

(5)急性遅発性神経毒性

アクリナトリンのニワトリを用いた
急性遅発性神経毒性試験

(資料 No.15)

検体の純度：

供試動物：ニワトリ(品種：褐色交雑卵用種)、12～13ヶ月齢、
陽性対照群および溶媒対照群 雌各 10 匹

検体投与群 雌 14 匹 (追加で 12 匹)、体重範囲 1.740～2.495kg

観察期間：42 日間

投与方法：予備試験で検体 0、1250、2500 及び 5000mg/kg をコーン油に懸濁させ、1 夜絶食させたニワトリに経口投与した。死亡数は 0、1250、2500 及び 5000mg/kg 投与群で各々 0/10、2/10、3/10 及び 1/10 であり、最大非致死量は 5000mg/kg 以上と推定されたので本試験では検体 5000mg/kg をコーン油に懸濁し、1 夜絶食させた動物に 5000mg/kg の投与レベルで経口投与した。投与 21 日後に、再度検体の同じ薬量を経口投与した。陽性対照としてトリ・オルソ・クレシルリン酸 (TOCP) 500mg/kg を 1 回経口投与した。溶媒対照群にはコーン油のみを投与し、検体投与の場合と同様に 21 日後に再度投与した。

投与群の振り分け；本試験は、2 部に分けて実施し次のように 1 群 10 羽とした。

群	動物数	処理	投与量(mg/kg)
1	10	コーン油	0
2	10	TOCP	500
3(a)	10	検体	5000
3(b)	4	検体	5000
3(c)*	12	検体	5000

*：第 1 回投与および第 2 回投与後の生存鳥数が少数であったため、追加としてもう 1 群を設定した

観察・検査項目；一般状態、神経症状、生死を毎日観察し、体重及び摂餌量を 1 週間に 1 回測定した。陽性対照群は試験開始後 21 日目に、陰性対照群及び検体投与群は 42 日目に屠殺し肉眼的病理検査を行い、神経組織(坐骨神経、脊椎)を摘出して病理組織学的検査を行った。

結 果；

運動失調

下記に評点および運動失調の調査結果を示す。

評点

- 0 運動失調症は認められない。
- 1 症状は不明確で、常にではないが軽度な運動協調性失調がみられる。
- 2 軽度な運動協調性失調がみられ、時折、特に排泄後、よろめき歩行あるいは翼下垂が認められる。
- 3 頻繁に、特に着地時あるいは排泄後、運動協調性失調あるいはよろめき歩行が認められる。
- 4 よろめき歩行が認められ、尾および脚の反射に影響があると思われる。鳥の着地が不整。
- 5 継続的なよろめきが認められ、鳥は頻繁に休息。通常、尾および脚の反射に顕著な影響が認められる。
- 6 鳥は短時間たっているのみで、通常、飛節を引きずって歩く。通常、尾および脚の反射に顕著な影響が認められる。
- 7 6と同様であるが、脚の動きが弱まり、反射への顕著な影響がみられる。
- 8 鳥は起立不能、脚の動きが弱まり、尾および脚の反射喪失。

運動失調の調査結果

群	処理	評点	試験日(日目) / 動物数																
			1-7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
2	TOCP 500 mg/kg	0	10	9	7	7	6	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0		
		1	0	0	0	1	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
		2	0	1	2	2	2	3	4	3	1	4	4	3	3	2	2		
		3	0	0	0	0	0	1	1	2	4	1	1	2	2	3	2		
		4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	3	0	0	0	1		
		5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1		
		6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	3	2	1		
		7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2		
		8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		

検体投与群及び陰性対照群では、投与後 42 日間神経毒性症状はみられなかった。陽性対照群では、投与 8 日後に遅発性の運動失調が認められはじめ 16 日後には全例に運動失調が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

生存動物数を下表に示す。

群	薬剤	投与量 (mg/kg)	投与後生存動物数					
			0日	7日	14日	21日	35日	42日
1	溶媒	0	10	10	9	8	7	7
2	TOCP	500	10	10	10	10*	-	-
3a	検体	5000	10	5	5	5	4	4
3b	検体	5000	4	3	3	3	1	1
3c	検体	5000	12	10	10	10	4	4

*屠殺剖検

溶媒対照群で11日目および17日目に各1羽ずつの死亡例が認められた。検体投与群の3a群では第1回投与後に5羽(1日目に1羽、2日目に3羽、4日目に1羽)、また第2回投与後(22日目)に1羽の死亡例が認められた。3b群では第1回投与後に1羽(23日目)、第2回投与後に2羽(23、25日目に各1羽)の死亡例が認められ、3c群では第1回投与後に2羽(2、3日目に各1羽)、第2回投与後に6羽(22日目に4羽、23日目に1羽、29日目に1羽)の死亡例が認められた。

肉眼的病理検査；数例の所見がみられたが、検体投与に関連した異常とは考えられなかった。

病理組織学的検査；次表に要約する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

薬 剤		溶媒	TOCP	検体	
投 与 量 (mg/kg)		0	500	5000	
程 度 / 動 物 数		程度/10	程度/10	程度/9	
組 織	脳	前 脳	I 10	I 10	I 9
		中・後脳	I 10	II 6 III 4	I 9
	脊 髄	上頸骨部	I 4	II 1	I 4
			II 3	III 6	II 5
			A* 3	IV 3	
		下頸骨部	I 6	II 3	I 4
			II 1	III 2	II 5
			A 3	IV 5	
	胸 骨 部	I 5	II 3	I 5	
		II 2	III 7	II 4	
		A 3			
	腰 骨 部	I 5	I 1	I 7	
		II 2	II 4	II 2	
		A 3	III 5		
	末梢神経	近位挫骨	I 9	I 3	I 9
II 1			II 3 III 3 IV 1		
遠位挫骨		I 10	I 2	I 8	
			II 2 III 2 IV 4	II 1	
頸 椎 骨	I 10	I 3	I 8		
		II 1 III 5 IV 1	II 1		

*A：自己融解により病理組織学的検査できず。

程度 I 白質の異常なし

II 時折、軸索の分断、フラグメント化

III 数個の軸索の分断、フラグメント化又は変形

IV 中等度の数の軸索の分断、フラグメント化又は変形

V 多数の軸索の分断、フラグメント化又は変形

(IIIおよびそれ以上と判定される場合、有意な変性であることを示す)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

投与 21 日後における陽性対照群の病理組織学的検査では、脊髄及び末梢神経の軸索変性がみられた。

検体投与群のほとんどの動物で脊髄の軽度な変化がみられ、1羽では末梢神経の軽度な変化がみられたが、これらの変化は陰性対照群にみられた変化と同等であり、検体投与に起因するものではないと判断された。

以上の結果から、アクリナトリンを2回投与したが遅発性神経毒性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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(6) 90日間反復吸入毒性

90日間反復吸入毒性試験

提出除外

急性吸入毒性試験の結果から他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い吸入毒性が認められないので試験を省略する。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

21日間反復経皮投与毒性試験

提出除外

急性経皮毒性試験の結果から他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い経皮毒性が認められないので試験を省略する。

(8) 亜急性毒性

アクリナトリンのラットを用いた90日間亜急性毒性試験

(資料No.17)

検体の純度：

供試動物：Ctrl：CD(SD)BRラット(試験開始時 雄6週齢、雌5週齢)、1群雌雄各20匹、
試験開始時平均体重 雄 169g、雌 118g

投与終了後、各群雌雄各10匹を屠殺し、残りの生存動物を28日間の回復試験に供した。

投与期間：90日(1987年6月15日～1987年9月16日)および回復期間28日間

投与方法：検体を0、30、100及び300ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたって自由に摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。投与終了後、半数の動物には無処理の飼料を与えて28日間の回復試験を行った。

用量設定の根拠；28日間亜急性毒性予備試験を5、10、25および100mg/kg/日で実施した結果、25および100mg/kg/日の投与群における死亡率の増加、体重増加抑制及び臓器重量(絶対及び相対値)の変動などの影響がみられたが、5および10mg/kg/日では前述の2群ほど顕著な臨床的变化がみられず、病理組織学的異常も認められなかったことを考慮し、本試験の最高投与量を300ppmと設定した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を投与期間及びその後の回復期間を通じ、毎日観察した。さらに詳細にわたる観察を週1回実施した。

下表に皮膚症状の発生した動物数を示す。

投与群 (ppm)	投与期間								回復期間			
	0週～7週				8週～13週				14週～18週			
	0	30	100	300	0	30	100	300	0	30	100	300
雄	1	0	4	4	0	0	1	6	0	0	0	1
雌	0	0	4	5	0	0	6	8	0	0	1	2
合計	1	0	8	9	0	0	7	14	0	0	1	3

300ppm投与群の雌数匹に、立毛、削瘦、低体温、運動低下、姿勢異常、呼吸困難などの症状が一時的に認められた。100ppm以上の投与群の雌雄で、頭部、鼻、首、背部、脚部等に痂皮、潰瘍及び脱毛が認められた。

投与終了後の回復期間で、ほとんどの動物では症状が消失したが、100ppm投与群の雌1例では投与終了後でも症状の持続がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

