

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。

## 8.9 代謝物の毒性

### 8.9.1.1 投与した幼若および成熟ラットにおけるコリンエステラーゼ活性の比較

(資料No. T-7.1-1)

検体純度：

試験動物： Sprague-Dawley系ラット (幼若ラット 27-29日齢, 成熟ラット 99-101日齢)

LD<sub>50</sub>試験；雌雄各20匹

検体投与前コリンエステラーゼ活性試験；雌雄各5匹

コリンエステラーゼ活性の経時変化試験；雌雄各8匹

試験方法： 致死後、脳組織を採材し、幼若ラット、成熟ラットの脳および赤血球コリンエステラーゼ値をすぐに測定した。

検体投与後0.5, 1, 4, 8, 12, 24時間目に幼若ラットと成熟ラットのコリンエステラーゼ値を測定し、最大抑制の至適時間を測定した。各時間区分で得た値はプロピオニルチオコリンを加水分解した $\mu\text{M}$ で示した。

試験結果：

日齢	性別	急性経口LD <sub>50</sub> mg/kg 95%信頼限界	0時間コリンエステラーゼ活性投与前	
			脳 ( $\mu\text{M}/10\text{mg}$ 組織/分)	血球 ( $\mu\text{M}/\text{mL}$ /分)
成熟	雄	9.17 (7.37 - 11.40)	4.91	2.33
	雌	10.94 (8.75 - 13.69)	5.84	1.18
幼若	雄	8.06 (6.31 - 10.29)	6.18	0.81
	雌	5.91 (3.33 - 10.47)	6.23	0.46

日齢	時間	コリンエステラーゼ活性の経時変化 投与量 1/3 LD <sub>50</sub>													
		脳 ( $\mu\text{M}/10\text{mg}$ 組織/分)							血球 ( $\mu\text{M}/\text{mL}$ /分)						
		0	0.5	1	4	8	12	24	0	0.5	1	4	8	12	24
成熟	雄	4.90	3.32	2.83	5.91	4.83	4.48	6.74	1.33	0.64	1.57	2.60	2.05	0.86	1.01
	雌	4.35	3.05	2.29	6.04	—	4.13	9.90	1.24	0.71	4.22	4.53	—	2.92	1.40
幼若	雄	6.21	4.39	2.21	5.25	4.55	4.05	6.54	1.21	0.70	1.06	2.67	1.40	1.10	1.48
	雌	5.97	4.15	1.94	4.87	5.27	6.71	9.88	1.22	0.96	1.21	1.84	1.34	1.24	1.49

(注) — : 実施せず

幼若および成熟ラットのLD<sub>50</sub>値はほぼ等しい。脳および赤血球コリンエステラーゼ活性の抑制時間、抑制速度、量的変動、回復時間は等しい。

感受性には生物学的にみて有意の差異はない。

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。

### 8.9.1.2 ラットにおける急性経口毒性試験（資料No. T-7.1-2）

検体純度：

試験動物： CRJ：CD (SD)系ラット、4週齢、1群雌雄各10匹

体重：雄 110～140 g、雌 100～130 g

試験期間： 14日間観察

試験方法： 検体をコーン油に懸濁して強制経口投与した。投与容量は0.2%懸濁液を投与薬量に相当する量を投与した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。

死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行い、主要臓器の異常の有無を観察した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5、6、8、10、13、16、20
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 8.6 (6.7～11.0) 雌 9.5 (7.8～11.6)
死亡開始及び終了時間	5分～30分
症状発現及び消失時期	3分～6時間
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5

死亡

投与量 (mg/kg)	5	6	8	10	13	16	20	
死亡数	雄	0/10	3/10	4/10	7/10	8/10	10/10	10/10
	雌	0/10	2/10	5/10	5/10	8/10	9/10	10/10

中毒症状としては自発運動低下、蹲踞状態（うずくまり姿勢）、振戦、背部筋攣縮、流涎、流涙、挙尾反応、間代性痙攣、血涙、眼球突出、伏臥位姿勢、腹式呼吸が観察された。

剖検所見では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。

### 8.9.1.3 のマウスにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-7.1-3)

検体純度 :

