

VIII 毒性

<毒性試験一覧表>

1. 原体を用いた試験成績

資料No	試験の種類・期間	供試生物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または 無毒性量 (NOEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
1-1 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	♂♀: 5000	♂♀: >5000	CL I (1999年)	36
1-2 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀: 5000	♂♀: >5000	CL I (1999年)	37
1-3 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♂♀各5	吸入	♂♀: 2.01 (mg/L) 4時間鼻部暴露	♂♀: LC ₅₀ > 2.01 (mg/L)	HLS (2002年)	38
2-1 (GLP)	皮膚刺激性 3日間観察	ウサギ	♂: 2 ♀: 4	皮膚貼付	0.5 mL/皮膚	刺激性なし	CL I (1999年)	40
2-2 (GLP)	眼刺激性 3日間観察	ウサギ	♂: 6	眼への 適用	0.1 mL/眼	ごく軽度の刺激性あり	CL I (1999年)	41
3-1 (GLP)	皮膚感作性	モット	♀: 10~20	Maximi- zation 法	一次感作 (皮内) 2% ジェル 溶液, 二次感作 (経皮) 原 液, 誘発 10% ジェル溶液	強度の皮膚感作 性あり	住友化学 (2002年)	42
4-1 (GLP)	亜急性毒性 90日間観察	ラット	♂♀各10	飼料混入	♂♀: 0, 100, 1000, 2000ppm	♂♀: 100ppm ♂ 5.56 ♀ 6.45	残研 (1999年)	44
4-2 (非 GLP)	亜急性毒性 90日間観察	ラット	♂♀各10	飼料混入	♂♀: 0, 70, 700, 2000, 3500ppm	♂♀: 70ppm ♂ 4.68 ♀ 5.37	住友化学 (1997年)	53
4-2 a (非 GLP)	亜急性毒性 2週間観察	ラット	♂6	飼料混入	♂: 0, 7000ppm	7000ppm: 体重増 加抑制, 肺胞の泡 沫或いは好酸性細 胞の集簇, 水腫お よび動脈中膜の肥 厚等観察	住友化学 (1995年)	66-1
4-3 (GLP)	亜急性毒性 90日間	イヌ	♂♀各4	経口 ゼラチンカプセル	♂♀: 10, 100, 300	♂♀: 10	パナファーム (2000年)	67
5-1 (GLP)	慢性・発癌性 24ヵ月	ラット	主群 ♂♀各50 副群 ♂♀各20	飼料混入	♂♀: 0, 30, 100, 500, 1000	♂♀: 100ppm ♂ 3.40 ♀ 4.10	残研 (2002年)	75
5-2 (GLP)	発癌性 18ヵ月	マウス	主群 ♂♀各52 副群 ♂♀各12	飼料混入	♂♀: 0, 15, 50, 1000, 2500	♂♀: 50ppm ♂ 5.04 ♀ 4.78	残研 (2002年)	103
5-3 (GLP)	慢性毒性 12ヶ月	イヌ	♂♀各4	経口 ゼラチンカプセル	♂♀: 1, 5, 5, 20, 80	♂♀: 20	パナファーム (2001年)	122
6-1 (GLP)	繁殖性	ラット	♂♀各24	飼料混入	♂♀: 0, 40, 200, 1000	親動物: 40ppm ♂ 3.10 ♀ 3.37 繁殖能力: 40ppm 児動物: 40ppm	残研 (2002年)	127
6-2 (GLP)	催奇形性	ラット	♀: 24	経口	♀: 0, 10, 50, 250	母動物: 10 次世代: 250 催奇形作用なし	残研 (2001年)	141
6-3 (GLP)	催奇形性	ウサギ	♀: 25 ~30	経口	♀: 0, 15, 50, 150	母動物: 50 次世代: 50 催奇形作用なし	残研 (2001年)	145

CL I: Covance Laboratories Inc.

パナファーム: パナファーム ファクトリーズ

残研: 残留農薬研究所

HLS: Huntington Life Sciences LTD.

資料No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または 無毒性量 (NOAEL) (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
7-1 (GLP)	変異原性 (復帰変異)	サレチ菌: (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 大腸菌: (WP2uvrA 株)		in vitro	最高用量: 313 μ g/プレート (-S9), 1250 μ g/プレート (+S9), 公比: 2, 用量: 6 段階	陰性	住友化学 (1999 年)	149
7-2 (GLP)	変異原性 (染色体異常)	チャイニーズハムスター肺由来培養細胞		in vitro	20, 40, 80 μ g/mL (-S9mix), 15, 20, 25 μ g/mL (+S9mix)	染色体異常を 軽度誘発	住友化学 (2000 年)	151
7-3 (GLP)	変異原性 (小核試験)	マウス	♂: 5	経口	♂: 500, 1000, 2000	陰性	住友化学 (1999 年)	154
7-4 (GLP)	変異原性 (CHO-HGPRT)	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞		in vitro	(-S9): 9.4~300 μ g/mL 公 比: 2, 用量: 6 段階, (-S9): 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10 μ g/mL	陰性	CL I (2000 年)	156
7-5 (GLP)	変異原性 (UDS)	ラット	♂: 4 (観察: 3)	経口	0, 500, 1000, 2000	陰性	CL I (2000 年)	159
8-1 (GLP)	一般薬理	ラット	♂♀各 3	経口	0, 600, 2000 mg/kg	影響なし	パナファーム (2002 年)	161
		イヌ	♂ 4	十二指腸内 投与	0, 80, 400, 2000mg/kg	400 mg/kg 以上の十 二指腸内投与で呼吸 数、血圧に影響 が出る可能性		
9-1 (非 GLP)	エストロゲン アッセイ	ヒト子宮 頸部がん 由来細胞 HeLa		in vitro	ER α , AR; 0, 10, 100, 1000nM TR α ; 0, 100, 1000nM	ER α , AR, TR α それぞれ アゴニスト、アンタゴニスト 作用は陰性	住友化学 (2002 年)	163
9-2 (非 GLP)	性ホルモン合成 系への影響	ラット精巣、 卵巣細胞		in vitro	0, 1, 3, 10, 30 μ M	非常に弱い 17 β - HSD 活性阻害有り	住友化学 (2002 年)	166
9-3 (非 GLP)	4 週間投与 ホルモン検討	ラット	♂各 8 ♀各 16	飼料混入	0, 100, 500, 1000, 2000ppm	♂: 100ppm (5.5) ♀: 500ppm (29.5)	住友化学 (2002 年)	169
9-4 (非 GLP)	脂肪酸代謝に 対する影響	ラット肝臓、腎臓、肺、 副腎及び 卵巣組織		in vitro	10 μ M, 30 μ M (肺のみ)	副腎において β 酸化の阻害活性 が認められた。	住友化学 (2003 年)	175- a

CL I : Covance Laboratories Inc.

パナファーム : パナファーム 株式会社

2. 原体中混存物及び代謝物を用いた試験成績

資料No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
混1-1 (非 GLP)	急性毒性 () 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	0, 2000	>2000	住友化学 (2002年)	176
混1-2 (非 GLP)	急性毒性 () 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	0, 2000	>2000	住友化学 (2002年)	177
混1-3 (非 GLP)	急性毒性 () 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	0, 2000	>2000	住友化学 (2002年)	178
混2-1 (非 GLP)	変異原性 () 復帰変異	試験菌: (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 大腸菌: (WP2uvrA 株)		in vitro	最高用量: 5000 µg/プレート (-S9), 5000 µg/プレート (+S9), 公比: 2, 用量: 6 段階	陽性	住友化学 (2002年)	179
混2-2 (非 GLP)	変異原性 () 小核試験	マウス	♂: 5	経口	♂: 500, 1000, 2000	陰性	安評センター (2002年)	182
混2-3 (非 GLP)	変異原性 () V79 試験	チャイニーズハムス ター肺由来細胞 (V79 細胞)		in vitro	(-S9): 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.1mg/mL, (+S9): 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1mg/mL	陰性	食薬センター (2002年)	184
混2-4 (非 GLP)	変異原性 () 復帰変異	試験菌: (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 大腸菌: (WP2uvrA 株)		in vitro	用量: 156~5000 µg/プレート (-S9 および +S9), 用量: 6 段階	陰性	住友化学 (2002年)	186
混2-5 (非 GLP)	変異原性 () 復帰変異	試験菌: (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 大腸菌: (WP2uvrA 株)		in vitro	用量: 15~5000 µg/プレート (-S9 および +S9), 6 段階	陰性	住友化学 (2002年)	188
代1-1 (非 GLP)	変異原性 () 復帰変異	試験菌: (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 大腸菌: (WP2uvrA 株)		in vitro	用量: 0.05~500 µg/プレート (-S9), 0.5~5000 µg/プレート (+S9), 6 段階	陰性	住友化学 (2002年)	191

安評センター: 食品農医薬品安全性評価センター

食薬センター: 食品薬品安全センター

3. 製剤を用いた試験成績

資料No.	試験の種類・ 期間	供試生物	1群当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	頁
製1-1 (GLP)	急性毒性 (10%707A) 14日間観察	ラット	♂♀各5	経口	2000mg/kgを一回強制経 口投与	>2000	ボゾ (2002年)	194
製1-2 (GLP)	急性毒性 (10%707A) 14日間観察	ラット	♂♀各5	経皮	検体2000mg/kgをリント 布に塗布し、24時間貼付 け	>2000	ボゾ (2002年)	195
製2-1 (GLP)	皮膚刺激性 (10%707A) 14日間観察	ウサギ	♀3	皮膚貼付	検体0.5mLを塗布したリ ント布を貼付け4時間閉塞 Draizeらの判定基準により 評価	軽度の刺激あり	ボゾ (2001年)	196
製2-2 (GLP)	眼刺激性 (10%707A)	ウサギ	♀3	眼結膜嚢内	検体0.1mLを眼結膜嚢に適 用、非洗眼区は1秒間眼嚢 を閉じ、洗眼区は30秒後に 洗眼、	ごく軽度の刺激 性あり 洗眼群では 刺激性なし	ボゾ (2002年)	198
製3-1 (GLP)	皮膚感作性 (10%707A)	モット	♀: 20(感作 群)	Buehler法	100%と25%検体溶液を各 0.2mLパッチに塗布し貼付 け、3回感作し、感作27日 後惹起した	皮膚感作性を有 する	ボゾ (2002年)	200

ボゾ : ボゾリサーチセンター

(1) 急性毒性

①ピリダリルのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1 - 1)

試験機関：Covance Laboratories Inc.

