

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(5) 90日間反復経口投与毒性

1) ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. 10)

検体の純度: アシュラム-Na

供試動物: Wistar (AF)系ラット (RJ:WI(IOPS AF))、投与開始時 6~7週齢、投与開始時の体重範囲 雄; 207~226 g、雌; 148~182 g、1群雌雄各 10匹

投与期間: 90日間 (1999年8月~同年11月)

投与方法: アシュラムナトリウム塩を 0(対照群)、2000、6000及び20000 ppm となるように有効成分換算し、飼料に混入して、所定の投与期間を通して自由に摂取させた。なお、飼料調製を概ね3週間に1回行った。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 供試動物の生死及び瀕死状態について1日2回(週末及び祝日にあつては1日1回)観察した。中毒症状等については1日1回以上、また、詳細な一般状態については毎週1回以上観察した。

6000 ppm 投与群の雌1例が採血時(第87日)の麻酔中に死亡した以外、死亡例は認められなかった。

いずれの投与群にも検体投与に関連した臨床症状は認められなかった。

神経毒性; 全生存動物を対象として、投与開始前及び第12週に次の項目について反射機能を調べた。

- 握り反射 (布張り台の上で動物を引きずったときの反射)
- 立ち直り反射 (動物を仰臥させたときの反射)
- 角膜反射 (細いナイロン糸で角膜に触れたときの反射)
- 瞳孔反射 (暗条件下で光を眼に当てたときの瞳孔の反射)
- 聴覚性驚愕反射 (拍手音に対する動物の反応)
- 頭部反転反射 (耳に息を吹きかけたときの頭部反転運動)

上記のいずれの神経毒性検査項目にも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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

体 重；全生存動物を対象として、順化期間及び投与開始時にそれぞれ1回、並びに投与期間においては1週間に1回、更に、剖検前に1回測定した。また、第0～2週、第2～4週、第4～8週、第8～13週、及び第0～13週における体重増加量を算出した。

投与期間における体重の推移を次図に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

20000 ppm 投与群の雄で第 5～13 週に統計学的に有意に低い体重 (Dunnet 対比較検定; $p < 0.01$) が認められ、更に、これらの動物では全投与期間における体重増加量も統計学的に有意 (Dunnet 対比較検定; $p < 0.01$) に低く、検体投与による影響と考えられた。これ以外には検体投与によると考えられる変動は認められなかった。

摂餌量; 全生存動物を対象として、投与期間を通して毎週、1 週間の摂餌量を測定し、1 日 1 匹当たりの摂取量 (g/rat/day) を算出した。

20000 ppm 投与群の雄で第 1 週に統計学的に有意 (Dunnet 対比較検定; $p < 0.05$) に低い摂餌量が認められたことを除けば、検体投与によると考えられる変動は認められなかった。

検体摂取量 (mg/kg/day); 各週における摂餌量、体重、及び飼料中の検体濃度 (設定濃度) から検体摂取量を算出した。

投与期間における平均検体摂取量は次表のとおりである。

投与用量 (ppm)		2000	6000	20000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	129	387	1327
	雌	158	479	1651

眼科学的検査; 投与開始前に全供試動物を対象として、また、第 12 週に対照群及び 20000 ppm 投与群の全生存動物を対象として間接検眼鏡を用いた眼科学的検査を行った。なお、検査の前にアトロピン製剤を点眼して散瞳させた。

検体投与に関連した変動は認められなかった。

血液学的検査; 全生存動物を投与群毎に同数の雌雄動物となるように無作為に 2 群に分け、第 86 日あるいは 87 日の採血動物群とした。一晚絶食させた動物をインフルランで吸入麻酔し、眼窩静脈叢より採血を行った。抗凝固剤として EDTA を用いたが、プロトロンビン時間の測定用血液試料の場合にはクエン酸ナトリウムを用いた。血液学的検査項目は次のとおりである。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (HGB)、ヘマトクリット (HCT)、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)、白血球数 (WBC)、白血球分画、血小板数 (PLT) 及びプロトロンビン時間 (PT)

赤血球数に著しい変動が認められた場合には網赤血球数を測定することとしたが、必要な事態は生じなかった。

統計学的有意差が認められた血液学的検査結果の概要を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

子宮（頸管部を含む）、膺及び肉眼的病変部位

上記の組織の固定液として10%中性ホルマリン液を用いたが、眼球、視神経、
 ハーダー腺、精巢上体、及び精巢については Davidson の固定液を用いた。常
 法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色を施した組織標本を作製した。な
 お、病理組織学的標本の作製を Propath UK LTD. (英国) に委託した。

対照群及び20000 ppm 投与群の全動物、並びに2000 ppm 及び6000 ppm 投与
 群の全死亡動物を対象として上記の臓器・組織について検査した。また、肝
 臓、肺、甲状腺及び腎臓については、2000 ppm 及び6000 ppm 投与群の全動
 物も対象として検査した。なお、無作用量の設定に必要な場合には、標的臓
 器について2000 ppm 及び6000 ppm 投与群の全動物を検査することとした。

検体投与と関連する病変；計画屠殺動物においては、20000 ppm 投与群の雌
 雄の甲状腺及び脾臓に 病理組織学的変化が認められ
 た（次表参照）。

検体投与と関連する病理組織学的変化（発生頻度）

性	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000
甲 状 腺									
検査動物数	10	10	10	10	10	10	9	10	
脾 臓									
検査動物数	10	10	10	10	10	10	9	10	

[申請者注]統計検定実施せず

ヘモジリデン沈着：クレシルブルーにて染色

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

その他の注目すべき病変；

次表に示すように腎臓に

病変が認められた。

腎臓における病理組織学的変化（発生頻度）

性		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	2000	6000	20000	0	2000	6000	20000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	9	10
	±								
	+								
	++								
	±								
	+								
	++								
	±								
	+								
	++								
	±								
	+								
	++								

±：軽微

＋：軽度

++：中程度

+++：重度

P：重症度なし

[申請者注]統計検定実施せず

腎臓における病変の軽

度の変動に毒性学的な意義はないと考えられた。

なお、採血時の麻酔中に死亡した 6000 ppm 投与群の雌 1 例に病理組織学的変化は全く認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

以上のように、本検体をラットに90日間にわたって飼料混入投与したときの影響として、20000 ppm 投与群の雌雄で赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度の低下、甲状腺ろ胞上皮細胞肥大の発生頻度及び重症度の上昇、脾臓のヘモジデリン沈着の発生頻度の上昇；雄で体重増加抑制、MCV の増加、MCHC の低下、プロトロンビン時間の延長、
が認められた。
したがって、本試験における無毒性量は雌雄ともに6000 ppm（雄 387 mg/kg/day；雌 479 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

2) ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 11)

検体の純度： アシュラム-Na

供試動物：CD(SD)系ラット、投与開始時 5 週齢、投与開始時の体重範囲 雄；128～158 g、雌；98～128 g、1 群雌雄各 20 匹

投与期間：13 週間（1980 年 10 月～1981 年 1 月）

投与方法：検体を 0(対照群)、500、5000 及び 50000 ppm となるように飼料に混入し、所定の投与期間を通して自由に摂取させた。なお、検体混合飼料の調製を 2 週間に 1 回行った。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；供試動物の中毒症状、行動異常、生死、瀕死状態等について 1 日 2 回観察した。