試験期間中の死亡率を下表に示す。

投与群 (ppm)	0	30	100	300
雄	1/20	0/20	1/20	1/20
雌	0/20	0/20	0/20	7/20

300ppm投与群の雌で、死亡率が高かったが、7例中6例は投与開始後4～5週の間で死亡したことから、検体投与に起因するものではなく、試験4週から飼料の喰いこぼしを減らすために新型の給餌器に変更したことによる環境変化による栄養失調およびストレスと関係があるものと考えられた。

体重；投与開始1日後、その後は回復試験終了時まで、1週間に1回、すべての生存動物の体重を測定した。

投与量 (ppm)		投与期間											回復期間		
		2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週	9週	10週	11週	12週	13週	14週	15週
30	雄					↓91					↓92	↓94		↓95	
	雌														
100	雄	↓89	↓91		↓92	↓87	↓91	↓92	↓93	↓92	↓92	↓91	↓92	↓92	
	雌		↓88	↓88							↓94		↓95		
300	雄	↓82	↓84	↓87	↓86	↓79	↓86	↓86	↓85	↓85	↓84	↓84	↓83	↓83	↓88
	雌	↓88	↓86	↓87	↓76			↓92	↓90	↓95	↓87	↓90	↓89	↓89	

統計学的方法：Dunnettの検定又はMann-Whitneyの検定↓；p<0.05、↓；p<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

30ppm投与群の雄で、投与期間中の11週のみに統計学的に有意な抑制が認められたが、その程度は極めて軽微であった。雌では、投与期間及び回復期間中とも正常な体重の増加がみられた。

100ppm以上の投与群の雌雄では、投与開始後2～3週から統計学的に有意な体重抑制がみられ、検体投与に起因するものと考えられる。なお、いずれの投与群の雄雌においても、投与終了後の体重は、回復の傾向がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率；

投与開始後、回復試験終了時までの間、1週間に1回全動物の摂餌量を測定し、さらに投与期間中の食餌効率を算出した。

投与量 ppm		投与期間											回復期間			
		1週	2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週	9週	10週	12週	13週	14週	15週	17週
30	雄									↓87	↓78				↓87	↓91
	雌															
100	雄	↓81		↓87		↓80				↓89	↓88				↓85	↓90
	雌		↓78	↓80		↑174	↓81	↓81	↓77	↓78	↓82					
300	雄	↓73		↓83	↓81	↓77	↓91	↓93	↓89	↓85	↓84	↓89	↓88			↓93
	雌	↓77	↓79	↓76	↓52	↑174	↓78	↓76	↓71	↓73	↓76	↓82		↑122		

統計学的方法：Dunnnettの検定又はMann-Whitneyの検定 ↑↓；p<0.05、↑↓；p<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

30ppm投与群では、投与開始後9及び10週時に雄の摂餌量が僅かではあるが、統計学的に有意に減少した。しかし、その他の期間は低下が見られず、申請者はこの低下は一時的で投与による影響とは考えなかった。雌の摂餌量には変化がみられなかった。

100ppm投与群では、雌雄とも投与開始後10週までの間に統計学的に有意な摂餌量の減少が散見された。

300ppm投与群では、雌雄とも投与開始後10週までのほとんどの検査時期で統計学的に有意な摂餌量の減少がみられ、その後投与終了までの間では対照群と比較して差は小さくなったが、統計学的に有意な減少が散見された。投与終了後の回復期間では、雌雄とも摂餌量の増加がみられた。食餌効率には、全投与群の雌雄とも対照群と比較して差がみられなかった。

検体摂取量；摂餌量及び体重から算出した1日当りの平均検体摂取量は以下の通りである。

性別	1日あたり検体摂取量(mg/kg/日)		
	30ppm	100ppm	300ppm
雄	2.4	8.0	24.3
雌	3.1	10.2	30.5

眼科学的検査；投与開始前及び投与開始後12週時に、全動物を対象として検査した。

各投与群とも、検体の投与による影響と考えられる変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始後13週時及び回復試験終了時に、全群の全生存動物を対象として、眼窩静脈叢から血液を採取し、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、総白血球数、白血球百分率(対照群と300ppm投与群のみ測定)、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、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)を測定した。

300ppm投与群の雌で、投与開始後13週時に赤血球数およびヘモグロビン濃度に軽度な減少がみられ、プロトロンビン時間に増加がみられたが、これらの変化は軽度であり正常値の範囲内にあった。ヘマトクリット値は無処理の値が正常範囲より高い数値を示しており、処理による影響とは考えなかった。その他の変化は時折統計学的に有意であったが、用量依存は全く見られなかったため、毒性学的意義は認められなかった。

回復試験終了時(17週)には、全投与群の雄でプロトロンビン時間の減少がみられ、300ppm投与群の雌でAPTTの減少がみられたが、いずれも軽度であり、生物学的な意義は認められなかった。300ppm投与群の雄では、好中球比の増加及びリンパ球比の減少がみられたが、これらの絶対値には変化がみられなかったため生物学的意義はないと考えられた。

対照群と比較して、統計学的有意差のみ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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

性別	雄			雌			正常範囲
	30	100	300	100	300	300	
投与群(ppm)	30	100	300	100	300	300	正常範囲
検査時期	17週	17週	17週	13週	13週	17週	
赤血球数 ($10^{12}/l$)					↓ 92 (7.54)		
ヘモグロビン濃度 (g/dl)					↓ 91 (14.4)		13.50-15.50*
ヘマトクリット値 (%)					↓ 93 (55)		39.60-45.90*
プロトロンビン時間 (秒)	↓94	↓90	↓89		↑105 (13.6)		12.8** S.D. ± 2.3
APTT				↓95		↓82	
好中球比			↑143				
リンパ球比			↓92				

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

()内実測値。Dunnett の検定又は Mann-Whitney の検定 ↓ ↑ ; p<0.05、↓ ; p<0.01

参考文献 * : Charles river 社 Clinical Laboratory Parameters for CrI:CD(SD)Rats 2006.3

** : 日本獣医学雑誌 Vol55, No3(1993)「Clinical Pathology Reference Ranges of Laboratory Animals(実験動物の臨床病理検査値における正常範囲)」

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血清を用いて血糖、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、総蛋白、コレステロール、トリグリセリド、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、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルブミン、 α -1-グロブリン、 α -2-グロブリン、 β -グロブリン、 γ -グロブリン、アルブミン/グロブリン比(A/G比)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム及び無機リンを測定した。

次頁に対照群と比較して、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄						雌					
	30		100		300		30		100		300	
投与群(ppm)	30	100	100	100	300	300	30	100	100	100	300	300
検査時期	13週	17週	13週	17週	13週	17週	13週	17週	13週	17週	13週	17週
グルコース (mmol/l)									↑112 (6.91)			
尿素窒素 (mmol/l)					↑126 (6.8)						↑112 (7.4)	
トリグリセリド (mmol/l)			↓75 (0.46)									
ALP (UI/l)					↑152 (211)							
ASAT (UI/l)			↑115 (68)				↓85 (61)					
β-グロブリン比 (% およびg/l)								↓86 (15.4)			↑113 (15.4)	
γ-グロブリン比 (% およびg/l)					↑119 (10.0)							
アルブミン (g/l)					↓89 (39.8)					↑111 (52.5)		
ナトリウム (mmol/l)			↓99 (142.1)	↓98 (138.3)	↓99 (141.6)	↓98 (138.2)						
カリウム (mmol/l)	↓94 (3.90)			↑113 (3.92)	↓93 (3.85)	↑104 (3.61)						
塩素 (mmol/l)		↑101 (108.7)	↓99 (105.7)	↓98 (105.3)		↓98 (105.2)	↑102 (108.1)		↑102 (108.7)		↑102 (108.1)	
カルシウム (mmol/l)			↓97 (2.49)		↓91 (2.35)							

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。()内は実測値。

Dunnett の検定又は Mann-Whitney の検定 ↓ ↑ ; p<0.05、↑↓ ; p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

各群の各検査時期で統計学的に有意な変化が認められたが、いずれも対照群と比較して差が小さく、正常値の範囲内であったので検体投与による影響とは考えられなかった。

尿 検 査；投与開始後13週時及び回復試験終了時に、全群の全生存動物を対象として絶食下で一夜尿を採取し、尿量、pH、比重、ウロビリノーゲン、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩及び沈渣を検査した。

性別	雄							
	0		30		100		300	
投与群(ppm)	0		30		100		300	
週	13	17	13	17	13	17	13	17
pH	6.9	6.9	7.2	7.6	6.9	7.6	↑7.5	7.0

Dunnettの検定 ↑↓；p<0.01

300ppm 投与群の雄で、投与開始後 13 週時に pH の統計学的に有意な上昇が認められたが、4 週間の回復期間後には認められなかった。その他の結果では異常はみられなかった。

臓 器 重 量；投与開始後13週時に各群雌雄各10匹を、回復試験終了時に残りの全生存動物を対象として、解剖ののち脳、下垂体、顎下腺、胸腺、肺、甲状腺(上皮小体を含む)、肝、腎、副腎、心、脾、精巣、前立腺、精巣上体、卵巣及び子宮の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