報告書作成年：1999 年 [GLP 対応]

検 体：ピリダリル原体

純 度： %

試験動物：CrL:CD®IGS BR 系のアルビノ成熟若ラット (約 8~10 週齢、体重 201~227g)
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：健常ラットに 5000mg/kg-体重の割合で単回投与した。

試験項目：一般状態および生死を 14 日間観察し、体重は投与直前 (0 日目)、投与後 7 日目、および解剖直前の生存時 (14 日目) に測定した。試験期間終了時に、全動物を安楽死させ、肉眼的剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >5000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	症状発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 5000

中毒症状および死亡は認められなかった。体重では、投与後最初の 1 週間でごくわずかな体重減少 (7g) を示した雌ラット 1 匹を除いて、全動物は試験期間中体重増加を示した。剖検では、目視できる病巣は一切認められなかった。

②ピリダリルのラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1 - 2)

試験機関：Covance Laboratories Inc.

報告書作成年：1999 年 [GLP 対応]

検体：ピリダリル原体

純度：%

試験動物：CrI:CD®IGS BR 系のアルビノ成熟若ラット (約 8~10 週齢、体重 217~261g)
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：健康ラットに 5000mg/kg-体重の割合で単回経皮 (24 時間閉塞貼付) 投与した。

試験項目：一般状態、皮膚刺激性 (Draize 法) および生死を 14 日間観察し、体重は投与直前 (0 日目)、投与後 7 日目、および解剖直前の生存時 (14 日目) に測定した。
試験期間終了時に、全動物を安楽死させ、簡略化した肉眼的剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >5000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	検体投与関連の 症状発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 5000

試験期間中での死亡は観察されなかった。一般症状観察では試験期間を通して正常であった。また、全動物について皮膚刺激性は一切認められなかった。体重では、投与後最初の 1 週間でごくわずかな体重減少 (5g) を示した雌ラット 1 匹を除いて、全動物は試験期間中体重増加を示した。剖検では、被験物質に関連した病巣は一切観察されなかった。

③ピリダリルのラットにおける急性吸入毒性試験

(資料1-3)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd.

報告書作成年：2002年 [GLP対応]

検 体：ピリダリル原体

純 度： %

試験動物：SD系ラット（曝露開始時8～9週令、体重；雄 251～283 g、雌 204～220 g）

1群雌雄各5匹

観察期間：14日間

曝露方法：検体をエアロゾル粒子として、動物に4時間、鼻部曝露した。対照群には空気のみを曝露した。エアロゾル粒子の発生にはアトマイザーを用いた。

曝露条件は以下の通りである。

チャンバー容積：	30L
通 気 量：	20L/分
曝 露 時 間：	4時間
曝 露 部 位：	鼻部
チャンバー内温度(平均)：	対照群；19.6℃ 試験群；20.0℃
チャンバー内湿度(平均)：	32%

名目気中濃度は検体の総噴霧量および総通気量から算出した。また、気中濃度測定のために、曝露チャンバーからエアロゾルを約1時間間隔で吸引し、ガラスファイバーフィルターで捕集した。フィルター重量を測定して気中濃度の重量分析を行い、また、Acetonitrile/水/Phosphoric acid (95:5:0.1)で抽出してHPLCにて分析した。

名目気中濃度： 8.3 mg/L

実測気中濃度： 2.16 mg/L (重量分析)

2.01 mg/L (化学分析)

粒子径分布はカスケードインパクターを用いて、曝露期間中に2回測定した。

平均空気力学的径： 2.7 μm

幾何標準偏差： 1.98

吸入可能な粒子径 (< 7 μm) の割合： 91%

粒子系分布

粒子径 (μm)	累積分布 (%) ^{a)}
< 9.80	96.5
< 6.00	87.3
< 3.50	71.7
< 1.55	18.6
< 0.93	5.6
< 0.52	0.8

a) 2回の測定の平均値

試験項目：曝露日および曝露終了後 14 H 間、死亡および一般症状を観察した。体重は曝露前および観察期間に、週 1 回測定した。14 日間の観察期間終了時、ラットを屠殺して肉眼的検査を実施した。

試験結果：

投与方法	吸入
曝露濃度 (mg/L)	0、2.01
LC ₅₀ 値 (mg/L)	雌雄とも >2.01
死亡開始および終了期間	死亡例なし
症状発現および消失期間	発現：雌雄とも、曝露開始直後から発現 消失：雌雄とも、曝露後 3 日目に消失

症状として、過呼吸、呼吸緩徐が、雌雄ともに、曝露開始 15 分から発現し、曝露後 2 H 目までみられた。自発運動減少、低体温、被毛の湿潤（全身）が曝露終了後から曝露後 2 時間目まで、鼻部、顎部周囲の褐色汚れが雄ラットにおいて、曝露終了後から曝露後 2 時間目までみられた。曝露後 3 日目以降には何ら異常は認められなかった。

平均体重増加量の減少が雌雄ともに、曝露後 1 週間目に認められた。

肉眼的病理検査では、曝露に関連した影響は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

①ピリダリルのウサギにおける一次皮膚刺激性試験

(資料2-1)

試験機関：Covance Laboratories Inc.

報告書作成年：1999年[G.L.P対応]

検 体： ピリダリル原体

純 度： %

試験動物： New Zealand White 系 雌雄 ウサギ (15 週令、体重 2,446~2,808 g)

試験期間： 3 日間観察

試験方法： 検体を雄 2 例、雌 4 例のウサギの正常皮膚に各部位(背部:約 6.25cm²)に 0.5mL 適用した。処理部位をガーゼパッチ(2.5×2.5cm)で被い、紙テープで保護し、さらにサランラップと弾性テープにて覆い、4 時間閉塞した。4 時間後、パッチを取り除き、処理部位を石鹸を用いて水洗し、水ですすぎ、被験物質を可能な限り除去した。その後経時的に観察した。

観 察： 検体除去 4、24、48、72 時間後に適用部位を観察し、Draize らの判定基準に従って、皮膚の局所反応を点数化して記録した。

試験結果： Draize らの判定基準による局所反応の平均値は以下の通りであった。

反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
		4 時間*	24 時間	48 時間	72 時間
紅斑	4	0.0	0.0	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.0	0.0	0.0	0.0

* : 4 時間適用後(検体除去後)、30~60 分の間に観察した。

観察期間を通じて紅斑や浮腫等の皮膚刺激性は認められなかった。

以上の結果から、一次皮膚刺激性指標は 0.0 (刺激性なしと考えられる) となり、皮膚刺激性はないと判断された。

②ピリダリルのウサギにおける一次眼刺激性試験

(資料2-2)

試験機関：Covance Laboratories Inc.

報告書作成年：1999年[GLP対応]

検 体： ピリダリル原体

純 度： %

試験動物： New Zealand White 系 雄 ウサギ (17週令、体重2598～2976g)

試験期間： 3日間観察

試験方法： 1匹当たり0.1mLの検体を6匹の雄ウサギの右眼の下眼瞼内に適用し、1秒間眼瞼を閉じた後、経時的に観察した。左眼は無処置対照とした。

観 察： 検体適用後、1、24、48、72時間後に、角膜、虹彩、結膜を観察し、Draizeらの判定基準に従って、眼の局所反応を点数化して記録した。

試験結果： Draizeらの判定基準による局所反応の平均値は以下の通りであった。

反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
角膜	80	0.0	0.0	0.0	0.0
虹彩	10	0.0	0.0	0.0	0.0
結膜	20	2.3	1.0	0.0	0.0
(発赤)	(6)	1.7	1.0	0.0	0.0
(浮腫)	(8)	0.0	0.0	0.0	0.0
(眼脂分泌)	(6)	0.7	0.0	0.0	0.0
合計	110	2.3	1.0	0.0	0.0

観察期間を通じて結膜のみに軽微な眼刺激性が認められたが、48時間後には正常となった。

以上の結果から、一次眼刺激性指標は2.3となり、眼刺激性はごく軽度と判断された。

(3) 皮膚感作性

①ピリダリルのモルモットにおける皮膚感作性試験 (Maximization法)

(資料 3-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年 [GLP対応]

検 体：ピリダリル原体

純 度： %

試験動物：ハートレー系モルモット、雌 (4週令、体重313.8~391.4g)

試験方法：Maximization法

①投与量設定根拠

②感作

一次感作 (皮内)

モルモットの背部肩甲骨部を刈毛し、正中線をはさんだ皮膚 (2 cm×4 cm) 内に以下に示す3種類の試料を左右各1箇所につき0.1 mLずつ皮内投与した。

上部：蒸留水とFCAの1：1油中水型乳化物

中部：検体の2%コーンオイル溶液

下部：検体の4%FCA溶液と蒸留水の1：1油中水型乳化物

二次感作 (経皮)

一次感作の1週間後に、検体の原液をリント布 (2 cm×4 cm) に0.4 mL塗布して48時間閉塞貼付した。

③煮起

二次感作の2週間後にモルモットの腹側部を刈毛し、検体の10%アセトン溶液をリント布 (2 cm×2 cm) に0.2 mL塗布し、24時間閉塞貼付した。貼付除去後、貼付部位をアセトンにて清拭した。

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

観 察：誘発貼付除去後24および48時間目に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等をMagnusson & Kligmanの判定基準により観察した。

試験結果：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

ピリダリルの皮膚感作性試験結果

群			供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)					
				24時間後					48時間後								
				感 作	惹 起	皮膚反応評点 0 1 2 3	計	皮膚反応評点 0 1 2 3	計	24時間	48時間						
検体	2%ピリダリル (一次感作)	10% ピリダリル	20	E	10	8	2	0	10	E	4	16	0	0	50	80	
	100%ピリダリル (二次感作)			S	15	5	0	0	5	S	16	4	0	0			4
	検体非感作	10% ピリダリル	10	E	10	0	0	0	0	E	10	0	0	0	0	0	0
				S	10	0	0	0	0	S	10	0	0	0	0		
陽性対照	100%感作 5%HCA (一次感作)	5%HCA	5	E	0	3	2	0	5	E	0	5	0	0	100	100	
	100%HCA (二次感作)			S	0	5	0	0	5	S	2	3	0	0			3
	HCA非感作	5%HCA	5	E	5	0	0	0	0	E	5	0	0	0	0	0	0
				S	5	0	0	0	0	S	5	0	0	0	0		