いずれの群の雌雄にも死亡例又は切迫屠殺例は認められなかった。

50000 ppm 投与群の雄 1 例に肛門周囲の汚れが認められたが、第 2 週のみの一過性の変化であることから、検体投与による影響とは考えられなかった。

その他にも検体投与によると考えられる毒性、薬理作用及び行動異常は認められなかった。

体重；全生存動物を対象として、投与開始時及び投与期間においては 1 週間に 1 回測定した。また、各動物について全投与期間における体重増加量を算出した。

50000 ppm 投与群の雄で第 2 週時から第 13 週時まで低体重が認められ、また、全投与期間における体重増加量に低値が認められ、いずれも統計学的に有意であった。対照群に比し、50000 ppm 投与群の雄の第 13 週における体重は約 11% 低く (Student t-検定: $p \leq 0.01$)、全投与期間における体重増加量は約 16% 低かった (Student t-検定: $p \leq 0.001$)。その他の投与群の雄にも、また、いずれの投与群の雌にも統計学的に有意な体重の変動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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

摂餌量;全生存動物を対象として、投与期間を通して毎週、1週間の摂餌量(g/rat/week)を測定し、投与期間における総摂餌量を算出した。また、飼料効率(%)及び検体摂取量(mg/kg/day)を算出した。

毎週測定した摂餌量に統計学的に有意な値(Student t-検定; $p \leq 0.05$ 又は 0.01)が散見されたが、用量相関性が認められないことから、検体投与による影響ではないと判断された。全投与期間における総摂餌量には雌雄ともに統計学的有意差は認められなかった。

食餌効率;全生存動物を対象として、各週における摂餌量と体重増加量から食餌効率(%)を算出した。

50000 ppm 投与群の雄で食餌効率が第1($p \leq 0.05$)、2($p \leq 0.01$)、6($p \leq 0.001$)、及び7週($p \leq 0.05$)で対照群に比し5~25%、また、全投与期間で11%低下($p \leq 0.001$)し、統計学的(Student t-検定)に有意であり、検体投与による影響と考えられた。同投与群の雌では第6週にのみ低下($p \leq 0.05$)が認められたが、一過性であるため検体投与による影響とは考えられなかった。その他の投与群の雌雄の食餌効率は対照群と同等であった。

検体摂取量;各週における摂餌量、体重及び飼料中の検体濃度(設定濃度)から検体摂取量(mg/kg/day)を算出した。

投与期間における平均検体摂取量は次表のとおりである。

投与用量 (ppm)		500	5000	50000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	34	345	3631
	雌	39	374	3951

飲水量;各群の雌雄各10匹を対象として、投与期間の第1週及びその後の期間においては隔週に、1週間の飲水量(mL/rat/week)を測定した。

50000 ppm 投与群の雌雄で概ね全測定時期に統計学的に有意(Student t-検定; $p \leq 0.05 \sim 0.001$)な増加(対照群より雄で19~40%、また、雌で28~44%増加)が認められた。その他の投与群では雌雄ともに対照群と同等であった。

血液学的検査;投与期間の終了時に、全ての生存動物を対象として約24時間絶食させ、エーテル麻酔下で腹部大動脈より採血した。血液学的検査項目は次のとおりである。

白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン(HGB)、ヘマトクリット(HCT)、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)、血小板数(PLT)及び白血球百分率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

統計学的有意差が認められた検査項目の概要を次表に示す。

血液学的検査結果 (対照群を100とした場合の値)

性	雄			雌			
	投与量 (ppm)	500	5000	50000	500	5000	50000
HCT							
MCHC							
HGB							
RBC							

註) * : $p \leq 0.05$ (Student t-検定法) ** : $p \leq 0.01$ (Student t-検定法)
 *** : $p \leq 0.001$ (Student t-検定法) 空欄 : 統計学的有意差なし。
 () : 参考データ

[申請者注]

報告書では、「雌雄とも異常は認められなかった」と記載しているだけで、認められた統計学的に有意な値についての記載がない。以下は申請者の考察である。

5000 ppm 投与群の雄で認められたヘマトクリット (HCT) の高値は用量相関性のない変化であることから、検体投与とは関連しないと考えられた。同投与群の雄で認められた平均赤血球血色素濃度(MCHC)の低値は前述したヘマトクリット (HCT) の高値によるもので、検体投与とは関連しないと考えられた。50000 ppm 投与群の雄で認められた平均赤血球血色素濃度(MCHC)の低値は、低下の程度が僅かであること、並びにヘマトクリット (HCT) 及びヘモグロビン(HGB)には明らかな変動が認められないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

血液生化学的検査；血液学的検査用に採取した血液の一部を用いて血清を分離し、次の項目について検査した。

カルシウム (CA)、無機リン (IP)、血糖 (GLU)、尿素窒素 (BUN)、尿酸 (UA)、総コレステロール (T-CHOL)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、A/G 比 (A/G)、総ビリルビン (T-BILI)、クレアチニン (CREA)、アルカリホスファターゼ (ALP)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (SGPT)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (SGOT)、乳酸脱水素酵素* (P-LDH)、ナトリウム (NA)、カリウム (K) 及び塩素 (CL)

[注：*) 血漿を使用]

統計学的有意差が認められた検査項目の概要を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

尿検査結果（発生頻度）

性		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	500	5000	50000	0	500	5000	50000
検査動物数		20	20	20	20	20	20	20	20
蛋白 (mg/dL)	—								
	30								
	100								
	≥300								
ウロビ リノー ゲン	—								
	+								
	++								
	+++								

5000 ppm 及び 50000 ppm 投与群の雌雄でウロビリノーゲンが明らかに上昇した。そのほかには検体投与と関連する結果は認められなかった。

[申請者注]

尿中ウロビリノーゲンの上昇については、他の臨床検査項目に関連する変動が認められないこと、またラット慢性毒性試験（資料 14）において、25000ppm 投与群の尿は Multistix テストではウロビリノーゲン陽性を示したが、Bogomolow テストでは陰性であり、さらに対照群の尿に検体を添加した時、25000ppm 投与群の尿と同様の結果を示したことから、尿中に排泄された検体によりウロビリノーゲンの検査が妨害されることが確認されている。この所見の毒性学的意義はないと考えた。また、50000 ppm 投与群の雄で蛋白が上昇したが、尿比重への影響もなく、腎障害も認められないことから投与の影響とは考えられない。

肉眼的病理検査；投与期間の終了時に計画屠殺した全ての動物を対象として剖検を行い、肉眼的な所見を記録した。なお、途中死亡あるいは切迫屠殺動物についても肉眼的病理検査の対象動物としたが、このような動物は認められなかった。

肉眼的病変の概要を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

肉眼的病理検査結果（発生頻度）

性	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	500	5000	50000	0	500	5000	50000
検査動物数	20	20	20	20	20	20	20	20
肝臓								
腎臓								
精巣								
卵巣								
腹腔								
小腸								

5000 ppm 投与群の雄及び 50000 ppm 投与群の雌雄における肝臓の観察されたが、関連する病理組織学的所見が明らかでないことから、検体投与の影響ではないと考えられた。50000 ppm 投与群の雌の腎臓における認められ、検体投与の影響と考えられた。

臓器重量；投与期間の終了時に計画屠殺した全ての動物を対象として、剖検時に次の臓器を摘出して重量を測定した。また、第 13 週時の体重を用いて臓器重量対体重比を算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣／卵巣及び甲状腺
統計学的有意差が認められた臓器重量検査項目の概要を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

病理組織学的検査結果（発生頻度）

性		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	500	5000	50000	0	500	5000	50000
検査動物数		20	20	20	20	20	20	20	20
肺									
肝臓									
心臓									
胃									
膵臓									
脾臓									
腎臓									
副腎									
卵巣									
子宮									

