにある。

結果：

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	0	1	4	16	64
骨格所見：検査胎児(腹)数	166 (22)	159 (22)	165 (22)	167 (22)	129 (21)
<b>変異：</b>					
肋骨数 13/14 または 14/14 (腰肋)	22 (10)	13 (8)	29 (15)	28 (13)	↑62 (↑18)
第 5/第 6 胸骨分節不完全骨化	109 (21)	100 (22)	105 (21)	93 (21)	↑109 (21)
他(第 5/第 6 以外)の胸骨分節不完全骨化	8 (6)	2 (↓1)	3 (2)	↓1 (↓1)	↑16 (11)
<b>骨化不全：</b>					
頭蓋中心部	21 (11)	11 (6)	25 (9)	↓3 (↓2)	↓6 (↓3)
頸椎	2 (2)	0	3 (2)	1	0
胸椎	3 (3)	1	3 (3)	6 (6)	6 (4)
腰椎	0	0	0	0	1
仙椎・尾椎	10 (8)	16 (7)	↑27 (8)	3 (2)	3 (2)
腸骨・坐骨・恥骨	2 (2)	4 (2)	↑11 (6)	2 (1)	1
中手骨/中足骨	1	0	4 (3)	0	0
全骨格	1	1	0	0	3 (2)

括弧内の数値は腹数を表す。

Fisher の直接確率計算法またはカイ二乗検定：胎児の骨格所見

↑↓：p<0.05, ↑↓：p<0.01, ↑↓：p<0.001 で対照群と比較して統計学的に有意差あり（申請者実施）

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したときの母動物及び胎児動物における無毒性量は両方とも 16 mg/kg/日であった。64 mg/kg/日では、心臓の異常（心室中隔膜性部の狭小な、あるいは極めて狭小な穿孔）、肋骨の異常・変異（頸肋、腰肋など）及び胸骨分節の異常・変異（異常配列、不完全骨化）の発生率が増加した。しかし、奇形の誘発はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

②ウサギにおける催奇形性試験

(資料 2-15)

試験機関：Argus Research Laboratories, Inc.

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

検体純度：

供試動物：New Zealand White [Hra:(NZW)SPF] ウサギ，1 群当り自然交配雌 25 匹

妊娠 0 日：約 6 ヶ月齢，体重 3.01～4.60 kg

試験期間：動物試験期間 29 日間（1996 年 11 月 15 日～12 月 13 日）

投与期間 妊娠 6 日から 28 日までの 23 日間

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース溶液に懸濁し，0，5，10，20 または 40 mg/kg/日の用量で，妊娠 6 日から 28 日までの 23 日間毎日 1 回ほぼ同時刻に，10 mL/kg 体重の容量で胃管を用いて強制経口投与した（交配日を妊娠 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；妊娠 0～28 日の間，一般状態及び死亡について毎日少なくとも 2 回（投与期間中は投与の前後にそれぞれ少なくとも 1 回）観察して所見を記録した。各雌の体重を妊娠 0 日と 6 日から 29 日までの毎日記録し，それらの体重値から体重増加量を算出した。各雌の摂餌量を妊娠 6 日から 29 日まで毎日記録し，絶対値（g/日）と相対値（g/kg 体重/日）で表した。妊娠 29 日に，母動物から採血して血液学的検査（赤血球数，ヘマトクリット，血色素，平均赤血球容積，平均血色素量，平均血色素濃度，白血球数，類別白血球数，血小板数，平均血小板容積，網赤血球数，赤血球形態）と生化学的検査（アルブミン，アルカリホスファターゼ，総ビリルビン，クレアチニン，尿素窒素，カルシウム，塩素，総コレステロール，クレアチニンホスホキナーゼ， $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ，血糖，無機リン，カリウム，総蛋白，アラニンアミノトランスフェラーゼ，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ，ナトリウム）を行った。採血後母動物を安楽死させて剖検し，妊娠の成否と肉眼による病理学的変化について調べた。すべての雌の肝臓重量を測定し，対照群と 40 mg/kg 群の雌の肝臓について病理組織学的検査を行った。卵巣と子宮を摘出して，卵巣については妊娠黄体数を数え，子宮については妊娠子宮重量，着床数，吸収・死亡胚数及び生存胎児数を記録した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

胎児： 各生存胎児の体重を測定し、外表の変化について肉眼で検査した後、内臓を検査した。その際内部生殖器官を観察して性を判定し、性比(総雄胎児数/総生存胎児数)を算出した。各腹で半数の胎児の頭部を切断し、標準的な連続切片法に準じて軟組織の変化について調べた。各腹残りの胎児の頭部は、頭蓋中央部の脳の断面を検査した。すべての胎児(半数の頭部を除く)をイソプロピルアルコールで固定した後、アリザリンレッドSとアルシアンブルーで骨・軟骨の二重染色を施した標本を作製し、骨格の変化について検査した。胎児変化は、奇形(本動物種および系統において低い発生率で起こる不可逆的な変化)または変異(本動物種および系統において普通の所見であり、発生における可逆的な遅延または加速)に分類した。

