

4. 反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

1) 反復投与毒性

被験物質投与期間	雄:2005年6月1日～2005年7月12日[計42日間], 雌(試験群):2005年6月1日～2005年7月26日[計44～56日間] 雌(回復群):2005年6月2日～2005年7月13日[計42日間]																
使用動物種・系統	ラット, Crl:CD(SD)					1群当たりの動物数											
投与経路	強制経口投与					対照群, 低用量群, 中用量群, 高用量群: 雄各12匹, 雌各12匹 (回復群: 対照群, 中用量群, 高用量群; 雌雄各6匹, 低用量群; 雄6匹)											
被験物質の純度 99.9%	投与量	対照群		低用量群		中用量群		高用量群		回復群							
	(mg/kg)	0		62.5		250		1000		0		62.5		250		1000	
	性別	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
体重変化				—	—	—	—	—	—			—	*	—	—	—	—
摂餌量				—	—	—	—	—	—			—	*	▽ ^{a)}	—	—	—
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
機能観察所見(N) FOB 立ち上がり		12	12	12	12	12	12	12	12	*	6	*	*	*	6	*	6
感覚反応				—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	*	*	*	*
握力				—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	*	*	*	*
自発運動量				—	—	▽ ^{a)}	—	—	—	*	*	*	*	*	*	*	*
尿所見				—	—	—	—	—	—	—	—	—	*	—	—	—	—
血液学的所見(N) 平均赤血球血色素濃度		6	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	*	6	6	6	6
血小板数				—	—	—	—	—	—			—	*	—	▲ ^{a)}	—	—
リンパ球率				—	▼ ^{a)}	—	▽ ^{a)}	—	—			—	*	—	—	—	—
好中球率				—	—	—	—	—	—			—	*	—	—	—	△ ^{a)} ▽ ^{a)}
血液生化学的所見(N) TP		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	*	6	6	6	6
T-Bil				▽ ^{a)}	—	—	—	—	—			—	*	—	—	—	—
Cl				▽ ^{a)}	—	—	—	▽ ^{a)}	—			—	*	—	—	—	—
肉眼的所見 例数 (N)		6	12	6	12	6	12	6	12	6	6	6	*	6	6	6	6
精巣上体尾部 黄白色結節		1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	*	—	—	—	—
器官重量変化(N) 絶対重量 卵巣		6	11	6	12	6	12	6	11	6	6	6	*	6	6	6	6
相対重量 胸腺		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	*	—	▽ ^{a)}	—	—
相対重量 卵巣		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	*	—	▽ ^{a)}	—	—

*: 検査せず.

—: 変化なし, あるいは対照群との間に有意差なし.

△▽: 5%有意差. ▲▼: 1%有意差.

a): 毒性学的影響ではないと判断.

投与量 (mg/kg)	対照群	低用量群	中用量群	高用量群
	0	62.5	250	1000
性別	♂	♂	♂	♂
Grade	— ± +~	— ± +~	— ± +~	— ± +~
病理組織学的所見 投与期間終了時				
肺 泡沫細胞の集簇 (N)	4 2 0	* * *	* * *	5 1 ^{a)} 0
空腸 パイエル氏板の鉍質沈着 (N)	6 0 0	* * *	* * *	5 1 ^{a)} 0
精巣上体 リンパ細胞浸潤 (N)	5 1 0	* * *	* * *	6 0 0
片側性精子肉芽腫 (N)	5 1 0	* * *	* * *	6 0 0
前立腺 リンパ細胞浸潤 (N)	6 0 0	* * *	* * *	5 1 ^{a)} 0
性別	♀	♀	♀	♀
Grade	— ± +~	— ± +~	— ± +~	— ± +~
病理組織学的所見 投与期間終了時				
空腸 パイエル氏板の鉍質沈着 (N)	6 0 0	* * *	* * *	5 1 ^{a)} 0
脾臓 髄外造血 (N)	3 3 0	* * *	* * *	5 1 ^{a)} 0
眼球 右網膜異形成 (N)	6 0 0	* * *	* * *	5 1 ^{a)} 0
NOEL	雄: 1000 mg/kg/day を超える. 雌: 1000 mg/kg/day を超える.			
NOEL の推定根拠 とした変化	雄では, 1000 mg/kg 投与でいずれの項目にも影響が認められなかったため. 雌では, 1000 mg/kg 投与でいずれの項目にも影響が認められなかったため.			

* NOEL: no observed effect level

—: 変化なし, ±: ごく軽度, +~: 軽度, 中等度, 高度.

a): 毒性学的影響ではないと判断.

