

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 動 物	1 群当 たり供試数	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
1 GLP	急性毒性 14 日間観察	ラット	雌雄 5	経口	0, 4946	雌雄 > 4946	残研 (1998 年)	5
2 GLP		マウス			0, 4946	雌雄 > 4946	残研 (1998 年)	6
3 GLP		ラット		経皮	5000	雌雄 > 5000	HLS (1996 年)	7
4 GLP				吸入	4.4 (mg/ℓ)	雌雄 > 4.4 (mg/ℓ)	HLS (1996 年)	8
5 GLP	皮膚刺激性 72 時間観察	ウサギ	6	背部皮膚	0.5 g	刺激性なし	HLS (1996 年)	10
6 GLP	眼刺激性 72 時間観察	ウサギ	非洗眼群 6	眼瞼結膜 嚢内投与	0.1 ml (54mg)	刺激性なし	HLS (1996 年)	11
7 GLP	皮膚感作性 24 日間観察	モルモ ット	雌 20	Maximi- zation 法	感作皮内: 2.5% 感作経皮: 50% 惹起経皮: 1%	軽度の皮膚感作性 (感作率 10%)	残研 (1998 年)	12
8 省略	急性神経毒性	急性経口毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験省略。						14
9 GLP	亜急性毒性 13 週間	ラット	雌雄 10	飼料添加	0, 40, 200, 400 (ppm) 雄: 2.7, 13.8, 27.7 雌: 3.2, 16.3, 32.6	雄 2.7 (40ppm) 雌 3.2 (40ppm)	Covance (1997)	15
10 GLP		マウス	雌雄 10	飼料添加	0, 50, 100, 150 (ppm) 雄: 8.0, 16.2, 24.0 雌: 10.3, 21.7, 32.9	雄 8.0 (50ppm) 雌 10.3 (50ppm)	Covance (1997)	22
11 GLP		イヌ	雌雄 4	飼料添加	0, 40, 400, 1000(ppm) 雄: 0.9, 10.4, 25.0 雌: 1.3, 10.7, 28.2	雄 0.9 (40ppm) 雌 1.3 (40ppm)	MPI (1997)	26
12 GLP	亜急性毒性 21 日間	ラット	雌雄 10	経皮	0, 80, 400, 1000	雌雄 80	MPI (1998)	32
13 省略	反復経口神経 90 日間	亜急性経口毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがなく、90 日間反復経口投与神経毒性試験は不要と判断したことから試験省略。						36
14 GLP	慢性毒性/ 発がん性 104 週間	ラット	雌雄 60	飼料添加	雄: 0, 20, 80, 200 雌: 0, 20, 80, 160 (ppm) 雄: 1.0, 3.9, 9.7 雌: 1.2, 4.8, 9.7	雄 1.0 (20ppm) 雌 1.2 (20ppm) 催腫瘍性なし	Covance (1999)	37
15 GLP	発がん性 78 週間	マウス	雌雄 50	飼料添加	雄: 0, 10, 100, 225 雌: 0, 10, 100, 175 (ppm) 雄: 1.5, 15.4, 35.1 雌: 1.9, 19.7, 35.7	雄 1.5 (10ppm) 雌 1.9 (10ppm) 催腫瘍性なし	Covance (1999)	65
16 GLP	慢性毒性 52 週間	イヌ	雌雄 5	飼料添加	0, 40, 400, 1000(ppm) 雄: 1.014, 8.949, 23.942 雌: 1.051, 10.422, 29.192	雄 1.014 (40ppm) 雌 1.051 (40ppm)	MPI (1999)	82

資料 No.	試験の種類 期 間	供 試 動 物	1 群当 たり供試数	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
17 GLP	2 世代繁殖	ラット	雌雄 30	飼料添加	0, 20, 80, 200 (ppm) F ₀ 雄 : 1.5, 6.1, 15.3 F ₀ 雌 : 1.7, 6.9, 17.2 F ₁ 雄 : 1.7, 6.9, 17.4 F ₁ 雌 : 1.9, 7.8, 19.4	一般毒性 (親動物) F ₀ 雄 1.5, 雌 1.7 F ₁ 雄 1.7, 雌 1.9 (20ppm) 一般毒性 (児動物) F ₀ 雄 15.3, 雌 17.2 F ₁ 雄 17.4, 雌 19.4 (200ppm) 繁殖への影響なし	WIL (1999)	89
18 GLP	催奇形性 10 日間	ラット	雌 25	経口	0, 10, 100, 500	親 10 胎児 500 催奇形性なし	WIL (1997)	98
19 GLP	催奇形性 13 日間	ウサギ	雌 20	経口	0, 10, 50, 200	親 200 胎児 200 催奇形性なし	WIL (1997)	102
20 GLP	変異原性 (Ames)	サルモネラ菌 大腸菌	—	in vitro	0, 10, 33, 100, 333, 1000, 3333, 5000 (μ g/plate)	陰性	MICROBIO (1996)	106
21 GLP	変異原性 (マウスフォーマ)	マウス LS178Y 細胞	—	in vitro	《1 回目》 S-9(-) ; 0, 5-50 S-9(+) ; 0, 25-1000 《2 回目》 S-9(-) ; 0, 5-50 S-9(+) ; 0, 25-500 (μ g/ml)	陰性	MICROBIO (1996)	109
22 GLP	変異原性 (染色体異常)	CHO 細 胞	—	in vitro	《1 回目》 S-9(-) ; 0, 12-375 S-9(+) ; 0, 20-1250 《2 回目》 S-9(-) ; 0, 12-94 S-9(+) ; 0, 20-236 (μ g/ml)	陰性	MICROBIO (1996)	111
23 GLP	変異原性 (小核)	マウス	雌雄 5	経口	雄 : 0, 96, 192, 384 雌 : 0, 50, 100, 200	陰性	MICROBIO (1996)	115
24 GLP	変異原性 (Rec-Assay)	枯草菌	—	in vitro	0, 1500, 3000, 6000, 12000, 24000 (μ g/disk)	陰性	実医研 (1998)	117
25 GLP	変異原性 (UDS)	ラット	雄 3	経口	0, 500, 2000	陰性	食薬 (1999)	119
26 GLP	《一般薬理試験》 一般状態	マウス	雌雄 3	経口	0, 320, 800, 2000, 5000	雌雄 2000	残研 (1998)	121
	体重					雌雄 320		
	一般状態 *	ラット	雄 5	経口	0, 800, 2000, 5000	雌雄 5000		
	体重 *					雌雄 800		
	体温 *					雌雄 5000		
	呼吸・心 臓睡眠	マウス	雄 8	経口	0, 3.28, 8.19, 20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000, 5000	8.19		
	血圧	ラット	雄 5	経口	0, 800, 2000, 5000	5000		
	心拍数					5000		
	瞳孔径 *	ラット	雄 5	経口	0, 800, 2000, 5000	5000		
	小腸炭末 輸送能	マウス	雄 8	経口	0, 128, 320, 800, 2000, 5000	320		
	握力 *	ラット	雄 5	経口	0, 800, 2000, 5000	5000		
	血液 (溶血)	ラット	雌雄 5	経口	0, 320, 800, 2000, 5000	雌雄 5000		
	血液 (凝固)					雌雄 5000		

* : 同一動物を使用

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

2. 原体中混在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 動 物	1 群当 たり 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
27 GLP	代謝物 急性毒性 14 日間観察	マウス	雌雄 5	経口	5000	雌雄 >5000	HLS (1998)	125
28 GLP	代謝物 急性毒性 14 日間観察	マウス	雌雄 5	経口	0, 5000	雌雄 >5000	実医研 (1998)	126
29 GLP	代謝物 変異原性 (Ames)	サルモネラ菌	—	in vitro	0, 100, 333, 1000, 3333, 5000 (μg/plate)	S9(-): 陰性 S9(+): TA98 弱い陽性	MICROBIO (1991)	127
30 GLP	代謝物 変異原性 (Ames)	サルモネラ菌 大腸菌	—	in vitro	0, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 (μg/plate)	陰性	実医研 (1998)	130
31 GLP	代謝物 変異原性 (マウスリンフォーマ)	マウス L5178Y 細胞	—	in vitro	S-9(-): 0, 5-200 S-9(+): 0, 10-100 (μg/ml)	陰性	MICROBIO (1992)	133
32 GLP	代謝物 変異原性 (小核)	マウス	雄 5	経口	0, 164, 260	陰性	MICROBIO (1992)	135