次頁に対照群と比して統計学的有意差を示した項目を示す。

性 別	雄						雌						
	30ppm		100ppm		300ppm		30ppm		100ppm		300ppm		
	13週	17週	13週	17週	13週	17週	13週	17週	13週	17週	13週	17週	
体 重					↓ 83							↓ 91	
脳	重 量												
	対体重比					↑124							
顎下腺	重 量												
	対体重比					↑116						↑117	
副腎	重 量												
	対体重比												
肺	重 量												
	対体重比					↑116							
肝	重 量					↓ 84							
	対体重比												
腎	重 量					↓ 85							
	対体重比												
心	重 量					↓ 84							
	対体重比		↑112										
脾	重 量												
	対体重比					↑121							
精巣	重 量												
	対体重比		↑114	↑112		↑117	↑110						
前立腺	重 量					↓83							
	対体重比		↑123										
精巣上体	重 量												
	対体重比					↑116							
甲状腺	重 量					↓ 78							
	対体重比									↑133			

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
 Dunnettの検定又はMann-Whitneyの検定 ↓ ↑ ; p<0.05、↑↓ ; p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

300ppm群では雄の腎、肝、前立腺、甲状腺および心の絶対重量の減少、脾、精巣、精巣上体、肺、脳の相対重量、並びに雌雄における顎下腺の相対重量の増加がみられた。回復期間終了時に30および300ppm群の雄において精巣の相対重量の増加、また30ppm群の雄において前立腺および心の相対重量の増加、さらに、100ppm群の雌において甲状腺の相対重量の増加が認められた。

主として300ppm投与群の雄で臓器重量及び対体重比に散発的な増減がみられたが、いずれも病理組織学的検査で異常が認められず、体重減少に伴う変化であり、毒性学的な意義はないと判断された。

肉眼的病理検査；投与開始後13週時の屠殺動物、回復試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対象として検査を行った。

皮膚病変の発生頻度

投与群(ppm)	100		300	
	雄	雌	雄	雌
脱毛	0/20	0/20	3/20	2/20
痂皮	1/20	1/20	0/20	1/20
潰瘍	1/20	1/20	1/20	1/20
肥厚	0/20	0/20	1/20	1/20

100ppm以上の投与群では、雌雄に皮膚の痂皮及び潰瘍がみられた。300ppm投与群では、雌雄に脱毛及び皮膚の肥厚の発生頻度が対照群に比して高かった。

病理組織学的検査；対照群及び300ppm投与群については、上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、副腎、大動脈、脳(前脳、中脳、後脳)、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、視神経を含む眼、ハーダー腺、心、回腸、空腸、腎、肝、肺(全葉及び主気管支)、リンパ節(下顎、腸間膜)、乳腺、食道、卵巣、膝、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺(耳下腺、顎下腺、舌下腺)、坐骨神経、骨格筋、皮膚、脊髄(頸部、胸廓中部、腰部)、脾、胸骨(骨髄を含む)、胃(前胃、腺部)、精巣、脛骨大腿骨関節(骨髄を含む)、胸腺、甲状腺(上皮及び頸部)、舌、気管、膀胱、子宮(体部及び頸管部)、膣及び肉眼的病変部について、病理標本作製し、検鏡した。30ppm及び100ppm投与群については、途中死亡動物を対象として上記全組織を検査し、また投与開始後13週時の屠殺動物及び回復試験終了時(17週)の全生存動物を対象として、肝、腎及び肺を検査した。

主要な病理組織学的変化の発生頻度を次頁に示す。

検査時期	性別	雄				雌				
		投与群(ppm)	0	30	100	300	0	30	100	300
途中死亡及び	肝	単核細胞集簇	10/11	10/10	10/10	8/10	10/10	10/10	10/10	9/14
		うっ血	4/11	2/10	5/10	5/10	6/10	2/10	2/10	9/14

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

13週時 屠殺動物		細胞空胞化	2/11	↑ 7/10	↑ 7/10	3/10	9/10	5/10	7/10	2/14
	皮膚	過角化	0/11	-	1/1	1/10	0/10	-	1/1	3/14
		潰瘍性蜂巣炎	0/11	-	0/1	2/10	0/10	-	1/1	2/14
		好酸球浸潤	0/11	-	0/1	0/10	0/10	-	0/1	2/14
		表皮過形成	0/11	-	1/1	0/10	0/10	-	0/1	0/14
	肺	うっ血	7/11	7/10	6/11	5/10	7/10	5/10	8/10	11/14
	腎	うっ血	2/11	1/10	0/10	0/10	1/10	0/10	0/10	6/14
	脾	リンパ球減少	0/11	-	-	0/10	0/10	-	0/1	5/14
	胸腺	リンパ球減少	0/11	-	-	0/10	0/10	-	-	5/14
回復 試験後 (17週時 屠殺動物)	肝	単核細胞集簇	9/9	10/10	9/9	9/9	10/10	10/10	8/10	6/6
		うっ血	2/9	2/10	2/9	1/9	0/10	0/10	4/10	0/9
		細胞空胞化	4/9	7/10	4/9	7/9	5/10	7/10	2/10	6/6
	肺	うっ血	2/9	6/10	3/9	5/10	3/10	3/10	7/10	4/6
	腎	うっ血	0/9	0/10	0/9	0/9	1/10	0/10	0/10	0/6

表中の数値の分母は検査動物数、分子は異常が認められた動物数を表す。

- : 検査していないことを示す。

Fisherの正確確率検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$ 、↑↓ : $p < 0.01$ (申請者が計算)

100ppm以上の投与群では、雌雄とも皮膚の過角化、潰瘍性蜂巣炎、表皮過形成が認められ、300ppm投与群の雌では、好酸球の浸潤を伴った表皮の壊死及び脾及び胸腺に髄質の萎縮を伴ったリンパ球の減少がみられ、投与による影響と考えられた。その他の病理組織学的変化は発生頻度、程度、形態上の特徴から検体との関係は認められなかった。

申請者注：肝臓の細胞空胞化の毒性学的意義については、記述はなかったが、雌の無処理において9/10、また、雄の300ppmにおいて3/10の発生頻度がみられるので雄の30および100ppm群の有意な増加は処理による影響とは考えない。

以上の結果から、アクリナトリンの90日間混餌投与による亜急性毒性試験における影響として、100ppm以上の投与群で皮膚病変、体重増加抑制、摂餌量の減少が認められ、300ppm投与群では脾及び胸腺にリンパ球の減少が認められた。30ppm投与群で耐性が認められた。

申請者注：100ppm以上で体重抑制が認められたが、30ppm投与群では十分な耐性が認められたことから、NOAELは30ppm(雄 2.4mg/kg/日、雌 3.1 mg/kg/日)と考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(1) アクリナトリンのラットを用いた

13週間予備試験

(資料 No.58)

検体の純度：

試験動物：Han Wistar(HsdBrl Han: Wist)系ラット、開始時7週齢、1群雌雄各10匹、試験開始時体重 雄99～117g、雌85～109g

試験期間：13週間（2001年4月26日～7月30日）

投与方法：検体を30、100、300および1000ppm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。試験期間中一定の間隔で調製された。

用量設定の根拠；依頼者によって選択された。

観察・検査項目および結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日少なくとも2回観察した。

1000ppm群雄1匹では顕著な潰瘍および炎症性浸潤がみられたため13週目に、300ppm群雄1匹は顕著な痂皮がみられたため3週目にそれぞれ屠殺された。また、1000ppm群雌1匹においては顕著な体重減のため2週目に切迫屠殺された。

1000ppm投与群の1週において不活発、立毛、円背位等の処理に関連する症状が認められた。これらは2週も続き、さらに雄1匹および雌3匹に流涎が加わり、2匹の雄及び3匹の雌は削瘦が認められた。痂皮/擦過傷は処理群において1週目では100mg/kg群雌で1匹認められ、2週目から複数の処理区で認められた（次頁表参照）。雄は雌より影響が大きかった。1000ppm群の立毛は試験の期間中を通して見られたが、後半には発生頻度は低下した。300および1000ppm投与群における脱毛の頻度は対照群に比して高い頻度を示したが、痂皮/擦過傷の存在に起因するものであった。

30ppm投与群の外観および行動に処理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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

痂皮/擦過傷の発生頻度

週	雄(ppm)					雌(ppm)				
	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
2	0	1	0	2	0	0	0	3	1	0
3	0	1	1	3	3	0	0	3	2	0
4	0	1	2	5	7	0	0	2	2	1
5	0	1	2	5	7	0	0	1	1	1
6	0	0	0	2	5	0	0	1	1	1
7	0	0	0	2	6	0	0	0	1	0
8	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0
9	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0
10	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0
11	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0
12	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0
13	0	0	0	1	2	1	0	0	0	0

体重；各動物の馴致期間中、投与開始時（0週）、投与期間中毎週および剖検前に体重を測定した。

1000ppm 投与群の体重減少は処理の第1週から認められ、第2週の体重は増加したが、雄の体重増は対照群に比較すると小さかった。全期間を通して体重増の明らかな影響が認められた。

300ppm 群雌雄および 100ppm 群雄の体重増も対照群に比較すると小さく、体重増は第2週においては対照群に比較して同等かむしろ大きかった。第3週以降はこれらの動物の体重増は対照群と相違はなかった。

