

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本農薬㈱にある。

2) ラットを用いた混餌法による亜急性経口毒性試験

(資料 T-13)

- 骨髄の病理組織学的追加検査

試験機関 三菱化学安全科学研究所

報告書作成年 2001年

背景および目的：残留農薬安全性評価委員会から出された要望事項に対応するため、本検査が実施された。

方法：既実施の13週間ラット亜急性経口毒性試験(資料 T-12)の投与終了時屠殺動物の15と80ppm群および回復動物の対照群および160ppm群の雄について、ホルマリン固定保管中の大腿骨骨髄および胸骨骨髄から組織標本(H.E.染色標本)を常法にしたがって作製した。これらの追加作製された標本の組織検査を実施するとともに、既存の大腿骨および胸骨の骨髄の組織標本すべてに関して、組織学的検査を再実施した。

結果：組織検査の結果を次表に示す。

投与量(ppm)			投与13週時最終屠殺対象動物				回復動物		
			0	15	80	160	0	160	
雄	大腿骨 骨髄	検査動物数	10	10	10	10	6	6	
		巣状萎縮	1*	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0
		造血細胞の減少	1	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0
	3		0	0	0	0	0	0	
	胸骨 骨髄	検査動物数	10	10	10	10	6	6	
		巣状萎縮	1	0	0	0	0	0	0
			2	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0
		造血細胞の減少	1	0	0	0	0	0	0
2			0	0	0	0	0	0	
3	0		0	0	0	0	0		
雌	大腿骨 骨髄	検査動物数	10	10	10	10	6	6	
		巣状萎縮	1	4	1	2	1	5	0
			2	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0
		造血細胞の減少	1	0	0	0	10	0	0
			2	0	0	0	0	0	0
	3		0	0	0	0	0	0	
	胸骨 骨髄	検査動物数	10	10	10	10	6	6	
		巣状萎縮	1	2	0	1	0	3	0
			2	0	0	0	0	0	0
			3	0	0	0	0	0	0
		造血細胞の減少	1	0	0	0	7	0	0
2			0	0	0	0	0	0	
3	0		0	0	0	0	0		

*: グレード、1: 軽度、2: 中程度、3: 重度
表中の網掛けは、今回新たに組織標本を作製した部分

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本農薬㈱にある。

投与 13 週時最終屠殺対象動物では、大腿骨骨髓の造血細胞の減少が 160 ppm 群の雌全例、胸骨骨髓の造血細胞の減少が同群の雌 7 例にみられた。骨髓は広い領域が脂肪組織に置換されており、赤血球系および顆粒球系の造血細胞がともに減少していた。160 ppm 群の雄、15 および 80 ppm 群の雌雄にはこの様な変化はみられなかった。また、回復動物において、追加作製した雄を含め全動物において同様な変化は認められず、回復性は良好であった。

今回新たに作製された組織標本を除き、今回の各個体の検査結果は、先に報告した 13 週亜急性経口試験（資料 T-12）の各個体の所見と同じであった。また、今回新たに作製された投与 13 週時最終屠殺対象動物の雄 15 および 80 ppm 群、ならびに回復動物の組織標本について、異常は観察されなかった。

以上、大腿骨および胸骨の骨髓に関して、新たに作製された投与終了時屠殺動物の 15 と 80 ppm 群および回復動物の対照群および 160 ppm 群の雄について、組織変化はみられなかった。また、造血細胞の減少は、雌の 160 ppm 群でみられることが確認され、当該減少例では、赤血球系および顆粒球系の造血細胞がともに減少していた。

3) ラットを用いた混餌投与による2週間亜急性経口毒性試験

(資料T-14)

—ミトコンドリアの機能および形態に及ぼす影響—

試験機関 三菱東京製薬

報告書作成年 2001年

背景および目的：トルフェンピラドの残留農薬安全性評価委員会から出された要望事項に対処するため、本試験を実施した。トルフェンピラドは *in vitro* 動物細胞ミトコンドリア（電子伝達系）呼吸系において、呼吸阻害（Complex I 阻害）が認められている（資料T-33）。今回、トルフェンピラドの *in vivo* におけるミトコンドリア機能への影響を検討するため、この試験を実施した。

被験物質：

試験動物：Fischer系ラット、投与開始時6週齢（体重 雄91~107g、雌80~93g）

		1群あたりの動物数		投与開始日～屠殺解剖日
		雄	雌	
投与2週時最終 屠殺対象動物	乳酸値測定用	5	5	雄雌：2001年6月13日 ～6月27日
	病理検査用	2	2	

投与方法：被験物質を0、15、100および200ppmの濃度で飼料中に混入し、14日間にわたって連続的に自由摂取させた。被験物質を混入した飼料は1回調製した。

投与量の設定根拠：

検査項目および結果：

一般状態および死亡：一般状態および生死を毎日観察した。

死亡はみられず、被験物質による一般状態の変化もみられなかった。

体重：投与後1日（投与開始日）、3、7、10、14日にすべての動物の体重を測定した。

各測定日における各群の体重および累積体重増加量の群平均値を次表に示す。

性 別	雄				雌				
	投与量(ppm)	0	15	100	200	0	15	100	200
体重(g)									
第1日	101.4	100.3	101.3	101.9	86.0	87.0	85.6	87.9	
3	111.7	109.0	105.7	101.6b	90.7	91.9	87.7	85.3a	
7	130.9	127.7	121.3a	113.3b	101.4	101.9	96.3	91.4b	
10	145.6	140.4	133.1	120.6b	108.0	108.1	103.0	94.7b	
14	167.4	160.4	148.7	130.1b	116.0	116.6	112.6	97.9b	
累積体重増加量(g)									
第1日	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	10.3	8.7	4.4b	-0.3b	4.7	4.9	2.1b	-2.6b	
7	29.4	27.4	20.0b	11.4b	15.4	14.9	10.7b	3.6b	
10	44.1	40.1	31.9b	18.7b	22.0	21.1	17.4	6.9b	
14	66.0	60.1	47.4b	28.3b	30.0	29.6	27.0	10.0b	

a: p<0.05, b: p<0.01 (多重比較検定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業園にある。

体重および体重増加量の低値あるいは低値傾向が雄雌の 100ppm 以上の群でみられ、被験物質に起因する変化と考えられた。雌雄とも 15ppm 群では、被験物質に関連する変化はみられなかった。

摂餌量： 全動物の摂餌量を測定した。その結果を次表に示す。

性 別	雄				雌			
	0	15	100	200	0	15	100	200
投与量(ppm)								
摂餌量(g/100g/日)								
第 1-3 日	11.30	10.35	7.50	4.60	8.20	8.05	5.40	3.20
3-7	11.90	11.50	10.30	9.05	9.05	9.10	8.25	6.90
7-10	13.30	11.85	11.65	8.30	9.35	9.05	8.55	7.55
10-14	13.70	13.10	11.65	9.35	9.45	9.15	8.95	6.95

(n=2)

摂餌量の低値が雌雄の 100ppm 以上の群でみられ、被験物質による変化と考えられた。

15ppm 群では雌雄とも被験物質投与による変化はみられなかった。

被験物質摂取量： 摂餌量および投与濃度から算出した投与期間中の 1 日あたりの平均被験物質摂取量を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	15	100	200	15	100	200
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	1.32	8.07	13.6	1.27	7.81	13.4

全血液の L-乳酸濃度の測定： 14 日間の投与期間終了後、雌雄各群 5 匹（非絶食）の後大静脈から採血し、その全血を除タンパク処理後、中和したものを用いて L-乳酸濃度を測定した。なお、ミトコンドリアに毒性を示すアセトアミノフェンは、非絶食条件下においてラット肝の灌流液中の乳酸濃度を増加させるが、絶食条件下では乳酸濃度を増加させないことから、本試験では乳酸測定用動物は採血前絶食せず、採血直前まで被験物質混入飼料を与えた。結果を次表に示す。

性 別	雄				雌			
	0	15	100	200	0	15	100	200
投与量(ppm)								
乳酸濃度 (mg/dL)	10.2	13.0	27.9 ^b	31.6 ^b	17.5	26.6	26.9	49.1 ^b
(% of control)	(100)	(128)	(273)	(309)	(100)	(152)	(154)	(281)

b: p<0.01 (多重比較検定、n=5)

全血中の L-乳酸濃度の有意な高値が、雄の 100ppm 以上の群および雌の 200ppm 群でみられた。15ppm 群では雌雄とも有意な高値はみられなかった。

肝臓の病理学的検査： 乳酸測定用動物以外の動物（2 匹/群/性）について、14 日間の投与期間終了後一晩（約 18 時間）絶食させた後、肝臓の肉眼的検査および重量測定を行った。その後、肝臓を光顕検査および電顕検査に供した。結果を次表に示す。

(肝臓の病理検査の結果表)