HCA； α -Hexylcinnamaldehyde

a) E；紅斑、S；浮腫

b) 0；変化なし、1；軽度、2；中等度、3；強度

検体感作群では誘発後の観察において紅斑、浮腫が認められ、感作率は80%であった。

以上の結果より、ピリダリルは強度の皮膚感作性ありと判定した。

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

(4) 90 日間反復経口投与毒性

①ピリダリル原体のラットにおける 90 日間亜急性経口毒性試験

(資料 4-1)

試験機関：残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

検 体：ピリダリル原体

純 度： %

供試動物： Sprague-Dawley 系 SPF ラット [Crj: CD(SD)], 1 群雌雄各 10 匹,
開始時 6 週齢, 投与開始時の体重範囲 雄 ; 138~158 g, 雌 ; 129~143 g

投与期間： 13 週間 (1998 年 8 月 20 日~1998 年 11 月 26 日)

投与方法： 検体を 0, 100, 1000 及び 2000 ppm の濃度で飼料に混入し, 13 週間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 2 ないし 4 週間ごとに調製した。

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。

一般状態については雌雄いずれの用量群においても検体投与に関連する異常は認められなかった (Fisher の直接確率計算法)。

2000 ppm 群において投与 9 週時に雌 1 例の死亡が認められた。死亡原因は検体投与に関連する肝細胞壊死と判断された。

機能検査；投与 12 週時に全生存動物を対象として以下の項目について機能検査を実施した。

運動量, 握力 (前肢, 後肢), 感覚運動反応 (接近反応, 音反応, 触覚反応, 痛覚反応, 正向反射)

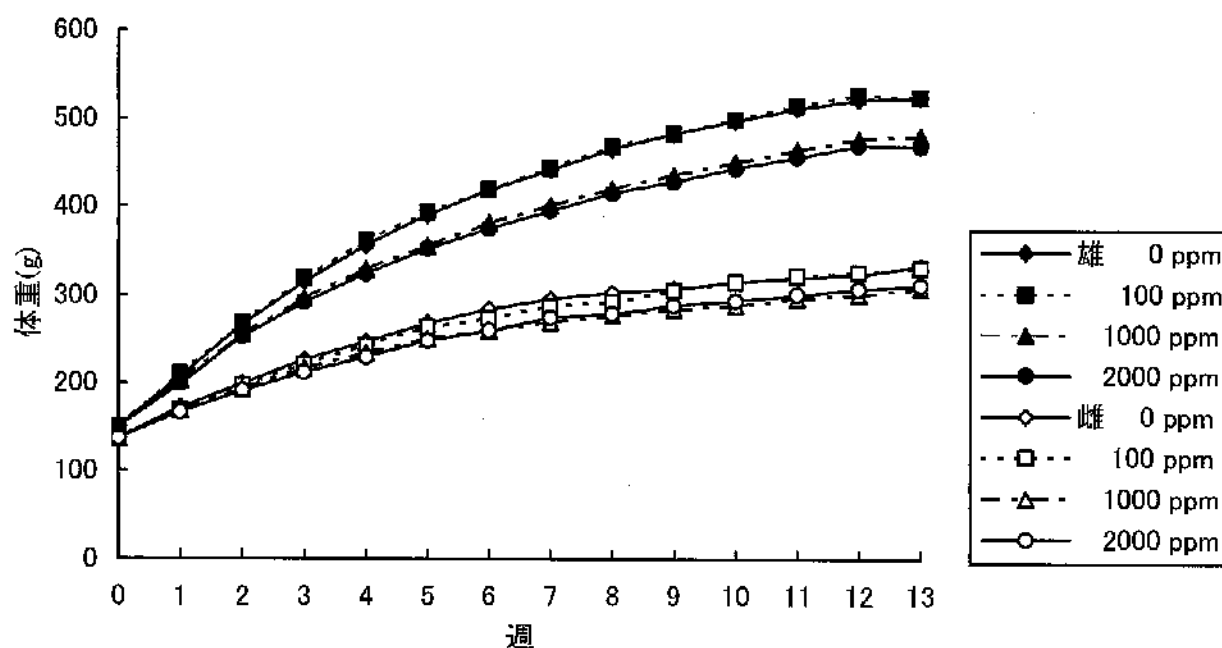
雌雄いずれの用量群においても検体投与に関連する有意な変化は認められなかった (運動量および握力について, Dunnett の多重比較法または Dunnett 型の順位和検定法で検定した。感覚運動反応成績については, Kruskal-Wallis の検定また

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

は Dunnett 型の順位和検定法で検定した)。

体重変化；投与期間中全動物の体重を毎週測定した。Dunnett の多重比較法で検定した。

平均体重変化を次図に示す。



2000 及び 1000 ppm 群では雌雄とも投与期間を通して平均体重が対照群より（約 5～10%）低く推移した。2000 ppm 群の雄では投与 3 週時から投与終了時まで、雌では投与 5 週、6 週および 8 週時に用量群と対照群の間で平均体重に統計学的有意差が認められた。1000 ppm 群の雄では投与 4 週時から投与終了時まで、雌では投与 5 週時から 10 週時まで用量群と対照群の間で平均体重に統計学的有意差が認められた。

体重増加量は、雄では 2000 及び 1000 ppm 群とも投与開始から 5 週間有意に減少したが、その後は対照群と同程度であった。雌の体重増加量もまた、2000 ppm 群では投与開始から 6 週間対照群と比較して低い傾向にあり、1000 ppm 及び 100 ppm 群では投与 5 週時に対照群と比較して有意に低かった。

累積体重増加量は 2000 ppm 群において対照群に比して雄で 14%、雌で 11% 減少し、1000 ppm 群では雄で 12%、雌で 13% 減少した。

これらの変化は検体投与による影響と判断した。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた週を下表に示す。

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	1000	2000	100	1000	2000
投 与 週	1		↓ 91	↓ 89			↓ 89
	2		↓ 92	↓ 93			
	3		↓ 93				↓ 87
	4		↓ 91	↓ 88			
	5		↓ 90	↓ 88		↓ 86	↓ 86
	6		↓ 90	↓ 88			
	7		↓ 90	↓ 89			
	8		↓ 92	↓ 90			
	10		↓ 93	↓ 90			
	11			↓ 90			
	12			↓ 92			
	13		↓ 91	↓ 88			

有意差の検定は、Dunnett の多重比較法を用いて行った

(↓, $p \leq 0.05$; ↓↓, $p \leq 0.01$)。

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

2000 ppm群においては、雄で投与期間を通して、雌では投与開始から6週間、摂餌量が有意に低いかまたは低い傾向にあった。投与期間を通した総平均摂餌量は対照群より雄で約10%、雌で約6%減少した。

1000 ppm群においては、雄で投与期間を通して、雌では投与開始から6週間、摂餌量が有意に低いかまたは低い傾向にあった。総平均摂餌量は雌雄とも約8%減少した。

食餌効率、投与期間中雌雄とも各用量群と対照群の間で顕著な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住友化学工業株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量(ppm)		100	1000	2000
検体摂取量 (mg/kg/H)	雄	5.56	56.0	111.3
	雌	6.45	64.0	128.6

血液学的検査；投与後 13 週時に全生存動物を対象として、後大静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、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、白血球数、白血球分類、網赤血球数、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

いずれの用量群の雌雄においても検体投与に関連すると考えられる有意な変化はなかった（有意差の検定は、Dunnett の多重比較法を用いて行った）。

血液生化学的検査；血液学的検査で採取した血液の一部から得られた血漿を用い、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ（GGTP）、クレアチンホスホキナーゼ（CPK）、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比（A/G 比）、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、総ビリルビン、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、塩素

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)	100	1000	2000	100	1000	2000
GGTP						↑ 100 (2.1) ^{a)}
CPK			↓ 68			
A/G 比			↑ 109			
総コレステロール			↑ 154			↑ 155

有意差の検定は、Dunnett の多重比較法を用いて行った

(↑↓, $p \leq 0.05$; ↑↑, $p \leq 0.01$)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

a) 平均値(U/L)を示す。対照群の平均値は 1.5 U/L である。報告書の表では四捨五

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

入し、整数で記載されている。

2000 ppm群では、雌雄とも総コレステロールが対照群と比較して有意に増加し、検体投与による脂質代謝への影響が示唆された。雌ではGGTPが対照群と比較して統計学的に有意に増加した。この酵素の変化は肝臓への影響を示唆するものであり、病理組織学的検査で観察された肝臓の所見と関連していると考えられる。雄でA/G比が有意に増加したが、アルブミン・グロブリンの値に有意な変動がないことから偶発的所見と考えられた。また、CPKが有意に減少したが、本変化には毒性学的な意義はないものと考えられた。

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。

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, 尿量, 尿比重, 尿沈査, 外観

いずれの用量群の雌雄においても検体投与に関連すると考えられる有意な変化はなかった（有意差の検定は、Dunnett の多重比較法また Dunnett 型の順位和検定法を用いて行った）。

眼科学的検査；馴化期間中に全動物について、投与 13 週時に対照群及び高用量群の全生存動物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変化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、相対重量も算出した。

脳, 下垂体, 胸腺, 心臓, 甲状腺（上皮小体を含む）, 肝臓, 腎臓, 肺, 脾臓, 副腎, 精巣, 精巣上体, 前立腺（腹葉）, 卵巣, 子宮

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住友化学工業株式会社にある。

性 別		雄			雌		
投与量 (ppm)		100	1000	2000	100	1000	2000
体 重			↓ 91	↓ 90			
脳	相対重量		↑ 112	↑ 114			
下垂体	絶対重量		↓ 84				
心臓	相対重量			↑ 107			↑ 113
肝臓	相対重量			↑ 109		↑ 106	↑ 115
腎臓	相対重量			↑ 114		↑ 108	↑ 117
肺	相対重量		↑ 113	↑ 113			
脾臓	絶対重量			↓ 83			
精巣上体	相対重量		↑ 112				

有意差の検定は、Dunnett の多重比較法を用いて行った

(↑↓, $p \leq 0.05$; ↑↓, $p \leq 0.01$)。

表中の数値は変動の日安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。

2000 ppm群の雌雄および1000 ppm群の雌で肝臓の相対重量が有意に増加した。これは病理組織学的検査で観察された肝臓の所見と関連した変化と考えられた。2000 ppmおよび1000 ppm群では雄または雌の脳、心臓、肺および腎臓の相対重量が増加し、脾臓の絶対重量が減少した。しかしながら臨床検査所見や病理組織学的所見にこれらの臓器重量の変動に対応するような異常は観察されなかったことから、これら臓器重量の変動は低体重に起因する二次的なものであると考えられた。1000 ppm群の雄では精巣上体の相対重量が有意に増加し、下垂体の絶対重量が有意に減少したが、2000 ppm群ではそのような変動が観察されないことから偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査；全ての動物について剖検を行った。