試験動物 : CRJ : CD-1 (ICR)系マウス、4週齢、1群雌雄各10匹

体重 : 雄 23~27 g、雌 19~25 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 用量固定法

投与方法 : 検体をコーン油を媒体として、10 mL/kgの容量にて強制経口投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を14日間観察した。

死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行い、主要臓器の異常の有無を観察した。

試験結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5、6、8、10、13、16
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 10.7 (8.6~13.4) 雌 10.3 (8.5~12.5)
死亡開始及び終了時間	7分~30分
症状発現及び消失時期	2分~7時間
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5

死亡 :

投与量 (mg/kg)	5	6	8	10	13	16	
死亡数	雄	0/10	1/10	4/10	5/10	7/10	10/10
	雌	0/10	1/10	3/10	4/10	8/10	10/10

中毒症状としては自発運動低下、振戦、背部筋攣縮、流涎、流涙、挙尾反応、間代性痙攣が観察された。

剖検所見では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。

#### 8.9.1.4 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-7.1-4)

検体純度 :

試験動物 : TaCN (SD)fBR系ラット、若齢、1群雌雄各5匹、体重 : 190~226 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 固定用量法

投与方法 : 検体をコーン油を媒体として、5 mL/kgの容量にて強制経口投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を14日間観察した。

死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行い、肉眼的に観察した。

試験結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5.9、7.78、8.93、10.26、13.5、17.8
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 10.5 (8.4~13.1) 雌 8.0 (6.7~9.5)
死亡開始及び終了時間	5分~3時間
症状発現及び消失時期	1時間~1日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 8.93

中毒症状として外界刺激反射亢進、流涙、立毛、振戦、体軀湿潤、運動失調、血涙が観察された。

剖検所見では肺うっ血が認められた。

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。

#### 8.9.1.5 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-7.1-5)

検体純度：

試験動物： CRJ: CD (SD)系ラット、5週齢、体重：雄100～130 g、雌90～120 g、1群雌雄10匹

試験期間： 1回投与後14日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： 検体にコーン油を加えペースト状にした後、経口投与した。投与容量は1%懸濁液を投与薬量に相当する量を投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。死亡動物または観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 10、13、16、20、25、31
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 21.1 (17.1～26.3) 雌 19.5 (17.8～21.4)
死亡開始時間及び終了時間	投与後10分から開始 投与後1時間後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後2分から発現 投与後8時間後に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 < 10
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 10

死亡

投与量 (mg/kg)	10	13	16	20	25	31	
死亡数	雄	0/10	2/10	4/10	4/10	6/10	10/10
	雌	0/10	2/10	5/10	5/10	7/10	10/10

中毒症状としては、自発運動低下、振戦、流涎、流涙、間代性痙攣、全身筋肉攣縮、眼球突出、血涙が観察された。

剖検所見では特記すべき変化は観察されなかった。

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

### 8.9.1.6 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-7.1-6)

検体純度 :

試験動物 : CRJ: CD (SD)系ラット、5週齢、体重 : 雄110~140 g、雌100~130 g、1群雌雄10匹

試験期間 : 1回投与後14日間観察

試験方法 : 用量固定法

投与方法 : 検体にコーン油を加えペースト状にした後、経口投与した。投与容量は5%懸濁液を投与薬量に相当する量を投与した。

観察・検査項目 : 中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。死亡動物または観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 35、44、55、69、86、108
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 69.3 (54.1~88.9) 雌 63.0 (51.2~77.5)
死亡開始時間及び終了時間	投与後10分から開始 投与後1時間後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後2分から発現 投与後8時間後に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 < 35
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 35

死亡

投与量 (mg/kg)		35	44	55	69	86	108
死亡数	雄	0/10	3/10	3/10	4/10	7/10	10/10
	雌	0/10	2/10	5/10	5/10	8/10	10/10

