

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。

8.2 皮膚及び眼に対する刺激性・皮膚感作性

8.2.1 ウサギを用いた皮膚一次刺激性変化（資料No. T-1.7）

検体純度：

試験動物： ニュージーランドホホワイト種ウサギ、若齢成獣、雌雄各3匹

試験期間： 6日間観察

試験方法： 稀釈しない検体0.5 mLを、剪毛した動物の背部皮膚の非擦過部及び擦過部（いずれも1インチ四方）にそれぞれ2箇所ずつ貼付適用した。暴露時間は24時間とし、皮膚に残った検体は拭きとった。

試験項目： 暴露終了直後及び1～6日後に塗布部分の刺激性変化（紅斑，痂皮，浮腫）の有無等を観察した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

	変化	最高* 評点	適用後の時間				
			24時間	72時間	4日	5日	6日
非擦過 (6匹)	紅斑, 痂皮	4	1.0	0.8	0.6	0.3	0
	浮腫	4	0.4	0.5	0	0	0
	合計	8	1.4	1.3	0.6	0.3	0
擦過 (6匹)	紅斑, 痂皮	4	1.0	0.7	0.6	0.4	0
	浮腫	4	0.5	0.5	0	0	0
	合計	8	1.5	1.2	0.6	0.4	0

注) 表の点数は6匹の2箇所の平均値である。

*：判定基準の最高評点

紅斑，痂皮は塗布後6日，浮腫は塗布後4日に消失した。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があると思われる。

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。

8.2.2 ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 (資料No. T-1.8)

検体純度 :

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、若齢成獣、
非洗眼群 雌雄各3匹、洗眼群 雌3匹

試験期間 : 7日間観察

試験方法 : 検体0.1 mLを右眼に投与し、3匹は30秒後に1分間洗眼した。6匹については洗眼しなかった。左眼は無処理対照とした。

試験項目 : 投与後1, 24時間, 2, 3, 4, 7日後に角膜, 虹彩, 結膜の刺激性変化を観察した。

試験結果 : 観察した刺激性変化の採点は次頁の表に示す。
角膜および虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。
結膜の刺激性変化は洗眼群、非洗眼群とも投与後1時間に認められたが、これらの変化は投与後3日後に消失した。

以上の結果から検体はウサギの眼粘膜に対して最小の刺激性を有するものと考えられる。投与30秒後の洗眼による明確な効果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。

項 目		最高* 評点	適用後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群 (6匹の平均)	角膜混濁	程度(E)	4	0	0	0	0
		面積(F)	4	0	0	0	0
	加重評点 (E×F)×5		80	0	0	0	0
	虹彩 (D)		2	0	0	0	0
	加重評点 (D×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(A)	3	2.0	1.0	0.5	0
		浮腫(B)	4	3.0	1.7	0.7	0
		分泌物(C)	3	2.0	0	0	0
	加重評点 (A+B+C)×2		20	14.0	5.3	2.3	0
	合計加重評点		110	14.0	5.4	2.4	0
洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度(E)	4	0	0	0	0
		面積(F)	4	0	0	0	0
	加重評点 (E×F)×5		80	0	0	0	0
	虹彩 (D)		2	0	0	0	0
	加重評点 (D×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(A)	3	2.0	1.3	0.3	0
		浮腫(B)	4	2.7	1.3	0.7	0
		分泌物(C)	3	2.0	0	0	0
	加重評点 (A+B+C)×2		20	13.3	5.3	2.0	0
	合計加重評点		110	13.3	5.3	2.0	0

* : 判定基準の最高評点

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。

8.2.3 モルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料No. T-1.9)

検体純度 :

試験動物 : Hartley系モルモット、1群雄10匹、体重 300~370 g

試験期間 : 38日間観察

試験方法 : Buehler法

感 作 ; 皮膚刺激性を起こさせない最高濃度を用いた。胴背部を刈毛し、1.5×2インチの範囲に検体の0.10% (w/v)コーン油溶液0.5 mLを2-3日間隔で、1回6時間で10回貼付適用した。陽性対照群には2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB)の0.05% (w/v)エタノール溶液を同様に適用した。

惹 起 ; 最終感作の2週間後に感作と同様に検体の0.10% (w/v)コーン油溶液0.5 mL及びDNCBの0.05% (w/v)エタノール溶液0.5 mLを、胴背部の新たな除毛域に6時間貼付適用した。

評 価 ; 1回目感作適用24時間後の皮膚反応に比べて惹起適用24時間後の皮膚反応が増大するとき、皮膚感作性を誘発すると判断する。

試験結果 : 皮膚反応の採点結果を次頁の表に示す。

検体投与群における皮膚反応の平均点は、初回投与では0.0に対し惹起投与後では1.6であった。

一方、DNCB投与群における皮膚反応の平均点は、初回投与では0.0に対し惹起投与後では5.8であった。

以上の結果から、本試験条件下において検体は軽度の皮膚感作性を誘発するものと思われる。

DNCBの惹起後の評点 : レポートでは2.9と記載されている。

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。

皮膚感作性試験結果

	動物数 (匹)	濃度 (%)	観察	貼付24時間後の観察日における平均評点										
				感 作										惹起*
				2 日	5 日	7 日	9 日	12 日	14 日	16 日	19 日	21 日	23 日	37 日
検体	10	0.10	紅斑	0	0.1	0.3	0.3	0.1	0.1	0.2	0.3	0.3	0.5	1.05
			浮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1	0.1	0.55
			合計	0	0.1	0.3	0.3	0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	1.6
陽性 対照 DNCB	10	0.05	紅斑	0	0.4	0.8	1.2	1.6	1.6	2.0	2.0	1.6	1.7	2.89
			浮腫	0	0	0.2	0.3	0.9	1.5	1.9	2.0	1.7	1.8	2.89
			合計	0	0.4	1.0	1.5	2.5	3.1	3.9	4.0	3.3	3.5	5.8

* : 惹起貼付2箇所 の 平均値

DNCB (2,4-ジニトロクロロベンゼン)群の1匹が惹起貼付前に死亡した。

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。

8.3 急性神経毒性

8.3.1 ニワトリにおける急性遅発性神経毒性試験 (資料 No. T-1.10)

検体純度 :

試験動物 : ニワトリ (品種 ; 白色レグホン) 16 ヶ月 (体重 1.3~2.5 kg)
溶媒対照群, 陽性対照群各 10 羽, 検体投与群 40 羽

試験方法 : 投与量設定のため, あらかじめ LD₅₀ を求めてこれに基づき検体をコーン油に溶解し 500 mg/kg を経口投与した。
保護剤として, 硫酸アトロピン 25 mg/kg を検体投与 15 分前に投与した。
陽性対照として TOCP 750 mg/kg を経口投与した。

観察項目 : 一般症状, 神経症状は投与日以後毎日観察した。
体重について投与前、4、8、11、15、17 および 22 日目に観察した。
21 日間の観察後ペントバルビタール 25~30 mg/kg で麻酔し, 神経組織を摘出して病理組織学的に検査した。

試験結果 : あらかじめ求めた LD₅₀ 値は 376 mg/kg であった。
算出した LD₇₀ 値は 500 mg/kg でありこの LD₇₀ 値を遅延性神経毒性試験の投与量とした。
検体 500 mg/kg では投与後 21 日間神経毒性症状はみられなかった。陽性対照では投与後 13 日目に軽度の運動失調, 運動麻痺の増加が認められた。
病理組織学的には, 陽性対照に脊髄軸索増加がみられたが, 検体投与群には異常は認められなかった。

神経症状および神経系の病理組織学的検索から急性遅延性神経毒性は陰性であった。

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。

8.3.2 ラットを用いた急性神経毒性試験 (資料 No. T-1.11)

検体純度：

供試動物： Sprague-Dawley Crl:CD BR 系ラット、1群雌雄各 27 匹、投与時 46 日齢以上

試験期間： 1 回投与後 15 日間観察

投与方法： コーンオイルを溶媒として用い、0、0.5、5 及び 30 mg/kg の用量 (各 5 mL/kg の容量)で単回経口投与を実施し、以下のとおり観察を実施した。

			機能検査および 自発運動の測定*		神経病理学的検査		コリンエステラーゼ 活性測定	
群	用量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	動物/群		動物/群 (投与 15 日以降屠殺)		動物/群 (投与 15 日後屠殺)	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌
1	0	5	12	12	7	7	20	20
2	0.5	5	12	12	7	7	20	20
3	5	5	12	12	7	7	20	20
4	30	5	12	12	7	7	20	20

*：神経病理学的検査動物から雌雄各 7 匹及び、コリンエステラーゼ活性測定動物から雌雄各 5 匹を供試

用量設定根拠；急性用量設定試験の結果にもとづき本試験の投与量を選択した。カルボスルファン原体 1、5、10、30、60、90、120 および 150 mg/kg の単回経口投与で生死及び一般状態を観察した。投与後 1 時間以内に 150 mg/kg 投与雄で死亡例が見られたが、その他はいずれも計画屠殺時 (第 8 日)まで生存した。一般状態に被験物質投与に関連した明らかな変化が 30、60、90、120 および 150 mg/kg 投与群で認められた。次に 1、5 および 30 mg/kg を単回投与し、血漿および赤血球コリンエステラーゼを投与 1 および 4 時間後に測定した結果、1 (赤血球コリンエステラーゼのみ)、5 および 30 mg/kg 投与群で低下が認められた。投与に関連した一般状態の観察に用いる最大効果発現時は投与の約 4 時間後であった。

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。

観察・検査項目および結果：

死亡率； 生死および瀕死状態の有無を1日2回観察した。

いずれの動物も観察期間終了時まで生存した。

一般状態；一般状態を毎日観察した。投与に関連した臨床症状として、下記のとおり 30 mg/kg 群の雌雄において、投与 1~2 日後に腹部および外陰部の黄色汚染が認められた。

性	雄				雌			
	0	0.5	5	30	0	0.5	5	30
用量(mg/kg)	0	0.5	5	30	0	0.5	5	30
供試例数	22	22	22	22	22	22	22	22
湿性腹部黄色汚染	0	0	0	0	0	0	0	1
乾性腹部黄色汚染	0	0	0	1	0	0	0	3
乾性外陰部黄色汚染	0	0	0	3	0	0	0	5

体重変化；投与前（第-6日）、第0日、第7日、第14日および第15日（剖検前）に個体別に体重を測定して記録した。また、機能検査実施期間に機能検査用動物についても体重を記録した。投与0日~7日後に 30 mg/kg 群の雄において増体量の低下が認められた。

下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた時期を示す。

性	雄			雌		
	0.5	5	30	0.5	5	30
用量(mg/kg)	0.5	5	30	0.5	5	30
供試例数	27	27	27	27	27	27
0-7日	91	91	85↓	100	89	105

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

検定方法； Dunnett の検定法 (↓↑: p<0.05)

機能検査；各群雌雄各 12 匹について、投与前、投与 0 日後（投与 4 時間後）、7 日および 14 日後に以下の項目の観察を盲検法にて行った。

- ホームケージ内での観察
(姿勢、噛み付き行動、痙攣/振戦、眼瞼閉鎖、糞の堅さ)
- 取り扱い時の観察
(ケージからの取り出し易さ、手の中での取り扱い易さ、流涙/紅涙、流涎、立毛、被毛の状況、眼瞼閉鎖、呼吸数/呼吸の特徴、赤色/痂皮様付着物、粘膜/眼/皮膚の色調、眼球突出、筋緊張)
- オープンフィールドでの観察
(運動性、歩行状態、立ち上がり、覚醒状況、痙攣/振戦、排尿/排糞、身づくろい、歩行状態の採点、異常/常同行動、逆行、第 1 歩までの所要時間 (秒))
- 感覚運動反応の観察
(接近反応、触覚反応、驚愕反応、テイルピンチ反応、瞳孔反射、瞬目反応、前肢伸展、後肢伸展、空中落下正向反射、嗅覚性方向反応)

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。

- 神経筋反応の観察
(後肢伸展力、握力(後肢および前肢)、後肢開脚幅、ロータロッド試験)
- 生理学的反応の観察
(カタレプシー、体重、体温)

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雄											
	投与当日 (投与 0 日後)				投与 7 日後				投与 14 日後			
検査日												
群 (mg/kg)	0	0.5	5	30	0	0.5	5	30	0	0.5	5	30
身づくろい回数	0.8	0.6	0.4	0.1	0.7	0.0↓	0.2↓	0.1↓	0.8	0.3	0.3	0.3
テイルピンチ反応低下(例数)	5	6	7	11↑	8	6	7	7	9	4	7	8
体温 (°C)	36.6	38.4	38.5	37.5↓	38.6	38.6	38.7	38.5	38.6	38.5	38.4	38.5
性別	雌											
	投与当日 (投与 0 日後)				投与 7 日後				投与 14 日後			
検査日												
群(mg/kg)	0	0.5	5	30	0	0.5	5	30	0	0.5	5	30
テイルピンチ反応低下(例数)	5	5	7	8	8	6	7	4	1	8↑	7↑	5
ロータロッド試験(秒)	116.1	85.4	70.2	72.6	116.3	66.2↓	89.1	109.8	120.0	85.2	98.6	111.2
体温 (°C)	38.8	38.7	38.6	38.1↓	38.7	38.7	38.6	38.9	38.6	38.7	38.6	38.6

検定方法 ; Dunnett の検定法または Fisher の直接確率計算法
(↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

30 mg/kg 群で投与薬 4 時間前後 (投与当日)の観察において以下の変化が認められた。

- ホームケージ内での観察で、雄 1 例に軽度の振戦が認められた。
- 取り扱い時の観察で、雄 2 例、雌 2 例に軽度被毛汚染が認められた。
- オープンフィールドでの観察で、雄 2 例、雌 2 例に軽度の振戦および歩行異常が認められた。
- 感覚運動反応の観察で、雄でテイルピンチ反応低下の発生率が有意に増加した。
- 生理学的反応の観察で、雌雄で体温の有意な低下が認められた。

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。

これらの変化はいずれも第7および14日には認められなかった。

その他、投与7日後における身づくろい回数が0.5、5および30 mg/kg 群の雄で有意に低下したが、この変化には明らかな用量相関性が認められず、さらに雌における身づくろい回数には対照群との間に有意な差が認められなかった為、被験物質投与に起因するものではないと考えられた。また、投与7日後に0.5 mg/kg 群雌のロータロッド試験で、有意な低値が認められたが、この種の低値は5および30 mg/kg 群の雌では認められなかった為、被験物質投与に起因するものではないと考えられた。

投与14日後に、0.5及び5 mg/kg 群の雌でテイルピンチ反応の低下例数が対照群と比べて有意に増加したが、30 mg/kg 投与群の雌のテイルピンチ反応の低下例数には観察時期にかかわらず有意な増加は認められなかった為、被験物質投与に起因するものではないと考えられた。

自発運動量；

機能検査用動物全個体について、投与前、投与0日後、7日および14日後の機能検査後に40分間運動量をコンピュータでモニターし、記録した。40分間における採取データを各10分間隔のデータ(サブセッション)として取りまとめた。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
検査日		投与当日(試験0日)			投与当日(試験0日)		
群(mg/kg)		0.5	5	30	0.5	5	30
総自発運動量	サブセッション 1.	96	81	52↓	110	99	58↓
	2.	103	83	30↓	119	89	45↓
	3.	105	74	50	204↑	102	53
	4.	99	176	92	218↑	149	88
	合計	100	90	50↓	136↑	102	57↓
歩行量	サブセッション 1.	102	84	61↓	111	96	61↓
	2.	108	84	36↓	129	93	51
	3.	103	64	51	330↑	182	74
	4.	129	169	105	213	164	60
	合計	106	88	56↓	145↑	109	59↓

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの、検定方法；Dunnettの検定法(↓↑: p<0.05)

30 mg/kg 群の雌雄で投与0日後に歩行量および総自発運動量の有意な低下が認められた。これらの低下は投与7日後あるいは14日後には認められなかった。

投与0日後の0.5 mg/kg 群の雌において、歩行量および総自発運動量の有意な増加したが認められた。しかしながら、通常、自発運動量における増加ではなく低下には、毒性学的に意義があるとされており、上述した対照群との差は生物学的な変動によるものと考えられた。

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

コリンエステラーゼ活性の測定；

投与前、投与 0 日後（投与 4 時間後）、7 日後および試験終了時（15 日後）に各群雌雄各 5 匹について、血漿、赤血球および脳のコリンエステラーゼ活性の測定を行った。採血を下大静脈より行い、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性の測定用の血液を採取した。放血、屠殺後に、各脳領域の新鮮試料のホモジネートを用いて脳コリンエステラーゼを測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

測定部位	測定時期	雄			雌		
		投与群 (mg/kg)			投与群 (mg/kg)		
		0.5	5	30	0.5	5	30
血漿	投与当日	96	76↓	61↓	135	116	88
赤血球	投与当日	101	62↓	54↓	89	64↓	55↓
海馬	投与当日	86	73	54↓	108	62↓	62↓
	投与 7 日後	99	106	102	88↓	92	101
嗅脳	投与当日	93	66	52↓	88	66↓	58↓
中脳	投与当日	97	64↓	53↓	92	61↓	53↓
脳幹	投与当日	84	56↓	48↓	94	59↓	52↓
小脳	投与当日	95	74↓	64↓	94	67↓	68↓
大脳皮質	投与当日	88↓	62↓	52↓	94	66↓	51↓

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。
 検定方法； Dunnett の検定法 (↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

血漿コリンエステラーゼにおける投与による影響としては、投与 0 日に 5 および 30 mg/kg 群の雄で有意な低下が認められた。

赤血球コリンエステラーゼについては、5 および 30 mg/kg 群の雌雄で投与 0 日後に、有意な低下が認められた。

脳のコリンエステラーゼについては、5 および 30 mg/kg 群の雌雄において、投与 0 日に中脳、脳幹、小脳、および大脳皮質のコリンエステラーゼの有意な低下が認められた。また、5 および 30 mg/kg 群の雌ならびに 30 mg/kg 群の雄においては、投与 0 日に海馬および嗅脳のコリンエステラーゼの有意な低下が認められた。

0.5 mg/kg 投与群の雌雄においては、対照群より有意に低い数値が若干認められたが、対照群からの変動は大きいものではなく（16%以下）、雌雄のどちらか一方に限定された変化であり、被験物質に関連した影響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。

病理学的検査；

脳重量；

コリンエステラーゼ測定用動物について、脳領域の新鮮試料採取前に、絶対脳総重量および脳の各領域の絶対重量を測定し、比体重値および比脳重値を計算した。対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

測定 時期	測定部位	雄			雌			
		投与群 (mg/kg)			投与群 (mg/kg)			
		0.5	5	30	0.5	5	30	
投 与 当 日	海馬	絶対重量	127	108	91	106	146↑	111
		比体重値	131	113	98	111	154↑	117
		比脳重値	125	107	94	106	149↑	109
投 与 7 日 後	中脳	絶対重量	105	100	118	80↓	82↓	85
		比体重値	108	102	120	84	84	95
		比脳重値	106	100	114	83↓	84↓	88
	大脳皮質	絶対重量	97	100	103	106	101	103
		比体重値	87	89	94	101	100	101
		比脳重値	98	100	100	110↑	103	107
投 与 15 日 後	脳幹	絶対重量	102	110↑	103	112↑	112↑	112↑
		比体重値	107	112	107	116	115	107
		比脳重値	102	109	101	109	106	106
	小脳	絶対重量	107	101	110	102	101	103
		比体重値	113	103	115↑	119↑	105	111
		比脳重値	106	100	107	99	96	98

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したものの。
検定方法； Dunnett の検定法 (↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

対照群との間に統計学的に有意な差が散見されたが、対照群との差に用量相関性がない、あるいは測定時期との一貫性がない等により、または雌雄のいずれか一方の変化であり、いずれの投与群にも被験物質に関連した明らかな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。

神経病理学的検査；

15日間以上の観察期間終了後に、各群雌雄各7匹を炭酸ガス麻酔下で放血し、in situ 条件で灌流固定した。中枢および末梢神経組織を摘出して保存した。脳（嗅球を除く）重量および脳の長径・短径を測定した。脳および脊髄における肉眼的変化、異常色調および病変をいずれも記録した。対照群および30 mg/kg 投与群のそれぞれ雌雄各5匹から以下に記載する神経組織標本を作製（パラフィンあるいはプラスチック包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色）し、病理組織学的検査を行った。

中枢神経系：

脳（前脳、大脳中央領域、中脳、小脳、橋、延髄）、脊髄（C3～C8における頸膨大部、T13～L4における腰膨大部）、ガッセル神経節/三叉神経、腰部背根神経節（T13～L4）、腰部背根神経線維（T13～L4）、腰部腹根神経線維（T13～L4）、頸部背根神経節（C3～C8）、頸部背根神経線維（C3～C8）、頸部腹根神経線維（C3～C8）、視神経、眼

末梢神経系：

坐骨神経（大腿中央部および坐骨切痕部）、腓腹神経、脛骨神経

絶対総脳重量、脳の長径・短径、ならびに顕微鏡検査において投与に関連した神経病理学的病変は認められなかった。

本試験条件下において、以上のように機能検査および自発運動量測定の結果、神経筋機能、感覚運動機能、興奮性、活動性および生理学的機能にカルボスルファン原体 30 mg/kg の単回経口投与による影響が認められた。したがって、本試験において神経毒性を指標にした NOAEL（無毒性量）は 5 mg/kg であった。また、コリンエステラーゼを指標にした NOAEL（無毒性量）は 0.5 mg/kg 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。

8.4 亜急性毒性

8.4.1 ラットにおける3ヵ月亜急性毒性試験及びその回復試験 (資料No. T-2.1)

検体純度 :

試験動物 : CRJ : CD (SD)系ラット、1群雌雄各16匹

開始時4週令、投与3ヵ月目各10匹屠殺、回復1ヵ月目各6匹屠殺

試験期間 : 投与期間3ヵ月、回復期間1ヵ月(1980年10月16日～1981年3月31日)

投与方法 : 検体をアセトンに溶解して、0, 10, 20, 100, 500及び1000 ppmの濃度で混入し、3ヵ月間にわたって随時摂食させた。さらに検体の安定剤であるエポキシ化大豆油40 ppm群を設けた。検体ならびに安定剤を混入した飼料は1週間に1回調製した。

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。

投与期間中、雌雄の500及び1000 ppm投与群に被毛の光沢欠如、立毛、粗毛、軽度の自発運動の低下がみられた。これらの症状は回復期間中にすべて回復した。死亡例はみられなかった。

体重変化 ; 週に2回測定した。

投与期間中、雌雄の500及び1000 ppm投与群に体重増加の抑制がみられた。回復期間中いずれの投与群においても体重増加率に顕著な増加が認められたが、500 ppm投与群の雌、1000 ppm投与群の雌雄は完全な体重の回復が認められなかった。

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。

性別	雄						雌					
	投与量 (ppm)	安定剤	10	20	100	500	1000	安定剤	10	20	100	500
1週	100	100	100	98	↓85	↓76	101	101	95	97	↓89	↓81
2週	100	100	99	97	↓87	↓80	100	103	99	97	↓92	↓84
3週	99	98	99	97	↓85	↓82	101	102	98	98	↓90	↓85
4週	101	100	98	97	↓88	↓85	101	103	101	97	↓93	↓85
5週	105	103	100	98	↓91	↓86	101	103	99	95	↓95	↓85
6週	105	103	100	99	↓92	↓86	100	104	100	96	↓93	↓83
7週	102	102	101	99	↓90	↓84	101	102	99	96	↓92	↓83
8週	102	100	99	97	↓89	↓84	101	103	98	96	↓91	↓82
9週	100	99	98	96	↓88	↓83	100	104	99	97	↓91	↓81
10週	100	100	98	96	↓88	↓83	101	104	99	96	↓91	↓81
11週	100	100	100	97	↓89	↓83	100	104	98	96	↓91	↓81
12週	100	99	100	97	↓89	↓82	100	104	100	97	↓91	↓83
13週	100	100	100	98	↓91	↓83	101	104	99	97	↓91	↓83
回復1週	100	103	102	99	94	↓86	99	103	99	95	↓91	↓83
回復2週	99	104	102	98	95	↓88	99	103	100	95	↓92	↓86
回復3週	99	104	101	98	95	↓89	98	103	100	96	↓92	↓87
回復4週	99	105	102	100	97	↓90	99	102	100	97	↓93	↓89