2) 生殖発生毒性

投与量	対照群	低用量群	中用量群	高用量群
(mg/kg)	0	62.5	250	1000
親動物				
発情回数	3.1	3.5	3.4	3.3
交尾率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0
受胎率(%)	91.7	100.0	100.0	91.7
妊娠黄体数	16.4	15.6	17.3	16.5
着床数	14.4	15.0	15.7	15.4
着床率(%)	88.0	96.3△ ^{a)}	90.3	93.7
妊娠母獣数	11	12	12	11
生児出産母獣数	11	12	12	11
出産率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0
妊娠期間	22.3	22.5	22.3	22.3
新生児				
総出産児数	13.8	13.8	14.0	14.7
分娩率(%)	95.2	89.7	85.5▽ ^{a)}	93.5
児の出産率(%)	95.3	89.7	85.5▽ ^{a)}	93.5
生存児数 (哺育 0 日)	13.6	13.4	13.4	14.4
出生率(%)	98.9	97.0	95.8	97.5
性比 (♂/♀, 哺育 0 日)	1.06	1.34	2.24	1.21
生存児数 (哺育 4 日)	13.5	13.1	13.3	14.2
生存率(%)	98.6	97.5	98.9	98.7
性比 (♂/♀, 哺育 4 日)	1.06	1.43	2.25	1.21
体重 (哺育 0 日)		—/—	—/—	—/—
体重 (哺育 4 日)		—/—	—/—	—/—
外表異常所見 (N)	—	—	—	無尾 (1) ^{b)}
剖検所見 (N)	—	—	腹腔内器官の欠損 (1) ^{b)}	—
NOEL	親動物: 雌雄ともに 1000 mg/kg/day を超える。 児動物: 1000 mg/kg/day を超える。			
NOEL の推定根拠 とした変化	雄では, 1000 mg/kg 投与でいずれの項目にも影響が認められなかったため。 雌では, 1000 mg/kg 投与でいずれの項目にも影響が認められなかったため。 児動物では, 1000 mg/kg 投与で生存性及び体重などに影響が認められなかったため。			

* NOEL: no observed effect level

—/—: ♂/♀

交尾率(%) = (交尾確認動物数/交配動物数) × 100

受胎率(%) = (妊娠確認動物数/交尾確認動物数) × 100

着床率(%) = (着床数/妊娠黄体数) × 100

出産率(%) = (新生児出産母獣数/妊娠母獣数) × 100

妊娠期間 = 哺育 0 日[分娩確認日] (年月日) - 妊娠 0 日 (年月日)

分娩率(%) = (総出産児数/着床数) × 100

児の出産率(%) = (哺育 0 日新生児数/着床数) × 100

出生率(%) = (哺育 0 日生存児数/総出産児数) × 100

生存率(%) = (哺育 4 日生存児数/哺育 0 日生存児数) × 100

—: 変化なし, あるいは対照群との間に有意差なし。

△▽: 5%有意差。

a): 毒性学的影響ではないと判断。

b): 偶発例と判断。

被験物質名：ブメトリゾール(CAS No.3896-11-5)

試験系：CrI:CD(SD)雌雄ラット(SPF)

試験委託者：厚生労働省 医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

試験施設：株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地

試験目的：当試験は、ブメトリゾールが継続的に人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、ブメトリゾールを雌雄ラットに反復経口投与し、毒性学的影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎及び分娩などの雌雄動物の生殖行動に及ぼす影響を検討した。

準拠したガイドライン：

OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeat Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (422)

遵守した GLP：

新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準

(平成15年11月21日，薬食発第1121003号，平成15・11・17製局第3号，環境企発第031121004号)

OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE

(OECD 化学物質の安全性試験の実施に関する基準)

遵守した動物の福祉に関する法令など：

「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和48年10月1日法律第105号，平成11年12月22日改正)，「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和55年3月27日総理府告示第6号，平成14年5月28日一部改正)，「動物実験に関する指針」(昭和62年5月22日社団法人日本実験動物学会)及び株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所「動物実験倫理委員会規則」

試験開始日：2005年5月6日

試験終了日：2007年1月30日

要約

ブメトリゾールのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する一般毒性学的影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎及び分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、1000 mg/kg を高用量とし、以下250及び62.5 mg/kgとした。対照として媒体(0.5 w/v%メチルセルロース溶液)投与群を設けた。各群の使用動物数は試験群を雌雄各12例とし、雄では各群ともそのうち半数を回復群とした。雌では、試験群とは別に対照群、250及び1000 mg/kg群に各6例の回復群を設けた。

I. 反復投与毒性

1. 一般状態及び死亡状況

死亡例及び瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

一般状態の異常は、いずれの群にもみられなかった。

2. 体重及び摂餌量

体重及び摂餌量では、雌雄とも投与に起因する変化はみられなかった。

3. 行動機能 (FOB) 観察, 感覚反応検査, 握力測定及び自発運動量測定

行動機能 (FOB), 感覚反応, 握力及び自発運動量では、雌雄とも投与に起因する変化はみられなかった。

4. 尿検査, 血液学検査及び血液生化学検査

尿検査, 血液学検査及び血液生化学検査において、雌雄とも投与に起因する変化はみられなかった。

5. 剖検所見及び器官重量

剖検及び器官重量において、雌雄とも投与に起因する変化はみられなかった。

6. 病理組織学検査

病理組織学検査において、雌雄とも投与に起因する変化はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物の生殖発生に及ぼす影響