※統計学的検定の実施は不明

50000 ppm 投与群の雌の少数例における は、 に起因した変化と考えられた。また、 がわずかに増加した。これらの変化は検体投与による直接的あるいは特異的变化ではなく、高濃度検体を投与したことによる に関連した変化と考えられる。また、50000 ppm 投与群の雌で軽微な が増加した。5000 ppm 及び 50000 ppm 投与群の雌雄で が認められたが、検体投与による直接的な影響とは考えられなかった。雌における肺の は局所的発生のみであり検体投与の影響とは考えられなかった。その他の所見は検体投与に関連がないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

[申請者注]

肺胞マクロファージが認められたが、局所的に出現した所見であり、雌では対照群にも認められたこと及び関連する炎症反応に付随する白血球数の増加を伴っていないことから検体投与に関する影響とは考えられない。

報告書には検体投与による直接的な影響であるとは考えられないと記載されており、統計検定が実施されたかどうかは不明である。

以上のように、本検体をラットに13週間飼料混入投与したときの影響として、50000 ppm 投与群において、雌雄で飲水量の増加、無機リンおよびグルコースの増加、尿ウロビリノーゲンの増加、総コレステロールの低下、さらに、雄では体重の抑制、食餌効率の低下、肝臓重量および対体重比の減少、雌では尿酸および総ビリルビンの減少、乳酸脱水素酵素の増加、腎臓の水腎症および腎盂炎の増加、肝臓の小葉周辺性脂肪変性および軽微な胆管増生が認められた。5000ppm において雌雄で尿ウロビリノーゲンの増加、雌で総ビリルビンの減少が認められた。したがって、本試験における無毒性量は雌雄ともに500 ppm (雄 34 mg/kg/day ; 雌 39 mg/kg/day) であると判断した。

しかし、申請者は雌雄における尿ウロビリノーゲンの増加は投与の影響ではないと判断するので、雄の無毒性量は5000 ppm (345 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

3) ビーグル犬を用いた強制経口投与による6カ月間反復経口投与毒性試験

(資料 No. 12)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物：純系ビーグル犬、投与開始時 約5カ月齢、投与開始時の体重範囲 雄 8.7～9.0 kg 雌 7.4～7.7 kg、1群雌雄各6匹

投与期間：6カ月間（1978年8月～1979年1月）

投与方法：検体の投与量を0、60、300及び1500 mg/kg/dayとし、また、投与容量が7.5 mL/kgとなるように検体を0.2%トラガカント粘稠液に懸濁し、胃カテーテルを用いて1日1回、7日/週で6カ月間にわたり供試動物に強制経口投与した。各動物への投与量を毎週2回測定した直近の体重を用いて計算した。

観察・検査項目及び結果：

死亡；供試動物の生死、一般状態等について毎日観察し、平日にあっては詳細な記録を、また、週末及び祝日にあっては便の状態及び嘔吐についてのみ記録した。

60 mg/kg/day 投与群の雄1例、1500 mg/kg/day 投与群の雌雄各1例の死亡が認められた。60 mg/kg/day 投与群の雄1例の死亡は2頭単位で飼育したため、一緒に飼育した同居動物との闘争によるものであった。1500 mg/kg/day 投与群の雄1例の死亡は、病理組織学的検査で肺のうっ血及び浮腫が認められ、呼吸器疾患によるものと、また、同群の雌1例の死亡は貧血によるものと考えられた。1500 mg/kg/day 投与群におけるこれら2例の死亡と検体投与との関連性は明らかではなかった。

一般状態；軟便/水様便が最初の1カ月間においては全投与群の雌雄で、その後の投与期間においては概ね1500 mg/kg/day 投与群の雌雄のみに認められた。最初

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

の1カ月間における軟便/水様便は、同一飼料を用いた他の試験機関で同時期に実施した試験においても認められていることから、投与した飼料に起因すると考えられた。

嘔吐の発生率が1500 mg/kg/day 投与群の雌雄でそれぞれの対照群より軽度が高かった。

体 重；全生存動物を対象として、順化期間中に3回、投与開始時に1回、投与期間にあつては1週間に2回測定した。また、投与期間における体重増加量を算出した。

投与期間を通した体重増加量および最終体重に統計学的有意差は認められなかった (t 検定法 $p>0.05$)。

[申請者注]1500 mg/kg/day 投与群の雄においては、第17週頃より体重が低い傾向が認められ、さらに統計学的には有意ではなかったが、体重増加量が対照群より低く (対照群に対し78%)、検体投与の影響によるものと考えられた。1500 mg/kg/day 投与群の雌における体重増加量は対照群と大差はなかった (対照群に対し89%)。

摂 餌 量；全生存動物を対象として、順化期間中に1週間、また、投与期間を通して、週末及び祝日を除き毎日測定した。1週間毎に1日1頭当たりの平均摂餌量 (g/dog/day) を算出した。なお、サンプル数が少ない (2頭単位での飼育のため、3サンプル/群) ため統計学的に検定しなかった。

1500 mg/kg/day 投与群の雌雄で第6週以降に明らかな摂餌量の低下が、また、300 mg/kg/day 投与群の雌で第20週以降に摂餌量の低下傾向が認められた。

[申請者注] 嘔吐など一般状態の変化が観察されており、1500 mg/kg/day 投与群の雌雄および300 mg/kg/day 投与群の雌における摂餌量の低下は、検体投与の影響と考えられた。

飲 水 量；全生存動物を対象として、順化期間中に1回、また、投与期間の1、3、及び6カ月時にそれぞれ1回、2日間の飲水量を測定し、1日1頭当たりの飲水量 (mL/dog/day) を算出した。なお、サンプル数が少ない (2頭単位での飼育のため、3サンプル/群) ため統計学的に検定しなかった。

1500 mg/kg/day 投与群の雌においてのみ第3カ月時および第6カ月時の飲水

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

量に増加が認められた（次表参照）。

飲水量の概要

性	投与量 (mg/kg/day)	投与 開始前	第1カ月	第3カ月	第6カ月
雄	60	118	103	112	136
	300	109	99	—	111
	1500	61	97	102	132
雌	60	129	120	111	85
	300	117	88	74	92
	1500	118	131	142	211

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

—はデータ得られず

[申請者注] 1500 mg/kg/day 投与群雌の飲水量の増加は、同群で嘔吐など一般状態の変化が観察されたことから、検体投与の影響と考えられた。

眼科学的検査；投与開始前及び投与期間の終了時に全生存動物を対象として Keeler の直接検眼鏡を用いて眼科学的検査を行った。なお、散瞳剤としてトロピカミドを使用した。

いずれの検査時期においても、すべての供試動物に異常は認められなかった。

血液学的検査；全生存動物を対象として、投与開始前（第-3週、但し、血液凝固時間の初回の測定の場合は第-2週）、第4週、第8週、第12週、第17週、第21週及び第26週に外頸静脈より採血して血液学的検査を行った。採血前に検査対象動物を一晩絶食させたが、飲料水は与えた。なお、1500 ppm 投与群の雌1例については第18週にも血液学的検査を行った。血液学的検査項目は次のとおりである。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン(HGB)、ヘマトクリット(HCT)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積(MCV)、赤血球沈降速度 (ESR)、網赤血球数 (RET)、白血球数 (WBC)、白血球分画、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)、プロトロンビン時間 (PT) 及び血小板数(PLT)

統計学的有意差が認められた血液学的検査項目の概要を次表に示す。

1500 mg/kg/day 投与群において、第8週以降に赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少傾向が認められ、雄では第26週の各値、雌では第17週の赤血球数が統計学的に有意な減少を示した。第8週以降には、1500 mg/kg/day 投与群の雌で MCV の有意な増加が認められた。また、白血球数の減少が雌雄ともにみられたが、投与期間終了時には対照群との有意差は認められなかった。そのほかにも統計学的に有意な値が認められたが、毒性学的意義はない変化であるか、検体投与とは関連しない変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