性 別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	15	100	200	0	15	100	200
重量	最終体重(g) (絶食後)	150.0	150.5	139.5	116.5	100.0	104.5	100.0	86.5
	絶対重量(g) (% of control)	4.485 (100)	4.560 (102)	4.695 (105)	4.235 (94)	3.015 (100)	3.135 (104)	3.250 (108)	3.080 (102)
	対体重比(% (% of control)	2.990 (100)	3.030 (101)	3.365 (113)	3.635 (122)	3.015 (100)	3.005 (100)	3.255 (108)	3.565 (118)
肉眼検査		-	-	-	-	-	-	-	-
光顕	肝細胞肥大	0/2	0/2	0/2	2*/2	0/2	0/2	0/2	2*/2
電顕	ミトコンドリア増生	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	2/2

-: 変化なし。(n=2)

*: 変化のグレードは軽度

肉眼的な検査においては、いずれの個体の肝臓とも変化はみられなかった。相対重量(対体重比)の高値が、雌雄の100ppm以上の群で観察され、光顕検査では肝細胞肥大が雌雄の200ppm群で2例中全例みられた。電顕検査において、肝細胞のミトコンドリア増生が雌雄の200ppm群で2例中全例にみられた。増生のみられた個々のミトコンドリアには形態異常は観察されなかった。光顕および電顕検査において、15および100ppm群には雌雄とも変化はみられなかった。

以上のことから、トルフェンピラドは明らかな体重増加抑制および摂餌量の低下を示した100および200ppmにおいて、血中L-乳酸濃度の上昇を誘発し、200ppmにおいて肝細胞のミトコンドリア増生を誘発した。トルフェンピラドは*in vitro*において電子伝達系のComplex Iを阻害することから(資料 T-33)、本試験で認められた血中L-乳酸濃度の上昇や肝細胞のミトコンドリア増生は、トルフェンピラド投与によるミトコンドリアのエネルギー代謝異常に起因する変化と考えられた。以上の結果より、本試験の無影響量は雌雄とも15ppm(雄1.32mg/kg/day、雌1.27mg/kg/day)と判断された^{*)}。

#) 申請者注：無毒性量に関しても、申請者は雌雄15ppmであると考えます。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

4) マウスを用いた混餌法による亜急性経口毒性試験

(資料 T-15)

試験機関 Covance Laboratories (米国) [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: ICR系マウス、投与開始時6週齢 (体重 雄 25.0~31.7g、雌 20.1~23.0g)

	1群あたりの動物数		投与開始日~屠殺解剖日
	雄	雌	
投与13週時 最終屠殺対象動物	10	10	雄: 1996年7月26日~10月28日 雌: 1996年7月26日~10月28日

投与方法: 被験物質を0、15、100および300ppmの濃度で飼料中に混入し、13週間にわたって連続的に自由摂取させた。なお、被験物質を混入した飼料は週1回調製した。

投与量の設定根拠:

検査項目および結果:

一般状態および死亡: 一般状態および生死を毎日観察した。

死亡はみられず、被験物質による一般状態の変化はみられなかった。

体重: 投与期間を通じてすべての動物の体重を週1回測定した。

投与期間における各群の累積体重増加量を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	15	100	300	0	15	100	300
投与量(ppm)								
増加量(g)	8.8 (100%)	8.2 (93%)	7.8 (89%)	6.8 (77%)	6.6 (100%)	8.3 (126%)	7.3 (111%)	6.9 (105%)

(Dunnettのt検定の結果、有意差なし)

投与期間では、体重増加の抑制傾向が雄の300ppm群でみられ、被験物質に起因する変化と考えられた。

その他の投与群では被験物質による影響はみられなかった。

摂餌量および摂餌効率: 全動物の摂餌量を週1回測定し、摂餌効率(体重増加量÷摂餌量×100)も算出した。投与13週間の総摂餌量を次表に示す。

性別	雄				雌			
	0	15	100	300	0	15	100	300
投与量(ppm)								
総摂餌量(g/匹)	495.9 (100%)	486.9 (98%)	491.0 (99%)	455.4a (92%)	486.4 (100%)	495.8 (102%)	492.5 (101%)	477.4 (98%)

a: p<0.05 (多重比較検定)

投与期間では、摂餌量の低値が雄の300ppm群でみられ、被験物質による変化と考えられた。その他の投与群では被験物質による摂餌量への影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬㈱にある。

た。

摂餌効率に明らかな変化はみられなかった。

被験物質摂取量：摂餌量および投与濃度から算出した投与期間中の1日あたりの平均被験物質摂取量を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	15	100	300	15	100	300
投与量(ppm)						
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	2.4	15.9	46.2	3.0	20.2	57.9

血液学的検査：13週間の投与期間終了後に各群の全動物を対象として、一晚絶食させた動物の眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV、計算値)、平均赤血球血色素量 (MCH、計算値)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC、計算値)、血小板数、白血球数、白血球百分率および細胞形態
対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	15	100	300	15	100	300
投与量(ppm)						
MCHC				99	98	97a

a: p<0.05 (多重比較検定)

表中の数値は、対照群値を100とした時の値。

対照群に比べ、MCHCの低値が雌の300ppm群でみられたが、その変動は小さく、同群でヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値に変化はみられないことから、偶発的変化と考えられた。

血液生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清を用いて以下の項目を測定した。

GOT、GPT、γGT、ALP、総ビリルビン

対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	15	100	300	15	100	300
投与量(ppm)						
GOT	108	142	187a	96	141	124

a: p<0.05 (多重比較検定)

表中の数値は、対照群値を100とした時の値。

GOTの高値が雄の300ppm群でみられ、被験物質との関連が疑われた。

尿検査：血液学的検査と同時期に採取した尿を用いて以下の項目を測定した。

量、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、潜血、色調、尿沈渣
被験物質による変化はいずれの投与群でもみられなかった。

眼科学的検査：投与開始前および投与13週時に全動物を対象に検査した。

投与13週時の検査においてみられた石灰沈着の発生状況を次表(次頁)に示す。

(眼科学的検査の結果表)

性 別	雄				雌			
	0	15	100	300	0	15	100	300
投与量(ppm)								
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
石灰沈着 総発生頻度	1	2	5	2	6	6	9	10
両側, 巢状	1	1	4	1	3	4	6	8
片側 (右), 巢状	0	1	0	1	2	1	2	1
片側 (左), 巢状	0	0	1	0	1	1	1	1

(申請者が実施した Fisher の直接確率法による統計解析の結果、有意差なし。)

両側性の巢状石灰沈着が、対照群および被験物質投与群に多数みられた。しかし、投与量の増加とそれぞれの投与量での変化の発生頻度との関連が明らかではないこと、また、この変化に関連した病理組織学的変化がみられないことから、被験物質との関連性は不明であった。

器官重量: 投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として以下の器官重量(絶対重量)を測定し、相対重量として対体重比および対脳重量比も算出した。

脳(脳幹を含む)、心臓、肝臓(胆嚢を含む)、腎臓、副腎、精巣(精巣上体を含む)

対照群に比べ、統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別		雄			雌		
		15	100	300	15	100	300
投与量(ppm)							
最終体重(絶食後)	投与 14 週	96	98	89	107	103	101
心臓	絶対重量 投与 14 週	100	106	106	107	107	107
	対体重比 投与 14 週	100	107	116a	98	102	109
肝臓 (胆嚢を含む)	絶対重量 投与 14 週	97	103	105	106	108	111
	対体重比 投与 14 週	100	105	113a	99	105	110a

a: $p < 0.05$ (多重比較検定)

表中の数値は、対照群値を 100 とした時の値。

心臓重量の対体重比の高値が雄の 300ppm 群で、肝臓重量の対体重比の高値が雌雄の 300ppm 群でみられ、被験物質に起因する変化と考えられた。

剖検: 投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として剖検を行った。

種々の変化がみられたが、発現状況からいずれも被験物質とは無関係とみなされた。

病理組織学的検査: 投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として、以下の全組織および器官を固定保存した。組織検査は、対照群と 300ppm 群の全動物の全組織および器官、15ppm 群および 100ppm 群の肺、肝臓、腎臓ならびに全群の肉眼的異常部位について染色標本作製し、鏡検した。

脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺)、肝臓(胆嚢を含む)、脾臓、副腎、膵臓、精巣(精巣上体を含む)、前立腺、精嚢、卵巣、子宮(頸部および膣を含む)、皮膚、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、膀胱、腸間膜リンパ節、

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本農薬㈱にある。

乳腺（雌）、大腿筋、坐骨神経、大腿骨（関節表面および骨髄を含む）、眼（視神経を含む）、外涙腺、脊髄（頸部、胸部、腰部）、肉眼的異常部位
投与 13 週時最終屠殺対象動物でみられた主要な変化の発生状況を表 I に示す。
種々の変化がみられたが、いずれの変化も通常に観察される自然発生性病変や偶
発性所見と考えられ、被験物質とは関連のない変化であった。

以上、雄の 300ppm 群で体重増加の低値傾向、摂餌量の低値、GOT の高値、心臓重量（相
対）の高値、雌雄の 300ppm 群で肝臓重量（相対）の高値がみられた。したがって、無毒
性量は雌雄とも 100ppm（雄：15.9 mg/kg/day、雌：20.2 mg/kg/day）と判断された。