3. 製剤を用いた試験成績

3.1. 20%フロアブル剤

資料 No.	試験の種類 期 間	供 試 動 物	1 群当 たり 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
33 GLP	急性毒性 14 日間観察	ラット	雌雄 5	経口	0, 5000	雌雄 > 5000	残研 (1998 年)	137
34 GLP	急性毒性 21 日間観察	マウス			0, 2032, 2743, 3704, 5000, 6750	雌雄 > 6750	残研 (1998 年)	138
35 GLP	急性毒性 14 日間観察	ラット		経皮	0, 2000	雌雄 > 2000	残研 (1998 年)	140
36 GLP				吸入	1.51 (mg/ℓ)	雌雄 > 1.51 (mg/ℓ)	残研 (1998 年)	141
37 GLP	皮膚刺激性 72 時間観察	ウサギ	6	背部皮膚	0.5 ml	刺激性なし	残研 (1998 年)	143
38 GLP	眼刺激性 72 時間観察	ウサギ	非洗眼群 6 洗眼群 3	眼瞼結膜 囊内投与	0.1 ml	刺激性なし	残研 (1998 年)	144
39 GLP	皮膚感作性 31 日間観察	モルモ ット	雌 20	Buehler 法	感作経皮：100% 惹起経皮：100%	陰性	残研 (1998 年)	146

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

3.2. 15%くん煙剤

資料 No.	試験の種類 期 間	供 試 動 物	1 群当 たり 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
40 GLP	急性毒性 14 日間観察	ラット	雌 6	経口	300, 2000	雌 > 2000	ボソ (2003 年)	148
41 GLP			雌雄 5	経皮	2000	雌雄 > 2000	ボソ (2003 年)	149
42 GLP				吸入	5 (mg/l)	雌雄 > 5 (mg/l)	三菱安科研 (2003 年)	150
43 GLP	皮膚刺激性 72 時間観察	ウサギ	3	背部皮膚	0.5 g	刺激性なし	ボソ (2003 年)	152
44 GLP	眼刺激性 19 日間観察	ウサギ	非洗眼群 3 洗眼群 3	眼瞼結膜 嚢内投与	0.1 g	軽度刺激性 洗眼効果あり	ボソ (2003 年)	153
45 GLP	皮膚感作性 30 日間観察	モルモ ット	雌 20	Buehler 法	感作経皮：50% 惹起経皮：50%	陰性	ボソ (2003 年)	155

4. 参考資料

資料 No.	試験の種類 期 間	供 試 動 物	1 群当 たり 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
参考資 料-1	ハイツ小体確認 14 日間 (原体)	マウス	雌雄 5	飼料添加	500(ppm) 雄：93.74 雌：114.02	ハイツ小体形成	日産 (1999)	157
参考資 料-2**	貧血確認 7 日間 (原体)	ラット	雌雄 5	経口	0, 200	溶血性貧血発現	日産 (2000)	159

**：平成 11 年 12 月 15 日開催の安全性評価委員会の要望事項に対する回答資料として、平成 12 年 3 月 1 日追加提出。

注 1) 試験機関名として以下の略称を用いた。

Covance： Covance Laboratories Ltd.
 HLS： Huntingdon Life Sciences Ltd.
 MICROBIO： Microbiological Associate, Inc.
 MPI： MPI Research
 WIL： WIL Research Laboratories, Inc.
 三菱安科研： 株式会社 三菱化学安全科学研究所
 残研： 財団法人 残留農業研究所
 実医研： 株式会社 実医研
 食薬： 財団法人 食品薬品安全センター秦野研究所
 日産： 日産化学工業株式会社
 ボソ： 株式会社 ボソリサーチセンター

1. 原体

(1) 急性毒性

① ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.1)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)
報告書作成年 : 1998 年

検体純度 :

供試動物 : Crj:CD (SD) IGS ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与時 6 週齢
投与時体重範囲 雄 ; 173-190g 雌 ; 122-144g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁し、単回強制経口投与した。投与容量は 20 ml/kg とした。動物は投与前日の夕方より投与約 3 時間後まで絶食させた。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は投与後 1、3 および 6 時間目に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、4946 注1	0、4946 注1
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 4946	> 4946
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	4946	4946

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 特記すべき異常は認められなかった。

体重 ; 全動物で体重増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 4946 mg/kg 群の雌雄全例に、脾臓の腫大および暗調化が認められた。

注1 : 試験終了後に検体純度の訂正があったため、限度試験としての投与用量である 5000 mg/kg を下回った。しかしながら、投与精度を考慮した場合、本用量での投与は 5000 mg/kg を投与した場合と実質的な差はなく、限度試験としての目的を十分に果たしているものと判断した。

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

② マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. 2)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)
報告書作成年 : 1998 年

検体純度 :

供試動物 : Crj:CD-1(ICR)マウス、1 群雌雄各 5 匹、投与時 6 週齢

投与時体重範囲 雄 ; 27.2-31.1g 雌 ; 22.9-26.0g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 0 日として起算)

試験方法 : 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液に懸濁し、単回強制経口投与した。投与容量は 20 ml/kg とした。動物は投与約 2 時間前から投与約 3 時間後迄絶食させた。

試験項目 : 症状および生死を、投与日は投与後 1、3 および 6 時間目に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重は投与開始前、投与後 7 および 14 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経口	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	0、4946 ^{注2}	0、4946 ^{注1}
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 4946 ^{注3}	> 4946 ^{注2}
死亡開始時間および終了時間	12 日	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	10 日 / 12 日	3 日 / 5 日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—	4946

死亡 ; 4946 mg/kg 群雄 1 匹が、投与後 12 日に死亡した。

症状 ; 4946 mg/kg 群雄 1 匹で投与後 10-11 日に腹部膨満が、雌 1 匹で投与後 3-4 日に外陰部被毛の湿潤が認められた。

体重 ; 生存例では、4946 mg/kg 群雌 1 匹で投与後 7 日にわずかな体重減少が認められた以外、全動物が体重増加を示した。

肉眼的病理検査 ; 生存例では、4946 mg/kg 群雄 3 匹に脾臓の暗調化が、また雌全例に脾臓の腫大および暗調化が認められた。死亡例では、小腸内ガス貯留が認められた。

^{注2} : 試験終了後に検体純度の訂正があったため、限度試験としての投与用量である 5000 mg/kg を下回った。しかしながら、投与精度を考慮した場合、本用量での投与は 5000 mg/kg を投与した場合と実質的な差はなく、限度試験としての目的を十分に果たしているものと判断した。

^{注3} : 予備試験では死亡が認められず、検体の物理化学的性状からもこれ以上の高用量での投与が困難であることから、LD₅₀ 試験は実施せず、LD₅₀ 値を 4946 mg/kg 以上と決定した。

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

③ ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.3)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences Ltd. (GLP 対応)
報告書作成年 : 1996 年

検体純度 :

供試動物 : Crl:CD®(SD)BR ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与時 9-12 週齢、
投与時体重範囲 雄 ; 310-346g 雌 ; 211-228g

試験期間 : 14 日間観察 (投与日を 1 日として起算)

試験方法 : 検体を 1g 当たり 1ml の 0.9% 生理食塩水でペースト状に湿らせ、前日刈毛した背部皮膚に直接塗布した。塗布部位 (約 3× 4cm) はガーゼで覆い、さらに閉塞性被覆物でカバーしテープで止めた。塗布 24 時間後、被覆物を取り除き、残余した検体を乾いたガーゼで拭き取った。

試験項目 : 死亡の確認を 1 日 2 回、症状を投与日は投与後 1、2 および 4 時間目に、それ以降は 1 日 1 回、14 日間観察した。体重を投与開始前日(0 日)、投与開始直前(1 日)、投与後 8 および 15 日に測定した。観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果 :

投与経路	経皮	
性別	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	> 5000	> 5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	5000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

症状 ; 異常および重度の経皮所見は認められなかった。

体重 ; 全動物で体重増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 異常は認められなかった。

④ ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 No. 4)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences (GLP 対応)

報告書作成年 : 1996 年

検体純度 :

供試動物 : Crl:CD®(SD)BR ラット、1 群雌雄各 5 匹、

曝露時 10 週齢、曝露時体重範囲 雄 ; 333-359g 雌 ; 223-247g

試験期間 : 14 日間観察 (曝露日を 1 日として起算)

試験方法 : あらかじめ空気粉碎処理した後圧縮した検体を、ダストフィーダーを用いてダストとし、4 時間鼻部曝露した。

濃度測定 : チャンバー内ダストをポンプで定量吸引し、ガラス繊維ろ紙に捕集した。その後以下の 2 つの方法で実際濃度を算出した。

空気捕集前後のろ紙の重量差を用いる重量分析

高速液体クロマトグラフを用いる化学分析

曝露条件 ;

設定濃度(mg/l)		7.9
実際濃度(mg/l)		4.4 * (化学分析)
粒子径分布 ** (%)	≤ 10.0 μm	93
	≤ 4.0	57
	≤ 1.0	4.5
空気力学的質量中位径(μm)		3.6
呼吸可能な粒子(<15μm)の割合(%)		>93%
チャンバー容積(l)		40
チャンバー内通気量(l/分)		25
曝露条件		ダスト、4 時間、鼻部曝露

* 重量分析結果は 4.7 mg/l

** カスケードインパクターを用いて 4 回測定した平均値

試験項目 : 症状は、曝露中については、曝露開始から 1 時間は 15 分毎、その後は 1 時間毎に観察し、曝露終了後は 30 分後のケージ移動時ならびにその後 1 時間毎に 2 回観察した。また曝露 2 日以降は 1 日 1 回観察した。