中毒症状としては、自発運動低下、振戦、流涎、流涙、間代性痙攣、全身筋肉攣縮、眼球突出、血涙が観察された。

剖検所見では特記すべき変化は観察されなかった。

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

### 8.9.1.7 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-7.1-7)

検体純度：

試験動物： CRJ: CD (SD)系ラット、5週齢、体重：雄110～130 g、雌90～120 g、1群雌雄10匹

試験期間： 1回投与後14日間観察

試験方法： 用量固定法

試験方法： 検体にコーン油を加えペースト状にした後、経口投与した。投与容量は5%懸濁液を投与薬量に相当する量を投与した。

観察・検査項目： 中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。死亡動物または観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 694、833、1000、1200、1440、1728
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1120 (845～1484) 雌 1060 (891～1261)
死亡開始時間及び終了時間	投与後10分から開始 投与後1時間後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後2分から発現 投与後10時間後に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 < 694
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 694

死亡

投与量 (mg/kg)		694	833	1000	1200	1440	1728
死亡数	雄	0/10	3/10	5/10	6/10	7/10	10/10
	雌	0/10	2/10	4/10	7/10	9/10	10/10

中毒症状としては、自発運動低下、脱力様症状、強直性痙攣、反弓緊張が観察された。

剖検所見では特記すべき変化は観察されなかった。

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

### 8.9.1.8

### ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. T-7.1-8)

検体純度 :

試験動物 : SD系ラット、若齢成獣、1群雌雄各10匹

投与時体重範囲 ; 雄 208~285 g 雌 200~246 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 固定用量法

投与方法 : 検体を単回強制経口投与した。投与前一夜絶食した。

試験項目 : 生死および臨床症状については、投与当日は投与後0.5、1、2、3、4および6時間に、その後13日間は1日2回、投与後14日は1回観察した。体重は投与当日、投与後7および14日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与経路	経 口	
投与量 (mg/kg)	雄	1800、2300、3000
	雌	1000、1400、1800、2300
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄	2450 (2137・2764)
	雌	1743 (1362・2124)
死亡開始および終了時間	雄	2時間/3日
	雌	2時間/3日
症状発現および消失時間	雄	30分/7日
	雌	30分/2日

臨床症状としては、虚脱、臥床、自発運動低下、振戦および口腔・鼻・眼における分泌物が観察された。体重は3000 mg/kgでの1例を除き全生存動物で増加を示した。肉眼的病理検査では、死亡動物における腸管内出血が認められたが、生存動物では異常所見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。

#### 8.9.1.9

#### ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No. T-7.1-9)

検体純度：

試験動物： SD系ラット、若齢、1群雌雄各10匹

投与時体重範囲；雄 206～293 g 雌 202～254 g

試験期間： 14日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： アセトンに溶解した検体をコーンオイルに混合し、強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与経路	経 口	
投与量 (mg/kg)	雄	1400、2000、2400
	雌	1400、1700、2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄	1916 (1656 - 2275)
	雌	1654 (1500 - 1807)
死亡開始および終了時間	雄	6時間／3日
	雌	1日／3日
症状発現および消失時間	雄	30分／5.5日
	雌	30分／2日

中毒症状として、虚脱、臥床、自発運動低下および口腔・鼻・眼における分泌物が観察された。

剖検所見では、死亡動物の一例で腸管上皮の赤色変化、その他で腸管内出血が認められた。生存動物では特筆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。

#### 8.9.1.10

#### ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No.T-7.1-10)

検体純度 :

試験動物 : SD系ラット、若齢成獣、1群雌雄各10匹

投与時体重範囲 ; 雄 219~300 g 雌 200~233 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 検体をコーンオイルに混合 (10%)し、単回強制経口投与した。投与前一夜絶食した。

試験項目 : 生死および臨床症状については、投与当日は投与後0.5、1、2、3、4および6時間に、その後13日間は1日2回、投与後14日は1回観察した。体重は投与当日、投与後7および14日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与経路	経 口	
投与量 (mg/kg)	雄	120、200、220、240、280
	雌	120、200、240、280
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄	226 (196- 256)
	雌	201 (169 - 232)
死亡開始および終了時間	雄	30分/2日
	雌	30分/1日
症状発現および消失時間	雄	30分/1日
	雌	30分/1日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄	120