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を毎週2回測定し食餌効率も算出した。

投与開始初期に500 ppmの雄、1000 ppmの雌雄に摂取量減少がみられた。

性別	雄						雌						
	投与量 (ppm)	安定剤	10	20	100	500	1000	安定剤	10	20	100	500	1000
摂餌量	1-4週	99	99	97	97	89	84	103	104	98	97	96	89
	1-13週	98	100	99	99	91	89	104	105	101	98	97	92
	回復1-4週	98	100	97	97	97	98	105	98	106	102	110	110
食餌効率	1-4週	105	103	101	101	97	92	98	103	103	97	92	83
	1-13週	102	100	102	98	96	87	98	100	99	97	89	81
	回復1-4週	81	127	109	105	136	164	102	80	100	135	115	190

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

統計検定実施せず。

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；摂餌量及び投与濃度から算出した1日の平均検体摂取量を以下の表に示す。

群 (ppm)		10	20	100	500	1000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.8	1.5	7.8	39.4	81.8
	雌	0.9	1.7	8.4	43.9	91.5

血液学的検査；3ヵ月投与期間終了時及び1ヵ月回復期間終了時に尾静脈から採取し、赤血球、白血球、ヘマトクリット値、網状赤血球、ヘモグロビン、血小板、白血球分画、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量濃度を測定した。

下表に对照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄							雌						
	安定剤	10	20	100	500	1000		安定剤	10	20	100	500	1000	
						投与後	回復後						投与後	回復後
ヘマトクリット	100	97	100	103	101	100	99	101	98	98	98	101	↓95	94
リンパ球	110	104	108	103	103	107	91	99	100	101	94	100	99	↓90
分葉球	72	85	77	88	91	74	132	117	111	103	135	107	115	↑148

表中の数値は对照群値に対する変動率 (%)を表わす。

t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

1000 ppmの雌においてのみ投与期間中にヘマトクリット値の低下が、回復期間中にリンパ球の低値及び分葉球の高値が認められた。いずれの変化も軽微であり、また個別値は正常範囲であったため、投与との関連性は疑わしいと考えた。

血液生化学検査；投与期間終了時、回復期間終了時に心臓穿刺によって採血し、GOT、GPT、ATP、A/G比、血糖、総蛋白、尿素窒素、コレステロール、Na、K、Cl、クレアチニン、総ビリルビン、血清・赤血球・脳コリンエステラーゼ(ChE)を測定した。

下表に对照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

性別	雄							雌						
	安定剤	10	20	100	500	1000	安定剤	10	20	100	500	1000		
投与 終了時	血糖	104	98	92	94	↓82	↓75	105	107	107	96	↓88	↓87	
	総蛋白	100	99	102	97	↓96	↓93	99	100	97	97	↓96	↓92	
	血清ChE	95	95	95	89	↓88	↓83	109	102	97	82	↓77	↓69	
	赤血球ChE	98	103	95	93	↓91	↓76	103	106	109	90	↓91	↓86	
回復 期間後	血清ChE	93	110	110	107	100	90	129	102	99	98	89	↓74	

表中の数値は对照群値に対する変動率 (%)を表わす。

t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

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。

投与期間終了時の500及び1000 ppmの雌雄において血糖、総蛋白の低値がみられた。また、500及び1000 ppmの雌雄で血清及び赤血球ChE活性が低下した。いずれの変動も投与中止により回復したが、雌の血清ChE活性のみ回復がやや遅れる傾向を示した。しかしながら、組織学的所見には肝実質障害は認められなかった。

尿検査； 投与期間終了時、回復期間終了時に全動物の12時間尿を採取し潜血、ケトン体、糖、ビリルビン、比重、蛋白、pH、ウロビリノーゲン、K⁺、Na⁺、沈渣を検査した。特記すべき所見は認められなかった。

眼科学的検査；試験開始の前日、投与期間終了時、回復期間終了時に全生存動物について眼底検査と角膜検査を実施した。特記すべき所見は認められなかった。

臓器重量；解剖後、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、胸腺、甲状腺、下垂体、膵臓、精巣、精囊、前立腺、子宮及び卵巣の重量を測定し、対体重比も算出した。

以下に対照群と比して統計学的有意差を示した項目を表記する。

性別		雄						雌						
		安定剤	10	20	100	500	1000	安定剤	10	20	100	500	1000	
投与終了時	脳	相対	100	104	102	104	↑115	↑122	97	96	100	101	↑110	↑121
	心臓	絶対	101	98	103	94	↓88	↓83	100	102	102	98	97	95
		相対	103	100	103	100	100	103	97	97	103	100	106	↑115
	肺	絶対	101	96	98	96	102	↓83	99	101	97	94	↓92	↓83
		相対	100	95	98	98	↑112	100	96	98	98	96	102	100
	肝臓	絶対	107	104	103	99	93	↓74	106	105	105	102	95	90
		相対	108	106	104	103	104	↓92	102	101	107	103	105	↑108
	脾臓	絶対	92	92	106	89	84	↓63	94	100	96	88	↓82	82
		相対	93	93	107	93	93	↓80	95	100	100	95	95	100
	腎臓(右)	絶対	104	106	104	101	98	↓86	101	102	102	99	96	↓91
		相対	103	106	103	103	↑109	106	100	97	106	100	106	↑108
	腎臓(左)	絶対	103	104	102	100	98	↓83	102	102	105	101	96	94
		相対	103	106	103	103	↑112	103	97	97	103	103	103	↑114

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。
t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

臓器重量表 (続き)

性別		雄						雌						
		安定剤	10	20	100	500	1000	安定剤	10	20	100	500	1000	
投与終了時	精巣(右)	絶対	102	100	104	98	96	94	—	—	—	—	—	—
		相対	103	103	105	103	110	↑115	—	—	—	—	—	—
	精巣(左)	絶対	101	100	105	96	95	↓91	—	—	—	—	—	—
		相対	103	103	108	103	108	↑113	—	—	—	—	—	—
	副腎(右)	絶対	108	97	109	105	100	↓83	105	108	103	101	99	↓86
	副腎(左)	絶対	100	97	108	100	93	↓83	107	103	104	101	101	↓89
	胸腺	絶対	84	80	84	81	84	↓61	96	104	110	109	103	92
	甲状腺	相対	119	114	111	120	139	143	99	103	103	103	108	111
	下垂体	絶対	107	108	111	107	110	86	95	109	106	99	97	90
		相対	107	109	110	110	124	106	92	103	106	100	106	107
膵臓	絶対	107	103	104	97	87	77	95	113	107	96	100	93	
精囊	絶対	110	112	103	105	102	80	—	—	—	—	—	—	
回復期間後	脳	相対	98	98	96	100	102	104	102	97	103	105	106	↑112
	脾臓	絶対	94	110	96	104	↓87	↓91	102	96	111	108	91	91
	腎臓(右)	絶対	96	98	94	97	97	↓87	100	94	106	103	96	98
	卵巣(右)	相対	—	—	—	—	—	—	101	105	95	94	↑116	↑122
	卵巣(左)	相対	—	—	—	—	—	—	104	116	105	103	111	↑125
	副腎(右)	絶対	110	115	88	109	107	99	90	94	91	90	↓87	84
	副腎(左)	絶対	104	112	104	106	103	92	92	95	92	89	↓84	86
	甲状腺	相対	137	123	100	120	102	98	99	120	106	106	↑133	↑149
	下垂体	相対	87	110	89	91	94	100	101	118	106	106	103	↑131
	膵臓	絶対	92	90	90	92	92	↓84	109	111	104	109	108	113
相対		89	84	84	89	89	89	111	105	105	116	↑116	↑126	

表中の数値は対照群値に対する変動率(%)を表わす。

t検定 ↑↓: p < 0.05、↑↓: p < 0.01、↑↓: p < 0.001

雌雄の500及び1000 ppm投与群において、様々な臓器の絶対重量の低下並びに相対重量の増加が認められた。しかしながら血液及び病理組織学的検査では関連する変化は認められず、臓器重量の変動は体重増加抑制による二次的影響であると考えられた。これらの増減は、休薬期間後にほとんど正常範囲まで回復した。

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。

病理組織学的検査；投与期間終了時及び回復期間終了時に、重量測定臓器に加え、胃、腸、腸間膜リンパ節、皮膚、大腿骨骨髓、骨格筋(大腿筋)、坐骨神経、脊髓、眼球を採材して病理標本を作成し検鏡した。

検体の投与に由来すると考えられる格別の所見は認められなかった。

以上の結果から本剤のラットにおける3ヵ月及び1ヵ月回復による亜急性毒性試験の最大無作用量は100 ppm (雄: 7.8 mg/kg/day、雌: 8.4 mg/kg/day)であると判断された。

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。

8.4.2 ラットにおける90日間亜急性毒性試験（資料No. T-2.2）

検体純度：

試験動物： Charles River CD系ラット、1群雌雄各25匹、開始時6週齢

試験期間： 90日

投与方法： 検体をアセトンに溶解して、0、10、20及び500 ppmの濃度で混入し、90日間におたって随時摂食させた。飼料は1週間に1回調製した。

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。

特記すべき所見は認められなかった。

体重変化；毎週1回測定した。

特記すべき変化は認められなかった。

摂餌量；週に1回測定した。

有意差の認められた週を、以下の表に示す。

性別	雄			雌		
	10	20	500	10	20	500
投与週／投与量(ppm)						
1週	99	96	98	100	↓96	106
3週	↑107	↑106	103	↓92	↓92	↓86
4週	102	106	↑123	99	↑117	↑119
5週	97	100	97	99	↑106	97
6週	↑113	95	↑109	91	90	↓77
7週	98	93	↑115	99	107	↑124
8週	↑110	↑115	↑111	↑125	↑129	↑119
9週	↓95	↓88	99	↓91	92	↓91
10週	97	92	94	↑125	↑114	↑119
11週	101	100	105	↓100	106	106
12週	↓96	↑105	↑120	101	102	102
13週	96	↑118	↑123	106	105	114

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重区間検定 ↑↓ : p < 0.05

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。

いくらかの週で有意差な増減が示されたが、いずれも散発性であり投与量との相関性も認められなかったため、偶発性の変化と判断した。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日の平均検体摂取量を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		10	20	500
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.7	1.5	38.0
	雌	0.9	1.8	46.0

血液学的検査；投与開始30日目及び試験終了時に、各群雌雄各10匹から眼窩静脈洞穿刺法によって採血し、赤血球数、白血球数、白血球百分率、網状赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、血小板及びトロンボプラスチン時間の算定を行った。有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
検査項目／投与量(ppm)		10	20	500	10	20	500
30日	ヘモグロビン	100	99	100	103	↓97	100
	ヘマトクリット	101	99	101	102	↓97	100
	赤血球	102	101	101	100	↓96	99
	網状赤血球	↑152	↑132	↑139	111	140	106
	血小板	107	↑124	↑126	98	98	101
	単球	125	100	225	33	↑400	↑300

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重区間検定 ↑↓ : p < 0.05

30日目の検査時においていくつかのパラメーターに有意な変動がみられたが、いずれも用量との相関性がないか雌雄間の変動に一貫性がなく、また試験終了時の検査では有意差が認められなかったため、偶発性の変化と判断した。

血液生化学検査；投与開始30日目及び試験終了時に各群雌雄各10匹から眼窩静脈洞穿刺法によって採血し、血糖、総蛋白、アルブミン、直接・総ビリルビン、コレステロール、BUN、ALP、GPT、総LDH及びアイソザイム、Na、K、Ca及びMgを測定した。有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
検査項目／投与量(ppm)		10	20	500	10	20	500
30日	血糖	96	100	↓89	104	108	107
	直接ビリルビン	83	↓69	↓75	107	100	93
	総ビリルビン	98	↓83	↓83	90	98	96
	Na	99	100	100	↑101	↑102	↑102
	総LDH	88	84	↑137	94	71	76
	LDH2	94	↓56	180	95	94	101
	LDH3	82	53	↑160	89	77	81
90日	総LDH	114	105	93	71	74	↓58
	LDH1	98	93	125	96	↓71	135
	LDH2	117	↑353	212	151	128	184

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重区間検定、LDHは多重t検定のBonferroniの補正式 ↑↓ : p < 0.05

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。

500 ppm投与群の雌において、試験終了時の総LDH値が有意に低下した。その他の有意な変動は用量との関連性がなく、偶発性の変化と考えられた。

コリンエステラーゼ活性測定；馴化期間中、投与開始30、60及び90日目に血漿及び血球コリンエステラーゼ(ChE)活性を測定した。最終解剖時には脳ChE活性も測定した。

有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
検査項目／投与量(ppm)		10	20	500	10	20	500
60日	血球ChE	96	97	↓87	96	95	83
	血漿ChE	98	105	↓78	94	94	↓67
90日	血漿ChE	95	89	↓57	92	89	↓73
	脳ChE	97	104	↓61	94	98	↓41

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較 ↑↓ : p < 0.05

投与60日の測定時に500 ppm投与群の雄の血球ChE値有意に低下し、雌雄における血漿、血球及び脳ChE値が投与90日目の測定で有意に低下した。

尿検査； 馴化期間中、投与開始30日目及び試験終了時に各群雌雄各10匹の尿を採取し、外観、pH、比重、尿蛋白、尿糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血及び沈渣を検査した。

有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別		雄			雌		
検査項目／投与量(ppm)		10	20	500	10	20	500
90日	比重	99	99	↓87	↓88	91	↓84
	ウロビリノーゲン	↓0	88	↓0	0	0	0
	潜血	↓69	↓69	144	322	211	467
	白血球	72	↓44	128	↑149	↑124	↑222

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重区間検定 ↑↓ : p < 0.05

500 ppm投与群の雌雄において尿比重が有意に低下した。その他の有意な変動は用量関連性がなく、偶発性の変化と考えられた。

眼科学的検査； 馴化期間中及び試験終了前に全動物について眼底検査をした。

特記すべき所見は認められなかった。

臓器重量； 試験終了の剖検時に肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、精巣、卵巣及び脳の重量を測定し、対体重比も算出した。

特記すべき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。

病理組織学的検査；試験終了時に、重量測定臓器に加え、下垂体、眼、甲状腺、腸間膜リンパ節、頸リンパ節、胸腺、気管、胸骨、副腎、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、子宮、子宮頸、坐骨神経、乳腺、脊髄、脾臓、膀胱、皮膚、骨格筋、病変部位及び腫瘤を採材し、組織切片について病理標本を作成し検鏡した。

有意差の認められた所見を以下の表に示す。

性別	雄				雌			
	0	10	20	500	0	10	20	500
所見／投与量(ppm)								
膀胱 検査数	25	25	25	24	25	25	25	24
腔内蛋白質プラグ	11	5	1**	6	0	0	0	0
頸部リンパ節 検査数	25	25	25	25	25	24	25	24
リンパ球過形成	11	10	7	4*	10	6	6	5
うっ血	9	9	7	2*	10	3*	9	0**

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ [統計検定は申請者で実施]

いずれも用量との関連性がなく、検体の投与に由来すると考えられる所見は認められなかった。

以上の結果から本剤のラットにおける90日間亜急性毒性試験の最大無作用量は20 ppm (雄: 1.5 mg/kg/day、雌: 1.8 mg/kg/day)であると判断された。

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。

8.4.3 イヌの14週間亜急性毒性試験 (資料No. T-2.3)

検体純度：

動物試験： ビーグル犬、雌雄各4匹
体重範囲；雄6.7～7.6 kg、雌7.1～7.8 kg

試験期間： 98日間

投与方法： 下記に示す通り、カルボスルファン原体を混餌またはカプセルによって投与した。
第6週及び第12週は6日間の投与休止期間のため、検体の投与を行わなかった。

群	イヌの個体数		混餌投与レベル (ppm)		投与レベル (mg/kg/day)
	雄	雌	第1～5週	第7～11週	第13～14週
I	1	1	0 (対照)	0 (対照)	0 (対照群)
II	1	1	50	1000	25
III	1	1	250	2000	50
IV	1	1	500	500	12.5

第1～5週及び7～11週ではカルボスルファン原体はアセトンに溶解して混餌投与した。第13週及び14週ではカルボスルファン原体をゼラチンカプセルで投与した。カプセルは毎日、投与直前に調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般行動、外観及び死亡の有無を毎日観察した。

試験期間中、イヌの死亡はなかった。全ての投与群に軽微な唾液過多及び嘔吐がしばしば観察された。

投与レベル12.5 mg/kg/dayにおいて、軽微～中等度の振戦が観察された。

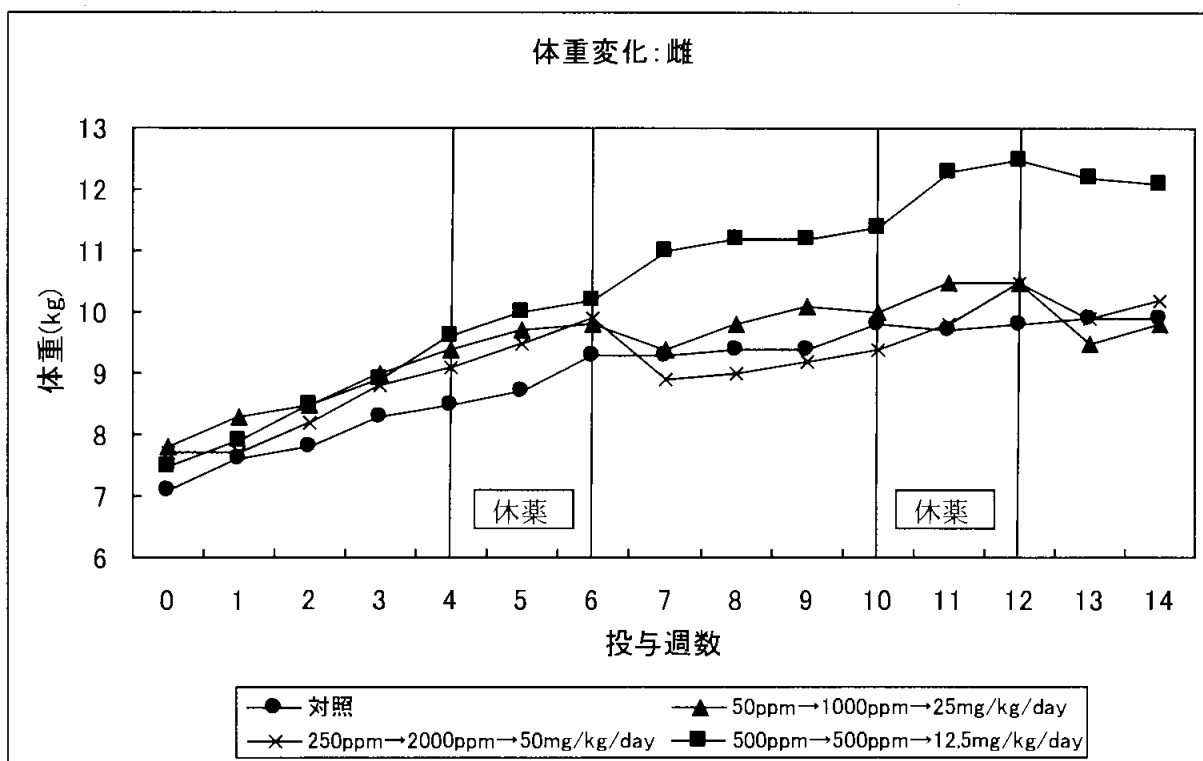
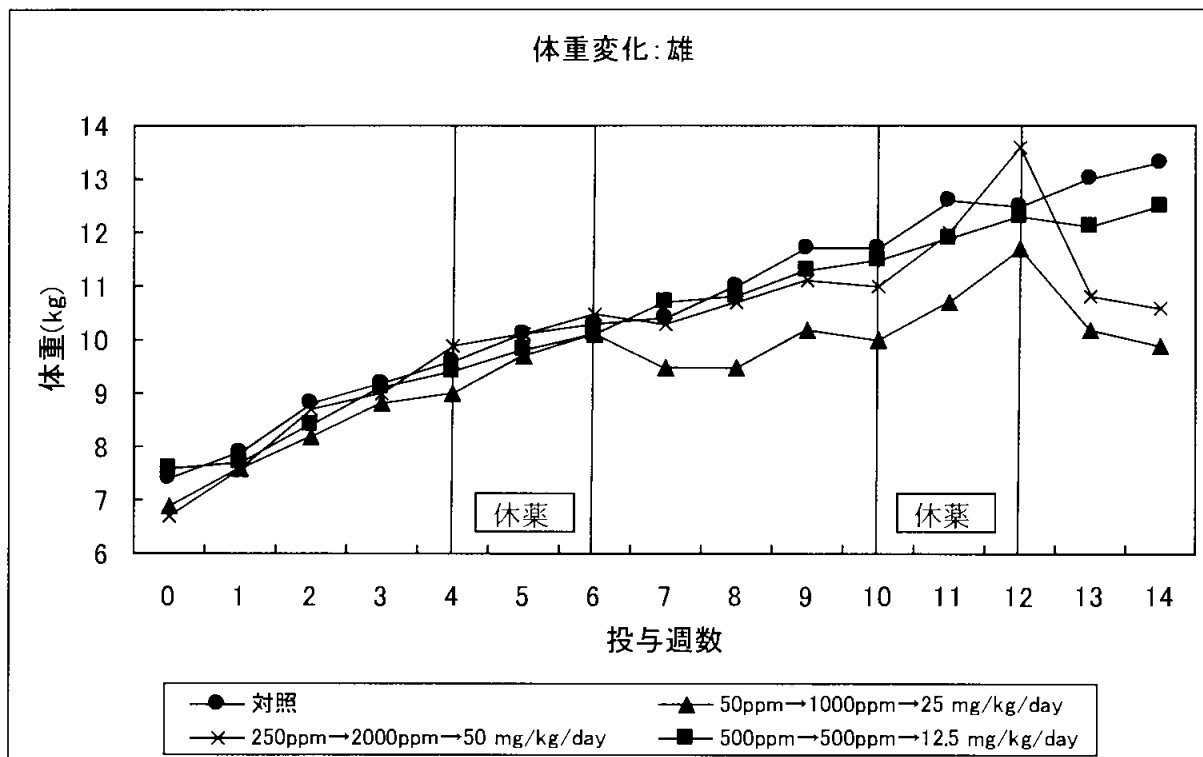
混餌投与レベル1000及び2000 ppmにおいて軽微な振戦が観察された。

投与レベルを25 mg/kg/day及び50 mg/kg/dayに変更した際、軽微～中程度の振戦が観察された。

投与レベル12.5 mg/kg/dayの1匹、投与レベル25 mg/kg/dayの2匹及び投与レベル50 mg/kg/dayの2匹において、軽微～中程度の運動失調が観察された。

50 mg/kg/dayを摂取した2匹では軽微な瞳孔縮小も観察された。

体重変化；投与開始時及びその後週1回測定した。体重変化をグラフで示す。



試験開始から第12週 (混餌投与期間)までは対照群、投与群とも全てのイヌで体重が増加した。第13週と14週において、投与レベル12.5 mg/kg/dayのイヌは全般的に体重を維持し、投与レベル25及び50 mg/kg/dayのイヌの体重は軽微～中程度に減少した。

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。

摂餌量； 各動物の摂餌量を毎日測定した。

摂餌量は通常、投与量の変更に従い1～2週間減少し、その後正常な摂餌量に回復した。

コリンエステラーゼ活性；試験4週、8週、11週、12週及び14週目に、全てのイヌについて赤血球及び血漿コリンエステラーゼ活性を測定した。また、剖検時に採取した標本で脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

コリンエステラーゼ活性に変動傾向の認められた週の数値を下記の表に示す。

投与量 (mg/kg/day)	性別	血漿 (u/mL)	赤血球 (u/mL)	脳 (u/g)	
14週目	0	雄	10.2	8.4	3.2
		雌	8.8	7.4	3.9
	12.5	雄	7.5	6.0	3.6
		雌	3.5	5.0	4.0
	25	雄	2.1	5.7	3.0
		雌	2.9	5.4	1.7
	50	雄	2.4	4.7	2.2
		雌	7.5	5.7	3.4

混餌投与した12週目までは、検体はコリンエステラーゼ活性に対し影響を与えなかった。検体のカプセル投与2週間後に、全ての投与群のイヌにおいて、赤血球コリンエステラーゼ活性がやや低下した。血漿コリンエステラーゼ活性は、50 mg/kg/day投与群の雄、12.5 mg/kg/day投与群の雌及び25 mg/kg/day投与群の雌雄において中等度～高度の低下がみられた。脳コリンエステラーゼ活性は、25 mg/kg/day投与群の雌及び50 mg/kg/day投与群の雄で減少がみられた。