表 I. 投与 13 週時最終屠殺対象動物の病理組織学的変化

性別	投与量(ppm)	雄				雌			
		0	15	100	300	0	15	100	300
心臓	検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	10
	心筋変性	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	肝細胞肥大	5	6	4	5	0	0	0	1
	慢性活動性炎症巣	1	0	1	1	5	2	3	0
	壊死	0	0	1	0	1	0	1	0
	空胞化	0	0	0	0	0	1	0	0
腎臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
	尿細管のミネラル沈着	1	1	0	0	0	0	1	0
	尿細管の拡張	2	3	2	3	3	4	1	4
	巢状尿細管再生	1	2	2	2	0	3	3	0
	慢性炎症巣	1	1	2	0	1	1	0	0
	慢性腎盂炎	0	0	0	0	0	1	0	0
	腎盂の拡張	0	0	1	0	0	0	0	0
腸間膜	検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	10
リンパ節	慢性活動性炎症	1	0	0	0	0	0	0	0

(申請者が実施した χ^2 検定の結果、有意差なし。)

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本農薬㈱にある。

5) イヌを用いたカプセル投与方法による亜急性経口毒性試験 (資料T-16)

試験機関 ボゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1997年

被験物質:

試験動物: ビーグル犬、投与開始時6カ月齢 (体重 雄 7.7~9.2 kg、雌 7.1~8.8 kg)

	1群あたりの動物数		投与開始日~屠殺解剖日
	雄	雌	
投与13週時 最終屠殺対象動物	4	4	雄: 1996年8月26日~11月26日 雌: 1996年8月26日~11月27日

投与方法: 被験物質をゼラチンカプセルに充填し、0、1、5 および 10 mg/kg/day の投与量で1日1回13週間にわたって毎日強制経口投与した。なお、対照群には被験物質を充填しない空カプセルのみを同様に投与した。

投与量の設定根拠:

検査項目および結果:

一般状態および死亡: 一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間を通じて死亡はみられなかった。

嘔吐が対照群を含め全群の動物で観察され、その発生頻度は対照群に比べて雌雄の5 mg/kg/day以上の群で高かった。また、軟便および粘液便は5 mg/kg/day群の雄1例と10 mg/kg/day群の雌1例でその頻度が高かった。これらは被験物質に起因する変化と考えられた。

体重: 投与期間を通じてすべての動物の体重を週1回測定した。

投与期間を通じて、雌雄ともに各投与群の体重は対照群と同程度であった。

摂餌量および摂餌効率: 全動物の摂餌量を週1回測定し、摂餌効率 (体重増加量 ÷ 摂餌量 × 100) も算出した。

投与期間を通じて、各投与群の摂餌量について被験物質による変化はみられなかった。また、雌雄ともに各投与群の摂餌効率は対照群と同程度であった。

血液学的検査: 投与開始前 (2回)、投与7および13週時に全動物を対象として、一晩絶食させた動物の橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

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

投与期間において、対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別	投与量(mg/kg/day)	雄			雌		
		1	5	10	1	5	10
赤血球数	投与 13 週	96	100	97	88b	90b	94
ヘモグロビン濃度	投与 13 週	97	99	98	88b	91a	95
ヘマトクリット値	投与 13 週	95	98	95	90a	92	96

a : p<0.05, b : p<0.01 (多重比較検定)
表中の数値は、対照群値を 100 とした時の値。

投与 13 週時の検査の結果、赤血球数およびヘモグロビン濃度の低値が雌の 1 および 5 mg/kg/day 群で、ヘマトクリット値の低値が 1 mg/kg/day 群でみられたが、いずれの変化もより高い投与群では同様の変化がみられなかったことから、これらの変化は被験物質とは関連がないと考えられた。

血液生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清または血漿(*)を用いて以下の項目を測定した。

GOT(*), GPT(*), γGT(*), ALP、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸、総蛋白、アルブミン、A/G比、蛋白質分画、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール

投与期間において、対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別	投与量(mg/kg/day)	雄			雌		
		1	5	10	1	5	10
トリグリセライド	投与 7 週				68	63a	88
リン脂質	投与 13 週	112a	94	106			
カリウム	投与 13 週				100	103	113a
カルシウム	投与 7 週	96a	98	94b			

a : p<0.05, b : p<0.01 (多重比較検定)
表中の数値は、対照群値を 100 とした時の値。

トリグリセライドの低値が雌の 5 mg/kg/day 群、リン脂質の高値が雄の 1 mg/kg/day 群、カリウムの高値が雌の 10 mg/kg/day 群、およびカルシウムの低値が雄の 1 および 10 mg/kg/day 群でみられたが、いずれの変化も投与量や投与期間の推移に関連がなく、被験物質による影響とは考えられなかった。

尿検査：血液学的検査と同時期に採取した尿を用いて以下の項目を測定した。

量、比重、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、色調、尿沈渣

投与期間において、対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目を次表(次頁)に示す。

(尿検査の結果表)

性 別	投与量(mg/kg/day)	雄			雌		
		1	5	10	1	5	10
尿量	投与 7 週				123	64b (140.0)	72a (157.5)
	投与 13 週				93	59a (110.0)	53b (97.5)

a : p<0.05, b : p<0.01 (多重比較検定)

表中の数値は、対照群値を100とした時の値。

() : 測定値、mL/22時間

尿量の低値が雌の 5 mg/kg/day 以上の群で投与 7 および 13 週時にみられたが、その程度は試験機関の背景データ (30.7~250.4mL/22 時間) の範囲内の軽度な変化であり、雄で同様な変化がみられないこと、組織学的な変化を含め他の関連する検査結果に変動がみられなかったことから、雌の尿量の低値は被験物質と関連のない変化と考えられた。また、尿沈渣において白血球が投与 13 週時で 1mg/kg/day 群の雄 1 例、10mg/kg/day 群の雄 2 例に、上皮細胞が投与 13 週時で 5mg/kg/day 群の雌 1 例および 10mg/kg/day 群の雄 1 例にそれぞれ高度に出現した。しかし、それらの出現頻度に明らかな投与量との関係がなく、組織学的にも腎臓にこれらの所見と関連する異常がなかったことから、これらの変化は被験物質に関係のない変化と考えられた。

眼科学的検査：投与開始前、投与 6 および 12 週時に全動物を対象に以下の部位を検査した。

角膜、虹彩、結膜、水晶体、眼底

雌雄とも異常はみられなかった。

器官重量：投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として以下の器官重量(絶対重量)を測定し、相対重量として対体重比も算出した。

脳、甲状腺、心臓、肺(気管支を含む)、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、卵巣

いずれの動物においても被験物質に関連する変化はみられなかった。

剖検：投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として剖検を行った。

種々の変化が散見されたが、発現状況からいずれも被験物質とは無関係とみなされた。

病理組織学的検査：投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として、以下の全組織および器官を固定し、染色標本を作製し、鏡検した。

脳(大脳、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、大動脈(大動脈弓)、唾液腺(顎下、舌下、耳下)、肝臓、胆嚢、脾臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、膈、皮膚、舌、喉頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、膀胱、リンパ節(腸間膜、顎下)、乳腺、大腿部骨格筋、坐骨神経、胸骨および大腿骨(骨髄を含む)、眼球、視神経、涙腺、脊髄(頸部、胸部、腰部)、肉眼的異常部位

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本農薬㈱にある。

投与 13 週時最終屠殺対象動物でみられた変化の発生状況を表 I に示す。
いずれの動物にも被験物質に関連すると考えられる変化はみられなかった。

以上、嘔吐が雌雄の 5 mg/kg/day 以上の群で多くみられた。また、便異常が雄の 5 mg/kg/day 群、雌の 10 mg/kg/day 群で多くみられた。したがって、無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day と判断された。

表 1. 投与 13 週時最終屠殺対象動物の病理組織学的変化

性 別		雄				雌			
投与量(mg/kg/day)		0	1	5	10	0	1	5	10
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
大脳	脈絡叢の細胞浸潤	1	0	0	0	0	0	0	0
	咽頭	粘膜の細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	0
心臓	右房室弁毛細血管の拡張	0	0	0	1	0	0	0	0
肺	胸膜の線維性肥厚を伴った 肺胞壁の線維化	0	0	1	0	0	0	0	0
	限局性肺炎	0	0	1	0	0	0	0	0
	限局性出血	0	0	0	0	0	1	0	0
顎下腺	細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	0
耳下腺	細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓	クッパー細胞に褐色色素の沈着	0	0	0	0	0	0	0	1
膵臓	腺房細胞の変性	0	0	0	1	0	0	0	0
胸腺	萎縮	0	0	1	0	0	0	0	0
脾臓	出血を伴った被膜の 線維性肥厚	0	0	0	0	0	0	1	1
	精巣	精細管の拡張	1	0	0	0	0	0	0
精細管の限局性萎縮		0	1	0	0	0	0	0	0
精巣 上体	精細管上皮層に小胞形成	1	0	0	0	0	0	0	0
	動脈炎	0	1	0	0	0	0	0	0

(統計学的解析は非実施)

6) イヌを用いたカプセル投与方法による亜急性経口毒性試験 (追加) (資料T-17)