[申請者注] 1500 mg/kg/day 投与群雌雄における赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少、同群雌における MCV の増加は検体投与による影響と考えられた。

また、白血球数については各群の WBC 値の範囲について整理したが（次表参照）、わずかな例外を除き（全体で 4 例）実施試験機関の背景データの範囲内であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

血液学的検査結果の概要

検査項目	性	投与量 (mg/kg/day)	週						
			-2/-3	4	8	12	17	21	26
RBC	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
HGB	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
HCT	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
MCHC	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
MCV	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
RET	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							

△▽ : p ≤ 0.05 (t 検定法)

▲▼ : p ≤ 0.01 (t 検定法)

註) 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

空欄 : 統計学的有意差なし。

() : 参考データ

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

骨髄塗抹標本検査；全生存動物を対象として、投与開始前（第 -3 週）にチオペンタールナトリウムによる全身麻酔下で、また、投与期間終了時の剖検時には屠殺直後に大腿骨から骨髄液を採取し、May-Grünwald-Giemsa 染色塗抹標本作製した。この標本について定性的に検査することとし、
に検査を委託した。

1500 mg/kg/day 投与群の雌の貧血死亡動物 1 例を除き、骨髄塗抹標本の検査結果に異常は認められなかった。

血液生化学的検査；血液学的検査の項に記載した採血時の血液試料から血漿（申請者註：コリンエステラーゼ及び乳酸脱水素酵素を除けば血漿を使用したとの記載はない）を分離して検査に用いた。但し、コリンエステラーゼに関しては全血及び脳についても測定した。また、全血及び血漿コリンエステラーゼの測定時期を投与開始前（第 -1 週）、第 9 週、第 17～18 週及び第 25～26 週とし、脳コリンエステラーゼの測定時期を投与期間の終了時の計画屠殺時とした。また、乳酸脱水素酵素に関しては、投与開始前の測定時期を第 -2 週とし、いずれの測定時期の場合も
に委託した。検査項目は次のとおりであった。

- ・血漿：血糖 (GLU)、尿素 (URE)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩素 (Cl)、カルシウム (Ca)、鉄 (Fe)、直接ビリルビン (D-BILI)、総ビリルビン (T-BILI)、コレステロール (CHOL)、アルカリホスファターゼ (ALP)、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)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、プロムサルファレイン停滞率 (BSP)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、グロブリン分画、A/G 比 (A/G) 及び血漿コリンエステラーゼ (P-CHE)
- ・全血：全血コリンエステラーゼ (T-CHE)
- ・脳：脳コリンエステラーゼ (B-CHE)

統計学的有意差が認められた血液生化学的検査項目の概要を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

血液生化学的検査結果の概要

検査項目	性	投与量 (mg/kg/day)	週						
			-2/-3	4	8	12	17	21	26
GLU	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
URE	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
Na	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
K	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
Cl	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
Ca	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
Fe	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

註)

△▽ : $p \leq 0.05$ (t 検定法)

▲▼ : $p \leq 0.01$ (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

血液生化学的検査結果の概要（続き）

検査項目	性	投与量 (mg/kg/day)	週						
			-2/-3	4	8	12	17	21	26
D-BILI	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
T-BILI	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
CHOL	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
ALP	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
ALT	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
AST	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
LDH	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

註) ▲ : $p \leq 0.05$ (t 検定法)

▲▲ : $p \leq 0.01$ (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

血液生化学的検査結果の概要（続き）

検査項目	性	投与量 (mg/kg/day)	週						
			-2/-3	4	8	12	17	21	26
BSP	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
TP	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							
ALB	雄	60							
		300							
		1500							
	雌	60							
		300							
		1500							

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

註) ▲▲ : $p \leq 0.05$ (t 検定法)

▲▲ : $p \leq 0.01$ (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

種々の検査項目に、また、種々の検査時期に統計学的に有意な値が認められたが、一貫性のある変化は血糖の上昇のみで、雄においては 300 及び 1500 mg/kg/day 投与群で、また、雌においては 1500 mg/kg/day 投与群で認められた。その他の変化はいずれも一貫性のない変化で、検体投与による影響とは考えられなかった。(申請者追記) 雄のカルシウムに一貫した上昇がみられたが全て 10%以内の軽微な変化で毒性学的な意義はないものと判断した。なお、血漿、全血及び脳コリンエステラーゼに検体投与による影響は全く認められなかった。

尿検査 ; 全生存動物を対象として、投与開始前 (第 -2 週)、第 7 週、第 16 週及び第 25 週に尿検査を行った。各動物を一晩 (16 時間) 代謝ケージに収容し、得られた一夜蓄尿試料を検査に用いた。なお、代謝ケージに収容する 3 時間前から採尿期間の終了時までの計 19 時間は、飲料水を与えなかった。尿検査項目は次のとおりである。

pH、蛋白、潜血、ビリルビン、ケトン体、糖、還元性物質、ウロビリノーゲン、尿量、比重及び沈渣の鏡検

すべての検査項目において、いずれの投与群の雌雄にも検体投与に関連した変動は認められなかった。

但し、申請者は、1500 mg/kg/day 投与群の雌で飲水量の増加が認められたので、尿量、pH、及び比重について検討した。その結果を次表に示す。1500

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

mg/kg/day 投与群の雌では投与期間を通して、また、雄では第 25 週に尿量の軽度の増加が認められた。比重には検体投与による影響は認められなかった。また、pH に関しては、尿検査に蓄尿試料を使用したことを考慮すると、明らかな影響は認められなかったと考える。

尿検査結果の概要

検査項目	性	投与量 (mg/kg/day)	第 -2 週	第 7 週	第 16 週	第 25 週
尿量	雄					
	雌					
pH	雄					
	雌					
比重	雄					
	雌					

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す。

() : pH の実測値の平均値

註) 統計学的に検定していない。

肉眼的病理検査；投与期間の終了時における全生存動物及び投与期間における瀕死動物をペントバルビタールの過剰投与により屠殺して剖検を行い、肉眼的病理所見を記録した。なお、途中死亡動物についても肉眼的病理検査を行った。検体投与に起因すると考えられる肉眼的病変は認められなかった。

臓器重量；投与期間の終了時に計画屠殺した全ての動物を対象として、剖検時に次の臓器を摘出して重量を測定した。また、剖検時の体重を用いて臓器重量対体重比を算出した。

下垂体、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、甲状腺及び前立腺

統計学的有意差が認められた臓器重量検査項目の概要を次表に示す。

最終体重には統計学的有意差は認められなかった。甲状腺の絶対重量及びその対体重比の増加が雄では 1500 mg/kg/day 投与群で、雌では 300 及び 1500

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

mg/kg/day 投与群で認められた。また、1500 mg/kg/day 投与群の雄で精巣の絶対重量の減少及び腎臓重量対体重比の増加が認められ、検体投与による影響と考えられた。その他に、1500 mg/kg/day 投与群雄で肺の絶対重量の減少、60 mg/kg/day 投与群雄で脳の絶対重量の増加がみられたが、毒性学的意義はないものと考えられた。

臓器重量検査結果

投与量 (mg/kg/day)	絶対臓器重量			臓器重量対体重比		
	60	300	1500	60	300	1500
雄 動 物						
雌 動 物						

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す。

註) Δ▽ : p ≤ 0.05 (t 検定法)

 ▲▼ : p ≤ 0.01 (t 検定法)