臨床症状としては、運動失調、虚脱、臥床、間代性痙攣、振戦、自発運動低下および流涙が観察された。体重は全生存動物で増加を示した。

肉眼的病理検査では、死亡動物の2例で腸管内出血が認められた。生存動物では異常所見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。

8.9.1.11 ラットを用いた急性神経毒性試験 (資料 No. T-7.1-11)  
(コリンエステラーゼ活性阻害の経時変化)

試験目的： 検体の血中および脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点及び完全回復時点について幼若ラット及び若齢成熟ラットを用いて検討した。

検体純度：

供試動物： Crl:CD (SD)ラット、幼若ラット (11 日齢)及び若齢成熟ラット (60 日齢)、  
1 群雌雄各 5 匹、  
投与時体重範囲； 幼若ラット (雄；23.32~37.67 g、雌；23.26~32.54 g)  
若齢成熟ラット (雄；278.29~323.61 g、雌；199.14~236.25 g)

試験群の構成を次表に示す。

動物		供試動物数 (匹)			
		幼若ラット		若齢成熟ラット	
試験群/用量 (mg/kg)		0	0.6	0	0.6
投与後 屠殺時間	0 分	雄 5、雌 5		雄 5、雌 5	
	15 分		雄 5、雌 5		雄 5、雌 5
	30 分		雄 5、雌 5		雄 5、雌 5
	1 時間		雄 5、雌 5		雄 5、雌 5
	1.5 時間		雄 5、雌 5		雄 5、雌 5
	2 時間		雄 5、雌 5		雄 5、雌 5
	4 時間		雄 5、雌 5		雄 5、雌 5
	6 時間	雄 5、雌 5	雄 5、雌 5	雄 5、雌 5	雄 5、雌 5

投与方法： 検体をコーン油に溶解し、0 及び 0.6 mg/kg の用量で単回経口投与した。対照群にはコーン油を投与した。飼料及び飲水は自由に摂取させた。

用量設定根拠；予備試験として、検体をコーン油に溶解し 0.3、0.6 及び 1.0 mg/kg の用量で 1 群雌雄 3 匹の幼若ラット (11 日齢)に単回経口投与し、投与 15 分、30 分、1 時間、1.5 時間、2 時間、4 時間及び 6 時間後に一般状態の観察、血中および脳コリンエステラーゼ活性を測定した。投与 6 時間後の 0.6 及び 1.0 mg/kg 投与群雄の脳コリンエステラーゼ活性は 0.3 mg/kg 投与群と比較して有意に低下した。また、いずれの投与群においても死亡及び瀕死状態の動物は認められなかった。  
以上の結果から、0 及び 0.6 mg/kg の用量を本試験の用量とした。

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。

観察・検査項目及び結果：検体投与前、投与直後、15分、30分、1時間、1.5時間、2時間、4時間及び6時間後に動物の一般状態を及び生死を観察した。

全動物に死亡は認められなかった。

幼若ラットの雄1例で投与2分後に全身の震戦が、その後3分後に雄1例、4分後に雌雄各1例に震戦が認められ、15分後に頻度及び重症度ともに最高となった。投与28分後以降は外因刺激による震戦のみが119分後まで認められた。

若齢成熟ラットの雌1例で投与6分後に顔面震戦が認められ、15分後に頻度及び重症度ともに最高となったが、投与1時間以降は震戦の症状は消失した。その他認められた症状は、脱力、流涎、食糞、立毛、軟便、緩徐呼吸、腹部攣縮で、雌雄共に投与9分後から4時間後まで認められた。

体重変化； 投与時及び屠殺時に全動物の体重を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

動物		幼若ラット		若齢成熟ラット	
投与後屠殺時間/ 検査時期/性別		雄	雌	雄	雌
15分	投与時				
	屠殺時				
30分	投与時	↑107			
	屠殺時				
1時間	投与時		↑↑113		
	屠殺時				
1.5時間	投与時	↑132			
	屠殺時	↑125			
2時間	投与時				
	屠殺時	↓88			
4時間	投与時				
	屠殺時	↓89			
6時間	投与時	↑109			
	屠殺時				