結果：概要を次ページ以下の表に示す。

対照群の雌1匹が妊娠12日に、40 mg/kg群の雌1匹が妊娠24日に死亡したが、投与(挿管)の事故によるものであった。対照群の雌1匹が妊娠20日に、20 mg/kg群の雌1匹が妊娠24日に流産したが、検体投与との関連はなかった。検体投与によると思われる臨床所見もなかった。

40 mg/kg群でのみ以下の変化が認められた。体重が妊娠24~29日に減少した(20 mg/kg群で妊娠0~29日の体重増加量に統計学的に有意な低値がみられたが、これは投与開始前期間の妊娠0~6日における体重増加量が低かったことによるものであり、検体投与に関連したものではなかった)。妊娠子宮重量は、対照と比較して減少傾向を示した。この所見は、やや少ない生存同腹児数に関係があり、胚死亡率の軽度ながら統計学的に有意な増加と胎児体重の軽度な減少を反映していた。妊娠子宮重量で補正した母動物の体重増加量と全投与期間(妊娠6~29日)を通した母動物の体重増加量は影響を受けなかった。摂餌量(絶対値と相対値)は、妊娠24~29日に減少する傾向がみられ、妊娠19~29日については軽微に減少した(有意差なし)。血色素、ヘマトクリット及び平均赤血球容積が対照と比較して軽度ながら有意に減少し、血小板数とアルカリホスファターゼ活性の値が有意に増加した。肝臓の病理組織学的変化は認められなかったが、絶対重量と最終体重に対する重量比に増加傾向がみられた。肝臓重量の増加は、検体の予想される毒性影響であることから、検体投与の影響と考えられた。

胚吸収のある腹と腹当りの死亡・吸収胚の率が統計学的に有意に増加した。それに関連して生存胎児数のわずかな減少ならびに胎児体重の減少もみられた。これらの数値はどれも背景対照データの範囲内にあるものの、胚・胎児の生存力と成長におけるこれらの軽微な変化は、高用量群でのみ、また予備試験の同用量でもみられていることから、検体投与によるものと考えられた。

検体投与に起因する胎児の肉眼的外表、軟組織または骨格の奇形または変異は、40 mg/kg/日の用量まで何も誘発されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

母動物：

投与量 (mg/kg/日)	0	5	10	20	40
1群当り交配雌動物数	25	25	25	25	25
死亡雌動物数	1*	0	0	0	1*
流産(屠殺)雌動物数	1	0	0	1	0
生存雌動物数	23	25	25	24	24
非妊娠雌動物数	0	1	1	1	1
妊娠雌動物数	25	24	24	24	24
生存胎児のある雌動物数 (帝王切開時)	23	24	24	23	23
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	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	有意差なし
補正体重 <sup>a</sup> (kg)	3.64	3.63	3.68	3.58	3.63
体重増加量	—	有意差なし	有意差なし	↓妊娠 0-29 日	有意差なし (妊娠 24-29 日に減少)
摂餌量	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	有意差なし (妊娠 19-29 日微減, 妊娠 24-29 日減 少傾向)
血液学的成績 <sup>b</sup>					
血色素(mg/dl) <sup>a</sup>	12.10	11.99	12.42	12.33	↓11.33
ヘマトクリット(%) <sup>a</sup>	34.80	34.76	35.75	35.83	↓32.64
平均赤血球容積(fl) <sup>a</sup>	66.11	66.22	65.64	65.49	↓63.76
血小板(thsn/ul) <sup>a</sup>	369.9	373.7	410.2	365.8	↑459.1
血液生化学的成績 <sup>b</sup>					
アルカリホスファターゼ (u/l) <sup>a</sup>	29.4	35.1	32.1	37.2	↑63.0
剖検所見	—	検体投与に起因する異常は認められなかった			
肝臓重量 絶対重量 <sup>a</sup> (g)	96.6	96.7	96.3	98.4	108.8
%体重比 <sup>a</sup>	2.320	2.320	2.292	2.438	2.665
妊娠子宮重量 <sup>a</sup> (g)	522.8	529.9	517.9	477.4	462.0