体表温度は、雌雄各 1 匹を対象に、曝露中 30 分毎に測定した。

体重は、曝露直前、8 日および 15 日に測定した。

肉眼的病理検査は曝露後 15 日に全動物を対象に行った。

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

結 果：

投与経路	吸入	
性別	雄	雌
曝露濃度(mg/l)	4.4	4.4
LC ₅₀ (mg/l)	> 4.4	> 4.4
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間および終了時間	曝露終了直後／8日	曝露終了直後／8日
死亡例の認められなかった 最大曝露濃度(mg/l)	4.4	4.4

死亡；死亡は認められなかった。

症状；曝露期間中に症状は認められなかった。曝露終了直後には湿性ラッセル音と分泌物（紅涙、赤色/褐色鼻汁）が認められたが、これらの症状は曝露後1週間以内にすべて消失した。

体重；全動物で体重増加が認められた。

肉眼的病理検査；異常は認められなかった。

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

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

①ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 No.5)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences (GLP 対応)

報告書作成年 : 1996 年

検体純度 :

供試動物 : New Zealand White 系ウサギ、雌雄各 3 匹、投与開始時 8 週齢

開始時体重範囲 2.1-2.3 kg

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 検体 0.5g を生理食塩水 0.5ml で湿潤させた後、2.5×2.5cm のガーゼにのせ、各動物の剪毛した背部皮膚に貼付し、その上をさらにガーゼで巻き、半閉塞性に被覆した。時間後被覆物を取り除き、乾いたガーゼで残余検体を拭き取った。

試験項目 : ガーゼ除去後 30 分および 24、48、72 時間に投与部位の刺激性変化 (紅斑、浮腫) の有無を観察し、EPA 法に従って採点した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

動物 番号	項目	最高 採点	適用終了後 (時間)				平均刺激 採点
			0.5	24	48	72	
3691M	紅 斑	4	1	0	0	0	0.3
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
3692F	紅 斑	4	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
3693M	紅 斑	4	1	0	0	0	0.3
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
3694F	紅 斑	4	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
3695M	紅 斑	4	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
3696F	紅 斑	4	0	0	0	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
平均	紅 斑	4	0.3	0	0	0	—
	浮 腫	4	0	0	0	0	—
平均刺激性採点の合計							0.6
FIFRA 皮膚一次刺激性指数(P.I.I.)							0.1

投与 30 分後の観察で、2 匹に非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる程度) が認められたが、24 時間後には回復していた。その他に刺激性変化は認められなかった。一次刺激性指数は 0.1 であり、本質的に無刺激性と分類された。

以上の結果から、ピフェナゼート原体はウサギ皮膚に対して、刺激性はないものと判断した。

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

② ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(資料 No.6)

試験機関 : Huntingdon Life Sciences (GLP 対応)
報告書作成年 : 1996 年

検体純度 :

供試動物 : New Zealand White 種ウサギ、非洗眼群 6 匹(雌雄各 3 匹)、投与時 8 週齢
開始時体重範囲 2.2-2.4kg

試験期間 : 72 時間観察

試験方法 : 無処理検体 0.1ml(54mg)を直接片眼の下眼瞼結膜嚢内に投与し、1 秒間眼瞼を閉じあわせた。他眼は無処理対照眼とした。

試験項目 : 投与 1、24、48、72 時間後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、EPA 法に従って採点した。

また、1 日 2 回死亡の有無を観察した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

項 目			最高 採点	観 察 時 間 **			
				1	24	48	72
非洗眼 (6 匹平均)	角 膜	混 濁	4	0	0	0	0
		面 積*	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0.67	0	0
		浮 腫	4	0.67	0	0	0
		分泌物*	3	0.83	0	0	0
	合 計		110	5.0	1.33	0	0

* : 農水省ガイドラインには記載なし

** : 観察時間毎の数値は、申請者が個体別採点表より算出した。

投与 1 時間後には全例で検体残余が認められたが、24 時間後には全て消失した。
全例の結膜に、投与 1 時間後から軽度の発赤、浮腫または分泌物が認められたが、48 時間後には消失した。いずれの変化も陽性反応ではなかった。
角膜および虹彩には、何ら変化は認められなかった。

以上の結果から、ピフェナゼート原体はウサギの眼粘膜に対して、刺激性はないものと判断した。

(3) 皮膚感作性

①モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.7)

試験機関 : (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)
報告書作成年 : 1998 年

検体純度 :

供試動物 : ハートレイ系モルモット(Crj:Hartley)、雌、開始時 6 週齢、開始時体重範囲 330-399g

検体投与群およびその陰性対照群 ; 各 20 匹

陽性物質投与群およびその陰性対照群 ; 各 10 匹 計 60 匹

試験期間 : 感作開始から惹起終了後 48 時間観察まで (24 日間)

試験方法 : Maximization 法で実施し、陽性対照物質として DNCB (2,4-dinitrochlorobenzene) を用いた。処理方法を下表に示す。

群	性	匹数	処理		
			感作皮内投与	感作経皮投与	惹起経皮投与
検体投与群	雌	20	①FCA*と生食の等量混合液 ②2.5%検体 流動パラフィン液 ③2.5%検体 FCA と生食の等量混合液	50%検体 白色ワセリン	1%検体 白色ワセリン
検体陰性対照群	雌	20	①FCA と生食の等量混合液 ②流動パラフィン液 ③FCA と生食の等量混合液	白色ワセリン	1%検体 白色ワセリン
陽性物質投与群	雌	10	①FCA と生食の等量混合液 ②0.1%DNCB 流動パラフィン液 ③0.1%DNCB FCA と生食の等量混合液	1%DNCB 白色ワセリン	0.5%DNCB 白色ワセリン
陽性物質陰性対照群	雌	10	①FCA と生食の等量混合液 ②流動パラフィン液 ③FCA と生食の等量混合液	白色ワセリン	0.5%DNCB 白色ワセリン

* FCA : フロイント完全アジュバント

感作皮内投与 : 剪毛・剃毛した肩甲部の左右 2 ヶ所 (2×4cm) の区画に、投与液①、②および③液を各々0.1ml ずつ投与した。

感作経皮投与 : 感作皮内投与 7 日後に、感作経皮投与液 0.4g を均一に塗布した濾紙 (2×4cm) を 48 時間閉塞貼付した。

惹起経皮投与 : 感作皮内投与 21 日後に、惹起経皮投与液 0.2g を均一に塗布した濾紙 (2×2cm) を 24 時間閉塞貼付した。

投与量設定根拠 ;

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

試験項目： 惹起経皮貼付除去後 24 および 48 時間に側腹部の皮膚反応を肉眼的に観察し、採点した。また、全動物について試験開始時および観察終了時に体重を測定した。

採点方法： 各観察時に下記に示した基準に従い採点した。採点された点数のうち、最高点をその動物の評点とし、各々の陰性対照群に認められた最高評点より高い評点を示した動物を感作陽性動物とした。

	点 数
肉眼的に変化なし	0
散在性の軽度の紅斑	1
中等度および慢性の紅斑	2
重度の紅斑および浮腫	3

結 果： 各観察時における感作性変化が認められた動物数を下表に示す。

群	性	匹数	処理			感作反応動物数								陽性動物数	感作率 (%)
			感作皮内投与	感作経皮投与	惹起経皮投与	皮膚反応評点									
						24 時間後				48 時間後					
						0	1	2	3	0	1	2	3		
検体投与群	雌	20	①FCA と生食の等量混合液 ②2.5%検体 流動パラフィン液 ③2.5%検体 FCA と生食の等量混合液	50%検体 白色ワザリン	1%検体 白色ワザリン	18	2	0	0	18	2	0	0	2/20	10
検体陰性対照群	雌	20	①FCA と生食の等量混合液 ②流動パラフィン液 ③FCA と生食の等量混合液	白色ワザリン	1%検体 白色ワザリン	20	0	0	0	20	0	0	0	—	—
陽性物質投与群	雌	10	①FCA と生食の等量混合液 ②0.1%DNCB 流動パラフィン液 ③0.1%DNCB FCA と生食の等量混合液	1%DNCB 白色ワザリン	0.5% DNCB 白色ワザリン	0	0	0	10	0	0	0	10	10/10	100
陽性物質陰性対照群	雌	10	①FCA と生食の等量混合液 ②流動パラフィン液 ③FCA と生食の等量混合液	白色ワザリン	0.5% DNCB 白色ワザリン	6	4	0	0	7	3	0	0	—	—

検体投与群の 2 例に評点 1 の変化が認められ、感作率は 10%と算出された。

陽性物質投与群では、全例に評点 3 の変化が認められ、感作率は 100%であった。

体重は、全動物で増加した。

以上の結果から、ピフェナゼート原体は軽度の皮膚感作性を有すると判断した。

(4) 急性神経毒性

(資料 No.8)