30ppm 投与群および 100ppm 投与群雌の体重増は処理による影響は認められなかった。

体重増

性	雄					雌				
	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
投与量 mg/kg/日	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
0-1週 g/個体	41	45	↓33	↓15	↓11	23	26	21	↓16	↓10
%対照群		110	80	37	*		113	91	70	*
1-2週 g/個体	40	43	42	41	↓32	15	17	↑20	↑22	21
%対照群		108	105	103	80		113	133	147	140
1-13週 g/個体	267	272	273	259	↓221	124	125	123	125	↓108
%対照群		102	102	97	83		101	99	101	87

Dunnett 検定 ↓↑ : p<0.05、↓↑↑ : p<0.01

* : 体重減のため計算不可

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

摂 餌 量；各ケージに供給した飼料の量、残された量、こぼされた推定量が試験期間中毎週記録された。これらのデータから週平均摂餌量が計算された。次表に摂餌量を示す。

週	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
1		(91)	↓68	↓39			↓78	↓46
2		(96)	↓85	↓63			↓91	↓75
3			↓90	↓72			(92)	↓86
4				(90)			(95)	(97)
5				(92)			(95)	↓88
6				(91)			(90)	↓86
7				(90)			(93)	(92)
8				(94)			(92)	↓86
9				↓89			↓84	(92)
10				↓92			↓85	(88)
11				(96)			↓84	(89)
12				(94)			(90)	↓81
13				(94)			(98)	(92)

Dunnett 検定 ↓↑ : $p < 0.05$ 、↓⇓ : $p < 0.01$ (申請者による検定)
 数値は、対照群の値を 100 とした場合の値

処理の第 1 週、100 ppm 投与群雄および 300ppm および 1000ppm 投与群雌雄の摂餌量は低かった。特に 1000ppm 投与群は顕著であった。第 2 週においても 300ppm および 1000ppm 投与群の摂餌量は低かった。これらの動物の摂餌量は、300ppm 投与群雄をのぞいてこの後も継続して低かった。30ppm 投与群雌雄および 100ppm 投与群雌の摂餌量は処理による影響は認められなかった。

食 餌 効 率；週別群平均値より食餌効率を測定した。

週/投与量 (ppm)	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
1	109	89	53	*	111	96	88	*
2	110	111	121	128	118	146	164	189
3	105	113	125	144	102	97	122	183
4	95	89	98	124	95	101	121	144
5	93	102	102	110	82	94	94	83
6	99	96	110	96	97	101	99	143
7	103	99	94	102	122	57	67	96
8	92	136	133	127	113	100	131	64
9	100	108	73	109	61	92	108	147
10	97	100	112	130	104	107	81	93
11	128	145	164	158	58	12	56	67
12	94	111	96	106	179	217	213	42
13	180	80	227	113	*	733	1033	967

* : 体重減のため計算できなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

第1週の食餌効率は300ppm投与群において低かった。また1000ppm投与群においては体重減少のために計算できなかった。300ppmおよび1000ppm投与群の第2週及び3週、1000ppm投与群雄の第4週、および1000ppm投与群雌の第6週において高い食餌効率を示した。全期間の食餌効率は、処理による影響を受けなかった。

検体摂取量；平均検体摂取量を下表に示す。

投与群(ppm)		30	100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.58	9.05	26.63	89.41
	雌	3.04	10.10	27.86	93.69

眼科学的検査；13週目に対照群と1000ppm群の生存動物について検査を行った。

処理に関連する眼科学的検査は認められなかった。

血液学的検査；投与13週目に血液試料を後眼窩洞より採取し、ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度、赤血球数、総白血球数(WBC)、血小板数、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積(MCV)および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を測定した。また、白血球百分率は好中球、リンパ数、好酸球、好塩基球、単球、大型非染色性細胞(LUC)を自動的に測定した。

下表に統計学的有意差のあった項目を示す。

項目/ 投与群(ppm)	雄				雌				背景データ	
	30	100	300	1000	30	100	300	1000	雄	雌
MCHC (g/dl)							↑103 (35.5)	↑102 (35.4)		33.2- 37.8
MCV (fL)					↓97 (55.6)	↓96 (55.0)	↓95 (54.8)	↓96 (55.1)		50.3- 57.0
WBC (10 ⁹ /L)						↓79 (5.09)	↓70 (4.55)	↓74 (4.78)		0.96- 7.88
好中球 (10 ⁹ /L)								↓58 (0.53)		0.15- 1.11
リンパ球 (10 ⁹ /L)						↓78 (4.10)	↓69 (3.61)	↓77 (4.05)		0.68- 6.80
好酸球 (10 ⁹ /L)						↓67 (0.06)	↓56 (0.05)	↓56 (0.05)		0.01- 0.14
単球 (10 ⁹ /L)		↑156 (0.25)				↓65 (0.11)	↓59 (0.10)	↓76 (0.13)	0.03- 0.27	0.01- 0.13
LUC (10 ⁹ /L)					↓50 (0.02)	↓50 (0.02)	↓50 (0.02)	↓50 (0.02)		0-1
PT (秒)		↑107 (14.9)							11.55- 16.10	

Dunnnett検定 ↓↑: p<0.05、↓↑: p<0.01 ()内は実測値
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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

対照群と比較して、1000ppm 投与群雌において好中球が僅かに減少、100ppm 以上の投与群雌のリンパ球が減少した。これらの変化は白血球数の減少を伴った。雄に影響は認められなかった。

その他の対照群と比較して有意差が認められた多くの変化は、小さな差であり、片性のみであり、本研究所の背景データの範囲にあり、変化として 300 あるいは 1000ppm 投与群雌の僅かに高い平均赤血球血色素濃度、雌全群のやや低い平均赤血球容積が含まれる。これらの変化は従って正常な生物学的変化に起因するものである。

血液生化学的検査；投与13週目に末梢血を採取した同じ動物を用いて、血液試料を抗凝固剤ヘパリンリチウム中に採取し、血漿を分離し、以下を測定した。

アルカリホスファターゼ (Alk.phos)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、グルコース濃度、クレアチニン濃度 (Creat)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (gGT)、尿素窒素、総ビリルビン、総コレステロール (Chol)、アルブミン、アルブミン・グロブリン比 (A/G)、ナトリウム、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム、無機リン (Phos)、総タンパク

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

下表に統計学的有意差のあった項目を示す。

項目/ 投与量 (ppm)	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
Alk Phos (U/L)			↓78 (155)	↓83 (165)				
ALT (U/L)	↓77 (27)							
gGT (U/L)					(0)	↑* (4)	↑* (2)	↑* (2)
AST (U/L)	↓86 (65)							
尿素窒素 (mmol/L)			↑119 (5.53)	↑125 (5.79)				
Creat (μmol/L)	↓94 (50)	↓94 (50)	↓94 (50)	↓93 (49)				↓93 (51)
Chol (mmol/L)					↓73 (1.41)	↓84 (1.63)	↓85 (1.65)	↓83 (1.61)
K (mmol/L)				↑105 (4.1)				
Cl (mmol/L)				↑101 (106)				
Phos (mmol/L)				↑114 (2.12)				
総タンパク (g/L)								↓91 (64)
A/G 比								↑113 (1.36)

Dunnett 検定 ↓↑: $p < 0.05$ 、↓↑: $p < 0.01$

*: 対照区が 0 のため計算できなかった。0内は実測値

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

13週において血漿中の処理に関連した血液生化学的変化は300及び1000ppm投与群雄における高い尿素窒素濃度、1000ppm投与群雄の高い無機リン濃度、1000ppm投与群雌における低い蛋白濃度および高いアルブミン/グロブリン比であった。

その他の有意差が認められた多くの変化は、用量相関性がなく、性質としてマイナーであり、片性のみであった。それゆえ、それらは処理による影響とは考えなかった。そのような変化として300ppmおよび1000ppm投与群雄の低い血漿アルカリホスファターゼ活性、すべての投与群雄および1000ppm投与群雌の血漿クレアチニン濃度があった。その他の生物学的変化に起因する所見として1000ppm投与群雄の血漿中のカリウム濃度、雌全投与群の血漿コレステロール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

濃度の低値および 100ppm 以上の投与群雌における γ グルタミルトランスペプチダーゼ活性の僅かな上昇が認められた。後者は用量といかなる相関性も認められなかった。

臓器重量；13週の投与終了後に屠殺された動物より取り出され、付随する脂肪および隣接する器官を除去し測定、記録された。両側臓器は一緒に測定された。また各臓器重量は屠殺直前に測定された体重比%でも表された。

副腎、腎臓、肝臓、精巣、甲状腺および上皮小体（部分固定後測定）

下表に統計学的有意差のあった項目を示す。

臓器/ 投与量 (ppm)	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
腎臓	絶対	↑111		↑112				
	相対	↑110		↑114	↑117			
肝臓	絶対			↑111				
	相対			↑113	↑113			
副腎	相対				↑118			
精巣	相対				↑116			