 空欄 : 統計学的有意差なし。

 () : 参考データ

病理組織学的検査；全動物を対象として剖検時に次の臓器及び組織を採取した。

下垂体、副腎、精巣、卵巣、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、甲状腺、前立腺、眼球、大動脈、気管、胸腺、リンパ節（頸リンパ節、腸間膜リンパ節）、胆嚢、脾臓、膵臓、皮膚、乳腺、舌、涙腺、骨／骨髄（大腿骨）、膀胱、子宮、唾液腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、坐骨神経及び骨格筋

固定液として 10%緩衝ホルマリン液を用いた。常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色を施した組織標本を作製した。但し、肝臓及び腎臓については脂肪染色（Oil-Red-O 染色）標本も作製した。

なお、病理組織学的検査を
た。

に委託し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主たる病変の発生頻度を次表に示す。

検体投与に起因すると考えられる病変は全く認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主たる病理組織学的病変

臓器	性	雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)	0	60	300	1500	0	60	300	1500
	検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
肺									
腎									
臓									
肝									
臓									

[申請者注]統計検定せず

以上のように、本検体をビーグル犬に6カ月間にわたって強制経口投与したときの影響として、1500 mg/kg/dayでは、嘔吐発生、軟便/水様便、雌雄で摂餌量の低下、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの低下、血糖の上昇、尿量の増加、甲状腺重量の増加、雌で飲水量の増加及びMCVの増加、雄で体重増加抑制、精巣重量の減少及び腎臓重量の増加が認められた。また、300 mg/kg/dayでは、雌で摂餌量の低下傾向及び甲状腺重量の増加、雄で血糖の上昇が認められた。したがって、本試験条件における無毒性量は雌雄ともに60 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

(6) 反復経口投与神経毒性

(資料 No. 13)

90 日間反復経口投与毒性試験で神経毒性に関する観察項目を実施しており、神経毒性を示す所見がなく、また、長期毒性試験においても神経毒性に関する所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないと考えられることから下記のとおり 90 日間反復経口投与神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

1. ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験からの考察

ラットの 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No.10 および資料 No.11) において、以下の通り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ない。

(1) 状態の詳細な観察

①外観、②体位、③姿勢、④自律神経系機能、⑤歩行の異常、⑥動物の取り扱いや環境刺激に対する反応、⑦神経系及び異常行動について、試験実施機関の標準操作手順書 (SOP) で観察を行うことになっているが、報告書への記載がなかった。しかし、資料 No.10 における一般状態および神経毒性検査項目より、いずれも検体投与に関する臨床症状および異常は認められなく、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(2) 機能検査

①刺激に対する感覚運動反応については測定を実施、②握力及び③自発運動量についてはそれ自体の測定は行っておらず、いずれも報告書に何らの記載もないが、一般状態の検査結果から検体投与に関連する特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(3) 病理組織学的検査

①脳、②坐骨神経、③骨格筋、④脊髄、⑤眼球及びその付属器に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

(4) その他の検査項目

①脳重量、②眼科学的検査においても、特異的な神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

2. その他の試験 (90 日間より長期の試験) からの考察

反復経口投与毒性試験等において、以下のとおり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ない。

(1) 2 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(ラット; 1981 年、資料 No. 14)

報告書の要約、結果及び結論の中に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記されていない。

(2) 2 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(マウス; 1992 年、資料 No. 15)

報告書の要約、結果及び結論の中に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記されていない。

(3) 発がん性試験(マウス; 1978 年、資料 No. 16)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

報告書の要約、結果及び結論の中に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記されていない。

(4) 6ヵ月間反復経口投与毒性試験（イヌ；1980年、資料 No. 12）

報告書の要約、結果及び結論の中に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記されていない。

(5) 1年間反復経口投与毒性試験（イヌ；2004年、資料 No.39）

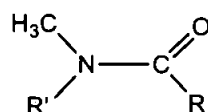
報告書の要約、結果及び結論の中に致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

(6) 繁殖試験(ラット二世世代；1981年、資料 No. 17)

報告書の要約、結果及び結論の中に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記されていない。

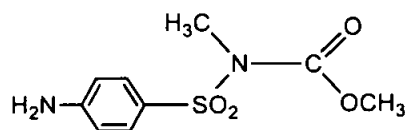
3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

本剤は、スルファニルアミド系かつカーバメート系除草剤であり、カーバメート系という点で神経毒性があるのではないかという懸念がある。一般にカーバメート系農薬はカルバミン酸 (H_2NCOOH) 誘導体²を云うが、構造は様々である。神経毒性（コリンエステラーゼ活性阻害）があると云われているカーバメート系殺虫剤は、次のような基本骨格を持っている。



ここでRはアルコール、オキシム、フェノール等。R'は水素又はメチル基。

一方、アシュラムの構造は、次のようになっている、窒素原子に大きな置換基がついた構造である。



² 農薬用語辞典、(社)日本植物防疫協会(2009)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(7) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

1) ラットを用いた飼料混入投与による2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 No. 14)

検体の純度： アシュラム [申請者注]酸としてのアシュラムを指す

供試動物：Sprague-Dawley系由来のCDラット、投与開始時約6週齢、投与開始時の平均体重 雄；約210g、雌；約129g
群構成の概要を次表に示す。

群 (飼料中の検体濃度)	動物数			
	主群		衛星群 [*]	
	雄	雌	雄	雌
対照群 (0 ppm)	50	50	15	15
1000 ppm 投与群	50	50	15	15
5000 ppm 投与群	50	50	15	15
25000 ppm 投与群	50	50	15	15

^{*}) 78週時に諸検査を行い、全生存動物を屠殺した。

投与期間：2年間 (1978年1月～1980年2月)

但し、雄は108週間、雌は107週間

投与方法：飼料中濃度が0(対照群)、1000、5000及び25000ppmとなるように検体を飼料に混入し、所定の投与期間を通して自由に摂取させた。飼料調製は毎週行った。

観察・検査項目及び結果：

死亡率： 供試動物の生死及び瀕死状態について1日2回観察した。

各群の主群及び衛星群における死亡率を次表に示す。特に主群においては、25000ppm投与群の死亡率は雌雄ともにそれぞれの対照群より幾分低く、検体投与による死亡率の上昇はいずれの投与群においても認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

投与期間における死亡率 (%)

性	雄				雌			
	0	1000	5000	25000	0	1000	5000	25000
主群*								
衛星群*								

*：主群の雄では第1～108週、雌では第1～107週；衛星群では雌雄とも第1～78週の死亡率

一般状態；中毒症状等については、投与開始後の最初の4週間は1日1回、それ以降の期間では毎週1回観察した。また、1週間に1回、全生存動物を対象として触診により腫瘤の有無を確認したが、2週間に1回の記録とした。

通常の試験の場合に比べて、対照群及び投与群でグルーミング行動の低下及び動物の取り扱い担当者に対する抵抗行動の増加が認められたが、これらの変化は本試験においては1ケージ1匹の飼育条件による結果と考えられた。

また、第6週の初めに唾液腺炎（唾液腺及びハーダー腺の腫脹を特徴とするウイルス性疾患）の発生が全群の雌雄で認められ、その発生頻度が25000 ppm投与群の雌雄で高く、雌で統計学的に有意な上昇であった（次表参照）。しかしながら、本疾患は第6週の終わりには大部分の動物で消失した。また、本疾患は第67～69週にも若干例に認められた。本疾患の重症度には用量相関性が認められなかったことから、その発生と検体投与とは関連しないと考えられた。

唾液腺炎の発生頻度

性	雄				雌			
	0	1000	5000	25000	0	1000	5000	25000
頻度								

*：p<0.05 (χ^2 検定)