数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

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

Dunnettの検定 ↑↓:p<0.05、↑↑:p<0.01、

幼若ラット雄の投与時の体重は、投与後30分、1.5時間及び6時間屠殺群で有意な増加が認められた。雌では投与1時間後屠殺群を除き有意な変化は認められなかった。屠殺時の雄で投与1.5時間後屠殺群に有意な増加が、雌で投与2時間及び4時間後屠殺群に有意な減少が認められた。

若齢成熟ラットでは、いずれの群においても有意な変化は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性；幼若ラット及び若齢成熟ラットの各群雌雄各5匹から、投与15分、30分、1時間、1.5時間、2時間、4時間及び6時間後に血液を採取し赤血球コリンエステラーゼを測定した。また、脳を摘出後、重量を測定し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の認められた項目を次表に示す。

動物		幼若ラット		若齢成熟ラット	
投与後屠殺時間/項目		雄	雌	雄	雌
15分	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓48	↓41	↓62	↓66
30分	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓55	↓53	↓65	↓70
1時間	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓59	↓49	↓87	↓87
1.5時間	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓72	↓56	↓83	↓86
2時間	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓63	↓60	↓90	↓93
4時間	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓76	↓82	↓91	
6時間	赤血球 ChE				
	脳 ChE	↓84	↓76		↓94

数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

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

Dunnett の検定 ↑↓:p<0.05、↑↓:p<0.01、↑↓:p<0.001

幼若ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性は、いずれの投与後屠殺時間及び雌雄においても有意な変化は認められなかった。脳コリンエステラーゼ活性は、すべての投与後屠殺時間の雌雄において有意な低下が認められた。脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は投与 15 分後で、4 時間後に回復が認められたが、投与 6 時間後に有意な低下がみられた。

若齢成熟ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性は、いずれの投与後屠殺時間及び雌雄においても有意な変化は認められなかった。抑制効果最高時点は投与後 15 分後であった。雄の脳コリンエステラーゼ活性では、投与 4 時間後までの全屠殺時に有意な低下が認められたが、投与 6 時間後には消失した。雌の脳コリンエステラーゼ活性は、投与 4 時間後を除くすべての屠殺時期に有意な低下が認められた。

雄の脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は投与 15 分後で、投与 6 時間後には回復した。雌では投与 15 分後で、投与 4 時間後には回復したが、6 時間後に再び有意な低下が認められた。

[申請者注]：雌で 6 時間後に再び有意な低下が認められたが、変動率が 94%であることから、対照群と同等のレベルであり、投与の影響ではないと考えられる。

脳重量； 投与 15 分、30 分、1 時間、1.5 時間、2 時間、4 時間及び 6 時間後に、各群雌雄各 5 匹の幼若ラット及び若齢成熟ラットの脳を摘出後、重量を測定した。  
対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

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。

動物 投与後屠殺時間/性別	幼若ラット		若齢成熟ラット	
	雄	雌	雄	雌
15分				
30分				
1時間				
1.5時間				
2時間			↓94	
4時間				
6時間			↓94	

数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

Dunnett の検定 ↑↓:p<0.05、##:p<0.01

投与 2 時間後及び 6 時間後の若齢成熟ラット雄の脳重量に有意な減少が認められた。

以上の結果から、幼若ラットでは投与 2 分後に震戦が認められ 15 分後に頻度及び重症度が最高となった。その後、外因刺激による震戦が 119 分後まで認められた。若齢成熟ラットでは投与 6 分後から顔面震戦が認められ、投与 15 分後に頻度及び重症度ともに最高となったが、投与後 60 分以降消失した。若齢成熟ラットではその他に、脱力、流涎、食糞、立毛、軟便、緩徐呼吸、腹部れん縮の症状が投与 4 時間後まで認められた。

幼若ラット及び若齢成熟ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性にはいずれの検査時期及び性別においても有意差は認められなかった。幼若ラット及び若齢成熟ラットの脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は投与 15 分後で、若齢成熟ラットの完全回復時点は、雄で投与 6 時間後、雌で投与 4 時間後であった。幼若ラットでは投与 6 時間後においても完全回復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。