Dunnett 検定 ↓↑: $p < 0.05$, ↓↓: $p < 0.01$

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

投与 13 週後の 300 及び 1000ppm 投与群雄の、肝臓及び腎臓の体重に対する相対重量は対照群に比較して僅かに大きかった。雌に影響は認められなかった。

その他の統計学的に有意差が認められた多くの差は、用量依存性がなく、性質としてマイナーであり、体重に対する影響の 2 次的なものと考えられたので、毒性的な有意性はないものと考えられた。

肉眼的病理検査；すべての動物は詳細な解剖検査を実施し、各動物の病歴の検査および外皮、開口部、首および関連する組織および頭蓋、胸部、腹部、骨盤腔および内臓の詳細な検査を実施した。下表に所見を示す。

肉眼的病理所見

性別		雄					雌				
投与群(ppm)		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
所見部位/所見/検査動物数		10	10	10	9	9	10	10	10	10	9
胸腺	暗部	2	2	0	4	4	1	0	0	0	0
	皮膚/皮下組織										
	痂皮	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
	著しい脱毛	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

顕著な脱毛が 300 ppm 投与群雄の 1 匹、1000ppm 投与群雄の 1 匹に認められた。1000ppm 投与群雄の脱毛は試験期間中に認められた擦過傷/痂皮の部分と関係していたが、300 ppm 投与群雄の場合は同じ関連は認められなかった。その他処理に関連した変化は認められなかった。胸腺の暗部の発生頻度は 300ppm以上の用量で認められたが、この系統のラットに通常認められるものであり、対照群でも2匹認められたので被験物質の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；

下記の臓器について、ブアン固定液を用いた精巢および Davidson 固定液を用いた眼をのぞいて 10%ホルマリン中性緩衝液で固定し、70%工業用変性アルコール中に移し保存し、検査を行った。結果を下表に示した。13 週間後にアクリナトリン処理に直接起因する知見は認められなかった。多くの投与群雄に、飼料中の被験物質への接触に起因すると考えられる潰瘍、痂皮、表皮肥厚、炎症性浸潤が認められた。組織病理学的評価において示された皮膚に関する病変は表皮のみが損傷を受けた皮膚のセクションのみに認められた。処理による全身的な反応は認められなかった。その他の知見はこの研究所のこの週齢のラットに見られるタイプと程度が同じであった。

病理組織学的所見

性別		雄					雌				
		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
投与群(ppm)		0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
所見部位／所見／検査動物数		10	0	0	0	9	10	0	0	0	9
皮膚／皮下組織	検査動物数	0	0	0	3	1	1	0	0	0	0
	痂皮	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
	表皮性の潰瘍形成	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	過角化	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	表皮肥厚	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0
	皮膚炎症	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0

以上からアクリナトリンの 13 週間混餌投与では 100ppm 投与群において投与の早期に非特異的な毒性がみられ、100ppm 以上の投与群では皮膚病変、300ppm 以上の投与群では雄に肝臓および腎臓の適応変化が認められた。したがって NOAEL は 30ppm (雄 2.58mg/kg/日、雌 3.04mg/kg/日) と考えられた。この系統のラットを用いる次の発がん性試験において最高用量は 300 と 1000ppm との間にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

マウスを用いた混餌投与 13 週間反復経口投与毒性試験

(資料 No.59)

検体の純度：

試験動物：CD-1系マウス、1群雌雄各 10 匹、投与開始時 5 週齢

開始時体重；雄 25.7～33.2g、雌 20.2～25.7g

試験期間：13 週間（2001 年 4 月～2001 年 7 月）

投与方法：検体を 0、30、100、300 及び 1000ppm 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。

投与量設定根拠；試験委託者が濃度を設定した。

試験項目及び結果：

死亡；各動物について生死を毎日観察した。

11 匹の動物が厳しい皮膚損傷のために衰弱し、切迫状態のため、動物は人道的理由により試験終了時前に屠殺された。試験終了前の屠殺以外に死亡例は見られなかった。

表 死亡数

性別	雄					雌				
	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
濃度 (ppm)										
週 3									1	
週 5				1						1
週 7					4					
週 9								1		1
週 11					1					1
計	0	0	0	1	5	0	0	1	1	3

一般状態及び詳細な症状観察；各動物の臨床症状及び行動について、毎日少なくとも 2 回検査された。下記の症状を示した動物数は以下の表の通りであった。

300 及び 1000ppm 投与群の雌雄の鼻口部、頭、上部背側の皮膚に痂皮 / 擦過傷が認められた。100ppm 投与群の雌雄各 1 匹が、また、30ppm 投与群の雄 1 匹が同症状を示した。これらの損傷は第 2 週で最初に記録された。第 2 週から損傷のある動物数が増加し、第 6 週の間にピークを迎えた。その他の検体投与に関連した臨床症状は、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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 痂皮/ 擦過傷を示した動物数

性別	雄					雌					
	濃度 (ppm)	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
週 1	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
週 2	0/10	0/10	0/10	3/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	2/10	3/10
週 3	0/10	0/10	1/10	3/10	1/10	0/10	0/10	0/10	0/10	3/10	3/10
週 4	0/10	0/10	1/10	3/10	3/10	0/10	0/10	0/10	0/10	3/9	5/10
週 5	0/10	0/10	1/10	2/9	5/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/9	4/10
週 6	0/10	0/10	1/10	1/9	5/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/9	3/9
週 7	0/10	0/10	0/10	1/9	2/6	0/10	0/10	0/10	0/10	0/9	4/9
週 8	0/10	1/10	0/10	1/9	1/6	0/10	0/10	1/10	0/10	0/9	3/9
週 9	0/10	1/10	0/10	0/9	1/6	0/10	0/10	1/10	0/10	0/9	2/9
週 10	0/10	1/10	0/10	1/9	1/6	0/10	0/10	0/9	0/9	0/9	1/8
週 11	0/10	0/10	0/10	1/9	1/6	0/10	0/10	0/9	0/9	0/9	1/7
週 12	0/10	0/10	0/10	1/9	0/5	0/10	0/10	0/9	0/9	0/9	0/7
週 13	0/10	0/10	0/10	2/9	0/5	0/10	0/10	0/9	0/9	1/9	1/7

体重；各動物について、馴化期間中、試験飼料給餌開始当日、その後の処理期間中は1週間間隔および剖検時に体重が測定された。

体重増加は、全ての濃度の試験飼料給餌により影響を受けなかった。ただ、1000ppm 投与群は、試験飼料給餌開始の週に、無処理対照群と比較して、体重増加がやや少なかった。

体重増

性	雄					雌					
	投与量	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
0-1週	g/個体	1.9	2.8	2.5	1.7	0.7	1.0	2.2	2.5	1.1	0.8
	%対照群		146	130	89	↓37		220	248	105	83
0-13週	g/個体	10.6	12.6	13.4	12.5	12.9	6.5	8.4	7.9	8.1	6.2
	%対照群		120	127	119	122		129	122	126	96
1-13週	g/個体	8.7	9.9	10.9	10.7	12.5	5.5	6.1	5.5	7.1	5.3
	%対照群		114	126	123	144		113	100	131	97

Dunnett' test ↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01 (申請者の検定)

摂餌量；摂餌量は、毎週の群平均値が算出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

300 及び 1000ppm 投与群は、対照群と比較すると、第 1 週において低かったが、その後は影響されなかった。

全体の摂餌量は、対照群と比較すると、1000ppm 投与群の雌は、対照群の 88%、300ppm 投与群の雄において対照群の 88%、30ppm 投与群の雌においても対照群の 86%であった。摂餌量は、用量に対して相関性が認められず、正常な変動の範囲内にあると考えられた。

週	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
1			↓78	↓71			(85)	(87)
2			↓84					
8					↓79			
9							↓75	
10					↓82		↓79	↓80
11					↓69			
12								
13					↓81			
1-13	(99)	(99)	(88)	(98)	(86)	(98)	(92)	(88)

Dunnett' test ↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01 (申請者の検定)
 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

食餌効率；各週の摂餌量及び体重増加量から算出した。

全ての投与群の雌雄の食餌効率は極端に変動し、用量関連性が認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下記表の通りであった。

表 平均検体摂取量

性別	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
投与量 (ppm)								
*	4.27	14.33	39.01	142.66	5.31	21.05	60.11	204.44

*：検体摂取量(mg/kg/日)

血液学的検査；試験期間中に麻酔した動物の眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について測定した。

ヘマトクリット(Hct)、ヘモグロビン濃度(Hb)、赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、血小板数(Plt)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球ヘモグロビン(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単球、巨大無染色球(LUC)

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた項目を次頁表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

1000ppm 投与群の雌雄において、好中球数及びリンパ球数が減少した。1000ppm 投与群の雄において、RBC、WBC、好塩基球及び単球数が減少した。1000ppm 投与群の雌において、MCH 及び MCV が増加した。

MCHC の低下が、全ての濃度の検体投与群の雄でみられたが、その程度は小さく、また、用量相関性もないので、これらの差異は、投与に関連した変化とは考えられなかった。

表 血液学的検査結果

性別	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
投与量 (ppm)								
RBC				93↓				
MCH								106↑
MCHC	98↓	98↓	97↓	99↓				
MCV								109↑
WBC				68↓				
好中球				57↓				58↓
リンパ球				70↓				96↓
好塩基球				40↓				
単球				60↓				