交配開始前の投与期間(14日間)の発情回数, 交尾率, 交尾所要日数, 受胎雌数, 受胎率, 妊娠期間, 出産率, 分娩状態, 哺育状態, 妊娠黄体数, 着床数及び着床率には、投与に起因する変化はみられなかった。

2. 児動物 (F₁) に及ぼす影響

総出産児数，死産児数，哺育 0 日の新生児数，哺育 0 日の性比，分娩率，児の産出率及び出生率には，投与に起因する変化はみられなかった。

一般状態，哺育 4 日の生存児数，哺育 4 日の性比及び哺育 4 日の生存率には，投与に起因する変化はみられなかった。

外表，体重及び剖検において，投与に起因する変化はみられなかった。

以上のように，ブメトリゾールの無影響量は，雌雄とも 1000 mg/kg 投与でいずれの項目にも影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day を越えると考えられる。また，生殖発生毒学的な無影響量は，雌雄とも 1000 mg/kg 投与でいずれの項目にも影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day を越えると考えられる。児動物への無影響量は，1000 mg/kg 投与で生存性及び体重などに影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day を越えると考えられる。

結果

I. 反復投与毒性

1. 一般状態

1.1. 雄 (Table 1-1～1-5, Appendix 1-1～1-4)

死亡例及び瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

投与期間中及び回復期間中とも、一般状態の異常はいずれの群にもみられなかった。

1.2. 試験群雌 (Table 2-1, 2-2, 3-1, 3-2 及び 4, Appendix 2-1～2-4, 3-1～3-4 及び 4-1～4-4)

死亡例及び瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

交配開始前、交配期間中、妊娠期間中及び哺育期間中とも、一般状態の異常はいずれの群にもみられなかった。

1.3. 回復群雌 (Table 5-1～5-5, Appendix 5-1～5-3)

死亡例及び瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

投与期間中及び回復期間中とも、一般状態の異常はいずれの群にもみられなかった。

2. 体重

2.1. 雄 (Table 6, Fig.2, Appendix 6-1～6-4)

投与期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

回復期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

2.2. 試験群雌 (Table 7～9, Fig.3, Appendix 7-1～7-4, 8-1～8-4 及び 9-1～9-4)

交配開始前及び交配期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

妊娠期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

哺育期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

2.3. 回復群雌 (Table 10, Fig.4, Appendix 10-1～10-3)

投与期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

回復期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

3. 摂餌量

3.1. 雄 (Table 11, Fig.5, Appendix 11-1～11-4)

投与期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

回復期間中には、1000 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。250 mg/kg 群では、対照群と比べて回復 5 日に摂餌量の有意な低値がみられたが、投与量に関連した変化ではないことから、投与による影響とは考えられない。

3.2. 試験群雌 (Table 12～14, Fig.6, Appendix 12-1～12-4, 13-1～13-4 及び 14-1～14-4)

交配開始前には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。
妊娠期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。
哺育期間中には、各投与群とも対照群と比べて測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

3.3. 回復群雌 (Table 15, Fig.7, Appendix 15-1～15-3)

投与期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。
回復期間中には、各投与群とも対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

4. 行動機能 (FOB)

4.1. 雄 (Table 16-1～16-6, Appendix 16-1～16-4)

各投与群とも、各検査日のいずれの項目にも異常はみられなかった。

4.2. 試験群雌 (Table 17-1～17-6, Appendix 17-1～17-4)

各投与群とも、各検査日のいずれの項目にも異常はみられなかった。

4.3. 回復群雌 (Table 18-1～18-6, Appendix 18-1～18-3)

1000 mg/kg 群では、対照群と比べて各検査日のいずれの項目にも異常はみられなかった。250 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 36 日に立ち上がり回数の有意な高値がみられたが、投与量に関連した変化ではないことから、投与による影響とは考えられない。また、250 mg/kg 群では、投与前に立ち上がり回数の有意な高値がみられた。

5. 感覚反応

5.1. 雄 (Table 19, Appendix 19-1～19-4)

各投与群とも、いずれの項目にも異常はみられなかった。

5.2. 試験群雌 (Table 20, Appendix 20-1～20-4)

各投与群とも、いずれの項目にも異常はみられなかった。

6. 握力

6.1. 雄 (Table 21, Appendix 21-1～21-4)

各投与群とも、対照群と比べて前肢及び後肢の握力に有意差はみられなかった。

6.2. 試験群雌 (Table 22, Appendix 22-1～22-4)

各投与群とも、対照群と比べて前肢及び後肢の握力に有意差はみられなかった。