8.9.1.12 ラットを用いた急性神経毒性試験 (資料 No. T-7.1-12)  
(コリンエステラーゼ活性阻害の用量反応試験)

試験目的： 検体の血中および脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点及び完全回復時点における用量反応性の検討及び幼若ラット及び若齢成熟ラットを用いた場合の反応性の差についても併せて検討した。

検体純度：

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット、幼若ラット (11 日齢) 及び若齢成熟ラット (60 日齢)、1 群雌雄各 10 匹、

投与時体重範囲； 幼若ラット (雄；22.18～33.40 g、雌；19.66～35.66 g)

若齢成熟ラット (雄；263～324 g、雌；187～237 g)

試験群の構成を次表に示す。

供試動物数 (匹)																
動物	幼若ラット (11 日齢)								若齢成熟ラット (60 日齢)							
	雄				雌				雄				雌			
試験群/投与量 (mg/kg)	0	0.3	0.6	1	0	0.3	0.6	1	0	0.3	0.6	1	0	0.3	0.6	1
投与 15 分後屠殺群	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
投与 12 時間後屠殺群	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

投与方法： 検体をコーン油に溶解し、0、0.3、0.6 及び 1.0 mg/kg の用量で単回経口投与した。対照群にはコーン油を投与した。飼料及び飲水は自由に摂取させた。

用量設定根拠； 予備試験として、検体をコーン油に溶解し 0.3、0.6 及び 1.0 mg/kg の用量で 1 群雌雄 3 匹の幼若ラット (11 日齢) に単回経口投与した。

投与 15 分、30 分、1 時間、1.5 時間、2 時間、4 時間及び 6 時間後に一般状態の観察、血中および脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

投与 6 時間後の 0.6 及び 1.0 mg/kg 投与群雄の脳コリンエステラーゼ活性は 0.3 mg/kg 投与群と比較して有意に低下した。

また、いずれの投与群においても死亡及び 瀕死状態の動物は認められなかった。

以上の結果から、0、0.3、0.6 及び 1.0 mg/kg の用量を本試験の用量とした。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率； 一般状態及び死亡を検体投与直後、投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間及び 12 時間後に観察した。

全動物に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。

投与 15 分後の屠殺群の幼若ラットでは、全投与群で投与 5 分後から震戦が認められ 9 分後にはピークとなった。また、0.6 mg/kg 投与群で雄 1 例に呼吸困難が認められ、14 分後に瀕死状態となった。

投与 15 分後の屠殺群の若齢成熟ラットでは、1.0 mg/kg 投与群で運動失調が雌雄各 1 例に、立毛が雄 5 例及び雌 3 例に認められた。また、検体投与 6 分後から震戦が始まり 15 分後にはピークとなった。0.6 mg/kg 投与群では運動失調が雌 1 例に、立毛が雄 4 例及び雌 1 匹に認められ、また検体投与 8 分後に震戦が始まり 15 分後にはピークとなった。1.0 mg/kg 及び 0.6 mg/kg 投与群で、脱力、後肢開脚及び腹臥位が認められた。

投与 12 時間後の屠殺群の幼若ラットでは、全投与群で投与 5 分後から震戦が認められ 15～30 分後にピークとなった。検体投与の影響であると考えられた震戦の症状は、1.0 mg/kg 投与群で投与 60 分後に 8 例及び 120 分後に 13 例、また 0.6 mg/kg 投与群で投与 60 分後に 2 匹に認められた。

投与 12 時間後の屠殺群の若齢成熟ラットでは、1.0 mg/kg 投与群雌雄で投与 7 分後に、0.6 mg/kg 投与群では投与 9 分後に、また 0.3 mg/kg 投与群では投与 10 分後に最初の顔面震戦が認められた。震戦は投与 15～30 分後にピークとなり 60 分後においても全投与群において認められた。その他 1.0 mg/kg 投与群で紅涙、脱力、腹臥位、不整呼吸、緩徐呼吸、食糞、流涎、顔面筋収縮、頭部痙攣及び立毛が、0.6 mg/kg 投与群で立毛、緩徐呼吸及び食糞が、0.3 mg/kg 投与群で緩徐呼吸、食糞及び立毛が認められた。