観察された主要な肉眼病理検査所見を下表に示す。

性 別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	暗調化	0	0	0	↑ 5	0	0	0	↑ 6
	大型化	0	0	0	0	0	0	0	3

有意差の検定は、Fisher の直接確率計算法を用いて行った

(↑↓, $p \leq 0.05$; ↑↓, $p \leq 0.01$)。

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

2000 ppm群の雌雄において、肝臓の暗調化が対照群と比較して統計学的に増加した。また、統計学的に有意ではないものの雌において肝臓の大型化が観察された。これは肝臓重量の増加や病理組織学的変化と関連する所見であり、検体投与の影響と考えられた。

病理組織学的検査;肉眼的病理検査を実施した対照群及び最高用量群の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、検鏡した。

脳(大腦,小脳,橋および延髄),脊髓(頸部,胸部および腰部),坐骨神経(片側),下垂体,胸腺,甲状腺(両側),上皮小体(両側),副腎(両側),脾臓,骨および骨髓(胸骨,片側大腿骨および椎骨3カ所),リンパ節(頸部および腸間膜),心臓,大動脈,唾液腺(顎下腺および舌下腺),舌,食道,胃(前胃および腺胃),肝臓,脾臓,十二指腸,空腸,回腸,盲腸,結腸,直腸,頭部(鼻腔および副鼻腔を含む),咽頭,喉頭,気管,肺,腎臓(両側),膀胱,精巣(両側),精巣上体(両側),前立腺,精のう(両側),凝固腺(両側),卵巣(両側),子宮(角部および頸部),膾,眼球(網膜および視神経を含む,両側),ハーダー腺(両側),外涙腺(両側),下腿三頭筋(片側),皮膚(腰背部),乳腺(腹部,雌のみ),肉眼的異常部位

また,100及び1000 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を作製し,検鏡した。

肝臓,腎臓,肺,副腎,精巣,卵巣,子宮,膾および肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

認められた主要な非腫瘍性病変を下表に示す。

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

非腫瘍性病変

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	↑8	0	0	0	↑5
	肝細胞単細胞壊死	10	10	10	10	4	5	7	↑9
臓器	所見/検査動物数					10	10	10	10
卵巣	間質腺細胞の細胞質空胞化					0	0	2	↑8
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
肺	泡沫細胞集簇	2	2	5	5	2	3	5	6
臓器	所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
副腎	網状帯細胞の細胞質空胞化	0	0	0	0	0	0	0	3

有意差の検定は、Fisher の直接確率計算法を用いて検定した
(↑↓, $p \leq 0.05$; ↑↑, $p \leq 0.01$)。

2000 ppm群では、雌雄とも肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が有意に増加した。また、雌では肝臓の肝細胞単細胞壊死および卵巣間質腺細胞の細胞質空胞化の発生頻度が有意に増加し、副腎網状帯細胞の細胞質空胞化が有意ではないものの対照群より高い頻度で観察された。1000 ppm群では、雌において肝臓の肝細胞単細胞壊死および卵巣間質腺細胞の細胞質空胞化の発生頻度が対照群と比較して高い傾向にあった。また、2000 ppmおよび1000 ppm群において雌雄とも肺の泡沫細胞集簇の発生頻度が統計学的に有意ではないものの対照群より高い頻度で観察された。これらの所見は検体投与の影響と考えられた。*

* 申請者註：上記に示したごとく、1000ppm以上の群（64mg/kg）で卵巣の病理組織学的変化が認められた。しかし、内分泌系への影響を詳細に検討する目的で実施した、ピリダリルのラットを用いた4週間投与によるホルモン検討試験（資料9-3）において、2000ppm（雄で94.9mg/kg/day、雌で102.2mg/kg/day）の投与量で卵巣に上記と同じ変化が認められたものの、血中ホルモン（エストラジオール、プロゲステロン）に何等影響は認められなかった。

また、上記のように2000ppm群（雄で111.3mg/kg、雌で128.6mg/kg）で副腎の病理組織学的変化が認められた。しかし、ピリダリルの高純度品を用いた90日間反復投与毒性試験において、雌雄のコルチコステロン濃度を測定したところ、

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

〔腫瘍性病変〕

全動物で腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による 90 日間反復投与毒性試験における影響として、1000 ppm 以上の投与群において雌雄の体重及び体重増加量の減少、摂餌量の減少、雌の肝臓の相対重量増加、肝臓、肺（雌雄）及び卵巢（雌のみ）の病理組織学的変化が認められた。したがって、無毒性量は雌雄とも 100 ppm（雄 5.56 mg/kg/day、雌 6.45 mg/kg/day）であると判断された。

3500ppm の投与量においても、有意な変化は認められなかった。

これらのことから、本化合物の投与により、卵巢および副腎に病理組織学的変化は認められるものの、本試験で用いた投与量では、血中のホルモン濃度には影響しない程度の変化であると考えられた。

肺においては、泡沫細胞あるいは好酸性細胞の軽微な集簇が認められた。これらの変化は、脂質の代謝異常や肺の障害に伴って発現することが知られている。本試験においても、総コレステロールの高値が認められており、かつ、ピリダリルの高純度品を用いた 90 日間反復投与毒性試験において、肺の電子顕微鏡的検査の結果、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞などの肺胞の構成細胞に異常が認められなかったことから、本化合物の投与により脂質の代謝異常が惹起され、マクロファージ系と泡沫あるいは好酸性細胞が肺胞内に集簇したものと考えられた。

② ピリダリル高純度品のラットにおける 90 日間亜急性経口毒性試験

(資料 4-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 非対応]

報告書作成年：1997 年

検 体：ピリダリル高純度品

純 度：

試験動物：SD (Crj:CD(SD)) ラット (主群；1 群あたり雌雄各 10 匹、ホルモン測定群；対照群および最高用量群のみ 1 群あたり雌雄各 6 匹

投与開始時 5 週齢、投与開始時体重範囲；雄 133～162g、雌 108～127g)

投与期間：3 カ月間

投与開始：1996 年 1 月 24 日

最終屠殺；1996 年 4 月 24 日 (雄)、25 日 (雌)、26 日 (ホルモン測定群)

投与方法：検体を 0、70、700、2000 および 3500ppm の濃度で基礎飼料に混入し、自由に摂取させた。検体を混入した飼料は 1 ないし 2 週間に 1 回の頻度で調製した。

投与量設定根拠：

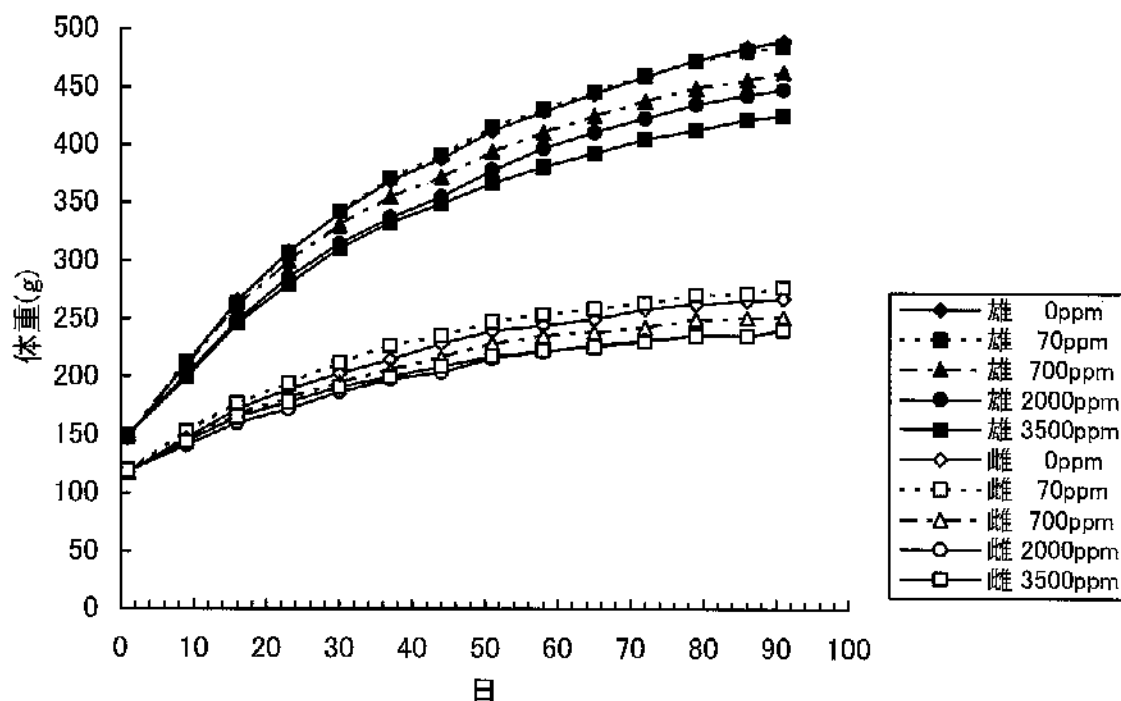
試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；投与期間を通じて主群の全動物について一般症状を毎日 1 回観察した。対照群との有意差検定は、 χ^2 乗検定を実施した。

投与期間中の死亡および投与に関連する臨床所見は認められなかった。

体重変化；投与期間を通じて週 1 回の頻度で主群の全動物の体重を、解剖前にはホルモン測定群を含む全計画屠殺動物の体重を測定した。全測定週について、体重増加量を算出した。有意差の検定は、一元配置分散分析を行い、有意水準 5 % をもって有意差が認められたものについて、LSD 法 (Least Significant Difference Method) により行った。主群の体重範囲を図 1 に示す。

図1 体重変化（雄雌）



雌雄とも、700ppm以上の群で平均体重および体重増加量について、投与期間中一貫した低値あるいは低値傾向が認められた。

摂餌量および食餌効率;投与期間を通じて週1回の頻度で主群の全動物について測定した。

有意差の検定は、一元配置分散分析を行い、有意水準5%をもって有意差が認められたものについて、LSD法 (Least Significant Difference Method) により行った。