試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

試験目的: この試験の実施前に同研究所で4週間の予備試験および13週間の亜急性毒性試験(両試験の投与量: 0、1、5、10 mg/kg/day; 資料T-16)が実施された。それらの結果、4週間試験の10mg/kg/day群では雄1例で体重および摂餌量の減少、肝臓および腎臓に組織変化がみられた。一方、13週間試験ではそれらの変化はみられなかった。したがって、この試験では被験物質の毒性徴候を明らかにするため、投与量を0、10、30、100 mg/kg/dayとして検討した。

被験物質:

試験動物: ビーグル犬、投与開始時6カ月齢(体重 雄7.5~9.3 kg、雌7.4~9.5 kg)

	1群あたりの動物数		投与開始日~屠殺解剖日*
	雄	雌	
投与13週時 最終屠殺対象動物	4	4	雄: 1997年7月30日~10月30日 雌: 1997年7月30日~10月31日

* 100 mg/kg/day群は、1997年9月17日までに全例が死亡または瀕死期殺された。

投与方法: 被験物質をゼラチンカプセルに充填し、0、10、30 および 100 mg/kg/day の投与量で1日1回13週間にわたって毎日強制経口投与した。なお、対照群には被験物質を充填しない空カプセルのみを同様に投与した。投与量の設定根拠は上記の試験目的を参照のこと。

検査項目および結果:

一般状態および死亡: 一般状態および生死を毎日観察した。

30 および 100 mg/kg/day群でみられた死亡および瀕死期殺の状況を次表に示す。

投与量 (mg/kg/day)	死亡・瀕死期殺数	内訳
30	雄1例	投与90日に死亡
100	雄4例(全例)	投与13日に1例が死亡 投与41日に1例が瀕死期殺 投与49日に2例が瀕死期殺
	雌4例(全例)	投与23日に2例が死亡 投与23日に1例が瀕死期殺 投与49日に1例が瀕死期殺

これらの死亡例および瀕死期殺例ではその1~4週前に無排便、削瘦、自発運動の減少、よろめき歩行、体温の低下、伏臥位、横臥位、散瞳、体重や摂餌量の低値がみられた。また、嘔吐、流涎、軟便や粘性便が観察された。

生存例では、対照群にくらべ嘔吐の頻度が10mg/kg/day以上の群で高かった。また、便性状の異常(軟便、粘性便)の頻度も10mg/kg/day以上の群で高かった。これらの変化は被験物質に起因する症状と考えられた。流涎が10mg/kg/day以上の群で観察され、10 mg/kg/day群の雌雄および30 mg/kg/day群の雌では条件反射的に投与前に観察された。10 mg/kg/day群の雄1例、30 mg/kg/day群の雄1例では投与後1時間にも観察された。しかし、この試験で唾液腺に組織変化はみられ

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本農薬㈱にある。

ず、一般薬理試験（資料 T-31）等から流涎の発現を示唆する知見がないことから、この試験で観察された流涎の毒性学的意義は乏しいと考えられた。

体重：投与期間を通じてすべての動物の体重を週 1 回測定した。投与期間の体重変化を次表に示す。

性 別		雄				雌			
投与量(mg/kg/day)		0	10	30	100	0	10	30	100
体 重 (kg)	投与開始 1 週前	8.3(4)	8.3(4)	8.3(4)	8.4(4)	8.2(4)	8.2(4)	8.0(4)	8.0(4)
	投与開始時	8.4(4)	8.5(4)	8.5(4)	8.5(4)	8.4(4)	8.5(4)	8.3(4)	8.2(4)
	投与 1 週	8.5(4)	8.6(4)	8.4(4)	8.1(4)	8.6(4)	8.2(4)	8.1(4)	7.9(4)
	投与 2 週	8.6(4)	8.6(4)	8.4(4)	7.8(3)	8.6(4)	8.4(4)	8.2(4)	7.6(4)
	投与 3 週	8.7(4)	8.8(4)	8.6(4)	8.0(3)	8.8(4)	8.6(4)	8.3(4)	6.8a(4)
	投与 4 週	8.8(4)	8.8(4)	8.6(4)	7.5(3)	8.9(4)	8.7(4)	8.5(4)	6.4(1)
	投与 5 週	9.0(4)	9.0(4)	8.9(4)	6.8a(3)	9.1(4)	8.8(4)	8.5(4)	6.2(1)
	投与 6 週	9.1(4)	9.1(4)	8.9(4)	6.0b(2)	9.2(4)	8.9(4)	8.6(4)	5.6(1)
	投与 7 週	9.2(4)	9.0(4)	8.4(4)	-	9.2(4)	8.9(4)	8.7(4)	-
	投与 8 週	9.2(4)	9.1(4)	8.4(4)	-	9.3(4)	9.1(4)	8.8(4)	-
	投与 9 週	9.3(4)	9.2(4)	8.4(4)	-	9.4(4)	9.1(4)	9.0(4)	-
	投与 10 週	9.4(4)	9.4(4)	8.4(4)	-	9.5(4)	9.3(4)	9.1(4)	-
	投与 11 週	9.5(4)	9.3(4)	8.2(4)	-	9.6(4)	9.3(4)	9.3(4)	-
	投与 12 週	9.5(4)	9.3(4)	8.4(4)	-	9.7(4)	9.4(4)	9.3(4)	-
投与 13 週	9.5(4)	9.3(4)	8.9(3)	-	9.5(4)	9.3(4)	9.2(4)	-	

a: p<0.05, b: p<0.01 (多重比較検定), () 内の数値は、検査動物数。

-: すべての動物が死亡したため、データなし。

死亡および瀕死期殺例では体重が低下した。生存例でも 30mg/kg/day 群の雄 1 例で投与 13 週時点で投与開始時と比べて低下がみられた。10mg/kg/day 群では雌雄とも投与期間を通じて各動物の体重は対照群と同程度であった。

摂餌量：全動物の摂餌量を週 1 回測定した。投与期間の摂餌量 (g/匹/day) の変化を次表に示す。

性 別		雄				雌			
投与量(mg/kg/day)		0	10	30	100	0	10	30	100
摂 餌 量 (g)	投与開始 1 週前	282(4)	300(4)	288(4)	300(4)	300(4)	300(4)	297(4)	288(4)
	投与 1 週	300(4)	300(4)	300(4)	300(4)	300(4)	300(4)	297(4)	255(4)
	投与 2 週	300(4)	300(4)	299(4)	275a(4)	300(4)	300(4)	299(4)	220a(4)
	投与 3 週	300(4)	300(4)	300(4)	289(3)	300(4)	300(4)	300(4)	113b(4)
	投与 4 週	300(4)	300(4)	300(4)	207a(3)	300(4)	300(4)	300(4)	97(1)
	投与 5 週	300(4)	300(4)	300(4)	107b(3)	300(4)	300(4)	300(4)	99(1)
	投与 6 週	300(4)	300(4)	280(4)	37b(3)	300(4)	300(4)	300(4)	73(1)
	投与 7 週	300(4)	300(4)	187(4)	162(2)	300(4)	300(4)	300(4)	152(1)
	投与 8 週	300(4)	300(4)	218(4)	-	300(4)	300(4)	300(4)	-
	投与 9 週	300(4)	300(4)	212(4)	-	300(4)	300(4)	300(4)	-
	投与 10 週	300(4)	280(4)	269(4)	-	300(4)	300(4)	299(4)	-
	投与 11 週	300(4)	288(4)	210(4)	-	292(4)	300(4)	300(4)	-
	投与 12 週	300(4)	300(4)	216(4)	-	287(4)	300(4)	300(4)	-
	投与 13 週	300(4)	297(4)	201(4)	-	283(4)	300(4)	271(4)	-

a: p<0.05, b: p<0.01 (多重比較検定)

() 内の数値は、検査動物数。

-: すべての動物が死亡したため、データなし。

100mg/kg/day 群の死亡および瀕死期殺例では低下した。生存例でも 30mg/kg/day 群の雄 1 例で低下傾向がみられた。10mg/kg/day 群では雌雄とも投与期間を通じて対照群と同程度であった。

血液学的検査：投与開始前（2 回）、投与 4、7 および 13 週時に全生存動物を対象として、一晚絶食させた動物の橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。100mg/kg/day 群では、投与 49 日（7 週）にすべての生存例から採血後屠殺した。また、投与 41 日に瀕死期殺した雄 1 例は屠殺前に採血、投与 23 日に死亡発見された雌 1 例は前日（22 日）に採血し、同様に検査した。

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

投与期間中の計画検査において、対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別		雄			雌		
投与量(mg/kg/day)		10	30	100	10	30	100
検査動物数	投与 4 週	4	4	3	4	4	3
	投与 7 週	4	4	2	4	4	1
	投与 13 週	4	4	0	4	4	0
白血球数 ¹⁾	投与 4 週				109	85	56b
	投与 7 週				76a	67b	70
白血球百分率 分葉核好中球 ¹⁾	投与 7 週	96	107	149a			
	好酸球 ¹⁾	84	80	12a			
APTT ¹⁾	投与 4 週	83	94	71a			
網状赤血球数 ²⁾ (%)	投与 4 週				4	3	1a

a : p<0.05, b : p<0.01 (多重比較検定)