体重；全生存動物を対象として、投与開始の1週間前から1週間に1回、体重を測定した。また、種々の期間における体重増加量を算出した。

投与期間における体重の推移を次図に、また、体重増加量を次表に示す。投与開始後の最初の1年間における体重増加量が25000 ppm投与群の雌雄で低下し、検体投与による影響と考えられた。また、申請者は5000 ppm投与群の雌においても体重増加量が低下する傾向があると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

体重増加量

性	雄			雌		
	1000	5000	25000	1000	5000	25000
投与量 (ppm)						
第0～6週						
第6～52週						
第52～78週						
第78～107週						
第78～108週						

注) * : p < 0.05 (t 検定法)

** : p < 0.01 (t 検定法)

*** : p < 0.001 (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

() : 参考データ

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

摂餌量 ; 全生存動物を対象として、投与期間を通して毎週、1 週間の摂餌量を測定し、1 日 1 匹当たりの摂取量 (g/rat/day) として表示した。

摂餌量に検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

飼料要求率 ; 全生存動物を対象として、投与期間の最初の 26 週間における各週の飼料要求率を次式に従って算出した。

$$\text{飼料要求率} = \frac{\text{平均摂餌量 (g/rat/week)}}{\text{平均体重増加量 (g/rat/week)}}$$

第 1～6 週及び第 7～26 週における飼料要求率を次表に示す。25000 ppm 投与群の雌雄で第 1～26 週の、また、5000 ppm 投与群の雌で第 7～26 週の飼料要求率に上昇が認められ、検体投与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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

飼料要求率

性	雄			雌		
	1000	5000	25000	1000	5000	25000
投与量 (ppm)	1000	5000	25000	1000	5000	25000
第1~6週	96	96	106	102	102	114
第7~26週	96	99	110	102	111	115

注) 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の数を示す

検体摂取量；各週における摂餌量、体重及び飼料中の検体濃度（設定濃度）から検体摂取量 (mg/kg/day) を算出した。

投与期間における平均検体摂取量は次表のとおりである。

投与用量 (ppm)		1000	5000	25000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	36	180	953
	雌	47	243	1280

飲水量；対照群及び25000 ppm 投与群の全生存動物を対象として、第6、12、及び24週にそれぞれ5日間の飲水量を測定し、1日1匹当たりの飲水量 (mL/rat/day) として表示した。

いずれの測定時期においても25000 ppm 投与群の雌雄における飲水量は対照群と同等であり、検体投与による影響は認められなかった。したがって、第25週以降の測定を実施しなかった。

眼科学的検査；対照群及び25000 ppm 投与群の全生存動物を対象として、投与開始前、並びに第6、13、26、52、78及び104週に間接検眼鏡を用いた眼科学的検査を行った。

いずれの検査時期においても検体投与に関連した明らかな病変は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、並びに第12、24、39、50、64、76、90及び102週に一晩絶食させた動物を浅麻酔し、原則的に眼窩静脈叢から採血して血液学的検査に供した。検査対象動物は、第76週時以前は各投与群の衛星群の全生存動物、また、第90週以降は各投与群の主群より選出した雌雄各15例であった。血液学的検査項目は次のとおりである。

ヘマトクリット (HCT)、ヘモグロビン (HGB)、赤血球数 (RBC)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、白血球数 (WBC)、白血球分画、血小板数^{*1)} (PLT)、トロンボテスト^{*1)} (TRBT)

注：*1) 第12週以降の検査時のみ測定した。

また、第14週及び24週に採血した衛星群全群の雄についてプロトロンビン時間 (PT) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。さらに、雄でトロンボテストに変化がみられたことから、第24及び33週に、対照群及び25000 ppm 投与群の衛星群雄の全生存例から尾静脈採血を行い、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

追加血液試料を得てトロンボテストを実施した。

プロトロンビン時間*2) (PT)、及び活性化部分トロンボプラスチン時間*2)
(APTT)

*2) 第 14 及び 24 週に雄のみを対象として測定した。

統計学的有意差が認められた血液学的検査結果を次表に示す。

血液学的検査結果

性	雄			雌		
投与量 (ppm)	1000	5000	25000	1000	5000	25000
投 与 開 始 前						
Ht (%)						
Hb (g/100ml)						
MCHC (%)						
MCV (fl)						
好中球 (1000/cmm)						
第 12 週						
Ht (%)						
Hb (g/100ml)						
RBC (10 ⁶ /μl)						
MCHC (%)						
MCV (fl)						
WBC						
リンパ球						
PLT						
TRBT						
第 14 週 (雄における APTT と PT のみの検査)						
APTT						
PT						

注) *: p < 0.05 (t 検定法)

** : p < 0.01 (t 検定法)

*** : p < 0.001 (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

a 参考値

表中のかっこ内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

血液学的検査結果 (続き)

性	雄			雌		
投与量 (ppm)	1000	5000	25000	1000	5000	25000
第 24 週 (雄についてのみ APTT と PT 検査を追加)						
Hb						
RBC						
MCHC						
MCV						
好中球						
TRBT						
TRBT (尾静脈)						
APTT						
PT						
第 33 週 (第 31 週に飼料中のビタミンKを増量。雄の尾静脈血による TRBT 検査のみ実施)						
TRBT (尾静脈)						
第 39 週						
Ht						
Hb						
RBC						
MCHC						
MCV						
WBC						
第 50 週						
Ht						
Hb						
RBC						
MCHC						
MCV						
好中球						
TRBT						
第 64 週						
Hb						
RBC						
MCV						
WBC						
好中球						
リンパ球						
PLT						
TRBT						

注) * : p < 0.05 (t 検定法)

** : p < 0.01 (t 検定法)

*** : p < 0.001 (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

() : 参考データ

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

とは考えられなかった。

総白血球数及び白血球分画にも統計学的に有意な変動が認められたが、いずれの週の試料も投与量との相関性は見出せなかった。

血液生化学的検査；第 5、12、24、50、76 及び 102 週（但し、コリンエステラーゼの検査の場合には、第 6、13、26、52、78 及び 104 週）に、各群雌雄各 5 匹から採取した血液から血漿を分離して次の項目の検査に用いた。

尿素 (URE)、血糖 (GLU)、総蛋白 (TP)、アルブミン (ALB)、A/G 比 (A/G)、アルカリホスファターゼ (ALP)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、無機リン (IP)、血漿コリンエステラーゼ (PChE)、及び赤血球コリンエステラーゼ (EChE)

統計学的有意差が認められた血液生化学的検査結果を次表に示す。

血液生化学的検査結果

性 投与量 (ppm)	雄			雌		
	1000	5000	25000	1000	5000	25000
第 5 週						
GLU						
Na						
Ca						
第 12 週						
ALB						
IP						
第 24 週						
ALB						
A/G						
Na						
K						
Ca						

注) *: p < 0.05 (t 検定法)

** : p < 0.01 (t 検定法)

*** : p < 0.001 (t 検定法)

空欄 : 統計学的有意差なし。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の数を示す

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

いと考えられた。

尿検査紙による検査項目（還元物質、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、及びヘモグロビン）の検査結果については表として示していないが、最初の検査時期である第4週に25000 ppm 投与群の雌雄でウロビリノーゲンに対して陽性反応が認められた。しかしながら、これらの尿試料はBogomolow 試験（ウロビリノーゲン又はウロビリンの検出試験）では陰性であった。このため、第5週に全投与群を対象としてこれらの事実を再確認すると同時に、対照群の尿試料を二分し、一方の尿サブサンプルに少量の検体を加えてから尿検査紙によるウロビリノーゲン検査を行った。その結果、対照群の検体添加尿試料における反応は検体投与群のそれと同様であった。即ち、尿検査紙によるウロビリノーゲンの検出は検体によって妨害されることが示された。したがって、第4週以降の尿検査時に25000 ppm 投与群の雌雄で認められたウロビリノーゲン陽性反応は毒性学的な意義はないと判断された。