試験未実施

急性及び亜急性経口毒性試験成績からの考察で対応。

ラットにおける急性及び亜急性経口毒性試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅しており、神経毒性を示す所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。

下記に、急性及び亜急性経口毒性試験での神経毒性に関連する観察内容の概要、及び、急性神経毒性に対する総合考察を記載する。

①急性経口毒性試験(資料 No.1)

検体の単回投与後、14 日間に亘り一般状態を観察した。

②亜急性経口毒性試験(資料 No.9)

神経毒性に関連し、一般状態観察以外に、詳細な状態観察、機能検査、病理組織学的検査等を実施した。具体的項目については以下の通り。

- | | |
|------------|--|
| 詳細な状態観察 | : 外観、体位、姿勢、自律神経系機能、歩行の異常、動物の取り扱い
操作や環境刺激に対する反応、神経系、異常行動 |
| 機能検査項目 | : 刺激に対する感覚運動反応、握力、自発運動量 |
| 病理組織学的検査項目 | : 脳、坐骨神経、骨格筋、脊髄、眼球及びその付属器 |
| その他の検査 | : 脳重量測定、眼科学的検査 |

ラット急性経口毒性試験における一般状態の観察及びラット亜急性経口毒性試験における詳細な状態の観察、機能検査、病理組織学的検査等において、いずれの項目においても致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められず、かつ、既知神経毒性物質と化学構造に相関も認められなかった。以上のことより、総合的に考察して、急性神経毒性試験の実施は不要と判断した。

(5) 亜急性毒性

①ラットを用いた亜急性経口毒性試験

(資料 No.9)

試験機関 : Covance Laboratories Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

供試動物 : Crl:CD[®](SD)BR ラット、1 群雌雄各 10 匹、開始時約 6 週齢

開始時体重範囲 雄 ; 187-224g 雌 ; 137-172g

試験期間 : 13 週間 (1995 年 11 月 6 日-1996 年 2 月 6 日)

試験方法 : 検体を 0、40、200 および 400 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠 ;

試験項目および結果 :

症状および死亡率 ; 死亡の有無を 1 日 2 回、症状を 1 日 1 回観察した。また、週 1 回詳細な触診を行った。

検体投与に関連した死亡および症状は認められなかった。

体 重 ; 投与開始前、およびその後は週 1 回測定した。

主要期間 (4 週までは毎週、それ以降は 4 週間毎) における統計学的に有意な累積体重増加量の変化を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	200	400	40	200	400
1-2 週			60 ↓		61 ↓	39 ↓
1-3 週			68 ↓		69 ↓	51 ↓
1-4 週			73 ↓		74 ↓	61 ↓
1-5 週			73 ↓		77 ↓	66 ↓
1-9 週			74 ↓		81 ↓	71 ↓
1-14 週	(96)	(92)	74 ↓	(96)	81 ↓	72 ↓

Dunnett 検定 ↑ ↓ : p < 0.05

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を表す。 ()内の数字は参考値

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

200 ppm 群雌および 400 ppm 群雌雄において、累積体重増加量は全投与期間にわたって有意に減少した。通期（1-13 週）での体重増加抑制率は、40、200、400 ppm の雄で各々 4、8、26%、また雌で各々 4、19、28%であった。

飼料摂取量および飼料効率；飼料摂取量を週 1 回測定し、飼料効率も算出した。

投与期間中に認められた統計学的に有意な飼料摂取量の変化を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	200	400	40	200	400
1 週			79 ↓			85 ↓
2 週			83 ↓			89 ↓
3 週			87 ↓			90 ↓
4 週			91 ↓			
5 週			85 ↓		89 ↓	87 ↓
6 週			91 ↓		91 ↓	89 ↓
7 週						
8 週			88 ↓			
9 週			89 ↓			89 ↓
10 週			90 ↓		87 ↓	88 ↓
11 週					90 ↓	91 ↓
12 週			87 ↓			90 ↓
13 週			88 ↓			90 ↓
1-13 週	(97)	(98)	88 ↓	(99)	(92)	(90)

Dunnnett 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を表す。 ()内の数字は参考値

400 ppm 群雌雄ではほぼ全投与期間にわたって、有意な飼料摂取量の減少が認められた。また、200 ppm 群雌の 5-6 週および 10-11 週の飼料摂取量も有意に減少していた。1-13 週通期での総飼料摂取量は、40、200、400 ppm の雄で各々 3、2、12%、雌で各々 1、8、10%減少し、400 ppm 群雄の減少は統計学的に有意であった。

一方、飼料効率の有意な減少が 200 および 400 ppm 群雌雄で散見され、最も大きな変動は、200 ppm 群雌および 400 ppm 群雌雄で投与 1 週に認められた。

検体摂取量；体重、飼料摂取量および投与濃度から、平均検体摂取量を算出した。

投与量 (ppm)		40	200	400
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.7	13.8	27.7
	雌	3.2	16.3	32.6

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

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

神経行動学的検査；投与 8 週および 13 週に全動物を対象として、以下の機能観察検査(FOB)を実施した。

1. ホームケージ／手にとって観察

ケージから動物を取り出し、以下の項目について観察した。

被毛の外観、眼周囲の涙・付着物の色、痙攣／振戦、

取り扱い易さ／躯体筋の緊張、ケージからの取り出し易さ、異常発声、眼球突出、流涙、他の症状、眼瞼閉鎖、立毛、呼吸、流涎、苦悶反応

検体投与による影響は認められなかった。

2. オープンフィールド観察

ホームケージ観察終了後、各動物を観察台の上に置き、以下の項目について 1 分間観察した。

覚醒、旋回、痙攣、歩行、他の症状、姿勢、常同行動、振戦

また、1 分間の観察期間中、歩行開始時間および立ち上がり回数を計測した。観察終了時には尿プール数/糞塊数を計測し、多尿および下痢の有無を記録した。

対照群と比較して統計学的に有意差の認められた項目を以下に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		0	40	200	400	0	40	200	400
尿プール数 (回数/分)	8 週	1.6	0.8	1.5	0.8	1.1	0.4	0.4	0.1 ↓
	13 週	1.1	1.1	1.4	1.0	0.8	1.2	0.3	0.0

Dunnett 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

() : 参考値

8 週観察時に、400 ppm 群雌で尿プール数の有意な減少が認められたが、生物学的意義のある変化とは考えられなかった。その他、有意な変化は認められなかった。13 週観察時には有意な変化は認められなかった。

3. 感応観察

観察台において、以下の項目について観察した。

光接近反応、カタレプシー、臭覚反射、瞳孔反射、正向反射、
触覚反射、その他の所見

検体投与による影響は認められなかった。

4. 機器測定

以下の項目について、種々の器具を用いて測定した。

前肢の握力、後肢の握力、後肢着地開脚幅、直腸温、テイルフリック時間

検体投与による影響は認められなかった。

5. 自動聴覚刺激驚愕反応

自動聴覚刺激装置に動物を収容し、事前に音刺激を与えた場合と与えない場合それぞれについて、音刺激（驚愕音）に対する反応を測定した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；試験終了時(14 週)に全動物を対象として、一夜絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した。

白血球百分率および細胞形態、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、
白血球数、血小板数

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

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	200	400	40	200	400
赤血球数			91 ↓		94 ↓	90 ↓
ヘモグロビン			94 ↓		95 ↓	93 ↓
ヘマトクリット						94 ↓

Dunnett 検定 ↑ ↓: $p < 0.05$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を表す。

200 ppm 群雌および 400 ppm 群雌雄で、赤血球数、ヘモグロビンの有意な減少が認められ、400 ppm 群雌ではヘマトクリットの有意な減少も認められた。

これらの変化は、有意な体重増加抑制と病理組織学的検査で認められた脾臓の髓外造血亢進に対応する変化と考えられた。

血液生化学的検査；試験終了時(14 週)に全動物を対象として、一夜絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルブミン、A/G 比、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、Ca、Cl、クレアチニン、γ-グルタミン酸トランスフェラーゼ、グロブリン、グルコース、P、K、Na、総ビリルビン、総コレステロール、総蛋白、尿素窒素

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	200	400	40	200	400
総蛋白		95 ↓	94 ↓			
総コレステロール						134 ↑
アルブミン					116 ↑	
A/G 比					128 ↑	
カルシウム					105 ↑	

Dunnett 検定 ↑ ↓: $p < 0.05$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

検体投与による影響は認められなかった。

200 および 400 ppm 群雄で総蛋白の有意な減少が認められたが、アルブミンやグロブリンに変化は認められず、また背景データ^{注4}の範囲内であり、用量相関性も認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

また、400 ppm 群雌で総コレステロール値、200 ppm 群雌でアルブミン、A/G 比およびカルシウムの有意な増加が認められたが、これらの変化はいずれも軽度かつ背景データ^{注5}の範囲内であり、さらに用量相関性も認められないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