病理学的検査；検体投与最終日に、全てのイヌの剖検を行った。剖検では腹部、胸郭及び頭蓋の臓器を自然位で検査し、摘出後再度検査した。個々のイヌから採取した組織標本と臓器は10%ホルマリン溶液中で固定した。

試験群のイヌの剖検において観察された肉眼的病変は、無投与の同齢のビーグルに一般的にみられるものであり、カルボスルファン原体投与に関連すると考えられる肉眼的病変は観察されなかった。

[申請者見解]

本試験における最低投与量群においても症状が認められたことから、本試験において最大無作用量は設定できなかった。なおイヌ6ヶ月亜急性毒性試験では、本試験の結果に基づき投与量を0、50、500及び2000 ppmと設定して試験を実施し、最大無作用量は50 ppm (雄：1.7 mg/kg/day、雌：2.0 mg/kg/day)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。

8.4.4 マウスにおける3ヵ月亜急性毒性試験 (資料No. T-2.4)

検体純度：

試験動物： Jcl：ICR系マウス、4週齢入荷時体重 雄26.5～32.5 g、雌23.1～27.2 g、
投与開始時5週齢、1群雌雄各30匹（主群雌雄各20匹、中間解剖群雌雄各10匹）

試験期間： 3ヵ月、投与後5及び9週目に各群雌雄各5匹を中間屠殺した。

投与方法： 検体をアセトンに溶解して、0、9、20、100、500及び1120 ppmの濃度で混入し、3ヵ月間にわたって随時摂食させた。さらに検体の安定剤であるエポキシ化大豆油50 ppm群を設けた。検体ならびに安定剤を混入した飼料は1週間に1回調製した。

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。

一般状態では500及び1120 ppm投与群で自発運動の減少がみられた。いずれの群においても死亡は認められなかった。

体重変化； 毎週1回測定した。最終週の体重及び増体量を以下の表に示す。

性別	雄						雌					
	安定剤	9	20	100	500	1120	安定剤	9	20	100	500	1120
13週	99	98	98	↓93	↓92	↓86	101	102	101	98	↓93	↓90
1-13週	99	93	92	↓81	↓71	↓61	107	111	106	97	↓74	↓65

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

t検定 ↑↓：p < 0.05、↑↓：p < 0.01、↑↓：p < 0.001

投与1週目から、1120及び500 ppm投与群の雌雄、及び100 ppm投与群の雄で統計学的に有意な体重増加抑制が認められた。

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

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を毎週1回測定し食餌効率も算出した。

以下の表に、各期間の平均摂餌量及び摂餌効率を示す。

性別		雄						雌					
投与量 (ppm)		安定剤	9	20	100	500	1120	安定剤	9	20	100	500	1120
摂餌量	0-5週	106	99	↑105	↓94	94	↓82	100	↑110	110	↑110	92	85
	0-9週	104	99	↑108	↓94	95	↓85	101	↑110	↑112	109	98	92
	0-13週	102	100	↑107	↓96	↓96	↓86	103	↑108	↑111	105	98	93
摂餌効率	0-5週	93	97	89	82	72	62	93	103	98	91	71	56
	0-9週	95	96	87	86	80	74	134	125	120	129	118	96
	0-13週	97	92	85	85	74	70	104	103	96	92	82	69

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

摂餌量はt検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001、摂餌効率は検定せず

摂餌量は雄の20 ppm投与群では有意に増加、100、500および1120ppm投与群で有意に減少した。雌の500及び1120ppm投与群では減少傾向を示したが、有意な差ではなかった。雌の9及び20ppm投与群で摂餌量が対照群と比べ増加した。また、摂餌効率は雌雄ともに用量に関連して低下傾向を示した。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量を以下に示す。

群 (ppm)		9	20	100	500	1120
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.16	2.76	12.81	65.93	140.00
	雌	1.52	3.48	16.86	80.80	176.21

血液学的検査；投与後13週目の解剖前に、各群雌雄各20匹の尾静脈から採取し、RBC、WBC、Ht、Hb、白血球分画、血小板、網赤血球を測定した。

全検査項目について各投与群雌雄とも異常は認められなかった。

血液生化学検査；投与後13週目に各群雌雄各10匹を解剖し、右心室より採取した血液から血清を分離し、GOT、GPT、ALP、A/G、血糖、TP、BUN、コレステロール、Na、K、Clを測定した。さらに、投与後5週及び9週目に各群雌雄各5匹、投与後13週目に各群雌雄各10匹を解剖し、血清、血球及び脳コリンエステラーゼを測定した。下表に対照群と比べ、統計学的有意差のみられた項目を示す。

血液生化学検査値

性別	雄						雌					
	安定剤	9	20	100	500	1120	安定剤	9	20	100	500	1120
投与量(ppm)												
GOT	100	101	92	102	95	113	136	106	98	95	95	↑120
ALP	101	98	99	108	114	↑125	115	100	100	101	↑132	↑163
血糖	108	102	104	103	98	97	95	99	95	91	90	↓87
コレステロール	103	100	104	98	107	↑114	98	100	98	110	103	↑114
K	99	94	93	94	103	↓89	99	96	94	97	104	99

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

1120ppm投与群の雌雄においてALP及びコレステロール値が、雌のみでGOTが対照群と比較して有意に上昇した。これは大量投与が肝臓の解毒機能に作用した結果であると考えられた。

[申請者注]

「1120ppm投与群の雌雄においてALP及びコレステロール値が、雌のみでGOTが対照群と比較して有意に上昇した。これは大量投与が肝臓の解毒機能に作用した結果であると考えられた。」の記載については正確さを欠く表現であると判断される。

1120あるいは500ppm投与群の雌雄に認められたALP及びコレステロール値の増加については、その発生メカニズムを明らかにできなかったが、被験物質投与に関連したものであると考えられる。1120ppm投与群の雌に認められたGOTの増加については、肝臓の病理組織学的検査及び臓器重量測定において本変化に関連づけられる異常は認められなかったことから偶発性の変化と考えられる。

雌の1120 ppm投与群で認められた血糖値の低下は、摂餌量及び体重の低下を反映した変化と考えられた。雄の1120 ppm投与群で認められたKの低下は軽微であり、また用量との関連性がないため、偶発性の変化と考えられる。

コリンエステラーゼ測定値

性別	雄						雌						
	安定剤	9	20	100	500	1120	安定剤	9	20	100	500	1120	
投与量(ppm)													
5週	血清ChE	—	97	102	107	106	92	—	107	102	108	106	94
	血球ChE	—	92	84	90	95	78	—	105	108	105	101	108
	脳ChE	—	86	98	109	115	102	—	103	101	111	111	112
9週	血清ChE	—	92	96	100	94	↓69	—	95	97	97	89	89
	血球ChE	—	97	92	104	95	72	—	102	110	95	118	88
	脳ChE	—	102	98	101	93	95	—	94	103	111	96	96
13週	血清ChE	98	98	98	103	100	↓85	105	97	96	94	92	↓79
	血球ChE	95	93	96	97	88	↓78	93	87	104	103	90	85
	脳ChE	95	101	108	107	100	104	88	104	110	103	95	102

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

1120 ppm投与群において、9週の雄の血清ChE、13週の雌雄の血清ChE及び雄の血球ChE活性が有意に低下した。

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。

尿検査；投与後13週目の解剖前に腹部圧迫により採取した尿を使用し、潜血、ケトン、尿糖、蛋白、pH、ウロビリノーゲン及びビリルビンを検査した。
特記すべき所見は認められなかった。

眼科学的検査；投与後13週目の解剖直前に、0及び1120 ppm投与群の雌雄各20匹についてアトロピンで散瞳後、直像鏡を用いて眼底検査を行った。
特記すべき所見は認められなかった。

臓器重量；投与後13週目の解剖後、脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣及び子宮の重量を測定し、対体重比も算出した。以下に对照群と比して統計学的有意差を示した項目を表記する。

性別	投与量(ppm)	雄						雌					
		安定剤	9	20	100	500	1120	安定剤	9	20	100	500	1120
脳	絶対	100	99	101	↑107	↑109	↑113	102	99	99	102	103	↑108
	相対	108	85	105	↓86	95	↓80	95	94	92	91	↓81	↓78
下垂体	絶対	110	87	105	92	104	93	97	94	92	94	↓84	87
	相対	94	107	83	78	88	83	97	104	96	91	↓74	↓78
甲状腺	絶対	96	108	84	83	95	96	98	105	95	95	↓76	87
	相対	93	94	98	88	↓76	↓83	95	102	94	95	91	84
胸腺	絶対	96	96	99	94	↓83	97	95	103	92	97	94	92
	相対	95	95	95	↓86	↓90	↓86	100	100	100	↓93	93	↓87
心臓	絶対	↓92	96	92	96	↓92	↓92	95	100	95	↓90	100	↓90
	相対	98	92	102	↓95	99	↓90	101	99	98	96	104	↓90
肺	絶対	100	94	102	102	↑107	103	101	98	96	98	106	99
	相対	97	103	106	111	↑108	↓92	100	100	100	96	96	↓91
肝臓	絶対	99	106	106	↑118	↑118	↑107	100	101	97	100	100	100
	相対	94	100	100	103	↑111	↓91	100	100	100	100	100	↓95
腎臓(右)	絶対	98	102	101	↑109	↑119	106	100	100	96	103	101	103
	相対	95	96	84	88	95	81	101	103	88	91	↓84	↓84
腎臓(左)	絶対	89	94	89	85	100	↓76	97	99	95	↓84	89	90
	相対	94	94	94	↓88	↓82	↓88	—	—	—	—	—	—
副腎(右)	絶対	94	94	100	↓88	↓88	94	—	—	—	—	—	—
	相対	105	118	118	↑134	103	↑137	—	—	—	—	—	—
副腎(左)	絶対	—	—	—	—	—	—	95	91	92	↓84	82	73
	相対	—	—	—	—	—	—	96	90	91	↓87	↓84	↓80
精巣(右)	絶対	—	—	—	—	—	—	95	95	97	↓89	↓86	↓70
	相対	—	—	—	—	—	—	96	94	96	92	89	↓77
精巣(左)	絶対	—	—	—	—	—	—	89	94	100	94	↓78	↓78
	相対	—	—	—	—	—	—	93	96	100	100	↓82	86
前立腺	絶対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	相対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
卵巣(右)	絶対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	相対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
卵巣(左)	絶対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	相対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
子宮	絶対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	相対	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

表中の数値は对照群値に対する変動率 (%)を表わす。
t検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01、↑↓ : p < 0.001

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。

[申請者注]

500及び1120ppm投与群において様々な臓器で重量が有意に増減したが、血液学的検査や病理組織学的検査の結果に相関する変化はなく、体重減少に伴う二次的变化と考えられた。その他散発的に記録された有意差は用量関連性がなく、偶発的な変化と考えられた。

肉眼的病理検査；5週、9週及び13週日の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物を対照として検査を行った。

検体投与による所見は認められなかった。

病理組織学的検査；13週目解剖群について、重量測定臓器に加えて脾臓、膀胱、精巣上体、前立腺、子宮、大腿骨、皮膚、胃、十二指腸、回腸、盲腸、結腸、坐骨神経、脊髓、腸間膜リンパ節、眼球、大動脈弓、胆嚢、唾液腺、乳腺、食道、精嚢、気管及び肉眼的異常部位から採材した組織切片について病理標本を作成し検鏡した。

検体の投与に由来すると考えられる所見は認められなかった。

以上の結果から本剤のマウスにおける3ヵ月飼料混入による亜急性毒性試験の最大無作用量は20 ppm (雄：2.76 mg/kg/day、雌：3.48 mg/kg/day) 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。

8.4.5 ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与神経毒性試験（資料No. T-2.5）

検体純度：

供試動物： Sprague-Dawley CD系ラット、1群雌雄10匹、開始時43日齢

投与期間： 96日間（投与開始1995年3月6日～10日、投与終了1995年6月12日～16日）

投与方法： 検体をアセトンと混合し、0、20、1000および2000 ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって随時摂食させた。飼料中における被験物質の安定性が十分ではなかったため、飼料調製および新たな給餌を週に2回行った。

用量設定根拠；ラットを用いた28日間投与による神経毒性予備試験の結果にもとづき本試験の投与量を選択した。カルボスルファン原体を0、20、50、250、500、2000あるいは4000 ppmの濃度で添加した飼料をラット（各群雌雄各5匹）に28日間連続投与し、生死および一般状態を毎日観察した。体重を毎週測定し記録し、第28日にいずれの動物についても肉眼的に剖検した。投与に関連した死亡は認められなかった。2000および4000 ppm 投与群の雄で最も顕著に認められた一般状態の変化は眼球突出、着地開脚幅、歩行失調および振戦であった。これらの動物に認められたその他の一般状態の変化は腹部のグリップング、腹部・外陰部の汚染、脱毛、紅涙、着色鼻汁、角膜病変、排糞個数の減少、自発運動量の低下、脱水症、粗毛および発育不全であった。20、50、250および500 ppm投与群のラットにおける一般状態には投与に関連した変化は認められなかった。

2000および4000 ppm 投与群の雌雄および500 ppm 投与群の雄では試験期間を通して体重及び体重増加が有意に低かった。500 ppm投与群の雌では試験期間に低体重が間歇的に認められた。250 ppm投与群の雌の体重が第7日に有意に低かった。本予備試験の結果から、カルボスルファン原体のラットを用いた亜慢性神経毒性試験の投与量として0、20、1000および2000 ppmが示唆された。

観察・検査項目および結果：

死亡率； 動物の生死を1日2回観察した。

投与に関連した死亡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。

一般状態；一般状態を毎日観察した。投与に関連した一般状態の変化として、2000 ppm投与群の雌雄で振戦、眼球突出、紅涙、着色鼻汁、排糞個数の減少及び脱水症が認められた。2000 ppm投与群の雌において、腹部性器の汚染、下痢、ケージパンの赤褐色汚染及び発育不全が認められた。1000 ppm投与群の雌雄において紅涙と排糞個数の減少が認められ、1000 ppm投与群の雌において着色鼻汁、ケージパンの赤褐色汚染及び振戦が認められた。

これら所見の頻度を以下の表に示す。

性別	雄				雌			
	0	20	1000	2000	0	20	1000	2000
投与量 (ppm)	0	20	1000	2000	0	20	1000	2000
検査例数	10	10	10	10	10	10	10	10
外陰部着染					0	0	0	14
紅涙	0	0	1	5	26	0	5	33
鼻汁着染	0	0	0	5	0	0	3	42
排糞個数の減少	0	0	2	14	0	0	15	19
脱水症	0	0	0	5	0	0	0	5
下痢					0	0	0	1
眼球突出	0	0	0	5	0	0	0	155
ケージパンの赤褐色汚染					0	0	1	2
振戦	0	0	0	52	0	0	12	209
発育不全					0	0	0	11

体重変化；体重を無作為群分け日、その後の毎週、および剖検前に記録した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた週を下表に示す。

性別	雄			雌		
	20	1000	2000	20	1000	2000
投与量(ppm)	20	1000	2000	20	1000	2000
第1週		86↓	76↓		88↓	81↓
第2週		86↓	77↓		90↓	81↓
第3週		85↓	79↓		89↓	84↓
第4週		84↓	80↓		89↓	83↓
第5週		84↓	81↓		89↓	85↓
第6週		84↓	81↓		90↓	86↓
第7週		83↓	81↓		89↓	86↓
第8週		81↓	80↓		90↓	85↓
第9週		82↓	81↓			87↓
第10週		81↓	80↓		89↓	86↓
第11週		80↓	79↓		89↓	86↓
第12週		80↓	79↓		89↓	85↓
第13週		81↓	79↓		90↓	84↓
総増体量		65↓	62↓		74↓	54↓

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。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

Welchの傾向検定 (↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

1000 ppmおよび2000 ppm投与群の雌雄では、試験期間を通じて体重が低値で推移し、増体量も有意に低かった。20 ppm投与群の雌雄の体重には統計学的に有意な変化は認められなかった。

摂餌量； 飼料摂取量の計算を1週間単位で行った。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた週を下表に示す。

性別	雄			雌		
	20	1000	2000	20	1000	2000
投与量 (ppm)						
第1週		65↓	45↓		72↓	49↓
第2週			79↓			81↓
第3週		89↓	88↓			
第7週		91↓	93↓			
第8週		89↓	89↓			
第9週		90↓	91↓		115↑	106↑
第10週		89↓	87↓			
第11週		86↓	87↓			
第12週		89↓	88↓			
第13週		88↓	88↓			

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものの。

検定方法：Welchの傾向検定 (↓↑ : p<0.05、↑↓ : p<0.01)

雄においては1000 ppmおよび2000 ppm投与群で試験期間における飼料摂取量に有意な減少が認められた。雌においては1000 ppmおよび2000 ppm投与群で試験開始後の最初の2週間に有意な減少が、また第9週に有意な増加が認められた。20 ppm投与群の雌雄の飼料摂取量には統計学的に有意な変化は認められなかった。

投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与群 (ppm)	検体摂取量 (mg/kg/day)	
	雄	雌
20	1.2	1.4
1000	64.8	78.9
2000	130.7	152.4

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。

詳細な状態の観察；

全生存動物について投与開始前、第4週、第8週、および第13週に機能検査を行った。
以下の項目の観察を盲検法にて行った。

取り扱い易さ、流涙、眼脂の色調、眼瞼閉鎖、眼球突出、瞳孔の状態、瞳孔機能、流涎(程度)、流涎(色調)、紅涙、外観、被毛の外観、脱毛、立毛、覚醒状態、歩行障害、聴覚反応、正向反射、排糞個数、排尿プール数、着地開脚幅、前肢握力、後肢握力、テイルフリック試験、ホームケージにおける行動、ホームケージにおける歩行の詳細、オープンフィールドにおける行動、オープンフィールドにおける歩行の詳細

対照群と比較して統計学的有意差が認められた週と項目を下表に示す。

性別		雄			
検査項目	検査週	投与量 (ppm)			
		0	20	1000	2000
排尿プール数 ²⁾	13	0.80	1.00	0.22	0.20↓
着地開脚幅 (cm) ²⁾	4	7.50	7.25	7.08	6.08↓
	8	8.31	7.98	8.36	6.51↓
	13	7.59	7.54	6.79	5.67↓
後肢握力 (kg) ²⁾	8	1.175	0.988	1.026	0.907↓
性別		雌			
検査項目	検査週	投与量(ppm)			
		0	20	1000	2000
眼球突出 (例数) ¹⁾	4	0	0	0	6↑
軽度の歩行障害 (例数) ¹⁾	4	0	0	0	4↑

検定方法：Welchの傾向検定 (↓↑：p<0.05、↑↓：p<0.01)

雄においては2000 ppm投与群で第13週に排尿プール数の有意な減少、第4、8、および13週の着地開脚幅の減少、ならびに第8週の後肢握力の減少が認められた。雌においては2000 ppm投与群で第4週に眼球突出及び軽度の歩行障害例数の有意な増加が認められた。20 ppmおよび1000 ppm投与群雌雄の機能検査結果には統計学的に有意な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。

自発運動量；機能検査後に全動物について自発運動量を測定した。30分間運動量をコンピュータでモニターし、記録した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雌					
	4			13		
検査週						
群 (mg/kg)	20	1000	2000	20	1000	2000
自発運動量		74↓	75↓			58↓

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を示したもの。
検定方法：Welchの傾向検定 (↓： $p<0.05$)

雄では試験期間のいずれの時期にも有意な変化は認められなかった。

雌においては1000 ppmおよび2000 ppm投与群で第4週に自発運動量の有意な減少が認められた。2000 ppm投与群の雌では第13週にも自発運動量の有意な減少が認められた。20 ppm投与群の雌の自発運動量には有意な変化は認められなかった。

肉眼的病理検査；

第13週の自発運動測定後に各群雌雄各5匹をペントタールナトリウム麻酔下にグルタルアルデヒド/パラホルムアルデヒド緩衝液で灌流固定し、肉眼的病理検査を行った。投与に関連した肉眼的剖検所見は認められなかった。

病理組織学的検査；

高投与量群および対照群を対象に各群雌雄各5匹から得た以下の組織について病理学標本を作製し、検査した。

以下に記載する組織をパラフィン包埋し、薄切した後ヘマトキシリン・エオジンで染色して、検査した。加えて、同様に包埋し、薄切した後Luxol Fast Blue/Periodic Acid Schiff (LFB/PAS)で染色した標本も作製し、検査した。

- ・ 脳（前脳、大脳中心部と中脳、小脳と橋、および延髄）
- ・ 脊髄（頸部（C₂～C₄）および腰部（L₁～L₂）の横断面1箇所および斜断面1箇所）

以下に記載する組織については、パラフィン包埋し、薄切した後ヘマトキシリン・エオジンで染色して検査した。

- ・ 骨格筋（坐骨神経を除く左後肢の腓腹筋の横断面1箇所）

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。

以下に記載する組織についてはグリコメタアクリレート包埋し、約5 μm に薄切した。

- 坐骨神経（左後肢の大腿中部および坐骨切痕部の縦断面および横断面）
- 脛骨神経（左後肢の膝部の縦断面および横断面）
- 腓腹神経（左後肢の膝部の縦断面および横断面）
- ガッセル神経節（左側神経節の縦断面）
- 頸部および腰部の後根神経節（C4～C6およびL2～L4の縦断面）
- 頸部および腰部の後根（C4～C6およびL2～L4の縦断面）
- 頸部および腰部の前根（C4～C6およびL2～L4の縦断面）

高投与量群の動物の神経系組織には対照群と比較して投与に関連した病変は認められなかった。このことから、中投与量群および低投与量群についての神経病理学的検査を実施しなかった。

本試験条件下において、1000 ppmおよび2000 ppm投与群で、投与に関連した一般状態の変化、体重の減少、総体重増加量の減少、飼料摂取量および自発運動量の変化が認められた。従って本試験の条件下におけるカルボスルファン原体の神経毒性に対する無毒性量 (NOAEL)は20 ppm (雄：1.2 mg/kg/day、雌：1.4 mg/kg/day)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。

8.5 慢性毒性及び発がん性

8.5.1 イヌにおける6ヵ月慢性毒性試験（資料No. T-3.1）

検体純度：

試験動物： ビーグル系イヌ、1群雌雄各6匹、投与開始時6ヵ月齢。

試験期間： 6ヵ月

投与方法： 検体をアセトンに溶解して、0、50、500及び2000 ppmの濃度で飼料に混入した。
投与開始1週間後に2000 ppm投与群の雌が1匹死亡したため、投与量を1000 ppmに下げた。6ヵ月にわたって随時摂食させた。飼料は週に1回調製した。

試験項目及び結果：

一般症状及び死亡率；一般状態、挙動の異常、毒性徴候を毎日観察した。全動物に毎週1回触診を行った。試験終了時の死亡率を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		0	50	500	2000	1000
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0	0
	雌	0	0	0	17	0

試験開始後1週間目に2000 ppm投与群の雌1頭が死亡したため、高濃度投与群の検体濃度水準を1000 ppmに下げた。

観察された主な臨床所見を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	50	500	2000/ 1000	0	50	500	2000/ 1000
検査動物数	6	6	6	6	6	6	6	6
軟便/下痢	6	6	6	6	6	6	6	5
嘔吐	6	6	6	6	4	6	6	5
唾液過多	2	2	6*	6*	2	1	4	2
強膜充血	3	3	4	5	4	3	4	3
目脂	4	2	3	2	1	2	4	2
皮膚炎	1	5*	5*	4	3	1	1	1
脱毛	0	2	0	1	2	0	0	1

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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。

軟便、下痢及び嘔吐が散見されたが、これらの症状の発見傾向に投与用量との相関はなかった。[申請者注：雄の500及び2000/1000 ppmにおいて頻度が増加した唾液過多は、検体の作用機序と関連する所見であるため、投与による影響が疑われた。]

体重変化；週に1回測定した。投与後13及び26週時の体重を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	50	500	1000	50	500	1000
13週	104	96	98	95	97	90
26週	104	92	97	96	96	81

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

1000 ppmの雌に体重増加抑制がみられた。

摂餌量；週に1回測定した。

特記すべき変化は認められなかった。

検体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日の平均検体摂取量を以下の表に示す。

群 (ppm)		50	500	1000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.7	17.0	31.2
	雌	2.0	16.9	31.7

血液学的検査；毎月1回、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、赤血球数、白血球数、血小板数、白血球百分率、網状赤血球数、MCV、MCH及びMCHCを測定した。