Student' t- test ↑↓; p<0.05、↑↓; p<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

血液生化学的検査；試験終了時の全動物について、血液サンプルが採取され、分離後の血漿は、下記について検査した。

アルカリフォスファターゼ(Alk.phos)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、ガンマーグルタミルトランスペプチダーゼ(gGT)、グルコース濃度(Gluc)、総ビリルビン濃度(Bili. Total)、尿素、総コレステロール(Chol. Total)、総タンパク濃度(Total Prot.)、アルブミン(Alb)、アルブミン / グロブリン比(A/G Ratio)、ナトリウム(Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム濃度(Ca Total)、無機リン(Phos)

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた項目を下記表に示した。

300 及び 1000ppm 投与群の雌雄において、血漿グルコース濃度が減少した。

尿素、Cl、Ca 及び Phos は、統計学的有意差があったが片性のみであり、また、Na は対照群との差が小さかったので投与に関連した変化とは考えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

表 血液化学的検査結果

性別	雄				雌			
	30	100	300	1000	30	100	300	1000
投与量 (ppm)								
尿素			117↑	124↑				
Gluc			77↓	78↓			82↓	83↓
Na	101↑	101↑	102↑	102↑			101↑	102↑
Cl							98↓	98↓
Ca	104↑	102↑	106↑	104↑				
Phos			133↑					

Student' t-test ↑↓; p<0.05、↑↓; p<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

臓器重量；試験終了時に屠殺された全動物から採取された下記の臓器の重量が測定され、絶対値と体重補正值を求めた。

副腎、肺、脳、卵巣、精巣上体、脾臓、心臓、精巣、腎臓、胸腺、肝臓、子宮と子宮頸部

対照群と比較して統計学的に有意な差がみられた項目を下表に示した。

1000ppm 投与群の雄において、肝臓重量(絶対値及び相対値)が対照群より大きかったが、雌では認められなかった。卵巣、脾臓及び精巣上体の重量に関して有意差がみられたが、これらは、用量相関性がないので、これらの差異は、投与に関連した変化とは考えられなかった。

表 臓器重量

性別	投与量 (ppm)	雄				雌			
		30	100	300	1000	30	100	300	1000
肝臓	絶対				124↑ ^a				
	相対				113↑ ^a				
脾臓	絶対							141↑ ^b	
	相対							134↑ ^b	
卵巣	絶対					247↑ ^b			
	相対					226↑ ^b			
精巣上体	相対			86↓ ^a					

表 a : Dunnett' test ↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01

b : Behrens-Fisher test ↑↓; p<0.05、↑↓; p<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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

肉眼的病理学的検査；試験終了時に屠殺された全動物について剖検を行った。下記の組織が、肉眼的病理学検査のために保存された。

下顎骨、卵巣、脾臓、膵臓、腋窩、筋肉、皮膚、盲腸、腎臓、肝臓、腸間膜、肺、気管支、眼球、子宮、子宮頸部

対照群と比較して、特に雌で、膨張、拡大あるいは斑状の脾臓がみられた。これらの結果を下表に示した。

その他のすべての所見は、一般的に本研究所で用いられたこの齢の CD-1 系マウスにおいて認められるものと同じタイプであり、重症度であった。

表 脾臓に関する肉眼的病理学の所見

性別	雄					雌				
	0	30	100	300	1000	0	30	100	300	1000
投与量 (ppm)										
動物数	10	10	10	9	5	10	10	9	9	7
膨張	0	0	0	1	0	0	2	0	3	1
拡大	0	0	0	1	0	0	0	0	2	1
斑状	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0

組織病理学検査；試験終了時に屠殺された全動物及び人道的理由により早期に屠殺された動物の下記組織が、組織病理学検査サンプルとして保存された。

副腎、食道、大動脈、卵巣、脳、膵臓、盲腸、脳下垂体、結腸、直腸、十二指腸、坐骨神経(1つのみ)、心臓、脊髄、回腸、脾臓、空腸、胸骨、腎臓、胃、涙腺、精巣、肝臓、胸腺、肺、甲状腺と上皮小体、リンパ節(下顎)、リンパ節(腸間膜)、気管、膀胱、乳房基底部、精巣上体、唾液腺(顎下及び舌下)、眼球、大腿骨、精囊、胆嚢、骨格筋(大腿部)、頭(鼻腔、副鼻腔、鼻咽喉を含む)、皮膚、前立腺、子宮と子宮頸部

1000ppm 投与群の組織病理学検査サンプル及び肉眼的病理検査で異常があると報告された組織は、脱水され、パラフィンで包埋され、4-5 μ m の切片が作製され、ヘマトキシリン及びエオシンで染色され、検鏡された。

小脳、大脳、中脳、延髄、心臓、腎臓、肝臓、肺、脊髄索、胸骨、骨髄および肉眼的異常組織

検体処理に直接関係すると考えられる所見は、全くみられなかった。検体との接触による炎症が皮膚と眼球にみられた。検体との接触による二次的反応として、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

リンパ節の反応変化及び骨髄、脾臓及び肝臓での増加した造血性活動が観察された。

投与開始の週に 1000ppm 投与群の体重増加の抑制、300 及び 1000ppm 投与群の摂餌量の抑制が認められた。1000ppm 投与群マウスの 1 週目の食餌効率の低下等の非特定の毒性、1000ppm 投与群の雌雄における好中球数及びリンパ球数の減少、1000ppm 投与群の雄における RBC、WBC、好塩基球及び単球数の減少、1000ppm 投与群の雌における MCH 及び MCV の増加、300 あるいは 1000ppm 投与群におけるグルコース濃度の低下、100ppm 投与群以上の皮膚の変化、300ppm 投与群以上の肝臓および脾臓の適応的变化等がみられたことより本試験の NOAEL は 30ppm(雄：4.27mg/kg/日、雌：5.31 mg/kg/日)であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

④ アクリナトリンのイヌを用いた
90日間亜急性経口毒性試験

(資料No.19)

検体の純度：

供試動物：ビーグル犬(7-9ヶ月齢)、1群雌雄各8匹
開始時平均体重 雄 13.5kg、雌 12.3kg

投与期間：90日間(1987年8月5日～1987年11月6日)

投与方法：検体をゼラチンカプセルに封入し、0、1、3及び10mg/kg/日の投与量で、90日間強制経口投与した。投与終了後、各群雌雄各4匹を屠殺し、残りの動物を28日間の回復試験に供した。

用量設定根拠：投与量0、3、10、30及び90mg/kg/日での28日間亜急性毒性試験において、10mg/kg/日以上投与群に認められた体重及び摂餌量の減少を考慮し、本試験の最高投与量を10mg/kg/日とした。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与期間中、下痢及び嘔吐が認められた。これらの症状を示した動物数及び延べ日数を下表に示す。

投与群 mg/kg/日	雄		雌	
	動物数*	延べ日数	動物数*	延べ日数
嘔吐				
0	0/8	0	0/8	0
1	2/8	3	5/8	5
3	6/8	12	6/8	17
10	7/8	44	8/8	41
下痢				
0	2/8	2	1/8	1
1	8/8	42	6/8	40
3	8/8	55	8/8	76
10	8/8	75	8/8	133

*：分母は供試験動物数、分子は症状発現動物数を表す。

投与量の増加に伴って、同一動物でこれらの症状を示す頻度が増加し、その程度も顕著となる傾向がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

いずれの群でも死亡例はみられなかった。

体重変化；投与開始後、回復試験の終了時まで、週1回すべての動物の体重を測定した。

投与期間及び回復期間中の体重の推移を下表に示す。

投与量 (mg/kg)	雌雄	投 与 期 間								回復期間
		1週	2週	3週	4週	5週	6～ 8週	9～ 11週	12～ 14週	15～17週
1	雄	99	99	99	100	99	99	100	99	102
	雌	100	100	99	98	99	101	101	100	99
3	雄	99	99	100	101	99	99	100	101	101
	雌	102	100	100	98	99	100	99	98	97
10	雄	100	95	94	94	93	93	93	94	91
	雌	99	98	96	95	96	96	97	94	92

Dunnett検定 ↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<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

投与開始後1ヶ月間にわたり10mg/kg投与群の雌雄で僅かな体重増加の抑制が(雄、約6%、雌、約5%)みられたが統計学的有意差はなく、それ以降は投与終了まで変化せず同じ水準にあった。回復試験の期間中は全ての投与群で同等の体重増加を示した。

摂 餌 量；試験途中で絶食させる必要があった場合を除き、毎日摂餌量を測定した。

投与期間及び回復期間を通じて、いずれの投与群でも対照群と比較して統計学的に有意な変化はみられなかった。

眼 科 学 的 検 査；投与開始前及び投与開始後13週時に、全動物を対象として検査した。

いずれの投与群でも、検体投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

血 液 学 的 検 査；投与開始後4、8、13週及び回復試験終了時に、全動物を対象として採血前一晩絶食後頸静脈から血液を採取し、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)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、総白血球数、白血球百分率及び血小板数を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