表1

性 別		雄				雌			
投与量 (ppm)		70	700	2000	3500	70	700	2000	3500
投与日	8			↓89	↓89			↓93	↓93
	15			↓91	↓86			↓87	
	22			↓91	↓87			↓93	↓93
	29								
	36			↓87	↓91				
	43			↓91					↓88
	50				↓91				↓88
	57				↓91			↓94	↓88
	64				↓91				↓88
	71				↓91				↓81
	78			↓91	↓87			↓88	↓88
	85				↓91			↓88	↓81
	91				↓87				↓81

(↓, $p \leq 0.05$; ↓↓, $p \leq 0.01$)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

摂餌量では、雌雄の 2000ppm 以上の群で投与期間を通じて低値または低値傾向が認められた。摂餌効率では、雄の 3500ppm 群で投与 5 および 11 週目に低値が認められた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次の通りであった。

表 2 平均検体摂取量

投与量 (ppm)		70	700	2000	3500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	4.68	47.4	133	233
	雌	5.37	55.5	153	256

眼科学的検査；投与 12 週目に主群の雌雄の対照および 3500ppm 群と雌の 2000ppm 群の全動物について両眼の角膜、虹彩、結膜、水晶体、硝子体および眼底を観察した。雌の 3500ppm 群の 1 例に、硝子体内赤色塊が認められたが、剖検および病理組織学的検査では異常が認められなかったことから、被験物質投与に起因する変化ではないと考えられた。従って、本被験物質投与に関連する変化は認められなかった。

尿検査；投与 12～13 週目に雌雄各群 6 例（動物番号の小さいものから 6 例）の動物について新鮮尿を採取し、以下の項目について測定した。有意差検定は、Kruskal-Wallis 検定を行い、有意差が認められたものについて、Mann-Whitney の U 検定を実施した。

pH、糖、タンパク、潜血、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン
投与に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査；解剖日（解剖前日より約 16 時間絶食条件下）に主群の全動物について、エーテル麻酔下で腹大動脈より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、
平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素量濃度(MCHC)、白血球数、
白血球分類、血小板数、網赤血球数、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(APTT)、フィブリノーゲン量

対照群に比べ統計学的に有意な差の認められた項目を次表に示す。

表3 血液学的検査成績

性別	検査項目	投与量 (ppm)			
		70	700	2000	3500
雄	血色素量		103△	103△	105▲
	ヘマトクリット値		104△	105▲	105▲
	MCV			103△	103△
	MCH				104△
	白血球数				131△
	リンパ球数			131△	144▲
	プロトロンビン時間			118△	131▲
	APTT			111▲	128▲
雌	白血球数		136△	145▲	195▲
	リンパ球数		142△	148▲	210▲
	単球数			194▲	175△
	好塩基球数				200▲
	血小板数			116▲	111△
	プロトロンビン時間		106△		95▽
	APTT			94▽	95▽
	フィブリノーゲン量		115▲	112▲	

有意差の検定は一元配置分散分析を行い、有意水準5%をもって有意差が認められたものについて、LSD法(Least Significant Difference Method)により行った(△▽: $p<0.05$ 、▲▽: $p<0.01$)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

雄では、700ppm以上の群で血色素量およびヘマトクリット値の高値、2000ppm以上で平均赤血球容積、リンパ球数の高値、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、3500ppm群で平均赤血球血色素量および白血

球数の高値が認められた。雌では、700ppm 以上の群で白血球数およびリンパ球数の高値、2000ppm 以上の群で単球数および血小板数の高値、活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮、3500ppm 群で好塩基球数の高値およびプロトロンビン時間の短縮が認められた。

その他の変化は、用量相関性がなく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；解剖日（解剖前日より約 16 時間絶食条件下）に主群の全動物について、エーテル麻酔下で腹大動脈より採取した血液から血漿を分取して以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、アルブミン／グロブリン比(A/G 比)、血糖、
総コレステロール、HDL-コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、
総ビリルビン、直接ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、
アスパラギン酸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)、アルカリ性ホスファターゼ(ALP)、
 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP)、乳酸脱水素酵素、
クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、コリンエステラーゼ、ナトリウム、
カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

表4 血液生化学的検査成績

性別	検査項目	投与量 (ppm)			
		70	700	2000	3500
雄	A/G 比		108△	110▲	117▲
	血糖				85▼
	総コレステロール		142▲	165▲	203▲
	HDL-コレステロール	74▼		82▼	
	リン脂質		133▲	149▲	183▲
	直接ビリルビン				83▽
	γ-GTP			100▲	150▲
	CPK				123▲
雌	総蛋白	96▽	96▽	96	93▼
	総コレステロール			141▲	142▲
	HDL-コレステロール			123△	
	リン脂質			126▲	↑117
	AST	113△	119▲		
	ALT	145▲	130▲		
	ALP	137△	139△	166▲	137△
	γ-GTP		100△	100△	150▲
	CPK		116△		
	コリンエステラーゼ	76▽	77▽	81	65▼
	カリウム				86▼
	クロール				96▼

有意差の検定は一元配置分散分析を行い、有意水準5%をもって有意差が認められたものについて、LSD 法 (Least Significant Difference Method) により行った (△▽: $p<0.05$ 、▲▼: $p<0.01$ 、↑: 高値傾向)。
表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

雄では、700ppm 以上の群でアルブミン/グロブリン比、総コレステロールおよびリン脂質の高値、2000ppm 以上の群でγ-グルタミルトランスペプチダーゼの高値、3500ppm 群でクレアチンホスホキナーゼの高値、血糖および直接ビリルビンの低値が認められた。雌では、700ppm 以上の群でγ-グルタミルトランスペプチダー

ぜの高値、2000ppm 以上の群で総コレステロールおよびリン脂質の高値あるいは高値傾向、3500ppm 群でコリンエステラーゼ、カリウムおよびクロールの低値が認められた。

アルカリ性ホスファターゼおよび総タンパクの変化は、正常な生理学的変動の範囲内であることから投与に関連しない変化と考えられた。また、70 および 700ppm 群におけるコリンエステラーゼの低値は、用量相関性に乏しいことから、毒性学的意義はないと考えられた。その他の変化は、用量相関性がなく検体投与の影響とは考えられなかった。

性周期観察；ホルモン測定群の雌の全動物（対照群および 3500ppm 群の 6 例/群）について、解剖日を含む解剖前連続 8 日間に膣垢を採取し、観察した。

3500ppm 群の 1 例に性周期の乱れが認められたが、本動物は検査初日に発情期が見られ、以降 7 日間発情休止期が持続したものであることから、膣スミア採取時の物理的刺激によって偽妊娠状態になった可能性も考えられ、被験物質投与によるものか不明であった。*

ホルモン測定；ホルモン測定群の全動物（対照群および 3500ppm 群の 6 例/群）について、断頭によって採取した血液から血漿および血清を分取して以下の項目を測定した。

血漿：副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）

血清：コルチコステロン、黄体形成ホルモン（LH）、

テストステロン（雄のみ）、エストラジオール（雌のみ）、

プロゲステロン（雌のみ）

対照群に比べ統計学的に有意な差の認められた項目を次表に示す。

* 申請者註： 上記のように、3500ppm 群（256mg/kg）の 1 例に性周期の乱れが認められたが、より長期間にわたり、より多くの動物を用いて性周期への影響を検討した、ピリダリルのラットを用いた 4 週間投与によるホルモン検討試験（高用量：2000ppm、102.2mg/kg/day）（資料 9－3）および二世代繁殖毒性試験（高用量：1000ppm、79.1～91.4mg/kg/day）（資料 6－1）において、本化合物投与による性周期への影響は認められなかった。

表5 血中ホルモン濃度測定

性別	検査項目	投与量 (ppm)
		3500
雄	テストステロン	46▽
雌	エストラジオール	27▼

有意差の検定は Student の t 検定を用いて行った (▽ : $p < 0.05$ 、▼ : $p < 0.01$)。表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

3500ppm 群の雄でテストステロンの低値が、同群の雌ではエストラジオールの低値が認められた。エストラジオールの性周期各期毎の値については、各期毎の例数が少なく、解析不能であった。*

肉眼的病理検査；最終投与翌日に屠殺した主群の全動物について剖検を行った。主な所見の発現頻度を次表に示す。

* 申請者註： 本試験においては、上記のように 3500ppm (雄で 233mg/kg/day、雌で 256mg/kg/day) の投与量でエストラジオールおよびテストステロンの低値が認められた (3500ppm 群のみ測定)。また、*in vitro* におけるラット性ホルモン生合成系に対する影響検討試験 (資料 9-2) の結果、ピリダリルには 17 β -HSD 活性の阻害を介した非常に弱いステロイドホルモン生合成阻害活性が認められ、高用量ではこのような作用を有する可能性が示唆された。しかし、90 日間反復投与試験 (資料 4-1) および慢性毒性・発癌性試験 (資料 5-1) では、高用量にそれぞれ 2000ppm あるいは 1000ppm を設定したことから、3500ppm はそれらの試験では採用しない高用量であった。一方、2000ppm (雄で 94.9mg/kg/day、雌で 102.2mg/kg/day) の投与量で 4 週間反復投与を行い、エストラジオールおよびテストステロンを含む血中ホルモン濃度の測定を実施した試験 (資料 9-3) において、ホルモン濃度には何等影響が認められず、雄において 2000ppm 群で前立腺 (背側葉) の重量の低値を認めたのみであり、1000ppm 群 (雄で 49.9mg/kg/day、雌で 54.9mg/kg/day) では何等内分泌系への影響は認められなかった。内分泌攪乱作用を検出する検査項目の中で、前立腺の重量は、比較的鋭敏な項目であることが知られている。これらのことから、本化合物の内分泌系への影響は、高用量において、鋭敏な項目に変動が認められる程度の軽微な影響であり、重篤なものではないと考えられた。

表6 肉眼的病理検査成績

性別	所見	投与量 (ppm)				
		0	70	700	2000	3500
雄	肝臓； 暗化	0	1	2	6	10
	大型化	0	3	0	2	1
雌	肝臓； 暗化	0	0	1	0	4
	副腎； 褪色	0	0	0	6	6
	大型化	0	0	0	0	3
	卵巣； 大型化	0	0	1	0	6
	肺； 褪色	0	0	0	0	1