1) 表中の数値は、対照群値を 100 とした時の値。

2) 測定値

3) 測定値が 0.0%。

投与 4 週、7 週および 13 週のいずれの検査においても、被験物質に起因する変化はみられなかった。

赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の高値が 100mg/kg/day 群の雌雄各 1 例で投与 7 週に、また、同群の雌雄各 1 例の瀕死期の検査においても同様な変化がみられたが、いずれの変化も瀕死期の血液濃縮による変化と判断された。白血球数の低値が、100 mg/kg/day 群の雄 1 例で投与 4 週および瀕死期にみられた。しかし、その個体の白血球の形態には異常がなかった。また、瀕死期の検査ではリンパ球比率の低値および分葉核好中球比率の高値がみられた。いずれの変化も低栄養や瀕死期のストレスによる変化と考えられた。

生存例において、APTT の短縮が雄の 100mg/kg/day 群の投与 4 週時に、網状赤血球率の低値が雌の 100mg/kg/day 群の投与 4 週時でみられたが、同程度の変動は対照群または投与開始前の検査にもみられた。

血液生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清または血漿(*)を用いて以下の項目を測定した。

GOT(*), GPT(*), γ GT(*), ALP、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、遊離脂肪酸、総蛋白、アルブミン、A/G比、蛋白質分画、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール

投与期間におけるGPTおよび対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性 別		雄			雌		
		10	30	100	10	30	100
投与量(mg/kg/day)							
検査動物数	投与 4 週	4	4	3	4	4	3
	投与 7 週	4	4	2	4	4	1
	投与 13 週	4	4	0	4	4	0
GPT	投与 4 週						
	投与 7 週						
	投与 13 週						
GOT	投与 4 週				88	88	56a
	投与 7 週				76a	72b	66
ALP	投与 7 週	81	70a	43b			
	投与 13 週	73	59b	-			
総コレステロール	投与 7 週				74a	67b	88
	投与 13 週				72	67a	-
トリグリセライド	投与 7 週	68	46b	68	62a	52b	55
	投与 13 週	89	83	-	56b	49b	-
リン脂質	投与 7 週				77a	70b	92
	投与 13 週				77	74a	-
遊離脂肪酸 ¹⁾	投与 4 週				103	103	371b
尿素窒素 ²⁾	投与 4 週	113	107	133			
	投与 7 週	108	123	308			
	投与 13 週	127	164a	-			
総ビリルビン	投与 13 週				85a	77a	-
カリウム	投与 4 週				100	102	89a
無機リン	投与 7 週				111	117a	100
クロール	投与 13 週	100	97a	-	100	99	-
A/G比	投与 4 週	103	113	106	95	109	131a
蛋白質分画	α 1グロブリン 投与 4 週				118	106	79a
	α 2グロブリン 投与 4 週				125a	93	114
	β 1グロブリン 投与 4 週	97	92	102	96	84	74a
	投与 7 週	98	82a	84	92	80	67
β 2グロブリン 投与 4 週	97	91	91	103	100	79a	

a: p<0.05, b: p<0.01 (多重比較検定), -: 測定値なし (全例が死亡または瀕死期殺)。

表中の数値は、対照群値を100とした時の値。

*1: 遊離脂肪酸について、100 mg/kg/day 群の瀕死期殺例の雄1例の検査値は、2.72 mEq/Lと対照群値 (雄 0.93 mEq/L) を上回った。

*2: 尿素窒素について、100 mg/kg/day 群の瀕死期殺例の雌雄各1例の検査値は、雄 75 mg/dL、雌 25mg/dLと対照群値 (雄 13 mg/dL、雌 16 mg/dL) を上回った。また、これらの瀕死期殺例ではクレアチニン (雄 1.13 mg/dL、雌 1.91 mg/dL) も対照群値 (雄 0.79 mg/dL、雌 0.84 mg/dL) を上回った。

GPTの高値が30 mg/kg/day 群の雄1例で投与13週時に、100 mg/kg/day 群の雌1例で投与4週時に、尿素窒素の高値または高値傾向が30 mg/kg/day 群の雄で投与13週時に、100 mg/kg/day 群の雄で投与4および7週時に、雌で投与4週時にみられた。また、100 mg/kg/day 群の瀕死期の検査においても尿素窒素およびクレアチニンの高値がみられた。これらの変化は被験物質に起因する所見と考えられた。

その他、総コレステロールの低値または低値傾向、トリグリセライドの低値、リン脂質の低値または低値傾向が、被験物質投与群の雄または雌で、また、遊離脂肪酸の高値が100 mg/kg/day 群の雌で計画検査時(4週)および瀕死期検査時(雄)にみられた。しかし、これらの変化はこの試験機関の背景データ^{#)}を大きく逸脱する変動ではないこと、投与量との関連が明らかでないことから、摂餌量の低下などの低栄養に起因する変化と判断された。また、GOT、ALP、総ビリルビン、カリウム、クロールの低値ならびに無機リンとA/G比の高値が雄または雌でみられたが、毒性学的意義に乏しい変化または投与量や投与期間の推移に関連しない変化と考えられた。

尿検査：投与開始前(2回)、投与7および13週時に全生存動物を対象として採取した尿を用いて以下の項目を測定した。

量、比重、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、色調、尿沈渣

死亡・瀕死期殺例においては、対照群および投与開始前の値と比較すると、尿量の低値が30mg/kg/day 群の雄1例で投与13週に、100mg/kg/day 群の雌1例で投与7週にみられた。しかし、尿量の低値がみられた時期にこれらの動物では摂餌量の低下がみられていたことから、尿量の低値は摂餌・摂水の低下に関連した変化と考えられた。その他、投与期間において、被験物質によると考えられる変化はみられなかった。

眼科学的検査：投与開始前、投与6および12週時に全生存動物を対象に以下の部位を検査した。

角膜、虹彩、結膜、水晶体、眼底

雌雄とも被験物質に起因する異常はみられなかった。

#): 試験機関の背景データ	投与量(ppm)	雄		雌				
		TG(mg/dL)	TCHO (mg/dL)		TG (mg/dL)		PL (mg/dL)	
<実験データ>		投与7週	投与7週	投与14週	投与7週	投与14週	投与7週	投与14週
被験物質	0 平均値	37	180	178	42	43	389	373
	10 平均値	25	133a	128	26a	24b	298a	286
	30 平均値	17b	120b	119a	22b	21b	274b	277a
	100 平均値	25	158	-	23	-	356	-
<背景データ>	平均値	40	140	144	39	40	334	343
	最大値	60	191	194	59	59	427	430
	最小値	20	97	100	20	25	248	274

TG: トリグリセライド、TCHO: 総コレステロール、PL: リン脂質、a: p<0.05、b: p<0.01

器官重量:投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として以下の器官重量(絶対重量)を測定し、相対重量として対体重比も算出した。また、瀕死期殺動物については全例、死亡動物についても可能な限り測定した。

脳、甲状腺、心臓、肺(気管支を含む)、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、卵巣

死亡・瀕死期殺例について、精巣重量の低値が 30 および 100mg/kg/day 群の雄各 1 例で、脾臓重量の低値が 100mg/kg/day 群の雌 1 例でみられた。重量低下のみられた精巣では組織変化として精細管の萎縮がみられ、一般状態の悪化または体重の減少ないし増加抑制による変化と考えられた。また、脾臓重量の低値については対応する組織変化はみられなかったため、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。その他、生存例ではいずれの動物においても被験物質に関連する変化はみられなかった。

剖検: 投与 13 週時最終屠殺対象動物の全例およびすべての死亡・瀕死期殺例を対象として剖検を行った。

性 別	雄				雌			
	0	10	30	100	0	10	30	100
投与量(mg/kg/day)								
検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
胸腺 萎縮	0	0	1D	2D	0	0	0	1D
肺 暗赤色斑	0	0	0	1D	0	0	0	1D
	1	0	1	0	1	0	0	0
心臓 右房室弁に暗赤色斑	0	0	0	0	0	1	0	0
甲状腺 大型化	0	1	0	0	0	0	0	0
腹腔 腹水	0	1	0	0	0	0	0	0
肝臓 暗赤色斑	0	1	0	0	0	0	0	0
脾臓 白色斑	0	1	0	0	0	0	0	0

D: 死亡・瀕死期殺例

死亡・瀕死期殺例にみられた胸腺の萎縮に関しては、一般状態の悪化などストレスによるものと考えられた。また、肺の暗赤色斑は、死亡による非特異的な変化と考えられた。その他、種々の変化が散見されたが、発現状況からいずれも被験物質とは無関係とみなされた。

病理組織学的検査: 投与 13 週時最終屠殺動物の全例およびすべての死亡・瀕死期殺例を対象として以下の全組織および器官を固定し、病理標本を作製し、鏡検した。

脳(大脳、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、大動脈(大動脈弓)、唾液腺(顎下、舌下、耳下)、肝臓、胆嚢、脾臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上部、前立腺、卵巣、子宮、陰、皮膚、舌、喉頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、膀胱、リンパ節(腸間膜、下顎)、乳腺、大腿部骨格筋、坐骨神経、胸骨および大腿骨(骨髄を含む)、眼球、視神経、涙腺、脊髄(頸部、胸部、腰部)、肉眼的異常部位