<sup>a</sup> 平均

<sup>b</sup> 統計学的有意差のみられた項目のみ

Dunnett 検定：体重，体重増加量，摂餌量，血液学的成績，血液生化学的成績，肝臓重量，妊娠子宮重量

Kruskal-Wallis 検定または Fisher の直接確率計算法：一般状態，剖検所見

↑↓：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

\*：投与事故による死亡

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

胎児：

投与量 (mg/kg/日)		0	5	10	20	40
着床所見	検査腹数	23	24	24	23	23
	妊娠黄体数 <sup>※</sup>	9.3	9.4	9.2	9.1	8.9
	着床数 <sup>※</sup>	9.0	9.2	9.2	8.5	8.7
	胚吸収のある腹数 (%)	5 (21.7)	3 (12.5)	7 (29.2)	8 (34.8)	13 (↑56.5)
	腹当り死亡・吸収胚率 <sup>※</sup> (%)	2.5	1.5	3.8	7.2	↑12.4
	生存胎児数 <sup>※</sup>	8.8	9.1	8.8	8.0	7.7
	性比(%雄) <sup>※</sup>	49.8	51.9	47.0	54.5	57.6
	胎児体重 <sup>※</sup> (g)：雄 雌	42.97 42.38	42.19 41.37	43.09 41.49	42.90 41.63	40.70 39.32
変化胎児のある腹数 (%)	11 (47.8)	11 (45.8)	12 (50.0)	9 (39.1)	8 (34.8)	
変化のある胎児数 (%)	13 (6.4)	21 (9.6)	17 (8.0)	15 (8.2)	13 (7.3)	
腹当り変化胎児 (%) <sup>※</sup>	6.0	10.5	7.8	7.3	7.4	
<b>外表変化：</b>						
検査胎児(腹)数	202(23)	219(24)	212(24)	183(23)	177(23)	
<b>奇形：</b>						
二分脊椎/角膜周囲出血	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	
短尾	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	
<b>変異：</b>						
皮膚出血部	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	
<b>内臓変化：</b>						
検査胎児(腹)数	202(23)	219(24)	212(24)	183(23)	177(23)	
<b>奇形：</b>						
側脳室拡張	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)	
<b>変異：</b>						
角膜周囲出血	2(2)	5(5)	1(1)	0(0)	1(1)	
肺中間葉欠損	1(1)	7(4)	4(2)	4(4)	2(2)	
胆嚢欠損	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	
低位置腎臓	0(0)	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)	

※ 平均

外表変化以下の括弧内の数値は腹数を表す

Dunnett 検定：妊娠黄体数，着床数，生存胎児数，胎児体重

Kruskal-Wallis 検定または Fisher の直接確率計算法：胚吸収のある腹(%), 腹当り死亡・吸収胚率, 性比, 胎児変化

↑：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株式会社クレハにある。

結果：

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	0	5	10	20	40
<b>骨格変化：</b>					
検査胎児(腹)数	202(23)	219(24)	212(24)	183(23)	177(23)
<b>奇形：</b>					
胸椎半椎	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)
胸椎椎体片側性骨化/ 癒合	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
腰椎椎弓癒合/開放	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)
尾椎配列不整	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
尾椎数 13/癒合	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
二分肋骨	0(0)	0(0)	1(1)	0(0)	1(1)
癒合肋骨	0(0)	1(1)	0(0)	2(2)	1(1)
<b>変異：</b>					
頭蓋不完全，不整骨化	4(4)	0(0)	3(3)	4(3)	2(2)
舌骨翼角状	3(3)	2(1)	4(3)	1(1)	1(1)
頸肋	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(2)
肥厚肋骨	2(1)	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)
近接，過剰肋骨	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)
第一胸骨分節不完全 骨化	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	1(1)
胸骨分節癒合	1(1)	2(2)	0(0)	4(3)	1(1)
胸骨分節非対称	0(0)	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)
肩甲骨肩峰不整形	0(0)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)

括弧内の数値は腹数を表す



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社クレハにある。

結果：

胎児：

投与量 (mg/kg/日)	0	5	10	20	40
骨化部位(骨化数) <sup>a</sup> ：					
舌骨	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
頸椎	7.00	7.00	7.05	7.00	7.00
胸椎	12.57	12.63	12.57	12.49	12.48
腰椎	6.42	6.36	6.40	6.51	6.51
仙椎	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
尾椎	16.83	16.69	16.86	16.65	16.72
肋骨	12.49	12.57	12.53	12.43	12.42
胸骨柄	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
胸骨分節	3.92	3.94	3.88	3.91	3.93
剣状突起	0.98	0.94	0.96	0.98	0.96
手根骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
中手骨	5.00	5.00	4.99	5.00	5.00
手指	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
指骨	13.85	13.90	13.88	13.95	13.93
足根骨	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
中足骨	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
足指	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
趾骨	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00

<sup>a</sup> 腹当りの平均

括弧内の数値は腹数を表す

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母動物及び胎児における無毒性量はともに 20 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 40 mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。