注4：背景データ 5.9-7.4 g/dL に対し、200 および 400 ppm 群雄の総蛋白量は各々 6.2 および 6.1 g/dL。

注5：総コレステロールの背景データ 47-109 mg/dL に対し、400 ppm 群雌の値は 98 mg/dL。

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

尿検査；試験終了時(14週)に全動物を対象として、絶食条件下で一夜尿を採取し、以下の項目を検査した。

外観／色、グルコース、ケトン体、蛋白、潜血、沈渣の鏡検、尿量、pH、比重

検体投与による影響は認められなかった。

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

副腎、脳および脳幹*、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣および精巣上体*

*分離せず一体として測定

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	200	400	40	200	400
最終体重				84 ↓		91 ↓	88 ↓
脳／脳幹	相対			120 ↑		109 ↑	113 ↑
	脳比						120 ↑
脾臓	相対			122 ↑		126 ↑	136 ↑
	脳比						120 ↑
精巣／ 精巣上体	相対			114 ↑	—	—	—
	脳比						
腎臓	相対			116 ↑		114 ↑	121 ↑
	脳比						
肝臓	絶対			86 ↓			
	相対					115 ↑	123 ↑
	脳比			86 ↓			
副腎	相対						132 ↑
	脳比						

Dunnett 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

— : 測定なし

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

200 ppm 群雌および 400 ppm 群雌雄の種々の臓器で、絶対重量、相対重量あるいは脳重量比の有意な変動が認められたが、殆どの変化は最終体重の有意な減少に起因する変化と考えられた。これら変化のうち、400 ppm 群雌で認められた脾臓の脳重量比の増加は、病理組織学的検査で認められた色素沈着増加に関連する変化と考えられた。

肉眼的病理検査；全動物を対象として、以下の項目について検査した。

すべての体孔、カーカス、頸部臓器および組織、頭蓋腔、脳の断面、
体躯の外表面、脳の外表面、脊髄の外表面および断面、鼻腔および副鼻腔、
胸腔、腹腔および骨盤腔ならびに内部臓器

検体投与による影響は認められなかった。

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

病理組織学的検査；対照群および 400 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎皮質および肉眼病変部については、40、200 ppm 群でも検査した。

副腎、大動脈、骨髄（大腿骨および胸骨）、脳および脳幹（延髄・橋、小脳皮質および大脳皮質）、結腸、盲腸、直腸、十二指腸、空腸、回腸、食道、眼球（視神経を含む）、関節表面を含む大腿骨、心臓、腎臓、病変部、肝臓、肺、乳腺（雌）、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、卵巢、睪臓、下垂体、前立腺、唾液腺（顎下腺）、坐骨神経、精囊、皮膚、脊髄（頸部、胸部中央および腰部）、脾臓、胃、精巣および精巣上体、大腿筋、胸腺、甲状腺（上皮小体）、気管、膀胱、子宮頸および膈を含む子宮

主な所見を次表に示す。

投与量 (ppm)			雄				雌			
			0	40	200	400	0	40	200	400
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	軽微			2	6			2	3
		軽度				2			3	2
						↑			↑	↑
	単細胞壊死	軽微			3	5↑			1	
		軽度	1			4				
	クッパー細胞色素沈着	軽微				3				
		軽度	6	9	8	8	6	9	8	7
	リンパ組織球性細胞浸潤	軽微			2	2				
					↑	↑				
脾臓	髄外造血亢進	軽微	1	3	2	2			1	1
		軽度			1	4			2	1
						↑				
	色素沈着増加	軽微	1	2	5	5	6	3	5	2
		軽度				5	1		1	2
		中等度								4
						↑				
副腎皮質	束状帯空胞化	軽微	1	3	3	2				
		軽度	2	1	3	7				
		中等度			1	1				
						↑				

Wilcoxon の順位和検定(申請者が実施)

↑ ↓ : p<0.05、 ↑ ↓ : p<0.01

表中の数字は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す

検体投与に関連した発現頻度あるいは程度の増加が、肝臓、脾臓および副腎皮質に認められ、雄では多くの場合統計学的に有意であった。

肝臓では、200 および 400 ppm 群雄で小葉中心性肝細胞肥大(軽微-軽度)、単細胞壊死(軽微)、リンパ組織球性細胞浸潤(軽微-軽度)が認められ、400 ppm 群雄で髄外造血亢進(軽微)およびクッパー細胞色素沈着(軽微)が認められた。雌では 200 および 400ppm 群で小葉中心性肝細胞肥大(軽微-軽度)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日産化学工業株式会社にある。

脾臓では、200 ppm 群雌および 400 ppm 群雌雄で髄外造血亢進(軽微-軽度)、200 ppm 群雄および 400 ppm 群雌雄で赤脾髄の色素沈着増加(雄で軽微-軽度、雌で軽微-中等度)が認められた。

副腎皮質束状帯では 200 および 400ppm 群雄で空胞化(軽微-中等度)が認められた。肝臓におけるクッパー細胞色素沈着(ヘモジデリン様)および髄外造血亢進は脾臓における変化と同一のものであり、血液学的検査で認められた赤血球系パラメーターの減少に関連する変化であった。

以上の結果から、本剤のラットを用いた 13 週間混餌投与による亜急性毒性試験における影響として、400 ppm 群雌雄では、体重増加抑制および飼料摂取量の減少が認められ、赤血球数・ヘモグロビンの減少ならびにこれらに対応する病理組織学的変化が肝臓および脾臓に認められた。その他、同群雄ではさらに副腎皮質に病理組織学的変化が認められ、雌ではヘマトクリットの減少および脾臓の脳重量比の増加も認められた。200 ppm 群では、体重増加抑制、飼料摂取量の減少ならびに赤血球数・ヘモグロビンの減少が雌で認められ、また病理組織学的変化が雌雄の肝臓および脾臓ならびに雄の副腎皮質で認められた。40 ppm 群では、雌雄ともに明らかな変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄ともに 40 ppm(雄 2.7 mg/kg/day、雌 3.2 mg/kg/day)であると判断した。累積体重増加量から、最大耐量は雄でほぼ 200 ppm であり、雌の 200 ppm および雌雄の 400 ppm は最大耐量を超えていたと考えられた。

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

② マウスを用いた亜急性経口毒性試験

(資料 No.10)

試験機関 : Covance Laboratories Inc. (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

供試動物 : Crl:CD-1®(ICR) BR マウス、1 群雌雄各 10 匹、開始時約 6 週齢

開始時体重範囲 雄 ; 22.2-28.9g 雌 ; 19.1-22.9g

試験期間 : 13 週間 (1996 年 5 月 20 日-1996 年 8 月 20 日)

試験方法 : 検体を 0、50、100 および 150 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

投与量設定根拠 ;

試験項目および結果 :

症状および死亡率 ; 死亡の有無を 1 日 2 回、症状を 1 日 1 回観察した。また、週 1 回詳細な触診を行った。

検体投与に関連した死亡および症状は認められなかった。

体重 ; 投与開始前およびその後は週 1 回測定した。

統計学的に有意な体重変化および総体重増加量を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	50	100	150	50	100	150
12 週		92 ↓	92 ↓			
1-13 週	(79)	74 ↓	(95)	(103)	(95)	(117)

Dunnett 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を表す。 ()内の数字は参考値

検体投与に起因する変化は認められなかった。

体重の有意な変動が、12 週の 100 および 150 ppm 群の雄のみに認められたが、単発的な発現であることから、偶発的変化と考えられた。

また、1-13 週通期での総体重増加量が 100 ppm 群雄で有意に減少したが、用量に応じた変化ではなく、偶発的であり、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。

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

飼料摂取量および飼料効率；飼料摂取量を週1回測定し、飼料効率も算出した。

検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；体重、飼料摂取量および飼料中検体濃度から、平均検体摂取量を算出した。

投与量 (ppm)		50	100	150
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	8.0	16.2	24.0
	雌	10.3	21.7	32.9

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；試験終了時(14週)に全動物を対象として、一夜絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した。

白血球百分率および細胞形態、赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、白血球数、血小板数

検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査；試験終了時(14週)に全動物を対象として、一夜絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した^{注6}。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、γ-グルタミン酸トランスフェラーゼ、総コレステロール、クレアチニン、グルコース、尿素窒素、Cl、K、Na^{注7}

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	50	100	150	50	100	150
グルコース				70↓		
Na				107↑	—	106↑

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

—: 測定せず

検体投与による影響は認められなかった。

50 ppm 群雌でグルコースの有意な減少が認められたが、その程度は軽度であり、用量反応性も認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。また、50 および 150 ppm 群雌でナトリウムの有意な増加が認められたが、他の電解質の変化を伴っておらず、検体投与の影響とは考えられなかった。

尿検査；試験終了時(14週)に全動物を対象として、絶食条件下で一夜尿を採取し、以下の項目を検査した^{注8}。

外観／色、グルコース、ケトン体、蛋白、潜血、沈渣の鏡検、尿量、pH、比重

検体投与による影響は認められなかった。

注6：サンプル量が限られていたため、試験計画書に記載されていた以下の項目の測定は実施しなかった。
[非測定項目] アルブミン、A/G 比、Ca、グロブリン、総ビリルビン、総タンパク、P