有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		50	500	1000	50	500	1000
1ヵ月	白血球数	86	↓79	93	100	84	94
	MCHC	101	101	100	101	↑102	101
	血小板数	99	88	88	113	↓92	93
	分葉好中球	111	100	116	109	95	↓92
	非分葉好中球	87	53	33	140	↓40	240
	リンパ球	82	100	83	↓85	111	103
	単球	131	▼41	▼31	194	135	212
2ヵ月	赤血球数	93	90	93	▼93	▼93	▼90
	ヘモグロビン	96	93	98	↓91	95	↓90
	ヘマトクリット	96	95	98	↓92	96	↓91
	MCV	103	↑105	↑105	99	103	102
	MCH	104	103	↑104	98	102	101
	MCHC	101	↓98	99	99	99	99
	網状赤血球	↓12	↓12	↓18	1000	350	100
	単球	↑188	140	92	80	120	154

血液学的検査結果 (続き)

投与量 (ppm)		雄			雌		
		50	500	1000	50	500	1000
3ヵ月	MCHC	100	101	100	102	101	↑102
	網状赤血球	63	↓18	30	120	80	160
	リンパ球	↓73	94	81	107	112	127
	単球	↑209	152	↑196	106	129	80
4ヵ月	赤血球数	94	▼89	▼88	94	96	96
	ヘモグロビン	96	▼90	▼89	94	97	96
	ヘマトクリット	96	▼91	▼90	94	97	97
	網状赤血球	61	↓49	↓45	63	↓54	↓41
	好酸球	82	150	↑207	92	112	152
5ヵ月	白血球数	97	95	111	↓79	98	120
6ヶ月	赤血球数	95	↓91	↓91	95	94	↓91
	ヘモグロビン	96	▼90	▼92	95	95	92
	ヘマトクリット	97	↓93	94	95	95	93
	MCV	102	103	↑104	100	102	102
	MCHC	98	▼96	▼97	99	100	99

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ↑ ↓ : p < 0.05、▲▼ : p < 0.01

有意差が認められたいずれの項目も一時的あるいは用量との相関性がないため、偶発性の変化と考えられた。

血液生化学検査；毎月1回糖、尿素窒素、血清GOT、アルブミン、血清GPT、総蛋白、カルシウム、コレステロール、総ビリルビン、クレアチニン、LDH、無機リン、Na、CL、グロブリン、Mg、プロトロンビン時間、部分トロンボプラスチン時間、アルカリホスファターゼを測定した。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		50	500	1000	50	500	1000
1ヵ月	総蛋白	99	98	▼90	94	▼88	▼89
	グロブリン	99	100	▼85	↓91	▼82	▼81
2ヵ月	総蛋白	100	98	↓91	100	93	89
	アルブミン	98	95	▼91	98	94	▼93
	グロブリン	102	102	92	100	91	▼81
3ヵ月	総蛋白	102	99	95	98	▼91	▼93
	アルブミン	100	94	↓91	98	93	94
	グロブリン	86	86	82	98	▼89	↓89
4ヵ月	総蛋白	128	97	89	95	93	↓88
	アルブミン	99	↓93	▼86	98	94	93
	グロブリン	163	103	93	92	93	↓84
5ヵ月	総蛋白	101	103	95	97	93	↓92
	アルブミン	101	98	↓92	103	98	99
	グロブリン	102	109	98	92	90	↓85

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ↑ ↓ : 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。

1000 ppmで投与開始後5ヵ月間まで雄のアルブミン量低下、雌のグロブリン量低下がみられたが、試験終了時には回復した。

コリンエステラーゼ活性測定；試験開始1、3及び6ヵ月目に血漿及び血球コリンエステラーゼ(ChE)、6ヵ月目に脳ChEを測定した。下表に測定結果を示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		50	500	1000	50	500	1000
1ヵ月	血漿ChE	99	↓70	↓66	101	↓73	↓56
	赤血球ChE	↑111	87	↓79	↑114	89	↓83
3ヵ月	血漿ChE	93	↓64	↓55	91	79	↓61
	赤血球ChE	110	↓86	↓82	106	96	↓75
6ヵ月	血漿ChE	94	↓67	↓56	103	71	↓57
	赤血球ChE	97	71	66	115	100	89
	脳ChE	108	94	79	75	73	↓62

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ↑ ↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01

検体は血漿コリンエステラーゼ活性には影響を及ぼすが脳コリンエステラーゼ活性にはさらに軽微な影響を及ぼすにすぎず、さらにこの阻害の程度は検体曝露期間に相関して減衰した。

尿検査； 2ヵ月毎に色調、外観、比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硫酸塩、ウロビリノーゲンを検査した。
特記すべき所見は認められなかった。

眼科学的検査；試験終了時に眼検査をした。

特記すべき所見は認められなかった。

臓器重量；試験終了時、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、下垂体、精巣、子宮及び上皮小体を含む甲状腺の重量を測定し、対体重比も算出した。以下に対照群と比して統計学的有意差を示した項目を示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		50	500	1000	50	500	1000
脾臓	絶対	78	60	↓67	80	69	↓61
	相対	75	↓63	↓65	84	68	70
副腎	相対	100	111	133	100	120	↑150
甲状腺	相対	113	125	100	↑109	91	109
精巣	相対	↓91	110	100	—	—	—

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ↑ ↓ : 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。

[申請者見解：雌雄の500 ppm以上の投与群において副腎で認められた相対重量増加及び増加傾向は、検体投与によるストレスと関連する変化であり、検体投与の一時的な影響ではないと判断した。その他の有意な増減は用量との関連性がないため、偶発性の変動と考えた。]

病理組織学的検査；試験終了時に重量測定臓器に加えて、眼及び近接するハーダー腺、大動脈、胆嚢、気管、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、頸部及び腸間膜リンパ節、骨格筋、皮膚、乳腺、坐骨神経、睪、前立腺、子宮体部、子宮頸管、骨髄、唾液腺、頸部、胸部脊髄、胸腺、膀胱及び膀胱頸部を採材し、病理標本を作成して検鏡した。統計学的有意差を示した非腫瘍性病変及び全ての腫瘍性病変を示す。

非腫瘍性病変

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	50	500	1000	0	50	500	1000
リンパ節 観察数	6	6	6	6	6	6	6	6
リンパ球過形成	0	4*	5**	3	3	6	5	4

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

腫瘍性病変

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	50	500	1000	0	50	500	1000
舌 観察数	—	1	—	—	—	—	—	—
扁平上皮乳頭腫	—	1	—	—	—	—	—	—
耳 観察数	—	—	—	—	—	—	—	1
扁平上皮乳頭腫	—	—	—	—	—	—	—	1

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

非腫瘍性病変、腫瘍性病変ともに、検体投与に関連して増加した所見はなかった。[申請者見解：雄の50及び500 ppm投与群においてリンパ節のリンパ球過形成発生頻度が有意に増加したが、これは自然発生でも認められる所見であり、また投与用量との関連性がないため、対照群での発生頻度が偶発的に低かったことによると考えた。]

以上の結果から本剤のイヌにおける6ヵ月亜急性毒性試験の最大無作用量は50 ppm (雄 : 1.7 mg/kg/day、雌 : 2.0 mg/kg/day)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。

8.5.2 ラットを用いた飼料混入投与による慢性毒性及び発がん性試験 (資料No. T-3.2)

検体純度 :

試験動物 : Charles River CD (SD系)ラット、1群雌雄各90匹、開始時3週齢
投与後6、12及び18ヵ月時に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

試験期間 : 24ヵ月 (1979年9月12日～1981年9月15日)

投与方法 : 検体をアセトンに溶解して0、10、20、500及び2500 ppmの濃度で飼料に混入し、
24ヵ月にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

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1日2回観察した。

20、500及び2500 ppm投与群に高頻度の脱毛を認めた。2500 ppm投与群に角膜の混濁、眼球の白色化、呼吸困難及び振戦がみられた。対照群に比べ検体投与群雌に過剰の流涙が認められた。さらに全群に類似して異常姿勢、異常歩行、不整呼吸、痙攣、運動量低下、過敏症、擦過傷、体部膨満、下顎部突出がみられた。

試験終了時の死亡率を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		0	10	20	500	2500
死亡率 (%)	雄	42	33	28	30	35
	雌	33	37	37	24	25

Mantel-Haenszel検定 ↑↓ : $p < 0.05$ 、↑↓ : $p < 0.01$ 、↑↓ : $p < 0.001$

死亡率の推移には検体投与との関連は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。投与後6、12、18及び24ヵ月時の体重を以下の表に示す。

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。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	99	101	▼84	▼75	101	99	▼94	▼79
12ヵ月	98	103	▼80	▼72	101	100	▼90	▼74
18ヵ月	97	101	▼79	▼68	101	102	▼89	▼69
24ヵ月	99	104	▼79	▼63	102	100	▼87	▼61

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

試験期間を通して、500及び2500 ppm投与群の雌雄で有意な体重減少が認められた。

摂餌量 ; 投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の摂餌量を測定した。投与後6、12、18及び24ヵ月時の摂餌量を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	100	99	▼87	▼93	107	97	▲109	102
12ヵ月	97	105	▼94	▼87	98	102	104	105
18ヵ月	98	100	▼88	91	▼85	104	94	108
24ヵ月	97	96	93	87	109	97	107	▲118

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

500及び2500 ppm投与群の雄では、試験期間を通して減少傾向にあった。しかしながら500及び2500 ppm投与群の雌では、増加傾向が認められた。

検体摂取量 ; 摂餌量及び投与濃度から算出した1日の平均検体摂取量を以下の表に示す。

群 (ppm)		10	20	500	2500
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.5	1.0	26.8	152.8
	雌	0.6	1.2	34.7	213.3

血液学的検査 ; 投与後6、12、18及び24ヵ月時に各群雌雄各10匹を対象として眼窩洞叢穿刺により採血し、血色素量、ヘマトクリット、赤血球数、総白血球数、血小板数、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)、白血球百分比、網赤血球及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。有意差の認められた項目を以下の表に示す。

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。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	赤血球数	103	100	101	99	98	97	▼96	99
	ヘマトクリット	100	98	100	100	99	165	▼96	100
12ヵ月	好酸球	96	77	50	▼38	90	95	133	43
	血小板数	109	104	103	98	93	89	93	▼87
18ヵ月	総白血球数	95	101	132	▲167	87	▲155	144	▲154
	分葉好中球	110	100	145	▲152	113	124	130	▲151
	リンパ球	97	103	86	▼81	95	93	92	▼82
	ヘマトクリット	92	97	92	▼87	101	98	100	102
24ヵ月	総白血球数	98	133	100	▲159	125	108	116	▲154
	分葉好中球	108	118	121	▲152	121	122	116	133
	リンパ球	95	93	90	▼72	87	88	93	83
	赤血球数	101	101	106	102	92	▼87	95	99
	血色素量	103	99	104	93	93	▼87	94	97
	ヘマトクリット	104	99	103	93	93	▼88	94	98
	MCV	103	98	96	▼91	101	101	99	99
	MCH	102	97	98	▼91	101	100	99	98
血小板数	84	99	93	▲134	115	99	108	▲130	

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。
Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

投与開始後18及び24ヵ月時において、2500 ppm投与群の雌雄で白血球数の有意な増加及び分葉好中球の有意な増加または増加傾向が認められた。その他に散見された変化は、経時的に一貫性や用量関連性がなく、毒性学的な意味がないと考えられた。

血液生化学的検査；上記血液学的検査における同一の時期、動物を対象とし、Na、K、Cl、Ca、P、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、アルカリフォスファターゼ(ALP)、総ビリルビン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、総蛋白、アルブミン、グロブリン、コレステロール、グルコース、コリンエステラーゼ(ChE：血漿、赤血球及び脳)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。

有意差の認められた項目を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	アルブミン	101	99	97	▼93	96	101	97	94
	GPT	88	83	▼78	▼67	86	108	89	98
	総蛋白	102	99	91	▼88	98	100	95	94
	Ca	103	100	▼95	▼93	99	102	98	97
	コレステロール	87	101	▼68	▼71	92	104	97	97
	総ビリルビン	93	107	▼63	▼63	92	104	77	73
	クレアチニン	98	95	88	▼76	96	106	94	93
	P	103	96	▼87	93	97	93	99	103
	Cl	101	102	101	▲103	100	101	100	102
	グロブリン	104	100	87	▼84	100	100	94	95
12ヵ月	BUN	98	100	▲119	111	105	93	▲121	111
	ALP	128	104	124	115	125	116	▲157	107
	アルブミン	97	100	96	95	106	101	96	▼91
	総蛋白	100	99	▼94	95	▲108	101	98	▼91
	クレアチニン	96	92	▼94	94	104	89	91	▼80
	P	98	94	▼84	93	100	103	93	84
	Na	99	▼99	99	99	100	100	100	100
	Cl	▼98	▼97	100	100	10	102	102	▲103
	グロブリン	102	98	92	96	▲110	101	100	▼90
18ヵ月	BUN	96	100	105	107	105	100	109	▲135
	アルブミン	100	97	95	▼89	101	97	97	▼92
	コレステロール	99	91	▼74	▼76	112	95	86	87
	総ビリルビン	▼75	100	▼71	▼71	115	96	88	81
	K	96	98	▼92	▼93	108	101	105	108
	Cl	99	▼97	99	99	101	101	▲105	▲106
24ヵ月	BUN	98	249	96	100	106	105	114	▲174
	GOT	▲147	111	125	115	106	93	80	82
	アルブミン	98	91	100	▼82	97	97	▼89	▼87
	GPT	▲138	102	106	92	92	100	86	65
	Ca	97	97	96	▼88	100	100	98	▼95
	コレステロール	87	93	74	▼58	100	107	109	82
	総ビリルビン	▼66	78	▼61	▼41	103	103	88	▼55
	Na	99	99	98	100	101	102	101	▲104
Cl	100	99	98	102	102	102	103	▲106	

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : $p < 0.05$

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。

試験期間を通し、2500 ppm投与群の雌雄でアルブミンおよび総ビリルビン値の低下が認められたが、生理学的な意義のない変化と考えた。その他の項目は用量関連性や変化の方向性に雌雄の一貫性がなく、偶発性的変化と考えられた。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	血漿ChE	92	100	▼54	▼38	98	105	▼76	▼49
	赤血球ChE	91	89	▼56	▼40	98	98	▼64	▼58
	脳ChE	89	114	▼55	▼43	102	106	71	▼61
12ヵ月	血漿ChE	100	100	▼45	▼36	109	103	▼81	▼53
	赤血球ChE	104	94	▼69	▼63	100	93	▼67	▼59
	脳ChE	107	105	▼39	▼32	98	90	▼35	▼29
18ヵ月	血漿ChE	93	86	▼36	▼36	85	▼79	▼72	▼41
	赤血球ChE	100	90	▼59	▼47	95	▼88	▼64	▼48
	脳ChE	96	93	▼54	▼33	102	102	▼49	▼29
24ヵ月	血漿ChE	86	95	73	▼41	103	97	78	▼53
	赤血球ChE	96	94	▼73	▼57	90	94	▼70	▼60
	脳ChE	107	109	▼57	▼34	102	88	▼47	▼41

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : $p < 0.05$

試験期間を通して、500及び2500 ppm投与群の雌雄において、血漿、赤血球及び脳ChE活性の低下が認められた。18ヵ月時の測定では20ppm投与群で雌の血漿及び赤血球ChE活性が低下したが、前後の測定では影響がなかったため、投与による影響ではないと考えた。

尿検査； 上記血液学的検査における同一の時期、動物を対象とし、色調、外観、沈渣の顕微鏡検査、比重、尿量、pH、蛋白、グルコース、潜血、亜硝酸試験、ウロビリノーゲン、ケトン体、ビリルビンを測定した。投与による影響の認められた項目を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
18ヵ月	ケトン体	2	3	2	5	9**	0	2	3	3	7**
	赤血球	4	7	4	9*	7	2	5	4	2	7*
24ヵ月	赤血球	5	7	5	6	10*	3	5	5	3	5

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

18ヵ月時に2500 ppm投与群の雌雄でケトン体増加が、500 ppm投与群の雄および2500 ppm投与群の雌で赤血球増加が認められた。また24ヵ月時に2500 ppm投与群の雄で赤血球が有意に増加した。[申請者見解：ケトン体の増加は18ヵ月の測定時のみでその他の測定時には認められず、また赤血球の増加には用量との関連性がなかったため、いずれも投与との関連はないと考えた。]

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。

眼科学的検査：投与後12ヵ月、18ヵ月（78週及び80週に異なる検査者が実施）及び24ヵ月時に全生存動物について検査した。有意差の認められた項目を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
12 ヵ 月	検査動物数	79	77	80	77	70	78	78	80	77	79
	白内障	0	1	3	4	6**	4	2	2	4	3
	ブドウ膜炎	2	8*	3	5	4	2	3	1	5	14**
78 週	検査動物数	66	61	66	65	54	65	64	66	60	67
	虹彩欠損	0	0	0	3	6**	0	0	0	1	20**
	眼底部蒼白	6	8	0*	5	0*	0	0	0	0	0
80 週	検査動物数	58	52	56	58	45	53	53	56	53	58
	虹彩欠損	0	0	1	8**	3	0	0	0	3	14**
	眼底部蒼白	1	3	2	0	6*	7	3	8	2	8
24 ヵ 月	検査動物数	37	43	45	43	39	38	39	41	46	47
	虹彩欠損	0	0	0	5*	16**	0	0	0	8**	26**

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

500及び2500 ppm投与群の雌雄において、12ヵ月以降の検査で虹彩組織の欠損頻度の増加が認められた。この変化は検体投与によると考えられた。その他の変化は一時的であるか、用量との関連性がなかった。

臓器重量；投与後6、12及び18ヵ月時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣、卵巣、副腎、下垂体及び甲状腺の重量を測定した。また対体重比も算出した。以下に対照群と比して統計学的有意差を示した項目を表記する。

投与量 (ppm)		雄				雌				
		10	20	500	2500	10	20	500	2500	
6 ヵ 月	副腎	絶対	95	96	▼79	▼85	106	98	103	99
	脳	絶対	102	100	▲107	103	101	100	▲106	▲108
		相対	99	95	▲129	▲136	92	95	107	▲112
	腎臓	絶対	103	106	▼88	▼90	101	94	103	96
		相対	99	101	106	▲120	92	89	104	99
	肝臓	絶対	105	108	▼83	▼86	102	101	106	95
		相対	101	103	100	▲114	93	94	108	99
	下垂体	相対	92	88	108	▲123	84	89	103	102
	脾臓	絶対	98	105	▼82	▼80	93	97	93	91
	精巣	絶対	99	95	▼92	▼89	—	—	—	—
		相対	95	▼90	▲111	▲119	—	—	—	—
	卵巣	絶対	—	—	—	—	104	95	87	▼84
	甲状腺	絶対	85	93	▼75	▼64	119	118	▲137	107
相対		82	88	91	85	109	112	▲138	112	

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。

投与量 (ppm)			雄				雌			
			10	20	500	2500	10	20	500	2500
12 カ 月	副腎	絶対	99	112	89	94	105	▲122	109	92
		相対	101	99	114	▲131	109	▲134	126	▲136
	脳	絶対	▲108	103	▲109	▲107	100	101	103	104
		相対	110	93	▲140	▲148	104	112	▲123	▲156
	心臓	絶対	95	103	▼85	▼87	92	▼88	90	▼86
		相対	97	92	110	▲121	96	97	105	▲125
	腎臓	絶対	105	▲115	92	91	96	95	98	▼84
		相対	104	102	▲116	▲124	100	105	115	▲122
	肝臓	絶対	99	110	▼79	▼82	105	92	97	▼81
		相対	99	99	102	▲115	107	108	▲112	▲119
下垂体	絶対	▲122	106	94	96	72	68	58	56	
	相対	▲127	95	▲127	▲132	78	79	70	85	
脾臓	絶対	93	99	▼80	▼69	90	92	89	▼77	
	相対	92	▼88	104	96	94	101	105	112	
精巣	絶対	99	98	▼91	▼88	—	—	—	—	
	相対	101	88	▲118	▲122	—	—	—	—	
卵巣	相対	—	—	—	—	97	100	104	▲135	
甲状腺	絶対	99	100	▼74	▼74	101	91	85	▼74	
18 カ 月	副腎	相対	115	114	133	▲161	86	130	108	160
		絶対	102	100	101	▲106	100	100	102	▲106
	脳	相対	120	114	▲126	▲155	102	101	109	▲149
		絶対	98	96	94	89	93	102	92	▼89
	心臓	相対	116	108	▲118	▲134	94	104	99	▲125
		絶対	▲117	▲117	▲129	▲145	99	1068	104	▲127
	腎臓	相対	87	97	85	▼81	98	104	91	▼82
		絶対	103	107	106	▲119	99	107	98	▲114
	下垂体	相対	▲173	123	123	150	301	109	190	107
	脾臓	絶対	88	108	93	▲104	88	105	86	▼71
精巣	相対	▲125	112	115	▲137	—	—	—	—	
甲状腺	絶対	93	97	79	85	72	97	83	▼69	
24 カ 月	副腎	絶対	90	103	88	▼85	101	117	109	103
		相対	89	97	110	▲137	95	115	122	▲156
	脳	絶対	99	99	102	▲105	101	▲106	▲107	▲108
		相対	96	92	▲127	▲161	95	105	▲118	▲165
	心臓	絶対	103	102	94	▼90	104	107	106	97
		相対	99	95	▲115	▲140	99	107	▲119	▲150
	腎臓	絶対	102	107	▼84	▼84	104	106	102	▼91
		相対	98	99	103	▲129	98	105	▲115	▲138
	肝臓	絶対	97	99	▼79	▼73	106	104	100	▼85
		相対	94	93	97	▲112	101	104	▲112	▲133
脾臓	絶対	122	126	127	85	75	75	80	▼63	
精巣	絶対	104	97	93	▼83	—	—	—	—	
	相対	44	90	▲114	▲127	—	—	—	—	
卵巣	絶対	—	—	—	—	103	90	84	▼74	
甲状腺	絶対	102	109	▼67	▼70	103	97	▼82	▼74	
	相対	100	102	▼83	110	97	96	92	113	

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を示す。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

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。

500及び2500 ppm投与群の雌雄において、多くの絶対臓器重量が減少し、相対臓器重量が増加した。これは低体重による影響と考えられた。

[申請者見解：500及び2500 ppm投与群の雌雄において、脳の絶対重量の増加又は増加傾向が認められた。脳重量の増加は検体投与による影響と考えられた。20 ppm以下の用量で認められた有意な増加は、一時的であるか又は用量との関連性がないため、偶発的な変化と考えた。]

肉眼的病理検査；投与後6、12、18ヵ月時の中間屠殺動物、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。

特記すべき所見は認められなかった。

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重量測定臓器を含め眼、ハーダー腺、精巣上体、食道、胃、小腸、大腸、膀胱、前立腺、子宮体部、子宮頸部、肺及び気管支、リンパ節(縦隔、腸間膜)、乳腺、顎下腺、坐骨神経、膵臓、皮膚、脊髄(頸部及び胸部)、胸腺、胸骨(骨髄)、結節及び肉眼的病変部について病理標本を作成し検鏡した。有意差の認められた非腫瘍性病変を表1に、全ての腫瘍性病変を表2に示す。

18ヵ月時に中間屠殺した動物のうち2500 ppm投与群の雄1匹、雌4匹に局在性の急性、亜急性又は慢性胃炎が認められたが、検体投与による影響ではなく、自然発生の胃炎と考えられた。試験終了時の全生存動物及び途中死亡動物のうち500、2500 ppm投与群雌雄による局在性虹彩炎、2500 ppm投与群雌に非炎症性網膜変性が認められた。これらは検体投与による病理変化と考えられた。その他に認められた所見は、用量との関連性がないかあるいは減少方向への変化であり、毒性学的な意味がないと考えられた。

記録された全ての腫瘍性病変は通常使用した系統のラットに認められるものであり、検体投与による腫瘍数の増加は認められなかった。

本剤の24ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、500 ppm投与群以上の雌雄で低体重並びに血漿及び赤血球ChE活性の低下がみられた。以上の結果から、本試験の最大無作用量は20ppm (雄：1.0 mg/kg/day、雌：1.2 mg/kg/day)であると判断される。