下表に対照群と比較して、統計学的有意差のみられた項目を示す。

検査 時期	性 別	雄			雌		
	投与量(mg/kg)	1	3	10	1	3	10
4週	赤血球数				↑110		
	ヘモグロビン濃度				↑111		
	ヘマトクリット値				↑109		
	M C H C				↑103		
	単球比	↑250					
8週	M C V				↓99		
	M C H	↑104		↑104			
	M C H C	↑103	↑102	↑103			
	単球比			↓40			
13週	赤血球数			↓89			
	ヘモグロビン濃度			↓89			
	ヘマトクリット値			↓90			
	M C H					↓97	
	好中球比			↓87			
	リンパ球比			↑143			

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

Dunnettの検定又はMann-Whitneyの検定 ↓ ↑ : p<0.05、↕ : p<0.01

投与開始後13週時に、10mg/kg投与群の雄で赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少がみられたが、これらの値は正常値の下限に近いので検体投与との影響とは考えなかった。そして、回復期間にはこれらの変化は認められなかった。その他の変化は薬量との関連がなく、一貫性もなかったので毒性学的意義はないと考えられた。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査における同一の検査時期、動物を対象として、その血液を用いてグルコース、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、総蛋白、総コレステロール、トリグリセリド、アルカリフォスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(ASAT)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、アルブミン、 α -1-グロブリン、 α -2-グロブリン、 β -グロブリン、 γ -グロブリン及びアルブミン/グロブリン比(A/G比)を測定した。

対照群と比較して、統計学的有意差のみられた項目を次頁の表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

検査 時期	性 別 投与量(mg/kg)	雄			雌		
		1	3	10	1	3	10
4週	総コレステロール	↓ 80	↓ 78				
	ASAT			↑ 153			
	ALAT			↑ 138			
	カルシウム	↓ 95					
	塩素					↑ 102	
	A/G比				↓ 82		
	α-2-グロブリン比			↑ 121		↑ 147	↑ 146
	α-2-グロブリン			↑ 117		↑ 142	↑ 142
8週	グルコース					↑ 111	↑ 110
	総コレステロール	↓ 77	↓ 77				
	ASAT				↑ 139		
	ALAT			↑ 187	↑ 140	↑ 132	
	ナトリウム					↑ 101	
	塩素		↑ 102			↑ 102	
	α-2-グロブリン比					↑ 122	
	アルブミン					↓ 91	
13週	総コレステロール	↓ 78	↓ 83				
	ALAT				↑ 123	↑ 196	
	塩素	↑ 102				↑ 102	
	無機リン						↓ 82
	A/G比		↑ 133				
	総蛋白					↓ 95	
	アルブミン比		↑ 110				
	α-1-グロブリン比		↓ 65				
	β-グロブリン比		↓ 87				
	γ-グロブリン比		↓ 65				
	α-1-グロブリン		↓ 67			↓ 76	
	β-グロブリン		↓ 87				
γ-グロブリン		↓ 65					

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

Dunnettの検定又はMann-Whitneyの検定、↓↑ : p<0.05、⇕ : p<0.01

統計学的有意差が散見されたが、いずれも一定の傾向がみられなかったため、検体投与による変化とは考えられなかった。

尿 検 査 ; 投与開始後13週時及び回復試験終了時に、全動物について16時間尿を採取し、尿量、pH、比重、ウロビリノーゲン、蛋白、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩及び沈渣を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

各検査時期とも各投与群で、対照群と比べ統計学的有意差はなく、異常はみられなかった。

臓器重量；投与開始後13週時に各群雌雄各4匹を屠殺し、回復試験終了時(17週)に残りの各群雌雄各4匹を屠殺して、解剖後、脳、副腎、甲状腺(上皮小体を含む)、肝、腎、精巣及び卵巣の重量を測定した。また、対体重比も算出した。

各検査時期の各投与群とも、対照群と比べ統計学的有意差はなく、異常はみられなかった。

肉眼的病理検査；屠殺した全ての動物を対象として肉眼的病理検査を実施した。

投与開始後13週時に屠殺した10mg/kg投与群の雄では、前立腺の発達の遅延がみられた。他の所見は、いずれも自然発生的な変化であり、検体投与によるものではなかった。

病理組織学的検査；上記の肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、副腎、大動脈脳(大脳、小脳、延髄)、盲腸、結腸、十二指腸、回腸、空腸、精巣上体、食道、眼、大腿骨、骨格筋、胆嚢、心、腎、肝、肺(主気管支を含む)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、乳腺、卵巣、膵、咽頭/喉頭、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、脊髄(頸部、胸部、腰部)、脾、骨髓(胸骨)、胃、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、舌、気管、膀胱、子宮(子宮角及び頸管)、膾、皮膚及び肉眼的病変部について、病理標本を作製し、検鏡した。

認められた主要な病変を下表に示す。

検査時期	性別	雄				雌			
		投与量(mg/kg)	0	1	3	10	0	1	3
13週	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	肝 髄外造血	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	3/4
	脾 うっ血	1/4	2/4	0/4	0/4	1/4	0/4	1/4	2/4
	肺 慢性炎症	1/4	1/4	2/4	1/4	1/4	1/4	2/4	0/4
	腎 間質性腎炎	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4
	前立腺発達遅延	1/4	0/4	0/4	4/4	—	—	—	—
	子宮内膜過形成	—	—	—	—	2/4	2/4	1/4	2/4
17週	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	肝 髄外造血	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
	脾 うっ血	2/4	1/4	2/4	0/4	1/4	0/4	0/4	1/4
	肺 慢性炎症	0/4	1/4	0/4	1/4	1/4	0/4	1/4	1/4
	腎 慢性炎症	0/4	1/4	1/4	1/4	2/4	0/4	0/4	0/4
	前立腺発達遅延	0/4	0/4	0/4	1/4	—	—	—	—
	子宮内膜過形成	—	—	—	—	1/4	3/4	2/4	0/4

Fisherの正確確率検定(↑↓ : p<0.05、↑⇓ : p<0.01)

投与開始後13週時に屠殺した10mg/kg投与群の雄で、前立腺の発達遅延が認められたがこの所見は対照群でも1例認められ、検体の直接的な影響ではなく若いイヌ(本試験終了時で10~12ヶ月齢)において予想される成熟の遅れに起因する変化であった。その他検体投与に関連すると思われる病変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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

以上の結果から、アクリナトリンの3ヶ月間強制経口投与による亜急性毒性試験において、いずれの投与群でも全身性の毒性症状は誘発されなかった。最低投与群、1mg/kgを含むすべての投与群で投与に関連した臨床症状として嘔吐及び下痢が認められた。

最低投与群、1mg/kgでも消化器機能に軽度な影響がみられたため、真の無作用量(NOEL)は求められなかった。

しかし他の明らかな臨床症状がみられなかったことから、イヌを用いた1年の毒性試験における投与量は本試験と同じく1、3及び10mg/kg/日とすべきと思われた。

申請者注：下痢や嘔吐がみられたが、体重が抑制されなかった用量3mg/kg/日がNOAELと考える。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(9)反復経口投与神経毒性

ラットを用いた混餌投与による 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 No.60)

検体純度：

供試動物：HsdBrl Han:Wist ラット、1 群雌雄各 12 匹、

開始時 42～44 日齢、体重 雄 143～173g、雌 109g～136g

投与期間：90 日間(2002 年 5 月 24 日～2002 年 8 月 23 日)

投与方法：検体を 0、30、150 および 750ppm 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。飼料はペレット状に混合し室温で保存した場合 15 週間まで安定していることが明らかになったため、投与期間中の飼料調製は 1 回のみ行われ、投与 1、4、13 週目に各飼料のサンプルにおいて被験物質の達成濃度を分析したところ、許容範囲内であった。

用量設定根拠；同一試験機関で先立って行われた「ラットを用いた急性経口神経毒性試験(資料 No.57)」に基づいて投与量を設定した。この試験では Wistar 系のラット一群雌雄各 10 匹を用いて、1、3、10 および 37.5mg/kg の用量で経口投与し、14 日間観察した。10mg/kg 以上の用量で神経に関連する症状が認められたが、神経組織において病理組織学的変化は認められず、無作用量は 3mg/kg と考えられた。これらの結果をもとに、本試験では、最高用量を 750ppm とし、以下 150、30ppm と設定した。

観察・検査項目および結果：

死亡率；生死を毎日観察した。

死亡例は認められなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。

750 および 150ppm 群雌雄の頭部周辺に痂皮形成ないし擦過傷が認められ、雄ではそれと関連して脱毛が認められた。750ppm 群雄 1 匹雌 2 匹に削瘦が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

体重変化；投与開始5日前、投与開始日、その後毎週1回および剖検前に全動物の体重を測定した。

体重増加量を下表に示す。

性別	雄			雌		
	30	150	750	30	150	750
投与群(ppm)						
体重増加量(g) 0-1 週	112	65↓	*↓	91	73↓	*↓
1-13 週	99	103	109	97	97	102
0-13 週	101	97	↓87	94	91	↓80

Behrens-Fischer 検定もしくは Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、↓↑ : p<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

* : 体重減のため計算不可

750ppm 群および 150ppm 群雌雄で第1週目に体重増加量の有意な減少が認められたが、その後投与期間を通じて対照群とほぼ同等であった。しかし、750ppm 群では全期間の体重増は抑制された。30ppm 群では投与の影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を週1回測定した。