投与 13 週時最終屠殺対象動物でみられた主要な変化の発生状況を表 I に示す。肝細胞質の好酸性増加および肝細胞の小葉中心性の空胞化が、30 mg/kg/day 以上

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本農薬㈱にある。

の群の雌雄でみられ、被験物質の投与による変化と考えられた。

大脳および小脳では、限局性の出血および変性が 100 mg/kg/day 群の死亡ないし瀕死期殺された雌雄各 1 例で観察された。これらの変化は循環障害により惹起される限局的な変化と類似していた。また、この変化は他の動物にはみられなかった。その他、30 mg/kg/day 以上の群で種々の変化がみられたが、おもに死亡または瀕死期殺例にみられることから、一般状態の悪化ないし体重の減少や増加抑制による二次的な変化と考えられた。

以上、死亡・瀕死期殺例が雌雄で 30mg/kg/day 以上の群でみられた。嘔吐および便性状の異常が雌雄とも 10mg/kg/day 以上の群で、体重および摂餌量の低値、GPT および尿素窒素の高値、肝細胞質の好酸性増加、肝細胞の小葉中心性の空胞化が雌雄とも 30mg/kg/day 以上の群でみられた。したがって、この追加試験における確実中毒量は、雌雄とも 30 mg/kg/day と判断された。

申請者注：

本試験で認められた死亡・瀕死期殺、体重の低値や増加抑制、摂餌量の低値、肝細胞の好酸性化は、トルフェンピラド投与によるミトコンドリアの呼吸阻害に関連して発現した変化であると推察される。

表1. 投与13週時屠殺対象動物の主要な病理組織学的変化

性別		雄					雌			
		0	10	30	100	100	0	10	30	100
投与量(mg/kg/day)		0	10	30	100	100	0	10	30	100
検査動物数		4	4	3	1D	4D	4	4	4	4D
肝臓	肝細胞の好酸性増加	0	0	1	1	4	0	0	1	4
	小葉中心性肝細胞空胞化	0	0	0	1	2	0	0	0	2
	クッパー細胞の褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	1
大脳(神経網)	限局性出血	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	限局性変性	0	0	0	0	1	0	0	0	1
小脳(神経網)	限局性変性	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	限局性出血	0	0	0	0	0	0	0	0	1
精巣	精細管の萎縮	0	0	2	1	4	/			
精巣上体	精子の減少	0	0	0	1	1				
	細胞崩壊物	0	0	1	0	2				
前立腺	萎縮	0	0	0	1	2				
卵巣	萎縮						0	0	0	1
心臓	限局性の出血	0	0	0	0	1	0	0	0	1
肺	うっ血	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胸腺	萎縮	0	0	1	- ¹⁾	3	0	0	0	3
回腸	パイル板の萎縮	0	0	1	- ²⁾	4	0	0	0	2
腸間膜リンパ節	萎縮	0	0	1	- ²⁾	4	0	0	0	2
下顎リンパ節	萎縮	0	0	1	- ²⁾	3	0	0	0	2
胸骨骨髓	造血細胞の減少	0	0	0	- ²⁾	2	0	0	0	1
大腿骨骨髓	造血細胞の減少	0	0	0	- ²⁾	2(3)	0	0	0	1
耳下腺	萎縮	0	0	0	1	0	0	0	0	0
舌下腺	萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0

() : 検査例数, D: 死亡・瀕死期殺例, 統計学的解析は非実施。

- 1) 標本の紛失。
- 2) 自己融解のため検査不能。

(6) 反復経口投与神経

1) ラットを用いた 13 週間混餌投与神経毒性試験

(資料 T-18)

試験機関 Huntingdon Life Sciences (英国) [GLP 対応]
報告書作成年 2003 年

被験物質:

試験動物: SD 系ラット、投与開始時 43~45 日齢(体重* 雄 198.8~259.6 g、雌 136.5~177.7g)

投与期間: 13 週間 (投与開始日: 2002 年 6 月 21 日、剖検終了日: 2002 年 9 月 26 日)

投与方法: 被験物質を 0、15、40 および 80ppm の濃度で飼料中に混入し、13 週間にわたって連続的に自由摂取させた。被験物質を混入した飼料は 2 週間毎に調製した。

投与量の設定根拠

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡: 一般状態および生死を毎日観察した。

死亡はみられなかった。また、被験物質による一般状態の変化もみられなかった。

体重変化: 投与期間を通じてすべての動物の体重を毎週測定した。さらに、神経行動スクリーニング時に体重を測定した。

投与期間における各群の累積体重増加量を次表に示す。

雌雄の 80ppm 群で増加抑制がみられ、雄では投与開始から 8 週間の期間、雌では全投与期間で統計学的に有意であった。他の投与群は雌雄とも対照群と同程度であった。

性別	雄				雌			
	0	15	40	80	0	15	40	80
投与量(ppm)								
投与 0 週~8 週	277.1 (100%)	275.7 (99%)	257.0 (93%)	241.4a (87%)	104.1 (100%)	114.4 (110%)	99.3 (95%)	74.9b (72%)
投与 8 週~13 週	57.5 (100%)	70.2 (122%)	66.0 (115%)	65.5 (114%)	25.1 (100%)	26.1 (104%)	22.2 (88%)	17.1a (68%)
投与 0 週~13 週	334.5 (100%)	345.9 (103%)	323.0 (97%)	306.9 (92%)	129.2 (100%)	140.6 (109%)	121.5 (94%)	91.9b (71%)

a: p<0.05, b: p<0.01 (Williams 検定)、() 内の数値は対照群値を 100 とした時の値(%)

摂餌量および食餌効率: 全動物の摂餌量を週 1 回測定し、食餌効率も算出した。

投与期間における各群の摂餌量を次表 (次頁) に示す。

申請者注: 体重範囲は、原報告の Appendix 2 (個体別体重表) の記載に基づき記載した。

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本農薬㈱にある。

雌の 80ppm 群で投与期間を通じて有意な摂餌量の低値がみられ、食餌効率の低値もみられた。雄の 80ppm 群で投与開始から投与 8 週まで食餌効率のわずかな低値がみられた。その他の投与群の摂餌量ないし食餌効率は対照群と同程度であった。

(摂餌量, g/匹)

性 別	雄				雌			
	0	15	40	80	0	15	40	80
投与量(ppm)								
投与 0 週～8 週	201 (100%)	210 (104%)	196 (98%)	193 (96%)	137 (100%)	138 (101%)	130 (95%)	114b (83%)
投与 8 週～13 週	196 (100%)	210 (107%)	193 (98%)	195 (99%)	136 (100%)	140 (103%)	131 (96%)	112b (82%)
投与 0 週～13 週	199 (100%)	210 (106%)	195 (98%)	194 (97%)	137 (100%)	139 (101%)	130 (95%)	113b (82%)

b: $p < 0.01$ (Williams 検定)、() 内の数値は対照群値を 100 とした時の値(%)

被験物質摂取量：投与期間中の平均被験物質摂取量を次表に示す。

性 別	雄			雌		
	15	40	80	15	40	80
被験物質摂取量 (mg/kg/day)	1.0	2.7	5.4	1.2	3.2	6.0

神経行動スクリーニング：投与開始前、投与第 2、4、8、12 週にすべての動物について機能観察総合評価 (FOB) および自発運動量の測定を行った。

- ・ 手持ち観察：ケージからの取り出し、眼球突出、被毛状態、立毛、取り扱い時の反応、流涎、流涙、取り扱い時の異常発声
- ・ 標準アリーナ内観察：活動数、覚醒、振戦、筋攣縮、痙攣、脱糞、歩行、身づくろい、眼瞼閉鎖、体位、立ち上がり回数、排尿
- ・ 用手操作：接近反応、直腸温、体重、握力、着地開脚幅、縮瞳反射、正向反射、聴覚性驚愕反射、疼痛反応、接触反応
- ・ 自発運動量

対照群と比較して統計学的有意差がみられた項目を次表に示す。

性 別	投与量(ppm)	雄				雌			
		0	15	40	80	0	15	40	80
直腸温 (°C)	2 週					37.6	38.0	37.9	37.9
	4 週					37.9	38.1	37.9	37.8
	8 週					37.9	38.5a	38.1	37.9
	12 週					37.8	38.2	37.9	37.7

a: $p < 0.05$ (Student-t 検定または Wilcoxon の順位和検定)

直腸温について、投与 8 週時に雌の 15ppm 群で有意な高値がみられたが、40 および 80ppm 群で同様の変化がみられないことから、投与に関連しない変化と考えられた。

なお、着地開脚幅について雌の 40ppm 以上の群で低値が投与 12 週時にみられた。しかし、これらの低値は投与開始前の検査でもみられること、雄で同様の変化がみられないこと、統計学的な有意差がみられないことから投与に関連した変化ではないと考えられ

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本農薬㈱にある。

た。また、自発運動量について、投与開始前および投与期間を通じて、雌雄ともすべての投与群で対照群に比べて高値がみられたが、統計学的有意差はみられなかった。これらの変化は投与群に高値を示した個体が存在した一方で、対照群には低値を示す個体が散発的に多かったことによると考えられた。