表1-1 非腫瘍性病変（途中解剖群、全動物）

投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
6 カ 月	肺 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	慢性齧歯類肺炎	5	4	4	5	4	5	3	0*	5	4
	脾臓 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	ヘンジゲリン沈着	0	2	4*	0	0	1	6*	5	9*	4
12 カ 月	副腎 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	血液嚢胞	0	0	0	0	0	0	1	4*	1	1
	十二指腸 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	粘膜下リンパ球過形成	0	2	2	1	4*	1	2	2	3	0
	腎臓 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	慢性間質性腎炎	0	3	5*	1	1	0	0	0	0	0
18 カ 月	単核リンパ球浸潤	7	6	2*	5	7	3	7	3	1	4
	胃 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	胃炎	1	0	0	0	1	0	0	0	0	4*
	急性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	亜急性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
	慢性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	回腸 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	粘膜下リンパ球過形成	3	4	7	5	8*	5	6	4	8	4
	肝臓 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	胆管過形成	1	4	0	1	0	5	2	2	2	0*
腎臓 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
単核リンパ球浸潤	5	5	9	8	5	4	6	3	4	0*	
脾臓 検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
ヘンジゲリン沈着	5	4	1	1	0*	5	9	6	3	10*	

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

表1-2 非腫瘍性病変（主群、全動物）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
空腸 検査動物数	49	55	58	52	46	53	54	57	54	57
粘膜下リンパ球過形成	16	29**	21	15	26*	30	22	19*	21	23
肝臓 検査動物数	60	59	60	61	60	60	60	59	59	60
単核リンパ球浸潤	34	40	28	20**	15**	24	30	31	8**	14**
胆管過形成	23	28	16	8**	2**	22	23	17	6**	9**
空胞化（脂肪）	6	14**	10	4	0*	8	10	15	6	3
肝細胞変性	11	9	11	5	2**	8	2*	10	8	2*
腎臓 検査動物数	59	59	60	59	60	59	58	57	58	60
慢性間質性腎炎	24	18	24	6**	6**	0	4	2	1	7**
尿管硝子円柱	10	14	5	7	3*	9	10	6	6	5
脾臓 検査動物数	60	59	60	59	58	60	59	60	59	60
ヘモジデリン沈着	7	12	5	3	1*	32	35	34	20*	22*
子宮 検査動物数	—	—	—	—	—	57	55	59	59	56
子宮水腫	—	—	—	—	—	0	0	1	3	5*
皮膚 検査動物数	58	57	58	57	57	56	57	57	55	58
表皮嚢胞	0	2	5*	0	0	0	2	0	0	0
乳腺 検査動物数	58	58	59	60	58	57	60	59	59	59
乳腺嚢胞	0	2	3	0	0	13	10	12	9	1**
眼 検査動物数	56	57	57	50	50	52	58	59	55	53
網膜変性症	0	1	1	0	0	1	2	1	1	14**
限局性虹彩萎縮	0	0	0	9**	12**	0	0	0	8**	17**

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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2-1 腫瘍性病変 (全動物)

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
脳 検査動物数	59	56	59	57	58	58	57	59	58	57
脳室上衣腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2
神経膠細胞腫	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
髄膜腫	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
脊髄(腰部) 検査動物数	47	54	58	47	52	50	51	47	53	54
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
髄膜腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
脊髄(頸部) 検査動物数	43	51	53	45	51	46	48	46	48	55
髄膜腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
下垂体 検査動物数	53	55	52	49	48	50	58	54	55	54
腺腫	27	24	25	11**	5**	31	35	29	22*	17**
肺 検査動物数	60	60	60	61	60	60	60	60	59	60
未分化腺癌	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
腺扁平上皮癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
線維肉腫	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0
脂肪肉腫	1	1	0	1	0	2	1	2	0	0
中皮腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
心臓 検査動物数	59	58	60	61	60	60	58	60	59	60
線維肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
副腎 検査動物数	56	60	59	60	57	57	59	56	59	59
髄質腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
褐色細胞腫	1	2	1	2	1	0	0	2	1	0
皮質腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
皮質癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
縦隔リンパ節 検査動物数	56	23	27	47	48	56	57	56	56	53
線維肉腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ肉腫	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0
未分化肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腸間膜リンパ節 検査動物数	60	59	60	59	56	60	58	60	58	59
リンパ肉腫	0	1	1	1	0	2	0	2	0	0
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

表2-2 腫瘍性病変（全動物：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
胸腺 検査動物数	57	57	59	50	53	57	57	57	54	51
リンパ肉腫	0	1	0	1	0	2	0	1	0	0
未分化肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺腫	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0
唾液腺 検査動物数	606	58	59	60	57	60	57	60	59	59
リンパ肉腫	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
甲状腺 検査動物数	52	57	58	53	50	55	58	58	57	58
髄様細胞腺腫	3	1	0	2	1	3	4	3	3	1
濾胞細胞腺腫	1	1	2	3	3	2	0	1	2	1
濾胞細胞癌	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
上皮小体 検査動物数	56	57	57	58	54	51	55	51	53	59
腺腫	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
胃 検査動物数	54	58	58	54	53	53	55	53	58	58
リンパ肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
十二指腸 検査動物数	53	55	58	51	49	53	55	56	56	57
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
空腸 検査動物数	49	56	58	51	48	52	55	57	55	57
平滑筋腫	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
回腸 検査動物数	49	55	58	52	46	53	54	57	54	57
リンパ肉腫	0	1	0	1	0	0	0	2	0	0
結腸 検査動物数	55	56	58	50	52	53	57	57	56	58
リンパ肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
盲腸 検査動物数	49	56	58	50	46	51	55	57	54	55
リンパ肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
肝臓 検査動物数	60	59	60	61	60	60	60	59	59	60
線維肉腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
肝細胞腫	1	0	5	4	0	0	2	2	2	0
肝細胞癌	2	0	3	0	0	0	0	1	0	0
リンパ肉腫	1	2	1	1	1	3	1	2	0	0
未分化肉腫	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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2-3 腫瘍性病変（全動物：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
腎臓 検査動物数	59	59	60	59	60	59	58	57	58	60
脂肪様腫瘍	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ肉腫	1	1	0	1	1	2	1	2	0	0
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
尿細管腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
膀胱 検査動物数	57	52	54	47	47	58	57	54	55	56
リンパ肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
移行上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
膵臓 検査動物数	59	60	58	57	57	59	60	60	59	60
島細胞腺腫	3	3	5	4	3	3	0	1	2	0
リンパ肉腫	0	2	0	1	0	0	0	1	0	0
脾臓 検査動物数	60	59	60	59	58	60	59	60	59	60
線維肉腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ肉腫	2	2	1	1	1	3	1	3	0	1
精巣 検査動物数	59	60	60	61	60	—	—	—	—	—
間細胞腫	0	4	1	3	0	—	—	—	—	—
前立腺 検査動物数	60	55	58	59	57	—	—	—	—	—
リンパ肉腫	0	0	0	1	0	—	—	—	—	—
前立腺癌	0	0	1	0	0	—	—	—	—	—
卵巣 検査動物数	—	—	—	—	—	59	60	58	59	60
顆粒細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
乳頭状腺腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
リンパ肉腫	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0
子宮 検査動物数	—	—	—	—	—	57	55	59	59	56
子宮内膜ポリープ	—	—	—	—	—	0	4	1	2	4
線維腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
線維肉腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
リンパ肉腫	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0
粘液腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
未分化肉腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
皮膚 検査動物数	58	57	58	57	57	56	57	57	55	58
皮脂腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ （申請者にて実施）

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2-4 腫瘍性病変（全動物：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
乳腺 検査動物数	58	58	59	60	58	57	60	59	59	59
線維腺腫	1	1	0	0	0	16	11	15	16	10
腺癌	0	0	0	0	0	1	4	2	5	1
乳頭状腺腫	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
腺腫	0	1	0	0	0	2	0	0	1	0
線維肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
骨 検査動物数	59	59	60	59	59	57	57	60	57	60
線維肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
骨髄 検査動物数	59	59	60	61	57	57	57	60	58	60
線維肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
リンパ肉腫	1	1	1	1	1	2	0	1	0	1
その他部位・組織										
リンパ節リンパ肉腫	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
線維肉腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
乳腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腫瘍 未分化腺癌	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
基底細胞腫	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0
線維腫	1	3	2	1	1	0	0	0	3	0
線維肉腫	3	1	3	1	0	0	0	2	0	0
脂肪腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ肉腫	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1
乳腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
横紋筋腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
未分化肉腫	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
扁平上皮乳頭腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0
鼻 扁平上皮乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
腔 線維肉腫	—	—	—	—	—	1	0	1	0	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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。

投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
検査動物数		60	60	60	61	60	60	60	60	59	60
腫瘍数	良性	44	46	47	29**	14**	63	61	57	58	36**
	悪性	10	4	8	7	4	8	6	11	7	3
腫瘍総数		54	50	55	36**	28**	71	67	68	65	39**
担腫瘍動物数	良性	34	38	35	22*	13**	47	45	42	37*	29**
	悪性	10	4	6	7	4	9	6	10	7	2*
担腫瘍動物数		38	42	39	27*	17**	52	47	45	38**	30**

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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。

8.5.3 マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性及び発がん性試験（資料No. T-3.3）

検体純度：

試験動物： Charles River CD-1系マウス、1群雌雄各100匹、開始時4週令
投与後6、12及び18ヵ月時に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

試験期間： 24ヵ月（1979年9月21日～1981年9月25日）

投与方法： 検体をアセトンに溶解して0、10、20、500及び2500 ppmの濃度で餌に混入し24ヵ月間にわたって随時摂食させた。検体を投入した飼料は1週間に1回調製した。

試験項目及び結果：

一般状態及び死亡率；平日には1日3回、週末には1日2回、一般状態及び生死を観察した。

異常姿勢、異常歩行、流涙、振戦、痙攣、運動量の低下、異常な糞尿排泄、過敏症、体温低下等が対照群を含む全群に認められたが、いずれも投与による影響とは考えられなかった。

2500 ppm投与群は対照群に比し、眼における角膜混濁、中心外瞳孔、不整形、暗色調、白濁が多く認められた。

試験終了時の死亡率を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		0	10	20	500	2500
死亡率 (%)	雄	37	54	44	40	54
	雌	59	54	50	60	47

Mantel-Haenszel検定 ↑↓：p < 0.05、↑↓：p < 0.01、↑↓：p < 0.001

死亡率の推移には検体投与との関連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。

体重変化；投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の体重を測定した。投与後3、6、12、18及び24ヵ月時の体重を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	10	20	500	2500	10	20	500	2500
3ヵ月	99	98	▼94	▼87	99	99	98	▼92
6ヵ月	99	100	▼97	▼87	98	99	100	▼92
12ヵ月	97	97	▼95	▼84	▼96	▼96	97	▼89
18ヵ月	97	▼95	▼95	▼83	98	98	98	▼87
24ヵ月	97	▼94	▼95	▼84	▲109	103	101	▼92

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : $p < 0.05$

2500 ppm投与群の雌雄で、全期間を通して有意な体重増加抑制あるいは増加抑制傾向を認めた。また、雄の500 ppm投与群で断続的に有意な体重増加抑制あるいは増加抑制傾向を認めた。

[申請者注]

その他の有意な変動は断続的にみられたものであり、また用量との関連性がないため、偶発性の変動と考えた。

摂餌量；投与開始から13週間は週1回、その後は2週間に1回すべての生存動物の摂餌量を測定した。投与後6、12、18及び24ヵ月時の摂餌量を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	10	20	500	2500	10	20	500	2500
3ヵ月	102	▼95	▼84	▼68	▼92	98	▼75	▼65
6ヵ月	102	106	96	▼81	96	▼90	96	▼77
12ヵ月	100	▼88	▼79	▼71	104	96	▼83	▼87
18ヵ月	98	98	102	93	90	92	▼77	▼88
24ヵ月	92	94	▼88	90	105	112	107	100

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : $p < 0.05$

2500 ppm投与群の雌雄で、断続的に摂餌量の低下を認めた。また、2500 ppm以下の検体投与群でも、断続的に対照群と比べ有意に摂餌量の低下が観察された。摂餌量の低下は、試験期間が長くなるにつれ軽減される傾向があった。これはマウスの嗜好性に対する影響を示唆すと考えられた。

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

体摂取量；摂餌量及び投与濃度から算出した1日の平均検体摂取量を以下の表に示す。

群 (ppm)		10	20	500	2500
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.3	2.5	61.5	319.5
	雌	1.5	3.1	71.9	337.2

血液学的検査；投与後6、12及び18ヵ月時に各群雌雄各10匹、24ヵ月時に全生存動物を対象として眼窩洞叢穿刺により採血し、血色素量、ヘマトクリット、赤血球数、総白血球数、血小板数、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)、白血球百分比及び網赤血球を測定した。

有意差の認められた項目を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	分葉好中球	86	108	98	113	▼64	▼63	82	74
	リンパ球	106	97	101	97	▲117	▲115	111	111
	単球	70	110	85	45	▼24	▼48	▼36	▼48
18ヵ月	好酸球	142	96	83	79	▲320	260	280	280
24ヵ月	赤血球数	99	98	104	92	▼81	91	89	98
	血色素量	99	98	104	95	▼84	93	87	98
	血小板数	97	107	91	118	▼70	94	104	96
	網赤血球	191	222	149	213	▼46	▼44	60	54

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

有意差の認められたいづれの項目にも用量関連性がなく、また経時的な及び雌雄間の一貫性もないため、偶発性的変化と考えた。

血液生化学的検査；上記の血液学的検査における同一の時期、動物を対象とし、尿素窒素、アルカリフォスファターゼ(ALP)、血清グルタミンピルビン酸トランスアミナーゼ(SGPT)及びグルコースを測定した。

有意差の認められた項目を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	グルコース	122	110	▲125	112	82	82	84	83
	ALP	▼55	▼58	▼64	86	125	117	116	105

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

有意差の認められた項目にはいづれも用量関連性がなく、偶発的な変化であると考えられた。投与に関連した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。

コリンエステラーゼ活性測定；血液学的検査における同一の時期、動物を対象とし、血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ(ChE)活性の測定を実施した。
以下の表に結果を示す。

投与量 (ppm)		雄				雌			
		10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	血漿ChE	108	116	84	76	92	94	82	▼74
	赤血球ChE	105	105	84	▼71	104	112	84	▼75
	脳ChE	100	105	▼64	▼48	87	91	▼50	▼44
12ヵ月	血漿ChE	110	115	▼79	▼74	96	91	▼71	▼66
	赤血球ChE	98	94	▼79	▼69	98	102	▼77	▼60
	脳ChE	100	104	▼64	▼42	113	110	▼69	▼42
18ヵ月	血漿ChE	95	103	90	▼57	94	90	▼82	▼67
	赤血球ChE	84	100	▼60	▼49	110	110	▼67	▼64
	脳ChE	115	103	▼69	▼43	108	99	▼64	▼40
24ヵ月	血漿ChE	101	108	83	▼70	91	98	83	▼72
	赤血球ChE	110	90	68	▼46	105	108	87	▼69
	脳ChE	105	97	▼72	▼49	95	97	▼62	▼55

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : $p < 0.05$

500及び2500ppm投与群の雌雄において、試験期間を通して血漿、赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下または低下傾向が認められた。

眼科学的検査：試験終了約1週間前に全生存動物について検査した。

有意差の認められた項目を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		雄					雌				
		0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
78週	検査数	44	32	39	42	33	32	33	36	28	38
	白内障(全形態)	33	27	40**	39*	33**	31	33	36	28	37
	中心性角膜変性	13	11	18	13	18*	12	17	9	9	0**
	眼底部蒼白	0	0	0	0	0	1	0	0	0	10**
	眼球萎縮	1	1	0	1	3	0	1	1	0	5*
	虹彩の点状混濁	8	6	7	13	14*	9	10	9	10	13
80週	検査数	46	34	42	46	34	35	38	38	30	40
	眼付属器良性腫大	0	0	0	5*	0	0	0	0	1	5*
	虹彩の点状混濁	3	2	12**	20**	12**	6	8	7	15**	12

表中の数値は有所見個体数表わす。

78週と80週の検査は、異なる検査者によって実施された。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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。

20ppm以上の投与群で眼付属器良性腫大、白内障（全形態）、中心性角膜変性、眼底部蒼白、眼球萎縮及び虹彩の点状混濁に有意差が散見されたが、これらは投与による直接の影響ではなく、加齢及びストレスによるものと考えられた。

臓器重量；投与後6、12及び18ヵ月時の中間屠殺動物と試験終了時の全生存動物を対象として、解剖ののち肝臓、脳（脳幹を含む）、精巣、腎臓、心臓、甲状腺、卵巣、下垂体、副腎、脾臓の重量を測定した。また対体重比も算出した。
以下に対照群と比して統計学的有意差を示した項目を表記する。

投与量 (ppm)			雄				雌			
			10	20	500	2500	10	20	500	2500
6ヵ月	副腎	絶対	▲126	▲128	▲126	119	88	96	90	90
		相対	▲127	▲134	▲132	▲144	84	92	83	96
	脳	相対	100	103	104	▲116	97	101	96	▲108
	腎臓	相対	109	113	▲114	111	94	99	92	103
	肝臓	絶対	101	100	103	▼88	103	98	104	100
		相対	103	105	109	107	99	94	96	▲107
	脾臓	絶対	103	114	101	97	90	87	▼84	▼78
相対		104	119	106	118	87	▼84	▼77	▼84	
精巣	絶対	88	108	93	▼86	—	—	—	—	
12ヵ月	脳	絶対	102	102	103	▲107	95	95	98	96
		相対	107	102	105	▲119	96	95	100	109
	肝臓	相対	101	101	99	105	106	106	105	▲117
	下垂体	絶対	▼76	94	91	97	105	95	102	88
	甲状腺	絶対	116	▲130	114	119	93	93	99	103
相対		▲122	▲130	117	▲134	96	96	102	122	
18ヵ月	脳	相対	99	101	108	▲118	108	110	105	▲118
	腎臓	絶対	100	96	99	89	▼86	92	94	89
	下垂体	絶対	97	103	97	87	83	102	93	▼71
24ヵ月	脳	相対	100	101	102	▲113	▼92	98	101	▲110
	腎臓	絶対	93	96	97	91	103	102	93	▼86
	肝臓	絶対	94	201	93	▼84	108	105	94	89
	下垂体	絶対	▼80	112	▼68	▲140	▼67	103	86	86
		相対	82	118	▼73	▲163	▼64	99	86	93
	脾臓	絶対	85	99	114	74	124	91	▼63	▼61
		相対	87	103	118	84	117	87	▼63	▼65
甲状腺	絶対	93	90	89	99	120	111	▲128	119	

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。
Duncanの多重範囲検定 ▲▼ : p < 0.05

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。

いくつかの臓器で有意な変動が認められたが、いずれも投与用量に関連性がないかあるいは体重の減少によるものであり、検体投与による毒性とは考えなかった。

肉眼的病理検査；投与後6, 12, 18ヵ月の中間屠殺動物、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。

特記すべき所見は認められなかった。

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、重量測定臓器を含め、眼、ハーダー腺、精巣上体、食道、胃、小腸、大腸、膀胱、前立腺、子宮体部及び頸部、胆嚢、肺、気管支、リンパ節(縦隔膜、腸間膜)、乳腺、顎下腺、膵臓、皮膚、脊髄(頸部及び胸部)、胸腺、気管、上皮小体、胸骨(骨髄)及び肉眼的病変部について病理標本を作成し、検鏡した。

有意差の認められた非腫瘍性病変を表1、全ての腫瘍性病変を表2に示す。

腫瘍は検索した組織すべてに観察された。6及び12ヵ月時において10 ppm投与群で総腫瘍数が最も多く、2匹で広範囲にわたる転移及び種々の臓器で発達した白血病性の悪性リンパ腫によるものであった。各群の腫瘍の総数のうち原発性腫瘍は対照群が最も高い発生率を示した。18ヵ月時において原発性腫瘍の発生率は、10及び500 ppm投与群に最も高く、悪性リンパ腫及び子宮内膜の間質におけるポリープであった。両腫瘍は同年齢の動物に高頻度に認められるものであった。試験終了時には原発性腫瘍は投与群と対照群で同程度であった。

以上の結果から本剤の24ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として500 ppm投与群以上にコリンエステラーゼ活性がみられたので最大無作用量は20 ppm (雄：2.5 mg/kg/day、雌：3.1 mg/kg/day)であると判断される。

表1 非腫瘍性病変

18ヵ月途中解剖群										
投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
副腎 検査数	19	19	19	17	21	21	16	22	20	19
限局性皮質脂質症	0	0	0	1	0	0	0	4	3	4*
主群										
眼 検査数	54	50	54	57	52	55	51	51	57	52
角膜血管増生	0	1	5*	0	1	0	1	2	0	4
白内障	31	14**	18**	8**	11**	27	20	7**	9**	3**
肺 検査数	54	50	54	57	52	54	52	51	57	52
限局性肺炎	24	17	16	21	15	25	15	13*	19	14*
肝臓 検査数	54	50	54	57	52	55	52	51	57	52
限局性リンパ球浸潤	7	3	4	1*	0**	15	15	8	14	4**
巣状肝細胞壊死	12	8	11	8	12	29	12**	14**	12**	5**
唾液腺 検査数	54	50	53	57	52	54	51	50	57	51
限局性リンパ球浸潤	11	4	4*	2**	4	7	6	6	4	1*
胃 検査数	54	50	54	56	52	55	52	51	57	51
限局性リンパ球浸潤	6	5	0*	0*	0*	6	7	1	0*	0*
胃底部腺/上皮過形成	22	17	15	17	23	12	20*	11	19	20*
十二指腸 検査数	54	50	54	57	52	55	52	51	57	52
粘膜固有層マロト`症	0	1	2	3	4	1	1	1	7*	2
空腸 検査数	54	50	54	57	52	55	52	51	57	52
粘膜固有層マロト`症	1	7*	5	13**	9**	8	2	7	12	6
脾臓 検査数	53	50	54	57	52	55	52	51	57	52
髓外造血	2	6	6	3	2	14	9	4*	12	6
腸間膜リンパ節 検査数	53	50	54	56	51	54	52	48	54	51
うっ血	5	11	8	3	11	3	4	11*	7	3
リンパ球過形成	33	19*	12**	17**	7**	24	15	13*	21	18
髓外造血	0	0	1	1	0	0	0	2	6*	0
胸腺 検査数	36	33	31	35	42	39	37	31	43	43
リンパ球過形成	11	0**	2**	3*	1**	12	8	5	12	8
腎臓 検査数	54	50	54	57	52	55	52	51	57	52
皮質萎縮	0	0	3	5*	5*	0	0	2	4	5*
皮質のう胞	35	20**	33	32	24*	18	15	12	22	13
間質性線維化	10	4	1**	1**	0**	1	1	1	0	0
水腎症	12	15	14	15	17	11	7	2*	7	7
副腎 検査数	54	49	54	56	52	55	52	51	57	52
うっ血	2	1	0	0	2	9	17*	4	3	2*
限局性皮質脂質症	0	0	1	1	0	0	0	2	17**	1
卵巣 検査数	—	—	—	—	—	55	52	51	56	52
卵胞性出血嚢胞	—	—	—	—	—	6	6	3	3	0*
子宮頸部 検査数	—	—	—	—	—	55	51	48	55	52
子宮内膜嚢胞	—	—	—	—	—	9	14	15	15	22**

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : p < 0.05、** : p < 0.01 (申請者にて実施)