尿検査紙によるその他の検査項目に特記すべき変化は認められなかった。

肉眼的病理検査； 78 週間投与終了時に各群の衛星群の全生存動物を屠殺（中間屠殺動物）し、投与期間の終了時に各群の主群の全生存動物を屠殺（最終屠殺動物）して肉眼的病理検査に供した。屠殺法は二酸化炭素による窒息死とした。更に、投与期間中における死亡動物及び切迫屠殺動物も肉眼的病理検査に供した。

衛星群では検体投与に関連した変化は認められなかったが、主群では、25000 ppm 投与群の雄で甲状腺肥大の発生頻度が上昇した（次表参照）。その他の肉眼的病変に検体投与との関連性は認められなかった。

甲状腺肥大の発生頻度

亜群	群	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物													
衛星群	検査動物数												
主群	検査動物数												
雌 動 物													
衛星群	検査動物数												
主群	検査動物数												

注) * : $p < 0.05$ (χ^2 検定法) (統計学的検定は申請者による。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

臓器重量；衛星群の屠殺動物（第 78 週）及び主群の投与期間終了時の屠殺動物（第 107～108 週）を対象として、剖検時に次の臓器の重量を測定した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肺、肝臓、卵巣、下垂体、前立腺、脾臓、精巣、胸腺及び子宮

臓器重量の統計学的有意差検定の際には共分散分析を行い、より効果的な検定となる場合には、共変数として最終体重を用いて臓器重量値を補正してから統計学的有意差検定を行った。また、適切な場合には、分散を安定させるために臓器重量値を対数変換してから統計学的有意差検定を行った。

統計学的有意差が認められた臓器重量検査項目の概要を次表に示す。

臓器重量検査結果

性	雄				雌			
	0	1000	5000	25000	0	1000	5000	25000
衛星群（第 78 週の屠殺）								
下垂体 ¹⁾								
SD								
主群（第 107 又は 108 週の屠殺）								
脳								
SD								
肺								
SD								

注) * : $p < 0.05$ (t 検定法)

: $p < 0.05$ (Williams の検定法)

1) 対数変換後の有意差検定

空欄 : 統計学的有意差なし。

表中の数字は各臓器の重量 [g] を示す。

() 内の数字は対照群を 100 とした場合の数値を示す。

SD は標準偏差を示す。

衛星群における下垂体の変化は検体投与との関連性がなかった。主群の 25000 ppm 投与群の雄における脳及び肺の重量は統計学的に有意に高かったが、脳は対照群の変動の範囲内、肺は 1 例が非常に高い値であった以外はすべて対照群の変動の範囲内にあることから、検体投与との関連性はないと考えられた。

病理組織学的検査；全動物を対象として剖検時に次の臓器及び組織を採取し、10%ホルマリン液を用いて固定した(但し、眼球の場合は Davidson の固定液を用いた)。

副腎、大動脈、骨、脳（延髄、小脳、大脳皮質）、盲腸、十二指腸、眼球、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、喉頭、肝臓（複数切片）、肺（複数切片）、リンパ節（複数切片、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節）、乳腺、結腸、中耳、鼻腔（2カ所）、食道、卵巣、脾臓、下垂体、前立

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

腺、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、脊髄（2カ所）、脾臓、胸骨（骨髄）、胃（腺胃部、前胃部）、精巣、胸腺（存在する場合のみ）、甲状腺、舌、気管、膀胱、子宮（2カ所、頸管）及び肉眼的病変部位各投与群の主群の全動物を対象として上記の組織を常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色を施した組織標本を作製し、病理組織学的検査に供した。また、肝臓及び腎臓については、Oil-Red-O 染色（脂肪染色）、並びに PAS 染色（肝臓のグリコーゲン及び腎臓の基底膜）した切片も病理組織学的検査に供した。但し、各投与群の衛星群の動物のうち、途中で死亡した動物についても肉眼的病変部位が認められた組織は、死因の究明のための病理組織学的な検査をして死因を究明した。

なお、甲状腺ろ胞細胞癌と副腎皮質過形成及び褐色細胞腫の雄における発生頻度は、Peto らの方法の変法で統計分析を行っている。投与群にみられた甲状腺小胞性過形成の発生頻度については、分析により情報が得られないと判断したため、統計処理を行っていない。

非腫瘍性病変；主群の動物について実施した病理組織学的検査の結果、種々の非腫瘍性病変が認められた。副腎髄質細胞過形成、甲状腺ろ胞細胞過形成などの非腫瘍性増殖性病変には検体投与との関連性が示唆されたが、非増殖性病変には検体投与との関連性は示されなかった。次表に非腫瘍性病変を取りまとめて示す。

衛生群では検体投与に由来する非腫瘍性増殖性病変は認められなかった。

副腎の髄質細胞過形成の発生頻度が 25000 ppm 投与群の雄で上昇した。本病変は雌では全く認められなかった。また、本病変は褐色細胞腫との識別が困難な場合があるので、次項の「腫瘍性病変」で両病変を合計して検討する。

甲状腺ろ胞細胞過形成の発生頻度が 25000 ppm 投与群の雄で明らかに、また、5000 ppm 投与群の雄で僅かに上昇した。雌においては本病変の発生頻度が低く、検体投与との関連性は明らかではなかった。

前胃の過形成／過角化症の発生頻度が 25000 ppm 投与群の雌で上昇したが、雄では検体投与との関連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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
大動脈													
喉頭													
気管													
心臓													
肺													
胸腺													
鼻腔													
リンパ節													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
	検査動物数	34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
肝臓													
中央裂													
胆管													
脾臓													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
脾													
腎													
臓													
尿管													
膀胱													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
前立腺													
精囊													
包皮腺													
睪丸													
甲状腺													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
	検査動物数	34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
副腎													
唾液腺													
食道													
前胃													
腺胃													
腸													
皮膚													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
骨格筋													
乳腺													
舌													
眼													
脳													
下垂体													
坐骨神経													
脊髄													
骨髓													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
	検査動物数	34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
四肢													
雌 動 物													
	検査動物数	35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
大動脈													
喉頭													
気管													
心臓													
肺													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物 (続き)													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
胸腺													
鼻腔													
リンパ節													
肝													
膵													
中央裂													
脾臓													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度 (続き)

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物 (続き)													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
脾臓													
脾臓													
腎臓													
膀胱													
卵巣													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物 (続き)													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
子 宮													
膣													
包 皮 腺													
甲 状 腺													
上 皮 正 体													
副 腎													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度 (続き)

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
	検査動物数	35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
副腎													
前胃													
腺胃													
腸													
皮膚													
骨格筋													
乳腺													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の非増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物 (続 き)													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
舌													
眼													
脳													
下垂体													
脊髄													
四肢													

注) 合計数についての統計学的検定は行っていない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の増殖性病変の発生頻度

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
甲状腺													
上皮小体													
副腎													
肺													
心臓													
リンパ節													
肝臓													
脾臓													
膵臓													
腎臓													
膀胱													
尿道													
精囊													

注) 合計数についての統計学的検定は申請者による。

*: $p < 0.05$ (χ^2 検定法)

***: $p < 0.001$ (χ^2 検定法)

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の増殖性病変の発生頻度 (続き)

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
包													
皮													
腺													
前													
胃													
腺													
胃													
皮													
膚													
乳													
腺													
角													
膜													
骨													
髄													
下													
垂													
体													
雌 動 物													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
甲													
状													
腺													
上													
皮													
小													
体													
副													
腎													
鼻													
腔													
リン													
パ													
節													