下表に有意差のあった摂餌量を示す。

週 / 投与群(ppm)	雄			雌		
	30	150	750	30	150	750
1		↓89	↓50		(92)	↓52
2			↓79		(93)	↓86
3			(97)		(97)	↓82
4					(99)	↓87
5				↓91	(93)	↓87
6					(92)	↓87
7					↓87	↓83
8					(92)	↓88
9					↓89	↓78
10					↓89	↓85
11					(90)	↓82
12					(100)	↓84
13		↑111			(105)	(91)

Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、↓↑ : p<0.01

750 および 150ppm 群雌に試験期間を通じて減少が認められた。750ppm 群雄で投与開始から3週間、150ppm 群雄では1週間減少が認められたが、その後対照群と同等であった。30ppm 群では投与の影響は認められなかった。

食餌効率；試験期間を通じて対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

検体摂取量；平均検体摂取量を下表に示す。

投与群(ppm)		30	150	750
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.4	12.6	62.6
	雌	2.9	14.4	67.6

詳細な状態の観察および機能検査；投与開始前、投与後 2、4、8 および 13 週時に各群全動物を対象として機能観察総合検査を実施した。自動赤外線装置により赤外線の高位置（高ビーム）および低位置（低ビーム）により 1 時間個々の動物の自発運動量を記録した。

機能観察総合検査では以下 4 項目について実施した。

ケージサイド観察	ハンドリング観察	アリーナでの観察	取扱時の観察
1.姿勢 2.振せんの有無 3.筋攣縮の有無 4.痙攣の有無 5.眼瞼閉鎖の有無 6.異常発声の有無	1.ケージから取り出す時の反応 2.流涎の有無 3.流涙の有無 4.眼瞼突出の有無 5.立毛の有無 6.被毛の状態 7.ハンドリング時の異常発声の有無 8.ハンドリングに対する反応	1.覚醒の程度 2.歩行状態 3.身づくろいの有無 4.眼瞼閉鎖の有無 5.姿勢 6.呼吸 7.活動回数 8.立ち上がり回数 9.振戦の有無 10.筋攣縮の有無 11.痙攣の有無 12.排便の有無 13.排尿の有無	1.接近反応 2.接触反応 3.聴覚反応 4.尾をはさんだ時の反応 5.立ち直り反射 6.体温 7.着地開脚幅 8.体重 9.握力 10.瞳孔閉鎖反射

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

検査結果を下表に示す。

性別	雄															
	0				30				150				750			
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(週)	2	4	8	13	2	4	8	13	2	4	8	13	2	4	8	13
活動回数	29.2	33.3	30.9	24.3	24.3	32.8	29.8	25.5	25.7	26.3	23.6	23.8	29.6	31.6	35.3	25.6
立ち上がり回数	20.8	23.6	15.3	11.9	14.6	20.3	16.8	13.7	20.2	18.3	12.4	11.6	22.5	27.2	↑ 22.8	16.1
体重(g)	210	252	320	373	212	254	323	376	↓ 197	246	315	366	↓ 166	↓ 219	↓ 290	↓ 340
体温(°C)	37.7	37.9	37.9	38.0	↓ 37.3	37.9	37.8	37.9	37.6	37.9	37.9	37.9	37.7	38.0	38.1	38.3
握力(前肢)(g)	577	571	627	594	551	549	578	539	596	561	↓ 541	530	543	↓ 499	↓ 524	↓ 510
握力(後肢)(g)	281	283	331	319	247	262	↓ 272	282	252	268	↓ 264	↓ 271	256	260	↓ 263	↓ 241
^a 自発運動量(低レベル)(評点)	41.2	28.4	20.8	13.0	31.6	24.1	35.9	22.5	49.3	30.3	27.0	14.5	31.8	35.9	↑ 75.4	21.8

性別	雌															
	0				30				150				750			
検査動物数	12				12				12				12			
検査時期(週)	2	4	8	13	2	4	8	13	2	4	8	13	2	4	8	13
活動回数	31.1	42.3	38.9	37.5	36.1	40.5	38.7	39.8	33.7	42.0	41.5	42.5	36.1	38.7	↑ 49.2	44.1
立ち上がり回数	28.2	33.5	26.4	26.9	34.9	25.5	27.8	24.8	30.6	33.8	30.5	31.3	29.0	33.4	34.9	31.4
体重(g)	159	180	214	235	155	181	211	232	↓ 149	173	203	221	↓ 134	↓ 158	↓ 187	↓ 207
体温(°C)	37.8	38.3	38.3	38.7	38.1	38.2	38.4	38.5	38.0	38.3	38.4	38.8	38.0	38.3	38.4	38.8
握力(前肢)(g)	535	491	485	490	557	509	495	475	520	498	512	491	560	487	535	481
握力(後肢)(g)	253	254	253	255	248	242	250	230	263	248	263	257	250	↓ 223	232	220
^a 自発運動量(低レベル)(評点)	60.3	74.0	75.2	60.9	49.2	69.9	56.1	70.7	59.3	41.4	70.3	62.8	73.8	57.5	85.3	64.8

↑ ↓ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 pairwise t 検定

^a : 55分~60分の1時点

750ppm 群雌雄に体重増加量の減少が認められた。

750ppm 群雄、8週目に立ち上がり回数の有意な増加、雌に活動回数の有意な増加が認められたが、他の全ての観察時点で有意差が認められなかったことから、毒性学的重要性はないと考えられた。雄の8週目の1時点で自発運動量の低ピーム評点に有意差が認められたが、投与に関連する一貫した変化は認められなかったことから投与の影響とは考えられなかった。雌に4週目のみ後肢握力の低下が認められたが、他の時点で同様の変化が認められなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

750ppm 群雄、4、8および13週に前肢握力の低下、8および13週に後肢握力の低下が認められた。

また、150ppm 群雄、8週に前肢握力の低下、8および13週に後肢握力の低下が認められた。

これら握力低下の変化は、握力の低下に関連する他の所見が認められなかったことから、投与により生じたピレスロイド系殺虫剤の既知の所見である感覚異常と関連していると考えられた。

その他の項目では、投与に関連する影響は認められなかった。

脳重量・脳の測定；試験終了時に全生存動物を屠殺し、脳重量および脳長(大脳半球の吻部から小脳の最後部)と脳幅(大脳半球の最も広い部分)を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査項目を下表に示す

性 別	雄			雌		
	30	150	750	30	150	750
投与群 (ppm)	30	150	750	30	150	750
脳 絶対重量						↓92
脳 対体重比			↑110			

Dunnett の t 検定 ↓↑ : $p < 0.05$ 、↓↑ : $p < 0.01$
数値は、対照群の値を 100 とした場合の値を示す。

750ppm 群雌に絶対重量の有意な減少が認められたが、対体重比に変化は認められなかったことから、最終体重の減少によるものと考えられた。雄には同様の変化は認められなかった。

申請者注：750ppm 群雌において、対照群より脳重量が低かった 2 個体(個体番号 69 および 71)の機能観察総合検査結果および自発運動量は対照群とほぼ同等であった。また、病理組織学的検査では脳に病変は認められず、毒性学的に意義のある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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行った。

750ppm 群雄 1 匹に皮膚擦過傷および痂皮形成が認められ、この変化と関連して腋窩リンパ節の肥大が認められた。

その他投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に全動物を対象に、バルビツレートを腹腔内投与により麻酔し、グルタルアルデヒド：パラホルムアルデヒド溶液を用いて灌流固定した後、以下の組織について病理組織標本を作製した。

前脳、中脳、小脳および脳橋、延髄、眼(網膜)、視神経、骨格筋(腓腹筋)、脊髄(頸膨大および腰膨大)、後根神経節、後根線維、前根線維、坐骨神経、脛骨神経(膝部および腓腹筋分岐部)

坐骨神経および脛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、H.E.染色した。神経病理組織学的検査は、対照群と高用量群(750ppm)の雌雄各 5 匹について行った。病変は軽微、軽度、中等度、重度および激度の 5 段階にグレード付けした。

投与に関連すると考えられる神経病変は認められなかった。

750ppm 群雄 1 匹に皮膚病変として、中等度の表皮潰瘍形成および中等度の皮膚炎症を伴う軽度の過形成が認められた。この変化は投与によって皮膚の感覚異常が引き起こされ、動物がその部位を掻いたために生じたと考えられた。

以上の結果、750ppm および 150ppm 群の雌雄に体重増加量の減少および皮膚の変化、750ppm 群雌雄および 150ppm 群雌における摂餌量の減少、ならびに同群雄に握力の低下が認められたことから、無毒性量は雌雄で 30ppm(雄 2.4mg/kg/日、雌 2.9mg/kg/日)と判断された。

本剤の神経毒性に関しては、最高用量の 750ppm でも雌雄とも神経行動学的変化および病理組織学的変化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エフエムシー・ケミカルズ株式会社にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

28日間反復経口投与遅発性神経毒性試験

提出除外

急性遅発性神経毒性試験の結果、明らかに遅発性神経毒性が認められないので試験を省略する。