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2-1 腫瘍性病変：6ヵ月以内の計画殺、切迫殺及び死亡動物（衛星群及び主群）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
脳 検査数	12	18	15	12	12	10	20	14	13	12
神経膠細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
肺 検査数	12	18	15	12	12	10	20	14	13	12
細気管支・肺胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
縦隔リンパ節 検査数	11	12	10	4	9	6	10	10	3	5
悪性リンパ腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
腸間膜リンパ節 検査数	13	16	15	12	12	8	18	13	13	13
悪性リンパ腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
前大腿リンパ節 検査数	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—
悪性リンパ腫	0	—	—	—	—	—	—	—	2	—
前肩甲骨リンパ節検査数	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
悪性リンパ腫	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
胸腺 検査数	9	13	11	9	10	10	14	11	12	11
悪性リンパ腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
甲状腺 検査数	13	14	15	10	12	10	17	13	13	12
濾胞細胞腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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2-2 腫瘍性病変：6～12ヵ月の計画殺、切迫殺及び死亡動物（衛星群及び主群）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
ハーダー腺 検査数	13	13	12	13	14	14	12	12	10	15
乳頭状腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
皮膚 検査数	13	13	12	13	14	14	12	12	10	15
角化棘細胞腫	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
肺 検査数	13	13	12	13	14	14	11	12	10	15
細気管支・肺胞腺腫	0	2	0	0	0	2	0	0	0	3
細気管支・肺胞腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓 検査数	13	13	12	13	14	14	12	12	10	15
肝細胞腺腫	3	0	0	2	2	0	0	0	0	1
脾臓 検査数	12	13	11	11	13	14	12	12	10	14
血管腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
悪性リンパ腫	0	0	0	1	1	1	0	1	0	3
胸腺 検査数	12	12	9	11	9	13	7	8	9	12
悪性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体 検査数	13	13	11	13	14	14	12	12	10	15
前葉腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
卵巣 検査数	—	—	—	—	—	14	12	12	10	15
血管周皮腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
子宮 検査数	—	—	—	—	—	14	12	12	10	15
子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
骨盤 検査数	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
骨形成性肉腫	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
脂肪組織 検査数	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
脂肪腫	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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2-3-1 腫瘍性病変：12～18ヵ月の計画殺、切迫殺及び死亡動物（衛星群及び主群）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
ハーダー腺 検査数	20	18	19	17	21	21	15	21	20	20
乳頭状腺腫	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
乳頭状嚢胞腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
肺 検査数	20	19	19	17	21	21	16	22	20	20
細気管支・肺胞腺腫	3	2	2	3	3	5	4	2	3	1
細気管支・肺胞腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
肝臓 検査数	20	19	19	17	21	21	16	22	20	20
肝細胞腺腫	4	1	0	2	0	2	0	0	1	1
肝細胞腺癌	4	0	0	1	3	0	0	1	0	0
血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性リンパ腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胆のう 検査数	19	14	12	13	18	19	11	19	14	18
多発性ポリポース	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膵臓 検査数	20	19	19	17	21	21	16	22	20	20
島細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
脾臓 検査数	20	19	19	17	21	21	16	22	20	20
血管肉腫	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
悪性リンパ腫	1	2	0	2	1	3	2	6	4	2
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腸間膜リンパ節 検査数	19	19	18	17	19	20	16	22	20	19
血管腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
悪性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
前大腿リンパ節 検査数	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
悪性リンパ腫	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
胸腺 検査数	15	14	15	11	12	13	15	14	18	17
悪性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓 検査数	20	19	19	17	21	21	16	22	20	20
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
下垂体 検査数	20	19	19	17	19	21	14	20	20	19
前葉腺腫	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
副腎 検査数	19	19	19	17	21	21	16	22	20	19
皮質腺腫	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
乳腺 検査数	1	1	1	—	2	17	10	12	19	16
腺癌	0	0	0	—	0	1	0	0	0	1
精巣 検査数	20	19	19	17	21	—	—	—	—	—
間細胞腫	1	0	0	2	0	—	—	—	—	—
血管肉腫	1	0	0	0	0	—	—	—	—	—

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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2-3-2 腫瘍性病変：12～18ヵ月の計画殺、切迫殺及び死亡動物（衛星群及び主群：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
卵巣 検査数	—	—	—	—	—	21	16	22	20	19
嚢胞腺腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
黄体腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
子宮体部 検査数	—	—	—	—	—	21	15	22	20	20
子宮内膜間質ポリープ	—	—	—	—	—	0	0	2	0	5*
平滑筋腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	1	0	0	1	1
血管腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
腺癌	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
子宮頸部 検査数	—	—	—	—	—	21	16	22	20	20
平滑筋腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	1	0	2	0	0
腺癌	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
膣 検査数	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
平滑筋腫	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
胸腔 検査数	—	—	—	—	1	—	—	—	1	1
線維肉腫	—	—	—	—	1	—	—	—	0	0
骨形成性肉腫	—	—	—	—	0	—	—	—	0	1
左後肢 検査数	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
骨形成性肉腫	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
腹腔側部 検査数	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
血管肉腫	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

表2-4-1 腫瘍性病変：18ヵ月以降の計画殺、切迫殺及び死亡動物（主群）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
眼 検査数	54	50	54	57	52	55	51	51	57	52
脂肪肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
皮膚 検査数	54	49	54	57	52	55	52	51	57	52
乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性リンパ腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
脂肪肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腺扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肺 検査数	54	50	54	57	52	54	52	51	57	52
細気管支・肺胞腺腫	15	13	14	14	12	16	13	8	12	9
細気管支・肺胞腺癌	1	4	2	3	3	2	0	3	2	0
心臓（心耳） 検査数	—	1	1	1	—	—	1	1	2	1
血管肉腫	—	0	0	0	—	—	1	0	0	0
肝臓 検査数	54	50	54	57	52	55	52	51	57	52
肝細胞腺腫	18	9	12	8*	7*	3	0	1	3	1
肝細胞腺癌	14	2**	5*	4**	7	3	1	0	1	0
血管腫	0	2	3	1	0	0	1	2	0	1
血管肉腫	3	1	0	1	3	2	0	2	0	0
細網細胞肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
胆嚢 検査数	49	50	52	54	48	51	48	46	56	48
多発性ポリープ症	1	2	2	0	0	1	0	0	0	0
膵臓 検査数	54	50	54	55	52	55	52	51	56	52
腺房細胞腺腫	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
島細胞腺腫	2	0	0	1	0	0	2	0	0	0
唾液腺 検査数	54	50	53	57	52	54	51	50	57	51
線維腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
胃 検査数	54	50	54	56	52	55	52	51	57	51
ポリープ	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
腺扁平上皮癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
十二指腸 検査数	54	50	54	57	52	55	52	51	57	52
腺腫様ポリープ	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ポリープ	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
盲腸 検査数	54	50	53	57	52	53	52	50	57	51
脂肪肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
悪性リンパ腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
直腸 検査数	54	50	53	57	52	55	52	51	57	51
多発性ポリープ症	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
骨髄 検査数	54	50	54	57	52	55	51	51	56	50
血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

表2-4-2 腫瘍性病変：18ヵ月以降の計画殺、切迫殺及び死亡動物（主群：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
脾臓 検査数	53	50	54	57	52	55	52	51	57	52
血管腫	2	0	1	1	3	0	1	0	0	0
血管肉腫	1	0	0	1	0	1	1	2	0	0
悪性リンパ腫	6	1	6	2	4	12	5	6	9	17
細網細胞肉腫	0	1	0	1	0	2	3	1	0	1
顎下リンパ節 検査数	—	1	1	—	—	2	1	—	—	—
悪性リンパ腫	—	0	0	—	—	1	0	—	—	—
細網細胞肉腫	—	0	0	—	—	1	0	—	—	—
縦隔リンパ節 検査数	37	38	42	41	49	25	38	27	34	23
血管腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
悪性リンパ腫	0	0	0	0	0	5	1	2	0	1
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
腸間膜リンパ節 検査数	53	50	54	56	51	54	52	48	54	51
血管腫	0	0	1	0	0	2	0	3	1	2
血管肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
悪性リンパ腫	2	1	0	0	1	9	3	0**	1**	0**
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	2	3	1	0	0
腭リンパ節 検査数	—	—	—	1	1	1	—	—	—	—
細胞細胞肉腫	—	—	—	0	0	1	—	—	—	—
腋下リンパ節 検査数	1	—	—	1	1	—	1	—	—	1
悪性リンパ腫	1	—	—	0	0	—	0	—	—	0
腎リンパ節 検査数	—	1	1	—	—	1	1	1	—	—
悪性リンパ腫	—	0	0	—	—	0	1	0	—	—
細網細胞肉腫	—	0	0	—	—	0	0	1	—	—
未同定リンパ節 検査数	—	—	1	1	—	6	—	1	2	6
悪性リンパ腫	—	—	0	0	—	3	—	0	0	0
所属リンパ節 検査数	17	4	10	7	11	12	4	15	11	9
悪性リンパ腫	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
胸腺 検査数	36	33	31	35	42	39	37	31	43	43
悪性リンパ腫	0	0	1	0	1	5	0	1	2	1
細網細胞肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
下垂体 検査数	51	48	53	54	51	47	46	49	53	51
前葉腺腫	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0
腺腫	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0
副腎 検査数	54	49	54	56	52	55	52	51	57	52
褐色細胞腫	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1
皮質腺腫	6	2	0*	3	4	1	0	1	0	0
腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : p < 0.05、** : p < 0.01 (申請者にて実施)

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2-4-3 腫瘍性病変：18ヵ月以降の計画殺、切迫殺及び死亡動物（主群：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
甲状腺 検査数	51	50	53	56	51	54	50	50	57	49
濾胞細胞腺腫	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
濾胞細胞腺癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
乳腺 検査数	2	—	—	—	2	22	32	28	27	21
腺腫	0	—	—	—	0	0	0	0	1	1
嚢胞腺腫	0	—	—	—	0	0	0	1	0	0
乳頭状嚢胞腺腫	0	—	—	—	0	0	0	1	0	0
腺癌	0	—	—	—	0	2	0	0	0	2
嚢胞腺癌	0	—	—	—	0	1	0	0	1	1
乳頭状嚢胞腺癌	0	—	—	—	0	0	0	0	1	0
腺扁平上皮癌	0	—	—	—	0	0	0	2	2	0
癌肉腫	0	—	—	—	0	1	0	0	0	0
精巣 検査数	54	50	54	57	52	—	—	—	—	—
間細胞腫	1	1	1	4	4	—	—	—	—	—
乳頭状腺腫	0	0	0	2	0	—	—	—	—	—
血管腫	0	0	0	0	1	—	—	—	—	—
精巣上体 検査数	54	50	54	57	52	—	—	—	—	—
平滑筋腫	0	1	0	0	0	—	—	—	—	—
卵巣 検査数	—	—	—	—	—	55	52	51	56	52
顆粒膜細胞腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
黄体腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
乳頭状腺腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
乳頭状嚢胞腺腫	—	—	—	—	—	0	1	2	4	0
血管腫	—	—	—	—	—	0	1	1	1	0
血管肉腫	—	—	—	—	—	0	0	1	0	0
子宮体部 検査数	—	—	—	—	—	55	51	51	57	52
腺腫	—	—	—	—	—	0	1	0	0	0
乳頭状腺腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
腺癌	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
子宮内膜間質ホ ^o リーフ ^o	—	—	—	—	—	10	2*	3*	3*	8
血管腫	—	—	—	—	—	1	1	1	1	2
血管肉腫	—	—	—	—	—	0	1	2	1	0
線維腫	—	—	—	—	—	1	0	0	0	0
平滑筋腫	—	—	—	—	—	1	1	0	4	0
平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	1	0	3	1	0
脂肪肉腫	—	—	—	—	—	0	0	0	1	0
子宮頸部 検査数	—	—	—	—	—	55	51	48	55	52
線維腫	—	—	—	—	—	1	0	0	2	0
平滑筋腫	—	—	—	—	—	1	0	0	2	0
血管腫	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1
腺癌	—	—	—	—	—	0	0	0	0	1

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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2-4-3 腫瘍性病変：主群18ヵ月以降の計画殺、切迫殺及び死亡動物（主群：続き）

投与量 (ppm)	雄					雌				
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500
卵巣間膜 検査数	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—
脂肪腫	—	—	—	—	—	—	0	1	—	—
尾 検査数	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
血管腫	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
左前肢 検査数	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—
脂肪肉腫	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
右前肢 検査数	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
血管肉腫	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—
左後肢 検査数	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1
血管腫	1	—	—	—	—	—	—	—	—	0
血管肉腫	0	—	—	—	—	—	—	—	—	1
不明 検査数	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—
線維腫	—	—	—	—	0	—	—	—	1	—
線維肉腫	—	—	—	—	1	—	—	—	0	—

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

主群の腫瘍総数及び担腫瘍動物数

投与量 (ppm)	雄					雌					
	0	10	20	500	2500	0	10	20	500	2500	
検査動物数	70	69	69	69	69	70	70	69	69	70	
腫瘍数	良性	59	42**	42**	41**	33**	58	35**	36**	33**	45*
	悪性	31	27	17*	13**	14**	41	39	17**	38	28*
腫瘍総数	90	69	59**	54**	47**	99	74	53**	71	73	
担腫瘍動物数	良性	37	31	35	28	25*	42	28*	32	24**	32
	悪性	26	22	16	12**	14*	39	36	17**	33	24**
担腫瘍動物数	47	45	43	36	34*	61	53	49*	47**	45**	

表中の数値は有所見個体数表わす。

Fisherの正確確率検定 * : $p < 0.05$ 、** : $p < 0.01$ (申請者にて実施)

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。

8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

8.6.1 ラットを用いた3世代繁殖毒性試験(資料No. T-4.1)

検体純度:

試験動物: Charles River CD (SD)BR 系ラット、各世代1群雄15匹、雌30匹
投与開始時5週齢

投与期間: F₀世代; 投与開始からF₁児離乳までの32週間
F₁世代; 離乳時からF₂児離乳までの35週間
F₂世代; 離乳時からF₃児離乳までの38週間
(1980年3月7日~1982年3月10日)

試験方法: 検体をアセトンに溶解し0、10、20、250 ppm濃度で餌に混入し自由に摂食させた。

方法及び試験項目:

繁殖方法; 試験手順を表1に示した。

第1世代 (F₀世代); 同群雄1対雌2で14日間の交尾期間後F_{1a}を得た。哺乳4日目に1腹産児数を10匹にそろえた。離乳後F_{1a}は屠殺廃棄した。F_{1a}離乳14日後同群雄1対雌2で14日間の交尾期間後F_{2b}を得た。哺乳4日目に1腹産児数を10匹にそろえた。離乳後各群雄15匹雌30匹を任意に選択しF₁親世代動物とした。各群雌雄各10匹を肉眼的に検査し、組織を採取した。F₀世代は屠殺後剖検した。

第2世代 (F₁世代); 第1世代に準じF₂親世代動物を設けた。

さらに各群雌雄各10匹を肉眼的に検査し組織を採取した。F₁親世代は屠殺後剖検した。

第3世代 (F₂世代); 第1世代に準じ離乳後各群雌雄各10匹を任意に選択し、肉眼的に検査し組織を採取した。F₂親世代は各群雌雄各10匹を肉眼的に検査し組織を採取した。

一般状態及び死亡率; 全動物の全試験期間中死亡及び毒性徴候の観察を毎日行った。

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

交配及び妊娠の確認；交配は同じ投与群の雄 1 匹に対して雌 2 匹を 14 日間同居させた。交配期間中、毎日雌動物の膣垢検査を行い精子もしくは膣栓が確認された日を妊娠 0 日目とした。

試験項目；親世代は週 1 回、詳細観察、体重、飼料摂取量を測定。

親世代の雌動物はさらに妊娠 0, 6, 15, 21 日目、哺乳 0, 7, 14, 21 日目の体重を測定した（1 腹児数全数を分娩し終わった日を哺乳 0 日とする）。

生存産児数、死亡産児数、性比、出産児体重、哺乳 0, 4, 7, 14, 21 日目の新生児体重を測定した。

繁殖性に関する指標；次の指標を算出した。

$$\text{交配率} = \frac{\text{交配した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交配した雌動物数}} \times 100$$

産児指数；次の指標を算出した。

$$\text{生後 4 日生存率} = \frac{\text{4 日の生存児動物数}}{\text{0 日の生存児動物数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 (生後 21 日生存率)} = \frac{\text{21 日生存児動物数}}{\text{4 日(調整後)の生存児動物数}} \times 100$$

臓器重量；肉眼的検査および剖検に供した動物について副腎、脳、生殖器、心、腎、脾、肝、甲状腺および上皮小体の臓器重量を測定した。

病理組織学的検査；肉眼的検査および剖検に供した動物について検査を行った。

F₀ 親世代、F₁ 親世代は生殖器および肉眼病変部、F_{1b} 児世代、F_{2b} 児世代、F_{3b} 児世代、F_{2b} 親世代は重量測定臓器を含め骨、骨髄、食道、眼、大腸、唾液腺、精囊、骨格筋、皮膚、乳腺、小腸、十二指腸、回腸、空腸、脊髄、胃、肺、リンパ節、腓、抹消神経、下垂体、前立腺、胸腺、気管、膀胱、子宮および肉眼病変部を検査した。

試験結果；概要を表 2 に示した。

親動物では、一般症状および死亡に検体投与の影響は認められなかった。250 ppm 投与群雄の F₁ 親世代、F₂ 親世代の体重は、常に対照群の雄より低かった。体重に対する同様の影響が妊娠および哺乳中の高投与群雌に認められたが、生育期の影響は明らかでなかった。

[申請者見解；その他の有意な変動は断続的にみられたものであり、また用量との関連性がないため、偶発性の変動と考えた。]

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。

児動物では、250 ppm 投与群のすべての世代の新生児体重は、出産から離乳までの期間において対照群と比較して低値であった。また、250 ppm 投与群の出産児数および出産時生存児数は F₁ および F₂ 世代で対照群と比較して低値であった。

本検体は試験した各投与レベルにおいて、何れの性の生殖機能に悪影響をもたらさなかった。

全ての肉眼的病理所見は、投与群および対照群との間で無作為に分布していたことから、偶発的と考えられた。

結 論： 以上の結果から、250 ppm までの投与量で連続した 3 世代に亘って混餌投与したとき、本剤はラット繁殖性に影響を及ぼさなかった。毒性に対する最大無作用量 (NOEL) は 20 ppm (雄：1.39～1.80 mg/kg/day、雌：1.69～2.00 mg/kg/day) と判断される。

[申請者注]

報告書原文では 250ppm 投与群を含め検体投与による繁殖能への影響がなかったと結論付けているが、250ppm 投与群の児動物 F1b 及び F2b では出産児数の有意な減少が認められていることから、繁殖能への最大無作用量は 20ppm (雄：1.39～1.80mg/kg/day、雌：1.69～2.00mg/kg/day) と推定される。

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。

表 1-1 試験手順

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
F ₀	生育(14週間)		臨床所見、生死について毎日観察 体重を週1回、摂餌量を毎日測定 (生育期間のみ)
	交配(2週間)	雄1匹に対して雌2匹で交配 膣栓/膣垢中精子の存在で交 尾確認(妊娠0日)	交配状況の観察 体重および摂餌量を週1回測定
	妊娠(3週間)		妊娠0、6、15、21日に母動物の体重を測定
	出産(F _{1a})		出産状況の観察 児の一般状態、生存産児数、死亡産児数、外表 異常、性別及び生存児体重測定
	哺育(3週)	出生後4日目に、各同腹児数 を雌雄各5匹に調整 (不可能な場合、雌雄計10匹)	哺育0、7、14、21日に母動物の体重測定 哺育0、4、7、14、21日に生存児数、児動物体 重測定 途中死亡及び哺育4日に選抜されなかった児動 物について異常の検査
	離乳		全てのF _{1a} 動物を屠殺、廃棄
	2週		
	交配(2週)	雄1匹に対して雌2匹で交配 膣栓/膣垢中精子の存在で交 尾確認(妊娠0日)	交配状況の観察
	妊娠(3週)		妊娠0、6、15、21日に体重を測定
	出産(F _{1b})		出産状況の観察 児の一般状態、生存産児数、死亡産児数、外表 異常、性別及び生存児体重測定
F ₁	哺育(3週)	出生後4日目に、各同腹児数 を雌雄各5匹に調整 (不可能な場合、雌雄計10匹)	哺育0、7、14、21日に母動物の体重測定 哺育0、4、7、14、21日に生存児数、児動物体 重測定 途中死亡及び哺育4日に選抜されなかった児動 物について異常の検査
	離乳	継代用にF _{1b} 動物から各群雄 15匹、雌30匹を無作為に選 抜(最大各腹雌1匹、雌2匹)	継代用に選抜されなかった児動物から各群雌雄 各10匹を肉眼的に検査し、臓器重量測定、病 理組織学的検査を実施 残りの児動物およびF ₀ 世代親動物を屠殺、剖 検 親動物は、生殖器および病変部について病理組 織学的検査を実施。

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 1-2 試験手順 (続き)

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
F ₁	生育(17週)	<p>(F₀世代に準ずる)</p> <p>継代用に F_{2b} 動物から各群雄 15 匹、雌 30 匹を無作為に選抜 (最大各腹雄 1 匹、雌 2 匹)</p>	<p>臨床所見、生死について毎日観察 体重および摂餌量を週 1 回測定</p> <p>(F₀世代に準ずる)</p>
	交配(2週)		
	妊娠(3週)		
	出産 (F _{2a})		
	哺育(3週)		
	離乳		
	生育(2週)		
	交配(2週)		
	妊娠(3週)		
	出 産 (F _{2b})		
哺育(3週)			
離乳	継代用に F _{2b} 動物から各群雄 15 匹、雌 30 匹を無作為に選抜 (最大各腹雄 1 匹、雌 2 匹)	継代用に選抜されなかった児動物から各群雌雄各 10 匹を肉眼的に検査し、臓器重量測定、組織採取、病理組織学的検査を実施 残りの児動物および F ₁ 世代親動物を屠殺、剖検。親動物は、生殖器および病変部について病理組織学的検査を実施	
F ₂	生育(17週)	<p>(F₁世代に準ずる)</p>	<p>(F₁世代に準ずる)</p> <p>各群雌雄各 10 匹の児動物および親動物を肉眼的に検査し、臓器重量測定、組織採取、病理組織学的検査を実施 残りの児動物および F₂ 世代親動物を屠殺、剖検</p>
	交配(2週)		
	妊娠(3週)		
	出産(F _{3a})		
	哺育(3週)		
	離乳		
	2週		
	交配(2週)		
	妊娠(3週)		
	出産(F _{3a})		
哺育(3週)			
離乳			

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 2 結果の概要

世代	親 : P				親 : F1				親 : F2					
	児 : F1b		児 : F2b		児 : F3b		児 : F3b							
投与量(ppm)	0	10	20	250	0	10	20	250	0	10	20	250		
動物数 : 雄 : 雌	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30	15 30		
親動物	一般状態及び死亡	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE	
	体重 : 雄—生育期	—	NE	2-3w ↓	1-3w ↓	—	NE	NE	3-14w ↓・ ↓	—	NE	NE	3-14w ↓・ ↓	
	雌—生育期	—	NE	1w ↓	1-3w ↓・ ↓	—	NE	NE	2-6w ↓	—	6-11w ↑	NE	NE	
	雌—妊娠期 (体重変化 0-20 日)	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	↓	—	NE	NE	↓	
	雌—哺育期 (体重変化 0-21 日)	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	↓	
	体重増加量 : 雄—生育期	—	NE	NE	1w ↓	—	NE	NE	3w ↓	—	NE	NE	3-5w ↓	
	雌—生育期	—	NE	1w ↓	1w ↓	—	NE	NE	11w ↑ 14w ↓	—	5w ↑	NE	NE	
	検体摂取量(mg/kg/日) 雄—生育期(平均) 雌—生育期(平均)	0 0	0.72 0.82	1.39 1.69	18.3 22.8	0 0	0.82 0.92	1.58 1.86	22.2 27.5	0 0	0.83 0.97	1.80 2.00	23.8 27.4	
	雄—交配率(%)	87	93	87	87	93	100	93	93	100	87	87	100	
	雌—交配率(%)	86	93	97	87	77	80	83	76	93	87	90	93	
	雌—妊娠率(%)	96	96	89	96	96	100	96	86	93	88	96	89	
	交配期間(日)	3.5	4.1	2.4	2.6	3.5	3.2	3.9	2.9	2.9	3.0	4.0	4.0	
	妊娠期間(日)	21.8	22.0	22.0	22.1	22.1	22.3	22.5	22.5	22.4	22.5	22.1	22.2	
	児動物	新生児数(平均) 0 日齢 : 出産児数 0 日齢 : 生存児数	13.3 13.1	12.3 12.0	11.7 11.4	10.5 ↓ 10.4 ↓	12.0 11.9	12.1 11.8	11.2 10.9	9.4 ↓ 8.8 ↓	11.8 11.7	11.1 10.7	12.2 12.1	11.5 11.1
		性比 (雄%)	52.1	56.7	44.6	52.3	44.8	49.9	51.5	60.1	50.4	48.7	51.5	49.7
新生児生存率(%) 0-4 日 4-21 日		97.7 96.5	95.1 97.1	98.0 98.1	94.1 89.2	96.4 98.6	96.4 99.2	97.4 98.2	71.6 96.2	97.8 99.6	97.7 98.0	98.8 97.6	89.8 92.5	
新生児体重 (平均) 0 日齢(g) 4 日齢(g) 7 日齢(g) 14 日齢(g) 21 日齢(g)		6.4 10.5 16.5 32.2 49.7	6.5 10.7 17.0 32.2 50.5	6.7 11.3 17.1 32.8 51.4	6.5 9.8 ↓ 14.1 ↓ 27.6 ↓ 43.5 ↓	6.6 10.5 15.5 27.5 42.2	6.7 11.0 15.8 27.8 43.2	6.8 11.0 16.0 27.2 42.7	6.2 ↓ 9.5 ↓ 13.7 25.6 41.1	6.5 10.6 15.6 25.6 40.6	6.7 11.1 16.2 27.7 43.3	6.6 10.7 15.6 26.7 40.8	5.9 ↓ 9.0 ↓ 12.7 ↓ 22.8 ↓ 37.3	