雄では、700ppm 以上の群で肝臓の暗化、2000ppm 以上の群で肝臓の大型化が認められた。雌では、700ppm 以上の群で肝臓の暗化、2000ppm 以上の群で副腎の褪色、3500ppm 群で副腎および卵巣の大型化、肺の褪色が認められた。

臓器重量；剖検後、主群の全動物について以下の臓器の重量を測定した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、胸腺、副腎、下垂体、

甲状腺および上皮小体、精巣、前立腺、精巣上体、精囊、卵巣、子宮

対照群に比べ統計学的に有意な差の認められた項目を次表に示す。

表7 臓器重量

性別	臓器		投与量 (ppm)			
			70	700	2000	3500
雄	精巣	絶対重量			85▼	89▽
	下垂体	絶対重量		86▼	86▼	86▼
	精巣上体	絶対重量			90▽	89▼
	心臓	相対重量			115▲	111▲
	肝臓	相対重量			108△	114▲
	腎臓	相対重量				117▲
	副腎	相対重量				113△
	脳	相対重量			113▲	116▲
	肺	相対重量			106▲	106△
	甲状腺	相対重量			123▲	123▲
雌	卵巣	絶対重量				149▲
		相対重量			129△	166▲
	下垂体	絶対重量			82▽	82▼
	肺	絶対重量				113▲
		相対重量				128▲
	心臓	絶対重量			92▽	
		相対重量				118▲
	肝臓	相対重量			107△	118▲
	腎臓	絶対重量				112△
		相対重量				125▲
	副腎	相対重量				128▲
	脳	絶対重量		95▼	95▼	
		相対重量			108△	113▲
	胸腺	相対重量	125△	138▲	125△	125△

有意差の検定は一元配置分散分析を行い、有意水準5%をもって有意差が認められたものについて、LSD法 (Least Significant Difference Method) により行った (△ : $p < 0.05$ 、▲▼ : $p < 0.01$)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

雄では、700ppm 以上の群で下垂体の絶対重量の低値、2000ppm 以上の群で精巣および精巣上体の絶対重量の低値、心臓、肝臓、脳、肺および甲状腺の相対重量の高値、3500ppm 群で腎臓および副腎の相対重量の高値が認められた。雌では、2000ppm 以上の群で下垂体の絶対重量の低値、肝臓、卵巣および脳の相対重量の高値、3500ppm 群で腎臓および肺の絶対・相対重量の高値、卵巣の絶対重量の高値、心臓および副腎の相対重量の高値が認められた。

胸腺の相対重量の変化は、正常な生理学的変動の範囲内であることから、投与に関連しない変化と考えられた。その他の変化は、用量相関性がなく検体投与の影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；

①光学顕微鏡的検査；主群の以下の臓器について病理組織学的検査を行った。

全群：肝臓、腎臓、肺および気管支、副腎、卵巣、精巣

対照群および 3500ppm 群のみ：脾臓、心臓、脳、胸腺、前立腺、下垂体、甲状腺および上皮小体、眼球、ハーダー腺、唾液腺（顎下腺、大舌下腺）、顎下リンパ節、気管、食道、舌、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、膀胱、腸間膜リンパ節、大動脈（胸部）、脊髄（胸部）、坐骨神経、骨および骨髓（胸骨、大腿骨）、筋肉（大腿部）、膀胱、皮膚（腹部）、精巣上体、精囊、子宮、膈、乳腺（雌）、肉眼的病変部位

主な所見の発現頻度を次表に示す。

表8 病理組織学的検査

性別	所見 (程度)	投与量 (ppm)				
		0	70	700	2000	3500
雄	肝臓；肝細胞単細胞壊死 (1)	8	7	4	3	4
	(2)	2	3	6	7	6
	単核細胞浸潤 (1)	8	7	4	3	4
	(2)	2	3	6	7	6
	小葉周辺性肝細胞空胞化 (1)	8	7	3*	0**	0**
	小葉中心性肝細胞肥大 (1)	0	1	0	6**	5**
	(2)	0	0	0	0	3
	副腎；球状帯空胞化 (1)	0	0	0	1	1
	網状帯空胞化 (1)	0	0	0	0	5**
	(2)	0	0	0	0	1
雌	肺；泡沫細胞/好酸性細胞集簇 (1)	0	0	0	0	3
	肝臓；肝細胞単細胞壊死 (1)	4	4	6*	2**	4**
	(2)	0	0	2	8	6
	単核細胞浸潤 (1)	4	4	6*	2**	4**
	(2)	0	0	2	8	6
	小葉中心性肝細胞肥大 (1)	0	0	0	3	7**
	副腎；網状帯空胞化 (1)	0	0	0	2	1**
	(2)	0	0	0	1	1
	(3)	0	0	0	0	8
	束状帯空胞化 (1)	0	1	0	1	2**
	(2)	0	0	0	0	5
	球状帯空胞減少 (1)	0	0	0	0	8**
	肺；泡沫細胞/好酸性細胞集簇 (1)	0	0	0	0	7**
	卵巣；間質腺細胞空胞化 (1)	2	2	4	2**	0**
	(2)	0	0	0	8	10
	黄体増加 (1)	0	0	0	0	1

有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行った (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$)

程度：1=軽微、2=軽度、3=中等度

雄では、700ppm 以上の群で肝臓において肝細胞単細胞壊死の病変の程度の増加傾向とそれに伴う単核細胞浸潤の増加傾向および小葉周辺性の空胞化の減少がみられ、2000ppm 以上の群で小葉中心性の肝細胞肥大の増加および副腎球状帯の空胞の増加傾向が認められた。また、3500ppm 群で肺の泡沫細胞あるいは好酸性細胞集簇の増加傾向および副腎網状帯の空胞の増加が認められた。雌では、700ppm 以上の群で肝臓の小葉中心性の単細胞壊死の増加とそれに伴う単核細胞浸潤の増加がみられ、2000ppm 以上の群では小葉中心性の肝細胞肥大、副腎網状帯の空胞の増加傾向および卵巣の間質腺細胞空胞化の頻度および程度の増加が認められた。3500ppm 群では、副腎束状帯にも空胞の増加がみられ、これに伴うと思われる球状帯の空胞減少が認められた。さらに、同群で肺の泡沫細胞あるいは好酸性細胞の集簇および卵巣で黄体の増加傾向がみられた。*

* 申請者註： 上記に示したごとく、2000ppm 以上の群で卵巣の病理組織学的変化が認められた。しかし、内分泌系への影響を詳細に検討する目的で実施した、ピリダリルのラットを用いた4週間投与によるホルモン検討試験（資料9-3）において、2000ppm（雄で94.9mg/kg/day、雌で102.2mg/kg/day）の投与量で卵巣に上記と同じ変化が認められたものの、血中ホルモン（エストラジオール、プロゲステロン）に何等影響は認められなかった。

また、2000ppm 以上の群で副腎の病理組織学的変化が認められたが、本試験で雌雄のコルチコステロン濃度を測定したところ、3500ppm の投与量においても、有意な変化は認められなかった。

これらのことから、本化合物の投与により、卵巣および副腎に病理組織学的変化は認められるものの、1000ppm あるいは2000ppm の投与量では、血中のホルモン濃度には影響しない程度の変化であると考えられた。

肺においては、泡沫細胞あるいは好酸性細胞の軽微な集簇が認められた。これらの変化は、脂質の代謝異常や肺の障害に伴って発現することが知られている。本試験においても、総コレステロールの高値が認められており、かつ、本試験における肺の電子顕微鏡的検査の結果、肺胞上皮細胞や血管内皮細胞などの肺胞の構成細胞に異常が認められなかったことから、本化合物の投与により脂質の代謝異常が惹起され、マクロファージ系と泡沫あるいは好酸性細胞が肺胞内に集簇したものと考えられた。

- ②電子顕微鏡的検査;主群の対照および3500ppm群の雌雄各2例について以下の臓器の電子顕微鏡的検査を行った。

肺、副腎、肝臓外側左葉

雌雄の3500ppm群で、肝臓の滑面小胞体の軽微な増生がみられ、雌の3500ppm群で副腎球状帯細胞の脂肪減少、束状帯および網状帯細胞の脂肪増加が認められた。

- ③免疫組織化学検査;主群の対照および3500ppm群の全例について以下の肝臓の胎盤型グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST-P) 染色陽性細胞巣を定量的に評価した。雌雄の3500ppm群の肝臓において、GST-P 陽性細胞巣の発生数やその大きさに増加傾向は認められなかった。

以上の結果より、検体をSD系ラットへ3ヵ月間混餌投与することにより、雌雄とも700ppm以上の群で体重増加抑制が認められた。また、700ppm以上の群で肝臓に、2000ppm以上の群で副腎および卵巣に、3500ppm群では肺に影響を及ぼすことが明らかとなった。以上のことから、無毒性量は、雌雄とも70ppm(雄4.68 mg/kg/day 相当、雌5.37 mg/kg/day 相当)であると考えられた。

②-a ピリダリル原体のラットにおける2週間経口毒性試験 (資料 4-2 a)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 非対応]

報告書作成年：1995 年

検 体：ピリダリル原体

純 度： %

試験動物：SD (Crj:CD(SD)) ラット (1 群あたり雄 6 匹、投与開始時 5 週齢)

投与期間：2 週間

投与開始：1995 年 3 月 21 日

最終屠殺：1995 年 4 月 5 日

投与方法：検体を 0 および 7000ppm の濃度で基礎飼料に混入し、自由に摂取させた。検体を混入した飼料は 1 週間に 1 回の頻度で調製した。

投与量設定根拠：

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；全例について毎日午前中に 1 回、さらに休日を除き、生死確認を実施した。

投与期間中の死亡および投与に関連する臨床所見は認められなかった。

体重変化；投与 1、4、8 および投与終了日に全例について測定した。また、解剖日に、屠殺動物全例について測定した。全測定日について、体重増加量を算出した。有意差の検定は、Student の t 検定により実施した。

表1 体重成績

投与量 (ppm)		7000
投 与 日	4	↓90
	8	↓87
	15	↓81

表2 体重増加量成績

投与量 (ppm)		7000
投 与 日	4	↓27
	8	↓69
	15	↓60
	総体重 増加量	↓56

(↓, $p \leq 0.05$; ↓↓, $p \leq 0.01$)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