注7：サンプル量が限られていたため、100 ppm 群雌では Na を測定しなかった。

注8：サンプル量が不足していた場合は、2～3 匹のマウスの尿をプールして検査した。

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

肉眼的病理検査；全動物を対象として、以下の項目について検査した。

すべての体孔、カーカス、頸部臓器および組織、頭蓋腔、脳の断面、
体躯の外表面、脳の外表面、脊髄の外表面および断面、鼻腔および副鼻腔、
胸腔、腹腔および骨盤腔ならびに内部臓器

検体投与による影響は認められなかった。

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

副腎、脳および脳幹、心臓、腎臓、肝臓および胆嚢、脾臓、精巣および精巣
上体

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		50	100	150	50	100	150
最 終 体 重		91 ↓	90 ↓	(92)			
精巣／ 精巣上体	絶対	82 ↓	86 ↓	(87)	—	—	—
	脳比	82 ↓	85 ↓	(93)	—	—	—
副腎	絶対	56 ↓	56 ↓	(94)		73 ↓	(100)
	相対	60 ↓	60 ↓	(102)		72 ↓	(95)
	脳比	55 ↓	55 ↓	(99)		72 ↓	(99)
肝臓／胆嚢	相対		111 ↑	114 ↑			

Dunnett 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

() 内数値は参考値

— : 測定せず

検体投与による影響は認められなかった。

50 あるいは 100 ppm 群で、雄の精巣／精巣上体の絶対および脳重量比の有意な減少ならびに雌雄の副腎の絶対、相対および脳重量比の有意な減少が認められた。しかしながら高用量群でこれらの減少は認められず、また対応する組織学的変化も認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

100 および 150 ppm 群雄で肝臓／胆嚢の相対重量が有意に増加した。しかしながら、絶対および脳重量比に有意な変化はなく、組織学的変化も認められなかったことから、偶発的なものであり検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；対照群および 150 ppm 群の全動物を対象として、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、肺、肝臓、脾臓、腎臓および肉眼病変部については、50 および 100 ppm 群についても実施した。

副腎、大動脈、骨髄（大腿骨および胸骨）、脳および脳幹（延髄・橋、小脳皮質および大脳皮質）、結腸、盲腸、直腸、十二指腸、空腸、回腸、食道、眼球（視神経を含む）、関節表面を含む大腿骨、心臓、腎臓、病変部、肝臓および胆嚢、肺、乳腺（雌）、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、卵巢、脾臓、下垂体、前立腺、唾液腺（顎下腺）、坐骨神経、精囊、皮膚、脊髄（頸部、胸部中央および腰部）、脾臓、胃、精巣および精巣上体、大腿筋、胸腺、甲状腺（上皮小体）、気管、膀胱、子宮頸および膈を含む子宮

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

検体投与に関連する変化を下表に示す。

投与量 (ppm)			雄				雌			
			0	50	100	150	0	50	100	150
検査動物数			10	10	10	10	10	10	10	10
脾臓	色素沈着増加	軽微	1	1	3	4	7	7	4	
		軽度				1		2	6	8
		中等度					1			2
		合計	1	1	3	5	8	9	10	10
		程度平均	1.1	1.1	1.3	1.6	2.0	2.1	2.6↑	3.2↑

Wilcoxon の順位和検定(申請者が実施) ↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01

表中の数字は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す

100 および 150 ppm 群雌雄の脾臓で、ヘモジデリンと思われる色素沈着増加の発生頻度および程度の増加が認められた。その程度は 100 ppm 群雄では軽微、100 ppm 群雌および 150 ppm 群雄では軽微-軽度、150 ppm 群雌では軽度-中等度であった。その他、検体投与に関連する変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のマウスを用いた 13 週間混餌投与による亜急性毒性試験における影響として、100 および 150 ppm 群雌雄の病理組織学的検査において脾臓の色素沈着の発生頻度および程度の増加が認められた。50 ppm 群では雌雄ともに明らかな変化は認められなかった。従って、無毒性量は雌雄ともに 50 ppm(雄 8.0 mg/kg/day、雌 10.3 mg/kg/day)であると判断した。

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

③ イヌを用いた亜急性経口毒性試験

(資料 No.11)

試験機関 : MPI Research (GLP 対応)

報告書作成年 : 1997 年

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時約 6 ヶ月齢

開始時体重範囲 雄 ; 10.7-12.6 kg 雌 ; 7.1-9.4 kg

試験期間 : 13 週間 (1996 年 11 月 21 日-1997 年 2 月 21 日)

試験方法 : 検体を 0、40、400 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製し、週 1 回給餌したが、40 ppm 群には投与 5 週目から毎日給餌した。

投与量設定根拠 ;

試験項目および結果 :

症状および死亡率 ; 死亡の有無を 1 日 2 回、症状を 1 日 1 回観察した。また、週 1 回詳細な観察を行った。

検体投与に関連した死亡および症状は認められなかった。

体 重 ; 投与開始前、およびその後は週 1 回測定した。

開始前および 13 週時の各群の平均体重の対照群に対する変動率を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	40	400	1000	40	400	1000
開始前	101	99	99	100	101	104
13 週	96	97	91	101	99	96

Dunnett または Welch 検定

投与期間中、投与群の体重に統計学的有意差は認められなかったが、投与終了時に 1000 ppm 群雌雄ではわずかではあるが体重の増加抑制が認められた。下表に示すように、増加抑制は主として投与初期に認められた。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	40	400	1000	0	40	400	1000
0-4 週	6.8	6.7	5.1	2.6	8.4	8.4	2.4	0.0
0-8 週	11.9	8.4	9.4	3.4	13.3	10.8	9.5	5.8
0-13 週	13.6	7.6	11.1	4.3	13.3	14.5	10.7	4.7

当該週までの累積体重増加量の開始前体重に対する割合(%)を示した(申請者が計算)。

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

飼料摂取量および飼料効率；飼料摂取量を週1回測定し^{注9}、飼料効率も算出した。

投与期間中の各群の平均飼料摂取量を下表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	40	400	1000	0	40	400	1000
平均飼料摂取量 (g/匹/day)	378	303	328	303	286	285	244	248
変動率 (%)	—	80	87	80	—	100	85	87

400 および 1000 ppm 群雌では、対照群と比較して各々15%および13%飼料摂取量の減少が認められた。

一方、雄投与群においても、対照群に比較して飼料摂取量が減少したが、これは対照群の1匹（動物番号 6468）が異常に多量の飼料（約2倍）を摂取したことにより、対照群の値が高くなったためであり、検体投与の影響とは考えられなかった。

飼料効率には検体投与による影響は認められなかった。

検体摂取量；体重、飼料摂取量および投与濃度から平均検体摂取量を算出した。

投与量 (ppm)		40	400	1000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.9	10.4	25.0
	雌	1.3	10.7	28.2

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

身体検査；投与開始前および投与後1、2、3ヶ月に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、投与後1、2、3ヶ月に全動物を対象として、一夜絶食絶水後、頸静脈から採血し、以下の項目を検査した。

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

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

^{注9}：40ppm 群の飼料摂取量は投与第5週より毎日測定した。但し報告書には各週の値として7日間の平均を記載した。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	400	1000	40	400	1000
赤血球数	1ヶ月		76↓	68↓		73↓	80↓
	2ヶ月		83↓	66↓		79↓	72↓
	3ヶ月			63↓		75↓	75↓
ヘモグロビン	1ヶ月		84↓	75↓			
	2ヶ月			73↓		85↓	77↓
	3ヶ月			71↓		83↓	80↓
ヘマトクリット	1ヶ月		84↓	75↓		81↓	
	2ヶ月			73↓		85↓	78↓
	3ヶ月			69↓		81↓	81↓
MCV	1ヶ月		110↑	112↑		110↑	108↑
	2ヶ月		107↑	111↑		107↑	109↑
	3ヶ月		108↑	110↑		108↑	108↑
MCH	1ヶ月		110↑	110↑		111↑	
	2ヶ月		109↑	111↑			108↑
	3ヶ月			113↑		111↑	
血小板数	1ヶ月		153↑	182↑		185↑	191↑
	2ヶ月		164↑	194↑		188↑	175↑
	3ヶ月		155↑	191↑		173↑	161↑
網状赤血球数	1ヶ月			1100↑			
	2ヶ月					350↑	875↑
	3ヶ月						4300↑

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

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す

400 および 1000 ppm 群雌雄で、投与 1、2、3 ヶ月に、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットが有意に減少し、これに応じて MCV および MCH の上昇が認められた。これらの群では、網状赤血球数が代償性に有意に増加し、血小板数も有意に増加した。3 ヶ月時には赤血球の大小不同が認められた。その他の項目には検体投与の影響は認められなかった。