Dunnett の検定 ; ↑ ↓ : p < 0.05、 ↓, ↓ : p < 0.01。NE:投与によると考えられる影響なし。

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

8.6.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)

検体純度：

試験動物： Charles River COBS® CD®系雌ラット (90日齢)、1群25匹

投与期間： 妊娠期間中14日間 (1979年4月6日～1979年6月22日)

投与方法： 検体をコーン油に溶解し、0、2、10および20 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日から19日(膣栓もしくは膣垢中の精子が認められた日を妊娠0日として起算)の14日間、毎日1回経口投与した。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。

観察・検査項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、16および20日に体重を測定した。妊娠20日に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、早期および後期死亡胎児数を記録した。また、全親動物について肉眼病理学的検査を実施した。

生存胎児； 体重を測定し、性別判定及び外表異常の観察を行った。各腹1/3の胎児について内臓異常を検査し、残りの胎児は骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。

試験結果： 概要を添付の表に示した。

親動物； 全投与期間中、20 mg/kg/day群で、検体投与後、全身の振戦が認められた。また、10および20 mg/kg/day群において、透明な嘔吐をした動物数がわずかに増加した。10および20 mg/kg/day群の妊娠0～20日における体重増加量が対照群と比較して有意に低下した。また、20 mg/kg/day群においては、妊娠9、12、16および20日の体重が有意に低下した。

黄体数、着床数、早期および後期死亡胎児数および生存胎児数については、いずれの群においても有意差は認められなかった。

生存胎児； 10および20 mg/kg/day群の胎児体重が有意に低下した。また、いずれの群においても、外表、内臓および骨格異常について検体投与の影響は認められなかった。20 mg/kg/dayにおいて胸骨分節の不完全骨化の発生数がわずかに増加したが、これはこの群で認められた胎児体重の減少と関連していると考えられた。

以上の結果から、本剤を妊娠ラットに投与したとき、最高投与量の20 mg/kg/dayにおいても胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

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。

申請者見解：10および20 mg/kg/day群における母動物の体重増加量および胎児体重の低下から、母動物および胎児のNOAELは2 mg/kg/dayであると判断される。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	2	10	20		
1 群当りの動物数		25	25	25	25		
親	一般状態	-	-	透明な嘔吐物	振戦、 透明な嘔吐物		
	死亡または切迫屠殺動物数	0	0	0	0		
	妊娠動物数 (%)	24 (96)	23 (92)	23 (92)	23 (92)		
	除外動物数 ⁽¹⁾	0	0	0	1		
	流産動物数	0	0	0	0		
	全胎児死亡動物数	0	0	0	0		
	検査親動物数	24	23	23	22		
動物	体重		-	-	妊娠 9~20 日↓		
	体重増加量 (妊娠 0~20 日:g)	138	137	117↓	95↓		
胎児	妊娠子宮重量 (g)	71	71	75	70		
	補正体重 ⁽²⁾ (g)	313	317	301	278		
	着床所見	黄体数 (平均)	15.6	17.2	16.1	17.4	
		着床数 (平均)	13.5	14.3	14.5	14.7	
		生存胎児数 (平均)	12.2	13.5	13.9	13.3	
		死亡胎児数 (平均)	早期	1.3	0.9	0.6	1.4
			後期	0.0	0.0	0.0	0.0
胎児体重 (g)	3.7	3.6	3.5↓	3.2↓			
性比 (%雄)	48	49	50	49			
動物	外表異常 ⁽³⁾ 検査胎児数	292	310	320	293		
	口蓋裂	0	1(1)	0	1(1)		
	外脳症および眼瞼開裂	0	0	1(1)	0		
胎児	内臓異常 検査胎児数	101	105	109	101		
	奇形 ⁽³⁾						
	水頭症	0	0	1(1)	0		
	右大動脈弓	0	0	0	1(1)		
	変異 ⁽³⁾						
腎盂拡張 and/or 尿管拡張	2(2)	2(2)	2(2)	4(3)			

(1) 投与開始前に、脱水症のため除外

(2) 補正体重：妊娠 20 日の体重－妊娠子宮重量

(3) 発生数(発生腹数)

・：検体投与による影響なし

↓：p<0.05, ↓↓：p<0.01 (Dunnett の検定)

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

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	2	10	20
胎 児 動 物	骨格異常 検査胎児数	191	205	211	192
	奇形 ⁽³⁾				
	脊柱側弯	1(1)	0	0	0
	肋骨屈曲	0	0	0	2
	変異 ⁽³⁾				
	仙椎前脊椎数 : 27	2(1)	0	1(1)	1(1)
	第 14 痕跡状過剰肋骨	27(11)	28(16)	34(14)	35(14)
	第 14 完全過剰肋骨	2(1)	0	1(1)	2(1)
	頸肋骨	1(1)	0	1(1)	1(1)
	不完全骨化 ⁽³⁾				
	頭蓋骨	0	1(1)	3(3)	5(2)
	舌骨体	2(2)	4(3)	6(4)	5(3)
	胸骨分節 : 5 and/or 6	26(11)	20(11)	26(11)	48(18)
	その他	2(2)	2(2)	2(2)	2(1)
	脊椎	1(1)	0	0	0
坐骨	1(1)	0	0	0	

(3) 発生数(発生腹数)

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

8.6.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. T-4.3)

検体純度：

試験動物： New Zealand White 種 妊娠ウサギ (試験開始時 7~7.5 ヶ月齢)、1 群 16 匹

投与期間： 妊娠期間中23日間 (1979年4月27日~1979年5月31日)

投与方法： 検体をコーン油に溶解し、0、2、5および10 mg/kgの投与量で妊娠6日から28日 (人工授精した日を妊娠0日として起算)まで23日間毎日1回経口投与した。なお、対照群にはコーン油を同様に投与した。

観察・検査項目：

親動物； 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、12、18、24および29日に体重を測定した。妊娠29日に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、生存及び吸収 (早期・後期)胎児数を記録した。また、全動物について肉眼病理学的検査を行った。

生存胎児；体重を測定し、性別判定及び外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常後、骨格標本作製し、骨格異常を検査した。

試験結果： 概要を添付の表に示した。

親動物； 各投与群の一般状態については、対照群と同様であった。10 mg/kg/day 群で3匹、2 mg/kg/day 群および対照群で1匹が死亡した。また、投与期間中に2および5 mg/kg/day 群の各1匹が流産した。また、10 mg/kg/day 群において妊娠6~12日、18~24日の体重増加量に有意な低下が認められた。

いずれの群においても着床数、黄体数、生存胎児数、後期胎児死亡数および性比については、対照群と有意な差は認められなかった。

生存胎児；いずれの投与群においても、胎児体重、外表、内臓および骨格検査において、検体投与に起因した影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに投与したとき、最高投与量の10 mg/kg/dayにおいても胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

申請者見解：10 mg/kg/day群における母動物の体重増加量の低下から、母動物のNOAELは5 mg/kg/day、胎児のNOAELは10 mg/kg/dayであると判断される。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	2	5	10
1群当りの動物数		16	16	16	16
親動物	一般状態	-	-	-	-
	妊娠数 (%)	12(75)	13(81)	16(100)	14(88)
	死亡・切迫屠殺動物数	1	1	0	3
	流産動物数	0	1	1	0
	全胎児死亡動物数	0	1	0	0
	検査親動物数	12	10	15	11
	体重		-	-	-
	体重増加量		-	-	妊娠6-12日↓ 妊娠18-24日↓
	妊娠子宮重量 (g)	375	409	359	364
	補正体重 (g) ⁽¹⁾	3650	3669	3700	3601
着床所見	黄体数 (平均)	10.4	10.9	10.5	10.5
	着床数 (平均)	7.3	8.5	7.0	7.7
	生存胎児数 (平均)	6.8	7.6	6.3	6.5
	死亡胎児数 (平均)				
	早期	0.3	0.7	0.6	1.0
後期	0.3	0.1	0.1	0.2	
胎児動物	胎児重量 (g)	40.6	39.0	41.7	37.9
	性比 (%雄)	56	50	44	53
	検査胎児数	81	84	94	72
	外表異常 ⁽²⁾				
	部分的欠指	1(1)	0	0	0
	内臓異常				
	奇形 ⁽²⁾				
	水頭症	0	0	0	1(1)
変異 ⁽²⁾					
主要血管変異	4(2)	37(10)	12(7)	15(8)	
瞳孔周囲の血管；拡張	0	1(1)	0	0	

(1) 補正体重：妊娠 20 日の体重－妊娠子宮重量

(2) 発生数(発生腹数)

-：検体投与による影響なし

↓：p<0.05, ↓↓：p<0.01 (Dunnett の検定)

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

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	2	5	10
胎 児 動 物	検査胎児数	81	84	94	72
	骨格異常				
	奇形 ⁽²⁾				
	肋骨異常を伴う/伴わない脊椎側弯	0	1(1)	1(1)	1(1)
	痕跡的 第 13 肋骨不連続骨化	0	1(1)	0	0
	変異 ⁽²⁾				
	仙椎前脊椎数 ; 28	1(1)	0	0	0
	27	25(8)	9(5)	13(8)	27(9)
	25	1(1)	0	0	0
	第 13 痕跡状過剰肋骨	17(8)	14(8)	12(10)	4(3)
	第 13 完全過剰肋骨	26(10)	12(6)	25(10)	32(11)
	第 14 完全過剰肋骨	1(1)	0	0	0
	頸肋骨	0	0	1(1)	0
	頭蓋骨 ; 過剰	1(1)	0	3(3)	1(1)
	舌骨弓 ; 弯曲	6(4)	2(1)	2(2)	4(2)
	不完全骨化 ⁽²⁾				
	前頭骨	0	0	1(1)	0
	舌骨体	0	2(2)	1(1)	1(1)
	距骨	0	2(2)	1(1)	2(2)
	恥骨	0	0	0	1(1)
胸骨分節:5 and/or6	10(7)	15(6)	25(8)	18(7)	
その他	0	0	1(1)	0	

(2) 発生数(発生腹数)

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

8.7 変異原性

8.7.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料No. T-5.1)

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538株)、及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *hcr*株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。
検体を溶解させるため、DMSOを用いた。試験は2連性で、プレート法で行った。
溶解限度である5000 µg/plateを最高濃度とした。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は S9Mixの有無にかかわらずいずれの株においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたENNG、9-AA、2-NF及びAF-2ではS9Mixの非添加で、また2-AAはS9Mixの添加により全ての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

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。

薬物	濃度 (μg /プレート)	S9Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2hcr	TA98	TA1537	TA1538
対照 (DMSO)	0	—	112	4	7	24	10	14
検体	10	—	102	8	9	24	7	8
	50	—	107	7	7	40	6	9
	100	—	92	5	9	36	5	10
	500	—	93	8	12	35	8	9
	1000	—	117	5	7	33	8	13
	5000	—	106	6	10	33	4	12
対照 (DMSO)	0	+	90	6	15	28	9	16
検体	10	+	97	8	8	33	6	23
	50	+	104	5	9	22	8	20
	100	+	129	5	11	28	7	24
	500	+	101	6	10	20	6	22
	1000	+	81	7	9	21	6	24
	5000	+	102	9	14	29	4	16
ENNG	10	—		865				
9-AA	80	—				3157		
2-NF	2	—						370
AF-2	0.01	—	446					
	0.04	—			919			
	0.1	—				491		
2-AA	0.5	+	604			175		
		—	119			50		
	2	+		219			166	
		—		11			11	
	40	+			410			189
		—			12			12

ENNG : *N*-エチル-*N*'-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

AF-2 : フリルフラマイド

2-AA : 2-アミノアントラセン

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。

8.7.2 細菌を用いる復帰突然変異試験（資料No. T-5.2）

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538株)及びトリプトファン要求性大腸菌、*Escherichia coli* (WP 2*hcr*株)を用い、ラットの肝臓から調整した薬物代謝酵素系 (S9Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体を溶解させるためDMSOを用い、溶解限度である5000µg/plateを最高投与量とした。試験は2連性で、プレート法で行った。さらにTA98株、TA100株を用いてプレインキュベーション法を行った。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体はプレート法及びプレインキュベーション法において、S9Mixの有無にかかわらずいずれの株においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた、β-PL、9-AA、2-NF及びAF-2ではS9Mixの非添加で、また2-AA及び3,4-BPはS9Mixの添加により全ての菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

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。

薬物	濃度 (μg /プレート)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (2枚の平均値)							
			プレート法						フレイクレーション法	
			塩基対置換型			フレームシフト型			塩基対置換型	フレームシフト型
			TA 100	TA 1535	WP2 hcr	TA 98	TA 1537	TA 1538	TA 100	TA 98
対照 (DMSO)	0	—	214	4	22	22	7	13	124	16
検体	1	—	206	5	21	33	4	9	163	22
	10	—	179	5	31	18	5	12	99	16
	100	—	167	5	29	22	4	12	73	18
	500	—	167	7	17	19	5	15		
	1000	—	182	5	16	22	2	12	131	18
	2500	—	191	4	18	21	8	5		
	5000	—	206	3	18	14	5	10	86	16
対照 (DMSO)	0	+	137	4	14	25	7	15	140	20
検体	1	+	123	6	18	23	6	13	115	19
	10	+	146	3	12	25	6	15	114	15
	100	+	135	8	15	18	7	17	149	23
	500	+	144	8	16	24	3	15		
	1000	+	128	4	21	28	6	11	124	15
	2500	+	153	3	21	27	5	14		
	5000	+	124	6	24	21	6	13	74	17
β -PL	50	—		1410						
9-AA	200	—					>1000 0			
2-NF	50	—						5585		
AF-2	0.05	—	1258							
	0.1	—				470				
	0.25	—			998					
2-AA	10	+	2702	314	410	4955	330	2264		
		—	181	9	24	59	2	22		
3,4-BP	5	+							476	371
		—							97	26

β -PL : β -プロピオンラクトン

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

AF-2 : フリルフラマイド

2-AA : 2-アミノアントラセン

3,4-BP : 3,4-ベンゾピレン

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。

8.7.3 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料No. T-5.3)

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性の*Salmonella* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538株) およびトリプトファン要求性の酵母菌*Saccharomyces* D4株を指示菌株として、*in vitro*突然変異誘発性試験を行った。

ラット及びマウスの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9Mix)の存在下および非存在下で、サルモネラ菌の場合はAmesらの方法、酵母の場合はZimmermann, F.K.らの方法に従い、プレート法で行った。検体を溶解させるためDMSOを用いた。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は ラット及びマウスのS9Mixの有無にかかわらずいずれの株においても対照に比べて復帰変異コロニー数及び遺伝子変換コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたEMS、ICR-100及び2-NFではS9Mixの非添加で、また2-AAはS9Mixの添加により全ての菌株で明らかな復帰変異コロニー数及び遺伝子変換コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

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。

薬物	濃度 (μ L/plate)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/plate					遺伝子変換 コロニー数/plate
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA 1535	TA 100	TA 1537	TA 1538	TA 98	<i>Saccharomyces</i> D4
対 照 (DMSO)	50		10	260	15	15	52	10
検 体	0.01	-	15	169	8	9	57	9
	0.1		8	218	9	17	41	9
	1		15	250	18	10	32	7
	5		9	253	5	9	38	10
	10		12	276	7	11	54	10
陽 性 対 照	EMS	10	1467	2300	-	-	-	63
	ICR-100	10 (μ g/plate)	-	-	334	-	-	-
	2-NF	10 (μ g/plate)	-	-	-	1155	1493	-

対 照 (DMSO)	50	+	20	395	13	19	35	7
検 体	0.01		18	181	18	8	30	7
	0.1		15	308	9	19	35	10
	1		13	356	15	15	36	12
	5		13	332	12	17	21	7
	10		13	365	13	9	38	8
陽性対照 2-AA	2.5 (μ g/plate)		148	1415	236	1220	654	13*

対 照 (DMSO)	50	+	24	354	13	19	46	8
検 体	0.01		23	254	10	21	46	10
	0.1		16	277	13	24	38	8
	1		12	311	11	15	49	10
	5		15	357	8	16	43	8
	10		13	371	7	7	40	10
陽性対照 2-AA	2.5 (μ g/plate)		91	828	85	375	519	19*

EMS : メタンサルホン酸エチル

ICR-100 : キナクリンマスタード

2-NF : 2-ニトロフルオレン

2-AA : 2-アミノアントラセン

* : *Saccharomyces* D4株の代謝活性化試験の陽性対照物質は知られていない。

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

8.7.4 細菌を用いたDNA修復試験 (資料No. T-5.1)

検体純度 :

試験方法 : 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株 (H-17, rec⁺) と欠損株 (M-45, rec⁻) を用いたRec-assayにて、DNAの損傷の誘発性を検定した。

検体を溶解させるためDMSOを用い、1~100%の検体溶液を直径10 mmのろ紙に0.02 mL染ませて適用した。

試験結果 :

薬 物	濃 度 v/v %	阻 止 域 (mm)		差 (mm)
		M 45	H 17	
対 照 (DMSO)	—	0	0	0
検 体	1	0	0	0
	2.5	0	0	0
	5	0	0	0
	10	0	0	0
	25	0	0	0
	50	0	0	0
	100	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10 (µg/ディスク)	6	4.5	1.5
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1 (µg/ディスク)	9	2	7

検体は1~100% (v/v)のすべての濃度において両株に全く生育阻止を示さなかった。一方、陰性対照として用いたカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を示し、陽性対照として用いたマイトマイシンCではH17に比べM45に顕著な生育阻止帯を生じた。

以上の結果から、検体は本試験条件下においてDNA損傷誘発性を有しないものと判断される。

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。

8.7.5 細菌を用いたDNA修復試験 (資料No. T-5.2)

検体純度：

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株 (H-17, rec⁺) と欠損株 (M-45, rec⁻) を用い、ストリーク法及び孢子寒天法によるRec⁺ assayにて、DNAの損傷の誘発性を検定した。検体を溶解させるためDMSOを用いた。

試験結果：

薬 物	ストリーク法				孢子寒天法			
	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M 45	H 17			M 45	H 17	
対 照 (DMSO)	—	0	0	0	—	0	0	0
検 体	0.2	0	0	0	3	0	0	0
	2	0	0	0	30	0	0	0
	20	0	0	0	150	0	0	0
	100	0	0	0	300	0	0	0
	200	0	0	0	750	0	0	0
	500	0	0	0	1500	0	0	0
	1000	0	0	0	3000	0	0	0
	2000	0	0	0				
陰性対照 (カナマイシン)	10	6	6	0	15	28	28	0
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1	9	1	8	0.15	38	25	13

ストリーク法及び孢子法とも検体のいずれの濃度でも両菌株に全く生育阻止を認めなかった。

一方、ストリーク法及び孢子法のいずれにおいても、マイトマイシンCでは両菌株間に顕著な生育阻止の差を生じ、カナマイシンでは両菌株に同程度の生育阻止を生じた。

以上の結果から、検体は本試験条件下においてDNA損傷誘発性を有しないものと判断される。

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。

8.7.6 細菌を用いたDNA修復試験（資料No. T-5.4）

検体純度：

試験方法： 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株（H-17, rec⁺）と欠損株（M-45, rec⁻）を用い、代謝活性化および非活性化法によってDNAの損傷の誘発性を検定した。被験物質を溶解させるためDMSOを用いた。

試験は、菌液を含む軟寒天を最小寒天培地に上層し、中央にwellを置き、検体溶液及びリン酸緩衝液またはS9Mixを加えて24時間培養して行った。試験は2回行った。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は代謝活性系の有無にかかわらず、いずれの濃度でも両菌株に全く生育阻止を認めなかった。

以上の結果から、検体は本試験条件下においてDNA損傷誘発性を有しないものと判断される。

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。

S9 Mix	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{well}$)	1回目試験			2回目試験		
			阻止域 (mm)			阻止域 (mm)		
			M45	H17	差 (mm)	M45	H17	差 (mm)
-	対照 (DMSO)	0	0	0	0	0	0	0
	検体	0.5	0	0	0	0	0	0
		1	0	0	0	0	0	0
		10	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0
		500	0	0	0	0	0	0
		1000	0	0	0	0	0	0
		2000	-	-	-	0	0	0
	MMS	10($\mu\ell/\text{well}$)	0	38	(38)	64	39	25
+	対照 (DMSO)	0	0	0	0	0	0	0
	検体	0.5	0	0	0	0	0	0
		1	0	0	0	0	0	0
		10	0	0	0	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0
		500	0	0	0	0	0	0
		1000	0	0	0	0	0	0
		2000	-	-	-	0	0	0
	DMN	100($\mu\ell/\text{well}$)	0	23	(23)	12	11	1

MMS : メタンサルホン酸メチル

DMN : ジメチルニトロソアミン

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。

8.7.7 ラットを用いた *in vivo* 細胞遺伝学的試験 (資料No. T-5.5)

検体純度：

供試動物： SD系ラット 8～10週齢、体重 275～365 g、1群雄10匹

試験方法： 単回投与および連続投与による2つの試験を行った。単回投与試験では検体を5、12および30 mg/kgの用量で経口投与した。投与6、24および48時間後に動物を屠殺し、摘出した大腿骨より骨髓細胞の染色体標本を作製した。また、陽性対照群にはトリエチルメラミン (TEM)を0.25 mg/kgの用量で腹腔内投与し、投与24時間後に骨髓細胞の染色体標本を作製した。

連続投与試験では検体を5、12および30 mg/kg/日の用量で5日間連続経口投与し、最終投与6時間後に動物を屠殺して骨髓細胞の染色体標本を作製した。単回投与および連続投与試験のいずれでも対照群には検体の溶媒として用いたコーン油を5 mL/kgまたは5 mL/kg/日の用量で投与した。

また、屠殺2時間前にコルヒチンを4 mg/kgの割合で腹腔内投与した。染色体標本はギムザ染色し、各動物あたり50個の分裂中期像を観察した。染色体異常は染色分体型、染色体型のギャップ (gap)および切断 (break)、構造的な再結合 (structural rearrangement)、倍数性 (ploidy)について調べた。

さらに、有糸分裂頻度についても調べた。結果の評価は異常細胞数頻度については χ^2 検定を用い、細胞あたりの異常数については t検定を用いて統計学的に有意差を調べた。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体投与後、単回投与の12および30 mg/kg投与群ならびに連続投与の全群で体重の減少が認められた。単回投与の30 mg/kg投与群では投与48時間以内に1匹の動物が死亡した。

染色体分析の結果、いずれの検体投与群でも異常細胞頻度および細胞あたりの異常数の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では異常細胞頻度および細胞あたりの異常数のいずれも著明に増加した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

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。

単回投与試験

処 理	投与量 (mg/kg)	時間 (h)*	動物数	観察 細胞数	倍数性 (%)	染色体異常 ^{a)} (%)				異常細胞 ^{b)} (%)	異常数 ^{c)} ／細胞	有糸分裂頻度 (%)
						TG	TB	TR	TC			
溶媒対照 (コーン油)	5 mL/kg	6	10	500	0	0	0	0	0	0	0	6.3
		24	10	500	0	0	0	0.2	0	0.2	0.002	5.9
		48	10	500	0	0	0	0	0	0	0	5.3
検 体	5	6	10	500	0	0	0	0	0	0	0	6.6
		24	10	500	0	0	0	0	0	0	0	6.1
		48	10	500	0	0	0	0	0	0	0	5.0
	12	6	10	500	0	0	0	0.2	0	0.2	0.002	4.1
		24	10	500	0	0	0	0.2	0	0.2	0.002	6.6
		48	10	500	0	0	0	0.2	0	0.2	0.002	4.9
	30	6	10	500	0	0	0.2	0.2	0	0.4	0.004	5.8
		24	10	500	0	0	0	0	0	0	0	5.1
		48	9	500	0	0	0	0	0	0	0	4.6
陽性対照 (TEM)	0.25	24	10	500	0	4.2	4.0	1.4	3.0	8.4 [#]	0.398 ^{\$}	4.0