投与期間を通じて、体重および体重増加量の低値がみられた。2 週間の総体重増加量は、対照群と比較して 44%の減少であった。

摂餌量；投与 1～3 日および 8～10 日に全例について体重測定日を含む連続約 48 時間の摂餌量をケージごとに測定した。

表3 摂餌量成績

投与量 (ppm)		7000
投 与 口	3	76
	10	70

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した。

2 週間の平均摂餌量は、対照群と比較して 27%の減少であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次の通りであった。

表4 平均検体摂取量

投与量 (ppm)	7000
検体摂取量 (mg/kg/day)	603

血液学的検査；投与期間終了後に、全生存例について、約 16 時間絶食させた後、エーテル麻酔下で腹大動脈より血液サンプルを採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積(MCV)、
平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素量濃度(MCHC)、血小板数、
白血球数、白血球分類、網赤血球数、プロトロンビン時間 (PT)、
活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、フィブリノーゲン量
対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向が認められた項目を次表に示す。

表5 血液学的検査成績

投与量 (ppm)	7000
赤血球数	107▲
血色素量	106▲
ヘマトクリット値	106▲
網赤血球数	79▼
白血球数	137△
リンパ球数	140↑
好酸球数	200△
PT	145▲
APTT	138▲

有意差の検定は、Student の t 検定により実施した。

(△▽ : $p < 0.05$ 、▲▼ : $p < 0.01$ 、↑ : 傾向あり)

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

白血球数、リンパ球数および好酸球数の高値または高値傾向がみられ、さらに、
赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の高値、網赤血球数の低値が
みられた。また、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間
の延長が認められた。

血液生化学的検査；血液学的検査と同様にして採取した血液の一部から血漿を分取
し、以下の測定を行った。

総蛋白、アルブミン、アルブミン／グロブリン比(A/G 比)、血糖、総コレステロー
ル、トリグリセライド、リン脂質、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、アルカリ性ホスファターゼ、γ-グルタミルト
ランスペプチダーゼ、乳酸脱水素酵素、クレアチンホスホキナーゼ、コリンエステ
ラーゼ、総ビリルビン、直接ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、
カリウム、クロール、カルシウム、無機リン

対照群に比べ統計学的に有意な差が認められた項目を次表に示す。

表6 血液生化学的検査成績

投与量 (ppm)	7000
総コレステロール	167▲
トリグリセライド	164△
リン脂質	166▲
尿素窒素	127▲
アラニンアミノトランスフェラーゼ	171▲
無機リン	114▲
カリウム	87▽

有意差の検定は、Student の t 検定により実施した。

(△▽: $p < 0.05$ 、▲▼: $p < 0.01$ 、↑: 高値傾向)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

総コレステロール、リン脂質、トリグリセライド、尿素窒素、アラニンアミノトランスフェラーゼおよび無機リンの高値、カリウムの低値が認められた。

肉眼的病理検査；最終投与翌日に屠殺した全動物について剖検を行った。主な所見の発現頻度を次表に示す。

表7 肉眼的病理検査成績

所見	投与量 (ppm)	
	0	7000
肺； 淡赤色巣	0	1
肝臓； 色調暗化	0	5
小葉像明瞭化	0	1
精囊； 小型化	0	4
前立腺； 小型化	0	1

肺で淡赤色巣が 1/6 例に、肝臓で色調の暗化が 5/6 例、小葉像明瞭化が 1/6 例に認められた。また、精囊の小型化が 4/6 例、前立腺の小型化が 1/6 例に認められた。

臓器重量；剖検後、全動物について以下の臓器の重量を測定した。

肝臓、脾臓、腎臓、心臓、肺、胸腺、副腎、精巣、脳、下垂体

対照群に比べ統計学的に有意な差の認められた項目を次表に示す。

表8 臓器重量

投与量(ppm)		7000
肺	相対重量	127△
肝臓	相対重量	115▲
脳	絶対重量	93▼
	相対重量	118▲
精巣	相対重量	120▲
副腎	相対重量	122△
腎臓	絶対重量	85▽
脾臓	絶対重量	78▽
心臓	絶対重量	87▽
下垂体	絶対重量	80▽

有意差の検定は、Student の t 検定により実施した。

(△▽ : $p<0.05$, ▲▼ : $p<0.01$)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

相対重量で、肺、肝臓、脳、精巣および副腎の高値がみられた。絶対重量では、腎臓、脾臓、心臓、脳および下垂体の低値が認められた。

病理組織学的検査；全動物の肺のバラフィン薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡による検査を実施した。
主な所見の発現頻度を次表に示す。

表9 病理組織学的検査

所見（程度）		投与量(ppm)	
		0	7000
肺；泡沫細胞/好酸性細胞集簇	(1)	0	3
	(2)	0	2
	(3)	0	1
水腫	(1)	0	2
	(2)	0	1
肥厚（動脈中膜）	(1)	0	3

程度：1=軽微、2=軽度、3=中等度

肺胞内の泡沫細胞あるいは好酸性細胞の集簇が全例に認められた。その程度は、軽微な変化が3/6例、軽度な変化が2/6例、中等度な変化が1/6例であった。また、軽微あるいは軽度な水腫が3/6例にみられた他、動脈中膜の軽微な肥厚が3/6例に認められた。

ピリダリルの亜急性毒性を7000ppmの投与量で検討したところ、投与に起因すると考えられる体重増加抑制、白血球数および脂質系パラメータの高値、肝臓の相対重量高値、色調暗化、肺胞の泡沫あるいは好酸性細胞の集簇、水腫および動脈中膜の肥厚が認められた。

③ピリダリルのイヌを用いた亜急性毒性試験

(資料4-3)

試験機関：パナファーム ラボラトリーズ

報告書作成年：2000年 [GLP対応]

検体：ピリダリル

純度： %

試験動物：ビーグル犬（投与開始時6～7ヵ月齢、体重；雄7.4～9.9kg、雌6.5～8.8kg）
1群あたり雌雄各4頭（死亡により動物数が減少したため、最高用量群には雌雄各1頭を追加した）

投与期間：90日間

投与開始；1998年9月18日（雄）、25日（雌）、10月16日（追加動物）

最終屠殺；1998年12月17日（雄）、24日（雌）、1999年1月14日（追加動物）

投与方法：検体をゼラチンカプセルに充填し、10、100および300mg/kg/dayの用量で1日1回、週7日反復経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

[投与量設定根拠]

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；1日3回、症状所見および生死の有無を観察した。

1000mg/kg/dayの用量で投与した雄1例および雌1例が投与2および3日に、300mg/kg/day群の雌1例が投与38日にそれぞれ死亡した。また、100mg/kg/day群の雌1例が投与10日に瀕死状態となり、その後回復した。死因は呼吸不全と考えられた。

投与に関連する症状所見として呼吸促迫、喘鳴、腹式呼吸、呼吸困難などの呼吸の異常が300mg/kg/day以上の群の雄および100mg/kg/day以上の群の雌で認められた。

詳細な症状観察；投与開始前に1回、投与期間中は週1回の頻度で以下の項目について観察した。

ケージ内観察；姿勢、歩行、振戦、痙攣、常同行動、異常行動、
活動性レベル

検査台観察；取り扱い易さ、筋緊張、振戦、痙攣、筋攣縮、呼吸、流涎、
流涙、瞳孔径、眼球突出、目・鼻の分泌物、皮膚、毛並み、
可視粘膜

途中死亡動物を含めて投与に関連する変化は認められなかった。

体重；投与期間中には週 1 回の頻度で測定し、さらに投与最終日および剖検日にも測定した。また、これを基に投与開始前からの体重増加量も算出した。

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (日)	投与量 (mg/kg/day)		
			10	100	300
雄	体重増加量	49			74
		56		79	67
		89		74	53
雌	体重増加量	7			-114▽
		77		82	59
		89		66	51

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (▽：p<0.05)。
表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

途中死亡動物を含めて 300mg/kg/day 群の雌では投与期間を通じて、
300mg/kg/day 群の雄では投与 49 日以降に体重増加量の減少傾向が認められた。また、同様の変化は 100mg/kg/day 群の雌雄でも投与 56 (雄) および 77 (雌) 日以降に認められた。

摂餌量；投与期間中には週 1 回の頻度で測定し、さらに投与開始前日および投与最終日にも測定した。

途中死亡動物を含めて投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査；投与開始前および投与 13 週に、計画屠殺全動物の両眼について検査を実施した。

投与に関連する変化は認められなかった。

尿検査；投与開始前、および投与 4、8 ならびに 13 週に新鮮尿および 24 時間蓄尿を採取し、以下の項目について測定した。

蓄尿サンプル；尿量、色調、尿比重

新鮮尿サンプル；pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、
ウロビリノーゲン、尿沈渣

途中死亡動物を含めて投与に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、および投与 4、8 ならびに 13 週に、さらに、300mg/kg/day 群の追加動物を除いて投与 3（雄）および 2（雌）週に橈側皮静脈より血液サンプルを採取し以下の項目を測定した。

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

網状赤血球数、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
対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)		
			10	100	300
雄	赤血球数	3			86
		4			90
	ヘモグロビン量	3			85▽
		4			89
	ヘマトクリット値	3			86▽
		4			90

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った（▽：p<0.05）。
表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

300mg/kg/day 群の雄では赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少または減少傾向が投与 3 および 4 週に認められた。同様な変化は 300mg/kg/day 群の雌 1 例でも投与 8 および 13 週に認められた。

また、途中死亡動物のうち 1000mg/kg/day の用量で投与した雄 1 例および 300mg/kg/day 群の雌 1 例ではそれぞれ投与 2 および 37 日に、また、投与期間中に瀕死状態となった 100mg/kg/day 群の雌 1 例については投与 10 日に、いずれも瀕死状態時における計画外検査として同様の項目を測定した。

その結果、1000mg/kg/day 投与の雄 1 例、300mg/kg/day 群の雌 1 例および 100mg/kg/day 群の雌 1 例ともに分葉核好中球の増加による白血球数の増加が認められた。また、1000mg/kg/day 投与の雄 1 例および 100mg/kg/day 群の雌

1例ではヘモグロビン量およびヘマトクリット値の増加が、300mg/kg/day 群の雌1例では血小板数の減少が認められた。さらに、100mg/kg/day 群の雌1例では活性化部分トロンボプラスチン時間の延長も認められた。

これらの変化については、投与検体の直接的な影響ではなく全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