眼科学的検査：投与開始前に全動物、投与 13 週時に対照群と 80ppm 群の全動物を対象に以下の項目を検査した。

眼付属器官、結膜、角膜、強膜、前眼房、虹彩、水晶体、硝子体、眼底
被験物質投与に関連する異常はみられなかった。

肉眼的病理検査：投与終了時に全動物を対象に実施した。

被験物質投与に関連する異常はみられなかった。

脳重量およびサイズ：全動物を対象に脳重量、大脳の長さおよび幅を測定した。

被験物質投与に関連する異常はみられなかった。

病理組織学的検査：投与終了時に各群雌雄各 5 匹を対象に過剰量のバルビツレート腹腔内投与して屠殺した。その後、心臓を露出させ、大動脈からグルタルアルデヒド・パラホルムアルデヒド混液を用いて灌流固定した。以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

脳（前脳、中脳、小脳、脳橋、延髄）、脊髄（頸部、腰部）、後根神経節（頸部、腰部）、後根線維および前根線維（それぞれ頸部、腰部）、眼球、視神経、骨格筋、坐骨神経、頸骨神経

坐骨神経および頸骨神経は樹脂包埋し、トルイジンブルーで染色した。その他はパラフィン包埋し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。鏡検は対照群と 80ppm 群について実施した。

観察された病理組織所見を次頁の表 I に示す。いずれの変化も被験物質の投与に関連するとは考えられなかった。

以上、原体のラットに対する 13 週間混餌投与による神経毒性試験における影響として、体重増加の低値が雌雄の 80ppm 群で、摂餌量および食餌効率の低値が雌の 80ppm 群でみられた。神経行動スクリーニング、眼科学的検査、神経病理学的検査については、雌雄とも影響はみられなかった。したがって、神経毒性に関する無毒性量は雌雄とも 80ppm（雄：5.4 mg/kg/day、雌：6.0 mg/kg/day）と判断された。

表 I. 投与 13 週時屠殺動物の神経病理組織学的変化

性 別 投与量(ppm)		雄		雌	
		0	80	0	80
脳	検査動物数	5	5	5	5
	稜形体の神経線維変性	2	2	0	3
筋肉 腓腹筋	検査動物数	5	5	5	5
	筋線維変性 間質性炎症細胞の浸潤	1 1	0 0	0 1	1 0
坐骨神経- 坐骨切痕	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	2	1	1	0
脊髓- 頸部	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	0	2	1	0
頸骨神経- 腓腹筋枝	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	0	1	0	0
頸骨神経- 膝	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	1	0	0	1
前根線維- 腰部	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	0	0	0	1
坐骨神経- 中大腿部	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	2	1	0	2
脊髓- 腰部	検査動物数	5	5	5	5
	神経線維変性	1	3	2	1
	神経根の神経線維変性	1	2	1	0

(Fisher の直接確率検定で有意差なし)

(7) 1年間反復投与毒性および発がん性

1) イヌを用いたカプセル投与法による慢性経口毒性試験 (資料 T-19)

試験機関 ポゾリサーチセンター [GLP対応]

報告書作成年 1999年

被験物質:

試験動物: ビーグル犬、投与開始時6カ月齢 (体重 雄 8.8~10.0 kg、雌 8.4~9.8 kg)

	1群あたりの動物数		投与開始日~屠殺解剖日*
	雄	雌	
投与52週時最終 屠殺対象動物	4	4	雄: 1998年2月25日~1999年2月25日 雌: 1998年2月25日~1999年2月26日

*: 高用量群では、雄1例が投与83日に雌1例が投与26日に死亡した。

投与方法: 被験物質をゼラチンカプセルに充填し、0、1、5 および 20mg/kg/day の投与量で投与を開始した。しかし、高用量群で投与26日に雌1例が死亡し、さらに同群の雌雄各1例においても死亡例と同様な体重および摂餌量の低下がみられた。したがって、投与5週に雌雄とも高用量を20から10mg/kg/dayに減量した。いずれの動物にも1日1回52週間にわたって強制経口投与した。なお、対照群には被験物質を充填しない空カプセルのみを同様に投与した。

以下、高用量を20/10 mg/kg/dayと表記する。

投与量の設定根拠:

検査項目および結果:

一般状態および死亡: 一般状態および生死を毎日観察した。

20/10 mg/kg/day 群の雌1例が投与26日に、同群の雄1例が投与83日に死亡した。これらの動物では死亡前に、体重の減少や摂餌量の低値、流涎、無排便、自発運動の減少、削瘦、体温低下、横臥位、よろめき歩行、粘膜 (口粘膜および眼粘膜) の蒼白化等がみられた。

嘔吐 (吐物中に被験物質と思われる白色物を含む例もある) が対照群を含め全群の動物で観察され、投与4週頃まで発生頻度が対照群に比べて雄の5 mg/kg/day以上の群および雌の20/10 mg/kg/day群でやや高かった。それ以降は、発生頻度は全群で同程度であった。流涎が、5 mg/kg/day以上の群で投与量の増加とともにその発生例数および頻度が増加し、投与直前または直後に条件反射的に観察される変化であった。しかし、この試験および先に実施された13週間追加試験 (資料 T-17) では唾液腺に組織変化は認められず、一般薬理試験 (資料 T-31) 等か

ら流涎の発現を示唆する知見がないことから、この試験で観察された流涎の毒性的意義は乏しいと考えられた。また、軟便が 20/10 mg/kg/day 群の雌で投与 11 週頃までその発生頻度が高かった。便中に被験物質と思われる白色物を含む動物が 5 mg/kg/day 以上の群に散発的に投与期間の初期でみられた。

体重：投与 14 週までは週 1 回、以降は 2 週間に 1 回の頻度ですべての動物の体重を測定した。

20/10 mg/kg/day 群の死亡例では、投与開始前の値と比べて低下がみられた。同群の雌雄の生存例においても投与期間に体重の増減が繰り返され、投与期間を通じた総増加量でも対照群に比べて同群で低値がみられた。他の投与群の体重は、雌雄とも対照群と同程度であった。

摂餌量および摂餌効率：全動物の摂餌量を毎日測定し、摂餌効率（体重増加量÷摂餌量×100）も算出した。

20/10 mg/kg/day 群の死亡例では、摂餌量の低値がみられた。また、同群の雌雄の生存例においても摂餌量の低値がみられた。他の投与群の摂餌量は、雌雄とも対照群と同程度であった。

摂餌効率もこれらの体重および摂餌量の変化に関連して、負の値（-20%以上）を示した。その他、1 および 5 mg/kg/day 群で高値がみられる週があったが、いずれの変化も投与量ないし投与期間との関連はなく、被験物質とは関連のない偶発的な変化と考えられた。

血液学的検査：投与開始前（2 回）、投与 3、6、9 および 12 ヶ月時に全動物を対象として、一晩絶食させた動物の機側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積（MCV、計算値）、平均赤血球血色素量（MCII、計算値）、平均赤血球血色素濃度（MCHC、計算値）、網状赤血球数、血小板数、白血球数、白血球百分率、プロトロンビン時間（PT）、活性化トロンボプラスチン時間（APTT）

単球比率の高値が 1 mg/kg/day 群の雌で投与 12 ヶ月時にみられたが、同様の変化は 5 mg/kg/day 以上の群ではみられないことから、被験物質とは関連のない偶発的な変化と考えられた。

血液生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液から得られた血清および血漿（*）を用いて以下の項目を測定した。

GOT(*), GPT(*), γ G T(*), ALP、総ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、リン脂質、遊離脂肪酸、総蛋白、アルブミン、A/G 比、蛋白質分画、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、クロール

投与期間の計画検査において、対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目およびGPTの変化を次表に示す。

性 別		雄			雌			
		1	5	20/10	1	5	20/10	
投与量(mg/kg/day)								
検査動物数 投与 3～12 ヶ月		4	4	3	4	4	3	
GPT	投与 9 ヶ月 投与 12 ヶ月							
GOT	投与 3 ヶ月	72a	100	88				
総コレステロール	投与 3 ヶ月	95	69a	69	76	57	54	
	投与 6 ヶ月	97	75	75	85	62a	74	
	投与 12 ヶ月	103	76	85	91	71a	68a	
トリグリセライド*	投与 9 ヶ月	65a	72a	72				
リン脂質	投与 3 ヶ月	98	76a	75a	86	66a	60a	
	投与 6 ヶ月	99	77	79	91	68a	76	
	投与 12 ヶ月	106	79	88	97	73b	75a	
グルコース	投与 9 ヶ月	104	98	111a				
ナトリウム	投与 9 ヶ月	100	99a	99				
カルシウム	投与 9 ヶ月	105a	103	107a				
A/G比	投与 3 ヶ月				118	126a	130a	
アルブミン	投与 3 ヶ月				109	113a	115a	
蛋白質 分画	α1グロブリン 投与 9 ヶ月	83a	72b	85				
	α2グロブリン 投与 12 ヶ月	122	90	130a				
	β2グロブリン 投与 12 ヶ月				95	87a	82b	
	γグロブリン	投与 6 ヶ月	96	121a	94			
		投与 9 ヶ月	88	117a	94			
	投与 12 ヶ月	80a	111	85				

a : p<0.05, b : p<0.01 (多重比較検定)
表中の数値は、対照群値を 100 とした時の値。

GPTの高値が、5 mg/kg/day 群の雄 1 例で投与 9 および 12 ヶ月時（投与開始前の値に比べて 9.0 倍および 2.5 倍）に、20/10 mg/kg/day 群の雄 1 例で投与 12 ヶ月時（投与開始前の値に比べて 3.8 倍）にみられ、被験物質に関連した変化と考えられた。