*: 投与後の屠殺時間

- a) TG: 染色分体型または染色体型ギャップを有する細胞の頻度
 TB: 染色分体型または染色体型切断を有する細胞の頻度
 TR: 交換、二動原体、環状またはその他の異常を有する細胞の頻度
 TC: 10個以上の異常を有する細胞の頻度

b) ギャップを除く

c) ギャップを除く

#: χ^2 検定 p<0.05

#: t検定 p<0.05

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。

5日間連続投与試験

処 理	投与量 (mg/kg/日)	時間 (h)*	動物数	観察 細胞数	倍数性 (%)	染色体異常 ^{a)} (%)				異常細胞 ^{b)} (%)	異常数 ^{c)} ／細胞	有糸分裂頻度 (%)
						TG	TB	TR	TC			
溶媒対照 (コーン油)	5 mL/kg/日	6	10	500	0	1.2	0.2	0	0	0.2	0.002	5.8
検 体	5	6	10	500	0	0.6	0	0	0	0	0	6.1
	12	6	10	500	0	0.4	0	0	0	0	0	7.4
	30	6	10	500	0	0.2	0	0	0	0	0	7.5

*：最終投与後の屠殺時間

- a) TG：染色分体型または染色体型ギャップを有する細胞の頻度
- TB：染色分体型または染色体型切断を有する細胞の頻度
- TR：交換、二動原体、環状またはその他の異常を有する細胞の頻度
- TC：10個以上の異常を有する細胞の頻度
- b) ギャップを除く
- c) ギャップを除く

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

8.7.8 マウスリンパ腫細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験 (資料 No. T-5.6)

検体純度 :

試験方法 : マウスリンパ腫株化細胞 L5178Y TK+/- -3.7.2C を用い、代謝活性化及び非代謝活性化系試験によって遺伝子突然変異誘発性を調べた。

検体の溶媒としてアセトンを用いた。対数増殖期の細胞を S9Mix の非存在及び存在下で 4 時間処理し、その後制限薬剤としてトリフルオロチミジン (TFT) 用いてクローン培地で培養し、各処理濃度について TFT 添加と非添加のコロニー数を計測し、突然変異出現率を求めた。陰性対照として溶媒のアセトンを用いた。陽性対照として非代謝活性化法ではエチルメタンスルホネート (EMS) を、代謝活性化法では 7,12-ジメチルベンツアントラセン (7,12-DMBA) を用いた。

用量設定根拠 ; 細胞毒性試験結果に基づき設定した。代謝活性化系の有無にかかわらず、明らかな毒性を示す濃度は 0.1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ であった。非代謝活性化系では 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ で増殖率 6%、代謝活性化系では 100 および 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ でそれぞれ増殖率 10% および 1% であったが、これは検体の析出に起因するものであった。

予備細胞毒性試験の結果に基づき、遺伝子突然変異試験は 0.0013~0.1 $\mu\text{L}/\text{mL}$ の濃度範囲で行い、非代謝活性化法は 0.0024、0.0032、0.0042、0.0056、0.0075、0.010、0.013、0.018、0.024 及び 0.032 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 、代謝活性化法は 0.0056、0.0075、0.010、0.013、0.018、0.024、0.032、0.042、0.056 及び 0.075 $\mu\text{L}/\text{mL}$ の濃度をクローニングに用いた。

試験結果 : 結果を次頁の表に示す。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの検体処理群においても溶媒対照群と比べて突然変異頻度の有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたエチルメタンスルホネート (EMS) 及び 7,12-ジメチルベンツアントラセン (7,12-DMBA) 処理群では、突然変異頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下において検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、マウスリンパ腫株化細胞 L5178Y に対して突然変異を誘発しないものと判断される。

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。

	処理	濃度 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	TFT 耐性 細胞コロニー 数/plate	生存細胞 コロニー数 /plate	突然変異 出現率 ($\times 10^{-4}$)	誘発突然 変異率	相対 生育率 (%) ^e	評価
非代 謝活 性化	溶媒対照 1 (アセトン) 2	0	40 45	215 195	0.4 0.5		100	
	検体	0.0024	46	185	0.5	0.0	92	-
		0.0032	24	205	0.2	-0.3	99	
		0.0042	42	222	0.4	-0.1	110	
		0.0056	42	208	0.4	-0.1	103	
		0.0075	49	209	0.5	0.0	86	
		0.010	41	203	0.4	-0.1	89	
		0.013	50	217	0.5	0.0	77	
		0.018	42	203	0.4	-0.1	74	
		0.024	58	174	0.7	0.2	37	
0.032	44	104	0.8	0.3	6			
代 謝活 性化	溶媒対照 1 (アセトン) 2	0	48 45	203 225	0.5 0.4		100	
		0.0056	53	213	0.5	0.0	100	-
		0.0075	40	226	0.4	-0.1	106	
		0.010	45	210	0.4	-0.1	95	
		0.013	30	209	0.3	-0.2	90	
		0.018	48	219	0.4	-0.1	97	
		0.024	49	204	0.5	0.0	92	
		0.032	51	217	0.5	0.0	59	
		0.042	47	200	0.5	0.0	50	
		0.056	62	187	0.7	0.2	10	
0.075	56	194	0.6	0.1	3			
非代 謝活 性化	溶媒対照 1 (アセトン) 2	0	21 37	189 209	0.2 0.4		100	
	陽性対照 EMS	0.5	218	20	21.5	21.2	26	+
		1.0	368	88	8.3	8.0	3	
代 謝活 性化	溶媒対照 1 (アセトン) 2	0	49 42	215 204	0.5 0.4		100	
	陽性対照 7,12-DMBA	5.0	236	170	4.7	4.2	66	+
		7.5	296	125	2.8	2.3	30	

TFT : トリフルオロチミジン

誘発突然変異率 = 検体による突然変異出現率 - 溶媒対照突然変異出現率

EMS : エチルメタンサルホネート

7,12-DMBA : 7,12-ジメチルベンツアントラセン

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。

8.7.9 マウスを用いた小核試験 (資料No. T-5.7)

検体純度：

試験動物： CD-1系マウス、各群雄5匹、5群、7週令

試験方法： 検体をコーン油に懸濁し、0、40、75及び150 mg/kg/日の投与レベルで、24時間間隔で2回経口投与した。対照群にはコーン油を同様に投与した。陽性対照のマイトマイシンCは生理食塩水に溶解して単回腹腔内投与した。対照群及び検体投与群は2回目投与6時間後、陽性対照群は1回投与24時間後に骨髓の塗布標本を作製した。ギムザ染色、超生体染色を施し、小核を有する多染性赤血球および正染性赤血球の出現頻度ならびに全赤血球中の多染性赤血球及び網赤血球の割合を調べた。

試験結果： 結果を以下の表に示した。

薬物	投与量 (mg/kg/day)	供試 動物数	小核を有する 多染性赤血球出 現頻度 (%)	小核を有す る正染性赤血球 出現頻度 (%)	全赤血球中の 多染性赤血球の 割合 (%)	全赤血球中の 網赤血球の 割合 (%)
対照 (コーン油)	0	5	0.18±0.12	0.20±0.18	54.3±5.8	60.5±7.1
検体	40×2	5	0.20±0.18	0.16±0.19	57.4±7.2	64.1±3.8
	75×2	5	0.18±0.15	0.17±0.15	53.9±3.2	58.1±4.2
	150×2	5	0.22±0.12	0.39±0.24	49.1±6.9	53.4±9.0
陽性対照 (マイトマイシンC)	3	5	12.80±4.71**	0.29±0.18	27.1±8.0**	35.8±4.7**

表中の値は平均値±SDを示す。 ** : p<0.001

検体のいずれの濃度でも対照群と比べ小核を有する多染性赤血球および正染性赤血球の出現頻度に有意な増加は見られなかった。さらに全赤血球中の多染性赤血球および網赤血球の割合も対照群と比べ有意な変化は認められなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシンCでは、対照と比較して小核を有する多染性赤血球の出現頻度が有意に増加し、全赤血球中の多染性赤血球および網赤血球の割合が有意に減少した。

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。

以上の結果から、本試験条件下において検体は骨髄の多染性及び正染性赤血球に小核を誘発させず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。また全赤血球中の多染性赤血球および網赤血球の割合に変化を認めないことから骨髄増殖に対する作用も無いものと考えられる。

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

8.8 生体の機能に及ぼす影響・解毒

8.8.1 カルボスルファンにおける一般薬理試験 (資料No. T-6.1、T-6.2)

検体純度：

① マウスにおける一般状態

供試動物： dd系マウス、体重22～33 g、1群雄雌各3匹

試験方法： 検体をTween 80で1%乳化剤として30、100及び150 mg/kgでマウスに皮下投与し、5、15及び60分後にIrwinの多次元観察法により一般状態を観察した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	性別	症 状			
		行動	神経系	自律神経	死亡
30	雄	自発運動低下、 認知力低下	振戦、よろめき歩行、 握力低下、耳介反射低下	眼裂狭小、 体温低下、 呼吸数減少	0/3
	雌	自発運動低下、 認知力低下、 反応性低下	振戦、痙攣、握力低下	呼吸数減少	1/3
100	雄	自発運動低下、 認知力低下、 反応性低下	よろめき歩行、 異常歩調、握力低下、 耳介反射低下	体温低下、 立毛	1/3
	雌	自発運動低下、 認知力低下、 反応性低下	振戦、痙攣、握力低下、 よろめき歩行、 異常歩調、耳介反射低下	体温低下、 排尿、立毛、 呼吸数減少	2/3
150	雄	自発運動低下、 認知力低下、 反応性低下	痙攣、よろめき歩行、 異常歩調、握力低下、 耳介反射低下、中枢興奮	体温低下、 排尿、立毛、 流涎	2/3
	雌	自発運動低下、 認知力低下、 反応性低下	痙攣、よろめき歩行、 異常歩調、握力低下、 耳介反射低下、 角膜反射低下、中枢興奮	体温低下、 排尿、立毛、 流涎、 眼球突出	3/3

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。

② 中枢神経系への作用

1) 自発運動量に対する作用

供試動物： dd系マウス、体重20～30 g、1群雄7匹

試験方法： 投与前に回転籠で3日間訓練した動物に、検体をTween 80で乳化剤として3 mg/kg (0.3%溶液)及び10 mg/kg (1%溶液)を皮下投与した。溶媒対照群にはTween 80を10 mL/kg、陽性対照群にはchlorpromazine 3 mg/kg投与した。30、60、90及び120分後の回転数を記録した(回転籠法)。

試験結果： 10 mg/kgで投与後60分から顕著な回転数減少がみられた。

2) 筋弛緩作用

供試動物： dd系マウス、体重25g前後、1群雄10匹

試験方法： 検体をTween 80で乳化剤として3 mg/kg (0.3%溶液)及び10 mg/kg (1%溶液)を皮下投与した。溶媒対照群にはTween 80を10 mL/kg、陽性対照群にはchlorpromazine 3 mg/kg投与した。懸垂法及び斜面法により10分後から120分後まで観察した。

試験結果： 3 mg/kg投与群では懸垂法で2/10匹、10 mg/kg投与群では懸垂法で5/10匹、斜面法で1/10匹が陽性を示した。

3) 抗痙攣作用

供試動物： dd系マウス、体重25 g、1群雄10匹

試験方法： 検体をTween 80で乳化剤として30、100及び150 mg/kgを皮下投与した。溶媒対照群にはTween 80を10 mL/kg、陽性対照群にはphenobarbital 100 mg/kgを皮下投与した。電撃痙攣装置を用い、強直性屈曲、強直性伸展及び間代性痙攣が消失するか否かによって、抗痙攣作用の有無を検査した。

試験結果： いずれの投与量でも電撃痙攣は抑制されなかった。

4) 体温に及ぼす影響

供試動物： ウサギ、体重2～4 kg、1群雄3匹

試験方法： 試験前1～3日間の直腸体温が38.9～39.8℃の範囲のウサギを試験前夜から絶食し、検体をTween 80で乳化剤として3及び10 mg/kgを筋肉内投与した。溶媒対照群にはTween 80を投与した。投与前及び投与後は1時間毎に12時間体温を測定した。

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。

試験結果： 3 mg/kgでは1匹が軽微ながら体温上昇傾向を示した。10 mg/kgでは2匹が投与2時間後に体温の下降と全身症状を呈し、その後3～4時間持続した。他の1匹は体温上昇を示し12時間後まで認められた。

5) 自発性脳波に及ぼす影響

供試動物： ウサギ，体重3 kg前後

試験方法： エーテル麻酔下で常法により手術し脳定位固定装置したウサギに、検体投与群にはエタノール：水 (2:1)を溶媒として1及び5 mg/kg、対照群には溶媒1 mL/kgを静脈内投与した。脳波計により皮質脳波を記録観察した。

試験結果： いずれの投与群においても周波数の増加及び規則性の高まりが記録されたが、著しい影響はなかった。

③ 循環器系への作用

1) 血圧、呼吸及び心電図に及ぼす影響

供試動物： ウサギ，体重3 kg前後，雌雄

試験方法： 検体投与群にはエタノール：水(2:1)を溶媒として0.5、1及び2 mg/kg、対照群には溶媒1 mL/kgを静脈内投与した。ウレタン麻酔下で頸動脈cannulaより圧transducerを介して血圧を測定した。呼吸は胸廓呼吸pick-upを使用し、心電図ポリグラフ上に同時記録した。

試験結果： 0.5 mg/kg投与群では、投与直後から一過性の血圧下降及び呼吸不整がみられたが、1時間後には回復した。1 mg/kg投与群では、投与直後から一過性の血圧下降及び呼吸抑制がみられ、5分後には血圧が上昇したが、15分後までにはほぼ回復した。30～60分までに死亡する例があった。2 mg/kg投与群は投与30分後に死亡した。

2) 腎に及ぼす影響

供試動物： Wistar系ラット，体重250 g前後，1群雄5匹

試験方法： 試験前夜より絶食、実験2時間前から絶水したラットに体重の3.5%の生理食塩水を経口負荷後、投与群には検体を3及び10 mg/kgを筋肉内投与し、対照群は生理食塩水を、陽性対照群にはaminophylline 120 mg/kgを経口投与した。投与後1時間ごとに5時間にわたって尿を採取し、尿量、pH及び電解質を測定した。

試験結果： 3 mg/kgではNa排泄増加、K排泄減少傾向がみられた。10 mg/kgではNa排泄増加及びpHの軽度の上昇がみられた。

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。

④ 消化器系への作用

1) 摘出腸管運動に及ぼす影響

供試動物： ウサギ

試験方法： 検体をエタノール：水（2:1）溶液で溶解して用いた。Magnus法（Tyrode液 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ）により摘出腸管の自動運動を単独投与の影響および2,3の自律神経作用薬との関連について検査した。

試験結果： 3.5×10^{-5} 溶液では腸管運動には著しい影響はみられないが 7×10^{-5} 溶液では軽度の緊張上昇と、10～15分後に腸管の緊張がみられた。この運動亢進はadrenaline 3.3×10^{-7} では抑制されなかったがatropine 3.3×10^{-6} によりほぼ抑制されpapaverine 3.3×10^{-5} により完全に抑制された。

2) 小腸輸送能に及ぼす影響

供試動物： dd系マウス、体重30 g、1群雄7匹

試験方法： 検体をTween 80で乳化剤として、100及び150 mg/kgを皮下投与した。溶媒対照群にはTween 80を0.1 mL/kgで皮下投与した。投与30分後に炭末懸濁液（炭末：アラビアゴム：水 = 1 g：1 g：10 mL）を0.1 mL/kg経口投与した。20分後に頸椎脱臼により屠殺、小腸を摘出し幽門部より小腸炭末移動距離を測定し、小腸全長に対する移動率を求めた。

試験結果： 100 mg/kg投与群では輸送能の抑制傾向が、150 mg/kg投与群では明らかな抑制が認められた。

⑤ 肝機能に対する作用

1) 供試動物： ウサギ、1群2匹

試験方法： 検体をTween 80で10%乳化剤とし、10 mg/kgを大腿部に筋肉内投与した。3、12及び24時間後に耳静脈より採血して血清を分離し、GOT、GPT及びChEを測定した。

試験結果： GOTは投与後3時間から上昇して12時間後にピークを示し、24時間で下降した。GPTは投与12時間で上昇し、24時間後にも上昇傾向であった。ChEは変化がなかった。

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。

2) 供試動物： ウサギ、体重3 kg、1群雄3匹

試験方法： 検体をTween 80で10%乳化剤とし、3及び10 mg/kgを筋肉内投与した。投与後3、12及び24時間後にGOT、GPT、TP、ALP及びChEを測定した。

試験結果： 3 mg/kg投与群ではGPTの上昇並びにALP及びTPの漸減傾向がみられた。10 mg/kg投与群では投与直後からGOTが急激に上昇し、12時間で最大を示した。また投与12時間からGPTが上昇し、ALP及びTPは漸減傾向を示した。ChEは投与3時間後に一過性の低下を示した。

⑥ 皮膚刺激性

1) 供試動物： ウサギ、1群2匹

試験方法： 検体をTween 80で1%乳化剤とし、刈毛した背部に塗布した。24、48及び72時間後に観察し、Draize点数法により皮膚に対する刺激性を検査した。

試験結果： 一次刺激性指数は0.75であり軽度の刺激性を有した。

2) 供試動物： ウサギ、体重3 kg、1群3匹

試験方法： 検体をTween 80で1%乳化剤とし第1群には除毛した背部に塗布し、第2群には被験部位の皮膚に#型の擦傷を2、3ヶ所作りそこに塗布した。24、48及び72時間後に観察し、Draize法で検査し24と72時間の合計点の平均をもって判定した。

試験結果： 一次刺激性指数は0.67であり、軽度の刺激性が認められた。

⑦ 血液に対する作用

1) 溶血に及ぼす影響

供試動物： ウサギ、体重3 kg、1群3匹

試験方法： 検体をTween 80で乳化剤として3及び10 mg/kgを筋肉内投与した。溶媒対照群にはTween 80を0.1 mL/kgで筋肉内投与した。投与30分及び1時間後に耳静脈より採血し、Parpart法により試験を行った。

試験結果： 3及び10 mg/kg投与群ともに投与30分では影響がなく、2時間後にわずかな脆弱性亢進傾向がみられた。

2) 凝血に及ぼす影響

供試動物： ウサギ、体重3 kg、1群3匹

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。

試験方法： 溶血に及ぼす影響と同じウサギを用いて、採血時にLee & White法によって血液凝固時間を測定した。

試験結果： 3及び10 mg/kg投与群ともに、投与30分から2時間まで、血液凝固時間が1～2分短縮した。

以上の結果より本剤は少量で中枢抑制、大量で中枢興奮作用があるが、循環器系への著しい影響はないと考えられる。またある程度の肝機能低下と軽度の皮膚刺激性があると思われる。

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。

《一般薬理総括表》

試験項目	試験動物 (麻酔の有無)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 (匹/群)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態 [Irwin法]							
行動	マウス	皮下 (Tween80)	30 100	♂♀3	—	30	30 mg/kg : 自発運動低下、認知力低下、反応性低下 振戦、痙攣、よろめき歩行、握力低下、耳介反射低下 体温低下、呼吸数減少 死亡♀1例
神経系			150				100 mg/kg : 自発運動低下、認知力低下、反応性低下 振戦、痙攣、よろめき歩行、異常歩調、握力低下、耳介反射低下 体温低下、呼吸数減少、立毛、排尿 死亡♂1例、♀2例
自律神経症状							150 mg/kg : 自発運動低下、認知力低下、反応性低下 痙攣、よろめき歩行、異常歩調、握力低下、耳介反射低下、角膜反射低下、中枢興奮 体温低下、立毛、排尿、流涎、眼球突出 死亡♂2例、♀3例
死亡							
中枢神経系	自発運動量 [回転籠法]	マウス	皮下 (Tween80) 3 10	♂7	3	10	10 mg/kg : 顕著な抑制
	筋弛緩作用 [懸垂法、斜面法]	マウス	皮下 (Tween80) 3 10	♂10	—	10	3 mg/kg : 懸垂法で2/10陽性 10 mg/kg : 懸垂法で5/10陽性 斜面法で1/10陽性
	抗痙攣作用	マウス	皮下 (Tween80) 30 100 150	♂10	150	—	影響なし
	体温	ウサギ	筋肉内 (Tween80) 3 10	♂3	—	3	3 mg/kg : 1例が軽微な体温上昇 10 mg/kg : 2例が体温下降と全身症状、1例が体温上昇
	自発性脳波	ウサギ (エーテル麻酔)	静脈内 (エタノール) 1 5	不明	5	—	影響なし

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

試験項目		試験動物 (麻酔の有無)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 (匹/群)	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
循環器系	血圧 呼吸 心電図	ウサギ (レタン麻酔)	静脈内 (エタノール)	0.5 1 2	♂♀	—	0.5	0.5 mg/kg : 一過性の血圧下降、 一過性の呼吸不整 1 mg/kg : 一過性の血圧下降、 一過性の呼吸抑制 2 mg/kg : 投与30分後に死亡
	腎機能	ラット	筋肉内 (Tween80)	3 10	♂5	—	3	3 mg/kg : Na排泄増加、 K排泄減少傾向 10 mg/kg : Na排泄増加、pH軽度上昇
消化器系	摘出腸管 [Magnus法]	ウサギ	<i>in vitro</i> (エタノール)	3.5× 10 ⁻⁵ M 7× 10 ⁻⁵ M		3.5× 10 ⁻⁵ M	7× 10 ⁻⁵ M	7×10 ⁻⁵ M : 軽度の緊張上昇、 腸管の緊張
	小腸輸送能	マウス	皮下 (Tween80)	100 150	♂7	—	100	100 mg/kg : 輸送能抑制傾向 150 mg/kg : 輸送能抑制
肝機能	GOT GPT ALP TP ChE	ウサギ	筋肉内 (Tween80)	3 10	♂3	—	3	3 mg/kg : GPTの上昇、ALP及びTP の漸減傾向 10 mg/kg : GOT及びGPTの上昇、ALP 及びTPの漸減傾向、ChE の一過性の低下
	GOT GPT ChE	ウサギ	筋肉内 (Tween80)	10	2	—	10	GOTの一過性上昇、GPTの上 昇
刺激	皮膚 [Draize 点数法]	ウサギ	塗布 (Tween80)	1%/匹	3			軽度の刺激性
		ウサギ	塗布 (Tween80)	1%/匹	2			軽度の刺激性
血液	溶血 [Parpart法]	ウサギ	筋肉内 (Tween80)	3 10	3	—	3	3及び10 mg/kg : わずかな脆弱性亢進傾向
	血液凝固 [Lee & White法]	ウサギ	筋肉内 (Tween80)	3 10	3	—	3	3及び10 mg/kg : 凝固時間が1~2分短縮

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。

8.8.2 マウスにおける解毒試験 (資料No.T-6.3)

検体純度：

試験動物： ICR 系マウス (5 週齢)、1 群雄 12 匹、体重範囲； 25.0～30.0 g

試験方法： 検体の投与量設定のために、あらかじめ LD₅₀ 値を求めた。

検体をコーン油に溶解して LD₅₀ 値量を経口投与し、その 5 分後に、解毒剤として硫酸アトロピンを 3 または 10 mg/kg を単回静脈内投与、もしくは 5 分、90 分および 4 時間後の 3 回硫酸アトロピン 3 mg/kg を静脈内投与した。

なお、検体単独投与群および溶媒対照群を設けた。

試験項目： 一般状態および死亡状況を 10 日間観察した。

体重を投与直前、投与後 24 時間、2、3、5、7 および 10 日に測定した。

試験結果： あらかじめ求めた LD₅₀ 値は 220 mg/kg であった。

群	処理 (mg/kg)		死亡率 (死亡例/ 動物数)	症 状
	検体	解毒剤 (硫酸アトロピン)		
1	0 (コーン油)	0	0/12	異常を認めず
2	220	0	12/12	振戦、流涎、痙攣、眼分泌物 投与 1 時間後までに全例死亡
3	220	3	1/12	振戦、下痢、流涎、眼分泌物 1 例を除き投与 24 時間後までに回 復 1 例は投与 2 日後に死亡
4	220	10	0/12	振戦、下痢、流涎 投与 24 時間後には全例回復
5	220	3×3	0/12	振戦、下痢、流涎 投与 24 時間後には全例回復

体重は投与 24 時間後にアトロピン各処理群で、減少もしくは増加抑制が見られたが、試験期間終了時には対照群と同程度まで回復した。

以上の結果より、カーバメイト系殺虫剤であるカルボスルファンの中毒の解毒剤として硫酸アトロピンが有効と判断される。