骨髓検査；第4肋骨の骨髓を採取して有核細胞数を測定するとともに、骨髓塗抹標本作製して細胞分類を実施した。

計画屠殺動物では投与に関連する変化は認められなかった。

また、途中死亡動物のうち1000mg/kg/dayの用量で投与した雄1例および300mg/kg/day 群の雌1例については上記と同様に検査を実施した。

その結果、いずれにおいても多染性および正染性赤芽球比率の増加、ならびにM/E比の減少が認められた。

これらの変化については、投与検体の直接的な影響ではなく全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

血液生化学的検査；投与開始前、および投与4、8ならびに13週に、さらに、300mg/kg/day 群の追加動物を除いて投与8（雄）および2（雌）週に橈側皮静脈より血液サンプルを採取し以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、
総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスアミナーゼ(AST)、
アラニンアミノトランスアミナーゼ(ALT)、アルカリ性ホスファターゼ
(ALP)、
 γ -グルタミルトランスペプチターゼ(γ -GTP)、総コレステロール、血糖、
尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム、
クロライド

ALPの増加が300mg/kg/day 群の雌1例で投与4、8および13週に、ALTの増加が100mg/kg/day 群の雌1例で投与8および13週に認められた。また、総蛋白の減少が100mg/kg/day 群の雌1例で投与8および13週に、300mg/kg/day 群の雌1例では投与4、8および13週にそれぞれ認められた。

このほかに、次表に示した通り各項目で対照群に比べ統計学的に有意な平均値の差が認められたが、いずれも投与と関連のない変化と考えられた。すなわち、総蛋白、血糖、尿素窒素、無機リンおよびカルシウムの変化はいずれも軽微で、投与開始前に得られたデータの変動範囲内あるいは背景値の範囲内であった。また、 γ -GTP、カリウムおよびアルブミンの変化については、いずれも明らか

な用量相関性のない変化あるいは投与開始前に得られたデータの変動範囲内の変化であった。

性別	検査項目	検査時期 (週)	投与量 (mg/kg/day)		
			10	100	300
雄	総蛋白	4		96▽ ¹⁾	
	血糖	3		109△ ²⁾	114▲ ³⁾
	無機リン	13			83▽ ⁴⁾
	γ-GTP	3	53▽		
		8	59▽		59▽
	カリウム	3		84▼	
		4		88▽	
雌	血糖	4		109△ ⁵⁾	
		8		116▲ ⁶⁾	
	尿素窒素	8			73▽ ⁷⁾
	カルシウム	13		96▽ ⁸⁾	95▼ ⁹⁾
	カリウム	8		92▽	
		13	90▼	87▼	
	アルブミン	4		106△	

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った (△▽ : $p < 0.05$, ▲▼ : $p < 0.01$)。

表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

- 1) : 5.0 g/dL (群平均値)、4.7~5.9 g/dL (背景値)
- 2) : 94 mg/dL (群平均値)、84~112 mg/dL (背景値)
- 3) : 98 mg/dL (群平均値)、84~112 mg/dL (背景値)
- 4) : 4.8 mg/dL (群平均値)、3.8~6.2 mg/dL (背景値)
- 5) : 97 mg/dL (群平均値)、79~110 mg/dL (背景値)
- 6) : 95 mg/dL (群平均値)、79~110 mg/dL (背景値)
- 7) : 13.7 mg/dL (群平均値)、7.2~19.5 mg/dL (背景値)
- 8) : 10.8 mg/dL (群平均値)、9.8~11.7 mg/dL (背景値)
- 9) : 10.6 mg/dL (群平均値)、9.8~11.7 mg/dL (背景値)

1)~9)の背景値は平均値±2SDを示す。

また、途中死亡動物のうち 1000mg/kg/day の用量で投与した雄 1 例および 300mg/kg/day 群の雌 1 例ではそれぞれ投与 2 および 37 日に、また、投与期間中に瀕死状態となった 100mg/kg/day 群の雌 1 例については投与 10 日に、いずれも瀕死状態時における計画外検査として同様の項目を測定した。

その結果、1000mg/kg/day 投与の雄 1 例では AST、尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウムおよびカリウムの増加が、300mg/kg/day 群の雌 1 例では ALT および尿素窒素の増加ならびにナトリウムの減少が、100mg/kg/day 群の雌 1 例では ALP の増加およびナトリウムの減少が認められた。

これらの変化については、投与検体の直接的な影響ではなく全身状態の悪化に起因するものと考えられた。

剖 検；最終投与翌日に全生存動物を屠殺し、剖検を行った。

計画屠殺動物では自然発生所見である瞬膜の肥厚、あるいは明らかな用量相関性のない肝臓の葉間の癒着、心臓と大動脈壁の癒着や盲腸の暗赤色化を伴った嵌頓が認められたが、投与に関連した変化は認められなかった。

また、途中死亡動物についても計画屠殺動物と同様に検査を実施し、投与に関連した変化として 1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例および 300mg/kg 群の雌 1 例で肺の暗赤色化および拡張、気管内泡沫液貯留、ならびに食道、大動脈または胸腺周囲組織の浮腫が認められ、1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例では胸腔内液貯留も認められた。

臓器重量；剖検後、計画屠殺全動物について以下の臓器の重量を測定した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓（胆嚢を含む）、肺（気管支を含む）、

卵巣、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、子宮

対照群に比べ統計学的に有意な差あるいは傾向の認められた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/day)		10	100	300	10	100	300
肺	絶対重量		125	133△		135▲	124
	相対重量		134△	144△		142▲	139△
肝臓	絶対重量			107			123▲
	相対重量			118			138
腎臓	相対重量						126△

有意差の検定は Dunnet の多重比較検定を用いて行った(△:p<0.05, ▲:p<0.01)。表中の数値は対照群(100)に対する変動率(%)を示す。

100 および 300mg/kg/day 群の雌雄で、絶対および相対肺重量の増加または増加傾向が認められた。また、300mg/kg/day 群の雌雄では絶対および相対肝臓重量の増加または増加傾向が、100mg/kg/day 群の雌雄各 1 例では相対肝臓重

量の増加が、300mg/kg/day 群の雌では相対腎臓重量の増加がそれぞれ認められた。

また、途中死亡動物についても計画屠殺動物と同様に検査を実施し、投与に関連した変化として1000mg/kg/day 投与の雌雄各1例および300mg/kg 群の雌1例で絶対および相対肺重量の増加が認められた。

病理組織学的検査；全動物の以下の全臓器について病理組織学的検査を行った。

副腎、大動脈（胸部）、骨髄（大腿骨および胸骨）、
 脳および脳幹（延髄／橋、小脳および大脳）、盲腸、結腸、十二指腸、
 精巣上体、食道、眼球（網膜）、大腿骨、胆嚢、心臓、回腸、空腸、
 腎臓、涙腺、喉頭、肝臓、肺および気管支、乳腺（雌のみ）、
 腸間膜リンパ節、鼻甲介骨、視神経、卵巣、膵臓、上皮小体、咽頭、
 下垂体、前立腺、直腸、唾液腺（顎下、舌下）、坐骨神経、
 骨格筋（大腿二頭筋）、皮膚（下腹部）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾
 臓、胸骨、胃、顎下リンパ節、精巣、胸腺、甲状腺、気管、膀胱、
 子宮、膈および子宮頸管、肉眼的病変部位

検体投与に関連する所見の計画屠殺動物における発現頻度を次表に示す。

性別	雄				雌			
投与量 (mg/kg/day)	0	10	100	300	0	10	100	300
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	3
肺： 動脈壁肥厚	0	0	0	1	0	0	1	1
細動脈壁肥厚	0	0	0	1	0	0	1	1
血管周囲部リンパ球浸潤	0	0	0	1	0	0	1	0
副腎： 束状帯皮質細胞空胞化	0	0	0	4	0	0	3	3
肝臓： 小葉中間帯肝細胞空胞化	0	0	0	0	0	0	1	1
小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	2
腎臓： 近位尿細管褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	1	1

肺の変化としては、動脈および細動脈壁の肥厚、血管周囲部でのリンパ球の細胞浸潤が100mg/kg/day 以上の群の雌、300mg/kg/day 以上の群の雄で認められた。さらに1000mg/kg/day 投与時の死亡を含む途中死亡動物では、肺での血管周囲部および肺胞の浮腫、血管周囲部の出血、肺胞におけるマクロファージまたは好中球浸潤、リンパ管の拡張ならびに細動脈壁の壊死も認められた。

副腎では、束状帯の皮質細胞空胞化が 100 および 300mg/kg/day 群の雌および 300mg/kg/day 群の雄で認められた。また、途中死亡動物のうち 300mg/kg/day 群の雌 1 例では束状帯の皮質細胞肥大も認められた。肝臓では、小葉中間帯の肝細胞空胞化が 100 および 300mg/kg/day 群の雌に、小葉中心性の肝細胞肥大が 300mg/kg/day 群の雌に認められた。腎臓では、近位尿細管の褐色色素沈着が 100 および 300mg/kg/day 群の雌に認められた。

また、途中死亡動物についても計画屠殺動物と同様に検査を実施し、投与に関連した所見として次の変化が認められた。すなわち、肺では血管周囲部および肺胞の浮腫（フィブリンを含む）、血管周囲部の出血、肺胞におけるマクロファージまたは好中球浸潤、ならびにリンパ管の拡張が 1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例および 300mg/kg 群の雌 1 例で認められ、さらに動脈壁の肥厚が 1000mg/kg/day および 300mg/kg/day 群の各雌 1 例で、細動脈壁の肥厚および壊死、血管周囲部のリンパ球浸潤が 300mg/kg/day 群の雌 1 例でそれぞれ認められた。副腎では束状帯の皮質細胞の肥大および空胞化が 300mg/kg/day 群の雌 1 例で認められた。胸腔では食道、大動脈または胸腺の結合組織の浮腫が 1000mg/kg/day 投与の雌雄各 1 例および 300mg/kg 群の雌 1 例で認められた。

以上のように、ピリダリルの投与により肺に対する影響を示唆する所見が 100mg/kg/day 以上で認められこれらに起因すると考えられる死亡が 1000mg/kg/day を投与した雌雄各 1 例および 300mg/kg/day 群の雌 1 例にみられた。また、副腎、肝臓および腎臓に対する影響、ならびに体重増加抑制や総蛋白の減少が 100mg/kg/day 以上で認められた。このほか、赤血球系パラメータの変動が 300mg/kg/day で認められた。

このように、検体投与の影響は 100mg/kg/day 以上の群で認められたことから、本試験条件下でのビーグル犬における無毒性量（NOAEL）は雌雄ともに 10mg/kg/day であると考えられた。