血液生化学的検査；投与開始前、投与後 1、2、3 ヶ月に全生存動物を対象として、一夜絶食絶水後^{注10}、頸静脈から採血し、以下の項目を検査した。

Na、K、Cl、Ca、P、アルカリフォスファターゼ、総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、クレアチンフォスフォキナーゼ、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、コレステロール、グルコース、血漿コリンエステラーゼ、赤血球コリンエステラーゼ、蛋白電気泳動

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

^{注10}：コリンエステラーゼ測定用のサンプル採血時は除く。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	400	1000	40	400	1000
K	1ヶ月		108 ↑				
	2ヶ月						
	3ヶ月					109 ⇓	109 ⇓
アルカリ フォスファターゼ	1ヶ月						
	2ヶ月						
	3ヶ月			207 ↑			
アラニンアミ ノトランスフェラーゼ	1ヶ月					69 ↓	
	2ヶ月						
	3ヶ月				80 ↓	66 ⇓	69 ⇓
血漿 コリンエステラーゼ	1ヶ月				76 ⇓		
	2ヶ月						
	3ヶ月						
赤血球 コリンエステラーゼ	1ヶ月						
	2ヶ月						165 ↑
	3ヶ月						
コレステロール	1ヶ月						
	2ヶ月						
	3ヶ月			148 ↑			
蛋白 Peak 3 ^{注1} (α2-グロブリン)	1ヶ月						
	2ヶ月					145 ↑	
	3ヶ月						
蛋白 Peak 4 ^{注1} (β1-グロブリン)	1ヶ月						
	2ヶ月			60 ↓		57 ⇓	60 ⇓
	3ヶ月		63 ⇓	56 ⇓		(75)	(69)

Dunnett または Welch 検定 ↑ ↓ : p < 0.05 ⇓ : p < 0.01 (): 参考値
表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す

電気泳動におけるβ1-グロブリンの有意な減少が、1000 ppm 群雌雄で投与2および3ヶ月時に認められた。400 ppm 群でも雄で3ヶ月時に、雌で2ヶ月時にβ1-グロブリンの有意な減少が認められた。しかしながら、総蛋白、アルブミン、グロブリンの全体値には変化はなく、本減少の意義は不明であった^{注2}。

また、コレステロールおよびアルカリフォスファターゼの有意な増加が、1000 ppm 群雄で3ヶ月時に認められた。

表に示した変化の内、上述した変化が検体投与による影響と考えられた。

雌動物で認められたアラニンアミノトランスフェラーゼの減少は毒性学的意義がない変化であり、また雌低用量群における血漿コリンエステラーゼの減少は高用量群で同様の反応を伴なわなかったことから偶発的变化と考えられた。

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

注2: 慢性毒性試験(資料 No.16)でもβ1-グロブリンの減少が認められており、検体による影響と考えられた。

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

尿検査； 投与開始前、投与後 1、2、3 ヶ月に全生存動物を対象として、絶食絶水条件下で一
夜尿を採取し、以下の項目を検査した。

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

投与量 (ppm)		雄				雌			
		0	40	400	1000	0	40	400	1000
尿の褐色化 (匹)	1ヶ月								
	2ヶ月				3				
	3ヶ月			1	3				
ビリルビン* (程度／匹)	1ヶ月	1.0	0.8	1.5	1.0	0.0	0.0	0.5	0.3
	2ヶ月	1.0	1.0	1.5	2.0	0.3	0.0	1.0	0.3
	3ヶ月	0.8	1.3	1.8	2.0	0.8	0.0	0.8	0.3

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

1000 ppm 群雄の 2、3 ヶ月時に尿の褐色化が 4 匹中 3 匹に認められ、ビリルビンの
増加^{注11}も認められた。400 ppm 群雄の 1 匹にも、3 ヶ月時に尿の褐色化が認められ
た。本所見の発生機序は不明であるが、おそらく赤血球系パラメーターの変化と関
わりがあるものと推察された。

肉眼的病理検査；全動物を対象として、以下の部位を含む詳細な検査を実施した。

外表、皮下、胸腔／腹腔／骨盤腔臓器

検体投与による影響は認められなかった。

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

脳、副腎、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、脾臓、精巣、甲状腺／上皮小体
対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		40	400	1000	40	400	1000
肝 臓	絶対		(113)	122*		127 ↑ **	130 ↑ **
	相対		118*	134 ↑ **		125 ↑ **	133 ↑ **
	脳比		(106)	127 ↑ *		(120)	128 ↑ **

Dunnett または Welch 検定 ↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↓ : p < 0.01 () 内の数字は参考値

Step-down 傾向検定 * : p < 0.05 ** : p < 0.01

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

400 および 1000 ppm 群雄雌で、肝臓の絶対重量が用量相関的に増加し、雌では統計
学的に有意であった。また、400 ppm 群雄雌および 1000 ppm 雌雄で肝臓の相対重量が
有意に増加し、1000 ppm 群雄雌では、肝臓の脳重量比も有意に増加した。

^{注11}：原報では 3 ヶ月時にのみ観察された記載となっているが、申請者が作成した表から 2 ヶ月時にも変化が
あったと判断した。また、400ppm 群雄への影響も示唆された。

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

病理組織学的検査；全動物を対象として、以下の組織の病理組織標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、骨および骨髓（大腿骨、肋骨、胸骨）、骨髓塗抹、脳（前脳、中脳、後脳）、眼球／視神経／瞬膜腺、胆嚢、消化管（食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、性腺（卵巣、精巣および精巣上体）、肉眼病変部、心臓、腎臓、肝臓、肺および気管支、リンパ節（顎下、腸間膜、縦隔膜）、乳腺（雌）、睪臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄（頸部、胸部、腰部）、脾臓、胸腺、甲状腺および上皮小体、舌、気管、膀胱、子宮、子宮頸部、膈

検体投与に起因する病理組織学的所見を下表に示す。

投与量 (ppm)			雄				雌			
			0	40	400	1000	0	40	400	1000
検査動物数			4	4	4	4	4	4	4	4
肝臓	肝細胞肥大	痕跡				1			1	2
		軽度								1
	クッパー細胞褐色色素沈着									
		痕跡			2	4↑			3	4↑

Wilcoxon の順位和検定(申請者が実施)

↑ ↓ : $p < 0.05$

表中の数字は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す

検体投与に起因する変化として、肝臓において、小葉中心性あるいは瀰漫性の肝細胞肥大が 400 ppm 群雌および 1000 ppm 群雌雄で、また、クッパー細胞褐色色素沈着が 400 および 1000 ppm 群雌雄で認められた。

肝細胞肥大は雌雄とも臓器重量の増加と対応しており、クッパー細胞内に認められた褐色色素は形態的にヘモジデリンと考えられ、赤血球系パラメーターの変化に対応するものと推察された。

その他、乳腺、卵巣、前立腺、脾臓、胸腺等で、対照群も含めて種々の組織学的変化が認められたが、いずれも生理的あるいは検査に付随して発現した偶発的な所見であり、検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果から、本剤のイヌを用いた 13 週間混餌投与による亜急性毒性試験における影響として、1000 ppm 群では、体重増加抑制、飼料摂取量の減少(雌)、赤血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリットの減少、MCV・MCH・血小板数・網状赤血球数の増加、赤血球の大小不同、 $\beta 1$ -グロブリンの減少、コレステロール・アルカリフォスファターゼの増加(雄)、尿の褐色化および尿ビリルビンの増加(雄)、肝臓の絶対重量・相対重量(雄)・脳重量比の増加、肝細胞の小葉中心性あるいは瀰漫性の肥大、ならびにクッパー細胞褐色色素沈着が認められた。

また 400 ppm 群では、飼料摂取量の減少(雌)、赤血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリットの減少、MCV・MCH・血小板数・網状赤血球数(雌)の増加、赤血球の大小不同、 $\beta 1$ -グロブリンの減少、尿の褐色化(雄)、肝臓の絶対重量・相対重量(雌)の増加、肝細胞の小葉中心性あるいは瀰漫性の肥大(雌)、ならびにクッパー細胞褐色色素沈着が認められた。

40 ppm 群において、上記変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄共に 40 ppm(雄 0.9mg/kg/day、雌 1.3mg/kg/day)であると判断した。

④ ラットを用いた亜急性経皮毒性試験

(資料 No.12)

試験機関 : MPI Research (GLP 対応)

報告書作成年 : 1998 年

検体純度 :

供試動物 : CrI:CD® (SD)BR ラット、1 群雌雄各 10 匹、開始時約 8~10 週齢
開始時体重範囲 雄 ; 219-253g 雌 ; 215-233g

試験期間 : 21 日間(1998 年 3 月 30 日-1998 年 4 月 21 日)

試験方法 : 検体を 0、80、400 および 1000 mg/kg の投与量で 1 日 1 回 6 時間ずつ、21 日間にわたって経皮投与した。

検体は蒸留水で湿らせ、投与前に剪毛・剃毛した背部皮膚に、ガラス棒を用いて塗布した。投与部位はガーゼで覆い、その上を無刺激性テープで固定し、6 時間閉塞貼付した。貼付終了後、投与部位を微温湯を用いて洗浄した。