総コレステロールおよびリン脂質の低値ないし低値傾向が、5 および 20/10 mg/kg/day 群の雌雄でみられた。しかし、各個体について投与開始前の測定値と比べると低値のみみられる個体の出現例数、低値の程度、発現時期に関して被験物質との関連はみられなかった。したがって、これらの変化は偶発的な変化と考えられた。

その他に種々の変化がみられたが、いずれの変化も投与量との関連が明らかでない変化または投与期間中の一過性の変化であり、被験物質とは関連のない偶発的な変化と考えられた。

尿検査：血液学的検査と同時期に採取した尿を用いて以下の項目を測定した。

量、比重、pH、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、色調、尿沈渣

投与期間の計画検査において、対照群に比べ統計学的有意差のみられた項目を次表に示す。

性別 投与量(mg/kg/day)	雄			雌		
	1	5	20/10	1	5	20/10
比重 投与 12 ヶ月	100	101	101	100	100	98a

a : p<0.05, b : p<0.01 (多重比較検定)

表中の数値は、対照群値を 100 とした時の値。

尿比重の低値が 20/10 mg/kg/day 群の雌で投与 12 ヶ月時にみられたが、その程度は軽度であり、尿量には変化がなかったことから、被験物質とは関連のない偶発的な変化と考えられた。

眼科学的検査：投与開始前、投与 6 および 12 ヶ月時に全動物を対象に以下の部位を検査した。

角膜、虹彩、結膜、水晶体、眼底

雌雄とも被験物質に起因する異常はみられなかった。

器官重量：投与 52 週時の最終屠殺動物の全例を対象として以下の器官重量（絶対重量）を測定し、相対重量として対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺、心臓、肺（気管支を含む）、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、精巣、前立腺、卵巣、子宮

いずれの動物においても被験物質に関連する変化はみられなかった。

剖検：投与 52 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として剖検を行った。

心臓の右房室弁に暗赤色点が 1 および 5 mg/kg/day 群の雄各 1 例でみられたが、その発生状況から偶発的な変化と考えられた。

病理組織学的検査：投与 52 週時最終屠殺対象動物の全例を対象として、以下の全組織および器官を固定し、染色標本を作製して鏡検した。

脳（大脳、小脳、延髄）、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺（気管支を含む）、心臓、大動脈（大動脈弓）、唾液腺（顎下、舌下、耳下）、肝臓、胆嚢、脾臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、膣、皮膚、舌、喉頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腎臓、膀胱、リンパ節（腸間膜、下顎）、乳腺、大腿部骨格筋、坐骨神経、胸骨および大腿骨（骨髄を含む）、眼球、視神経、涙腺、脊髄（頸部、胸部、腰部）、肉眼的異常部位

投与 52 週時最終屠殺対象動物でみられた変化の発生状況を表 I に示す。

肝細胞質の軽微ないし高度の好酸性増加が 20/10 mg/kg/day 群の雄 2 例および雌 3 例にみられた。また、20/10 mg/kg/day 群の雌で肝細胞およびクッパー細胞内に色素沈着の増加がみられた。全例の肝臓について、ベルリンブルーおよびシュモール染色を実施した結果、肝細胞およびクッパー細胞におけるベルリンブルーおよびシュモール染色陽性色素は、対照群を含む各群の雌雄で種々な程度で観察されたが、20/10 mg/kg/day 群の雌ではその程度が増していた。以上の変化は被験物質に起因するものと考えられた。

20/10 mg/kg/day 群の雄の 1 死亡例で、腎臓の尿細管上皮の空胞化および好酸性の増加がみられたが、雄の他のいずれの個体にも同様な変化がみられないことから、被験物質との関連性は不明であった。また、20/10 mg/kg/day 群の死亡例では、雄で胃の糜爛、リンパ組織の萎縮、精巣および前立腺の未成熟、骨髄の造血細胞の減少、皮膚および骨格筋の萎縮が、雌では出血、うっ血および浮腫等の変化が肺、肝臓、胸腺および腎臓に観察された。しかし、いずれの変化も一般状態の悪化あるいは摂餌量の低下を伴った体重減少による変化と判断された。その他、種々の変化が観察されたが、いずれも偶発的な変化と考えられた。

以上、頻繁な嘔吐が雄では 5 mg/kg/day 以上の群、雌では 20/10 mg/kg/day 群で観察された。また、GPTの上昇が雄の 5 mg/kg/day 以上の群でみられた。さらに、20/10 mg/kg/day 群の雌雄では死亡、体重および摂餌量の減少、肝細胞質の好酸性増加がみられ、同群の雌で肝細胞およびクッパー細胞内への色素沈着の増加（ベルリンブルーおよびシュモール染色による陽性色素出現の程度の増加を伴う）がみられた。したがって、無毒性量は雌雄とも 1 mg/kg/day と判断された。

申請者注：

本試験で認められた死亡、体重の低値や増加抑制、摂餌量の低値、肝細胞の好酸性化は、トルフェンピラド投与によるミトコンドリアの呼吸阻害に関連して発現した変化であると推察される。

表1. 投与52週時最終屠殺対象動物の病理組織学的変化

性 別		雄					雌					
		0	1	5	20/10		0	1	5	20/10		
投与量(mg/kg/day)		0	1	5	20/10		0	1	5	20/10		
検査動物数		4	4	4	3	1D	4	4	4	3	1D	
心臓	右房室弁の末梢血管拡張	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
	肺動脈弁の末梢血管拡張	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
胃	びらん	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
肺 (気管支)	限局性肺炎	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	
	中隔の線維化	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	うっ血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
空腸	パイル板の萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	
耳下腺	限局性萎縮	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
	異所性粘液分泌腺組織	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
肝臓	肝細胞質の好酸性の増加	0	0	0	1	1	0	0	0	3	0	
	肝細胞内の色素沈着	0	1	0	1	0	1	0	0	2	0	
	シュワルツ染色陽性色素	陰性	3	1	3	2	1	1	3	4	1	1
		極軽度	1	2	1	1	0	3	1	0	0	0
		軽度	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
		中程度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	ペルリファン染色陽性色素	陰性	3	3	4	3	1	1	3	3	1	1
		極軽度	1	1	0	0	0	3	1	1	0	0
		軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	クッパー細胞内の色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	
	シュワルツ染色陽性色素	陰性	2	2	2	0	1	2	3	3	1	1
		極軽度	2	2	2	3	0	2	1	1	1	0
		軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
		陰性	1	0	1	0	1	2	2	0	0	1
極軽度		3	3	3	2	0	2	2	3	1	0	
軽度		0	1	0	1	0	0	0	0	2	0	
中程度	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0		
下垂体	前葉にのう胞	0	1	2	2	0	2	1	2	1	0	
	中葉に細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	中葉にのう胞	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
甲状腺	リンパ球性甲状腺炎	0	0	1	0	0	0	0	1	0	-	
上皮小体	のう胞	1	0	2	0	0	1	1	2	0	0	
胸腺	萎縮	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
	出血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
脾臓	白脾髄の萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
下顎リンパ節	萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	
腸間膜リンパ節	萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0	-	
腎臓	尿細管上皮細胞の空胞化	0	0	0	1	1	4	4	3	3	1	
	尿細管上皮細胞の好酸性増加	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	糸球体脂質症	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	腎盂炎	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
	うっ血	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
精巣	精子形成細胞の変性	1	1	0	0	0	/					
	精細管の限局性萎縮	2	1	0	0	0						
	精細管のびまん性萎縮	0	0	1	0	0						
	ライディット細胞の肥大	0	0	1	0	0						
	未成熟	0	0	0	0	1						
精巣上体	管腔内の精子数の減少	0	1	1	0	0						
	動脈炎	1	0	0	0	0						
前立腺	未成熟	0	0	0	0	1						

—: 自己融解のため検査せず。
D: 死亡例,
統計学的解析は非実施

(次頁へ続く)

表 I. 投与 52 週時最終屠殺対象動物の病理組織学的変化 (続き)

性 別		雄					雌				
		0	1	5	20/10		0	1	5	20/10	
投与量(mg/kg/day)		0	1	5	20/10		0	1	5	20/10	
検査動物数		4	4	4	3	1D	4	4	4	3	1D
皮膚	付属器の萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	肉芽腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胸骨骨髓	造血細胞の減少	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
大腿骨骨髓	造血細胞の減少	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
骨格筋	萎縮	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
坐骨神経	ルノー小体	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0

D: 死亡例,

統計学的解析は非実施