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

主群における非腫瘍性の増殖性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物 (続き)													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
肝臓													
脾臓													
膵臓													
腎臓													
膀胱													
卵巣													
子宮													
包皮腺													
副腎													
前胃													
皮膚													
乳													
腺													
角膜													
下垂体													

注) 合計数についての統計学的検定は申請者による。 * : $p < 0.05$ (χ^2 検定法)

腫瘍性病変；副腎の褐色細胞腫の発生頻度が 25000 ppm 投与群の雄で高く（「主群における腫瘍性病変の発生頻度」表参照）、また、前述の通り、

の発生頻度が 5000 ppm 及び 25000 ppm 投与群の雄で高かった。両病変は識別が困難な場合があるので、次表に両病変の合計を示した。また 1000ppm および 25000ppm 投与区では同一タイプの腫瘍が複数みられた例があり対象となった動物数を（ ）で示した。（次表参照）。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群の雄における の発生例数

投与群	0 ppm			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
	死亡	試験 終了 時	全 動物	死亡	試験 終了 時	全 動物	死亡	試験 終了 時	全 動物	死亡	試験 終了 時	全 動物
検査 動物数												
合計 ¹⁾												

[申請者注] 合計数についての統計学的検定は申請者による。

*: $p < 0.05$ (χ^2 検定法)、 **: $p < 0.01$ (χ^2 検定法)

褐色細胞腫の区分は報告書に記載なし。

() 内の数値は同一タイプの腫瘍が複数見られた例数を示す。

1): 組織学的に副腎髄質の過形成と褐色細胞腫の区別が困難なことから、両病変を合計して検討した。

副腎髄質の増殖性病変には 25000 ppm 投与群の雄にのみ統計学的に有意 ($p < 0.1$) に高い発生頻度が認められた。しかしながら、本試験においては悪性の褐色細胞腫は認められなかった。

雄の副腎髄質の増殖性病変について検討するため、専門の毒性病理学者に再評価が依頼された。全ての雄の副腎が再鏡検され、系統的に知見が記録された。

さらにそれらの結果は、 によって統計解析された。結果を次表にまとめる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

主群の雄ラットにおける副腎所見の統計解析

所見	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	25000 ppm	群間の全 体的変動	用量相関 関係
副腎皮質						
副腎髄質						

[申請者注] 統計解析は IARC 法 (Peto, R. WHO, リヨン, 1980) および χ^2 検定で実施。

+++、---、*** : P<0.001 ++、--、** : P<0.05 +、-、* : P<0.1

ここで、+ (-) 印は対照群または用量相関関係と差が正 (または負) であることを指し、*印は群間の全体的変動 (これには方向性はない) を指す。

副腎皮質については、

また、副腎髄質については、

注 1) 副腎髄質に関する所見の発生数を以下にまとめる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

これらの再評価結果はさらに統計分析された。その結果として；

担当した毒性病理学者の見解は以下のとおりである。

25000ppm 投与群の副腎皮質に見られた良性あるいは悪性の腫瘍は、対照群との間に有意差がなかったことから毒性学的意義がないと判断する。25000ppm 投与群の副腎髄質に見られた過形成または腫瘍の増殖性病変は対照の他種ラットに通常見られるものと全く同様のものであり、このような病変の発生が非特異的な要因によって容易に起こり得るということは、それらの発生が真の発がん性を示すものではないと事を示している。さらに、アシュラムの一連の試験から突然変異誘発性あるいは染色体異常誘発性がないというデータが十分得られているので、結論的にアシュラムは発癌性がないと結論している。

主群の雄における の発生例数

投与群	0 ppm			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
	死亡	試験終了時	全動物	死亡	試験終了時	全動物	死亡	試験終了時	全動物	死亡	試験終了時	全動物
検査動物数												
腺腫												
癌												
合計 ¹⁾												

[申請者注] 合計数についての統計学的検定は申請者による。

* : $p < 0.05$ (χ^2 検定法)、** : $p < 0.01$ (χ^2 検定法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

本試験では甲状腺 C 細胞癌は対照群には発生しなかったが、通常よりは比較的低い自然発生率であり、用量相関性がないのでこの発生分布は偶発的と考えている。統計処理 (Peto et al、WHO 1980) は投与相関性を示さなかった。

次表に各腫瘍性病変の発生頻度を示す。上述した腫瘍以外の腫瘍性病変の発生頻度に検体投与による明らかな影響、あるいは検体投与によることが示唆される影響は認められなかった。また、担腫瘍動物数及び担悪性腫瘍動物数からは検体投与による腫瘍の発生及び腫瘍の悪性化は示されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における腫瘍性病変の発生頻度

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
下垂体													
甲状腺													
副腎腺													
リンパ細網内皮系													
乳腺													
腎臓													
精巣													
前立腺													
精囊													
凝固腺													

注) 合計数についての統計学的検定は申請者による。

*: p < 0.05 (χ²検定法)、**: p < 0.01 (χ²検定法)

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍

() 内の数値は同一タイプの腫瘍が複数見られた例数を示す。

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における腫瘍性病変の発生頻度 (続き)

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雄 動 物 (続き)													
検査動物数		34	16	50	34	16	50	39	11	50	26	24	50
皮膚 / 皮下 組 織													
脳													
脊髄													
シ ン パ ル 腺													
肝 臓													
腸													
骨 前 縦 隔													
検査動物数													
腫瘍数	良性												
	悪性												
腫瘍総数													
担腫瘍 動物数	良性												
	悪性												
担腫瘍動物総数													

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における腫瘍性病変の発生頻度 (続き)

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
下垂体													
甲状腺													
副腎													
脾臓													
リンパ細網内皮系													
乳腺													
皮膚／皮下組織													
腎臓													
卵巢													

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍

(続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

主群における腫瘍性病変の発生頻度（続き）

臓器	所見	0 ppm (対照)			1000 ppm			5000 ppm			25000 ppm		
		死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計	死亡	屠殺	合計
雌 動 物													
検査動物数		35	15	50	37	13	50	33	17	50	30	20	50
子 宮													
脳 脊 髄													
ジ ン バ ル 腺 舌													
肝 臓													
胃													
骨													
腹 腔													
検査動物数													
腫瘍数	良性												
	悪性												
腫瘍総数													
担腫瘍 動物数	良性												
	悪性												
担腫瘍動物総数													

B: 良性腫瘍、 M: 悪性腫瘍

以上のように、本検体をラットに 107 週間（雌）又は 108 週間（雄）にわたって飼料混入投与したときの影響として、25000 ppm の雌雄で体重増加抑制、飼料要求率の上昇、酸性尿の発現、雄で甲状腺ろ胞細胞過形成の増加、副腎皮質に見られた良性あるいは悪性の腫瘍の増加、副腎髄質の褐色細胞腫を含む増殖性病変の増加、雌で前胃過形成／過角化症の増加が認められた。また、5000 ppm ではいずれも軽度ではあるが、雌で体重増加抑制、飼料要求率の上昇、また、雄で甲状腺ろ胞細胞過形成の増加が認められた。

したがって、本試験における無毒性量は雌雄ともに 1000 ppm（雄 36 mg/kg/day；雌 47 mg/kg/day）であると判断した。

なお、最高投与量である 25000 ppm で雄に副腎皮質に見られた良性あるいは悪性の腫瘍の増加、副腎髄質の褐色細胞腫を含む増殖性病変の発生頻度に上昇が認められた。しかし再評価の結果、これらの増殖性病変の増加は毒性学的意義がなく発がん性はないと判断した。