投与量設定根拠 ;

試験項目および結果 :

症状および死亡率 ; 死亡および症状を 1 日 2 回観察し、詳細な症状観察を週 1 回実施した。

検体投与に関連した死亡および症状は認められなかった。

皮膚検査 ; 投与部位 (背部) を、毎日投与前に観察し、Draize 法に従って採点した。

軽度の紅斑あるいは浮腫が数例の動物に認められた。しかしながら、これらの変化はごく軽微かつごく短期間にのみ観察されたことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

体 重 ; 投与開始前、およびその後は週 1 回測定した。

体重の推移を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	80	400	1000	80	400	1000
1 週			92↓		(96)	91↓
2 週			90↓		94↓	92↓
3 週			89↓		92↓	90↓

Dunnett あるいは Welch 検定 ↓ : $p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。 ()内の数字は参考値

1000 mg/kg 群雌雄および 400 mg/kg 群雌において、ほぼ全投与期間にわたって、有意な体重増加抑制が認められた。

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

飼料摂取量；飼料摂取量を週1回測定した。

飼料摂取量の推移を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	80	400	1000	80	400	1000
1 週		(94)	85↓		87↓	78↓
2 週		92↓	88↓		92↓	87↓
3 週		(90)	86↓		(97)	82↓

Dunnett あるいは Welch 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$ ↑ ↓ : $p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。 ()内の数字は参考値

1000mg/kg 群雌雄の全投与期間ならびに 400mg/kg 群雄の 2 週および雌の 1 および 2 週に、飼料摂取量の有意な減少が認められた。

血液学的検査；試験終了時に全動物を対象として、一夜絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した。

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

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	80	400	1000	80	400	1000
赤血球数						88↓
ヘモグロビン			95↓			90↓
ヘマトクリット						91↓
血小板数			113↑			

Dunnett あるいは Welch 検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$ ↑ ↓ : $p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

1000mg/kg 群雌で赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの有意な減少が認められた。1000mg/kg 群雄ではヘモグロビンの有意な減少が認められた。これらは、病理組織学的検査において認められた脾臓の髄外造血亢進と関連する変化と考えられた。また同群雄では血小板数の有意な増加も認められた。

その他、400 および 1000mg/kg 群の雌各 2 匹で、軽度の赤血球の低染色および大小不同が認められ、1000mg/kg 群雌 3 匹で軽度の多染色が認められた。

血液生化学的検査；試験終了時に全動物を対象として、一夜絶食後、眼窩静脈叢より採血し、以下の項目を検査した。

Na、K、Cl、Ca、P、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、クレアチンフォスフォキナーゼ、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G 比、コレステロール、グルコース

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

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	80	400	1000	80	400	1000
総ビリルビン						200↑

Dunnett あるいは Welch 検定 $\uparrow\downarrow: p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

1000mg/kg 群雌で総ビリルビンの有意な増加が認められ、血液学検査で認められた変化に関連しているものと考えられた。

尿検査；試験終了時に全動物を対象として、一夜尿を採取し、以下の項目を検査した。尿サンプル採取時は絶食させた。

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

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雄			雌		
	80	400	1000	80	400	1000
尿量		41↓	18↓			
比重		(101)	102↑			

Dunnett 検定 $\uparrow\downarrow: p < 0.05$ $\uparrow\downarrow: p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

()内の数字は参考値

400 および 1000 mg/kg 群雄で尿量の有意な減少が、また 1000 mg/kg 群雄で比重の有意な増加が認められた。さらにこれら 400 および 1000mg/kg 群の雌雄では、軽度の尿中ケトン体および尿蛋白の増加が散見された。

眼科学的検査；投与開始前および投与終了時に全動物を対象に実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；全動物を対象として実施した。

検体投与による影響は認められなかった。

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

副腎、腎臓、肝臓、脾臓、精巣

対照群と比較して、統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (mg/kg)		雄			雌		
		80	400	1000	80	400	1000
最終体重			94↓	89↓		92↓	90↓
副腎	絶対						
	相対			123↑			
脾臓	絶対			125↑			(111)
	相対			138↑			123↑
精巣	絶対				—	—	—
	相対		110↑	120↑	—	—	—

Dunnett あるいは Welch 検定 $\uparrow\downarrow: p < 0.05$ $\uparrow\downarrow: p < 0.01$

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

()内の数字は参考値

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

1000 mg/kg 群雌雄で、脾臓の絶対および相対重量がともに増加し、雌の絶対重量を除き、統計学的に有意であった。この増加は、病理組織学的検査における脾臓の変化と関連する、検体投与による影響と考えられた。

1000 mg/kg 群雄で副腎の相対重量増加が、また 400 および 1000 mg/kg 群雄で精巣の相対重量増加が認められたが、これらの変動は病理組織学的変化を伴っておらず、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；対照群および 1000 mg/kg 群の全動物を対象として、以下の組織の病理組織標本を作製し鏡検した。なお、脾臓および肉眼病変部については 80、400mg/kg 群についても実施した。

副腎、腎臓、肝臓、脾臓、皮膚

主な所見を次表に示す。

投与量 (mg/kg)			雄				雌			
			0	80	400	1000	0	80	400	1000
脾臓	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
	髓外造血亢進	軽微	1		5	1		1	1	
		軽度	1	4	2	8	2		4	4
		中等度							2	6
		合計	2	4	7	9	2	1	7	10
		程度平均	1.3	1.8	1.9	2.7 $\uparrow$	1.4	1.1	2.5 $\uparrow$	3.6 $\uparrow$

Wilcoxon の順位和検定(申請者が実施)

$\uparrow \downarrow : p < 0.05$ 、 $\uparrow \downarrow : p < 0.01$

表中の数字は発現動物数を示す。

空欄は「0」を示す

400 および 1000 mg/kg 群雌雄で脾臓の髓外造血亢進が高頻度に認められ、検体投与による影響と考えられた。程度は雌でより増強する傾向が認められた。

80 mg/kg 群雄でも本所見の頻度がやや増加していたが、高用量でより明瞭な血液学的変化が認められた雌で全く増加が認められず、臓器重量ならびに血液学的検査においても変動が認められなかったことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果から、本剤のラットを用いた 13 週間経皮投与による亜急性毒性試験における影響として、1000 mg/kg 群において、体重増加抑制、飼料摂取量の減少、赤血球数(雌)・ヘモグロビン・ヘマトクリット(雌)の減少、血小板数の増加(雄)、赤血球の染色性および形態異常(雌)、総ビリルビンの増加(雌)、尿中ケトン体・尿蛋白の増加、尿量の減少(雄)、尿比重の増加(雄)、脾臓の絶対重量・相対重量の増加、ならびに脾臓の髓外造血亢進が認められた。また 400 mg/kg 群では、体重増加抑制(雌)、飼料摂取量の減少(雄)、赤血球の染色性および形態異常(雌)、尿中ケトン体・尿蛋白の増加、尿量の減少(雄)、ならびに脾臓の髓外造血亢進が認められた。80 mg/kg 群では検体投与による変化は認められなかった。

従って、無毒性量は雌雄とも 80 mg/kg/day であると判断した。

(6) 反復経口投与神経毒性

(資料 No.13)

試験未実施

亜急性経口毒性試験成績等からの考察で対応。

ラットにおける亜急性経口毒性試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅しており、神経毒性を示す所見がなく、90 日より長期の各種試験においても特異的神経毒性を示唆する所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから、試験は実施しなかった。

下記に、亜急性経口毒性試験での神経毒性に関連する観察内容の概要、その他長期試験における神経毒性所見、及び、亜急性神経毒性に対する総合考察を記載する。

① 亜急性経口毒性試験(資料 No.9)

神経毒性に関連し、一般状態観察以外に、詳細な状態観察、機能検査、病理組織学的検査等を実施した。具体的項目については以下の通り。

詳細な状態観察	: 外観、体位、姿勢、自律神経系機能、歩行の異常、動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応、神経系、異常行動
機能検査項目	: 刺激に対する感覚運動反応、握力、自発運動量
病理組織学的検査項目	: 脳、坐骨神経、骨格筋、脊髄、眼球及びその付属器
その他の検査	: 脳重量測定、眼科学的検査

② その他長期試験

- a. ラットにおける慢性毒性／発がん性併合試験(資料 No.14)
- b. マウスにおける発がん性試験(資料 No.15)
- c. イヌにおける慢性毒性試験(資料 No.16)
- d. ラットを用いた 2 世代繁殖試験(資料 No.17)

ラット亜急性経口毒性試験における詳細な状態の観察、機能検査、病理組織学的検査等において、いずれの項目においても致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められなかった。また、ラット、マウス、イヌを用いたより長期の上記試験においても、致死量以下の用量で特異的神経毒性を示唆する所見は認められなかった。さらに、既知神経毒性物質と化学構造に相関は認められなかった。以上のことより、総合的に考察して、亜急性神経毒性試験の実施は不要と判断した。