体重変化；投与開始前及び屠殺前に全動物の体重を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与 15 分後の屠殺群の幼若ラットでは、全投与群の雄で有意な減少が認められた。1.0 mg/kg 投与群雌及び 0.3 mg/kg 投与群雌で有意な減少が認められたが、0.6 mg/kg 投与群雌では有意差が認められなかった。

投与 15 分後の屠殺群の若齢成熟ラットの雌雄では投与群と対照群との間に体重の差は認められなかった。投与 12 時間後の屠殺群の 11 日齢の雄では、0.3 mg/kg 投与群において有意な減少が認められたが、1.0 及び 0.6 mg/kg 投与群では有意差が認められないことから検体投与の影響ではないと考えられた。

投与 12 時間後の屠殺群の若齢成熟ラットの雌雄では投与群と対照群との間に体重の差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。

動物		幼若ラット						若齢成熟ラット					
性別		雄			雌			雄			雌		
試験/日齢/測定時/ 投与量 (mg/kg)		0.3	0.6	1	0.3	0.6	1	0.3	0.6	1	0.3	0.6	1
投与 15 分後 屠殺群	投与 直前	↓95	↓90	↓91	↓92		↓86						
	屠殺 直前	↓95	↓90	↓91	↓92		↓86						
投与 12 時間後 屠殺群	投与 直前	↓89											
	屠殺 直前	↓88		↓91									

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

Studentのt検定 ↑↓:p<0.05、↕↓:p<0.01、↕↓:p<0.001

コリンエステラーゼ活性；投与15分後及び12時間後に、11日齢及び若齢成熟ラットの雌雄各10匹の血液を採取し赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。また、脳を摘出後、重量を測定し脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

なお、ラットを用いた急性神経毒性試験（コリンエステラーゼ活性阻害の経時変化、資料 No. T-7.1-11）の結果に基づいて、投与 15 分後を抑制効果最高時点及び 12 時間後を完全回復時点とした。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与 15 分後の屠殺群の幼若ラット及び若齢成熟ラットの脳コリンエステラーゼ活性はすべての投与群で有意な低下が認められた。

投与 12 時間後屠殺群の幼若ラット雌雄の脳コリンエステラーゼ活性は、すべての投与群で対照群との間に有意差は認められなかった。

投与 12 時間後の屠殺群の若齢成熟ラット雄の脳コリンエステラーゼ活性は、1.0 mg/kg 投与群及び 0.3 mg/kg 投与群で有意な低下が認められたが、0.6 mg/kg 投与群では有意差は認められず用量相関性が認められなかった。若齢成熟ラット雌では 1.0 mg/kg 投与群及び 0.6 mg/kg 投与群において有意な低下が認められたが、0.3 mg/kg 投与群では有意差は認められなかった。

赤血球コリンエステラーゼでは、全投与群で対照群との間に有意差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。

ラット		幼若ラット(11日齢)					
性別		雄			雌		
投与後屠殺時間/項目/投与量 (mg/kg)		0.3	0.6	1.0	0.3	0.6	1.0
投与 15 分後 屠殺群	赤血球 ChE						
	脳 ChE	↓52	↓47	↓38	↓52	↓47	↓35
投与 12 時間後 屠殺群	赤血球 ChE						
	脳 ChE						

ラット		若齢成熟ラット(60日齢)					
性別		雄			雌		
投与後屠殺時間/項目/投与量 (mg/kg)		0.3	0.6	1.0	0.3	0.6	1.0
投与 15 分後 屠殺群	赤血球 ChE						
	脳 ChE	↓74	↓68	↓56	↓76	↓66	↓56
投与 12 時間後 屠殺群	赤血球 ChE						
	脳 ChE	↓95		↓94		↓95	↓94

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
Student の t 検定  $\uparrow\downarrow:p<0.001$ 、Dunnett の検定  $\uparrow\downarrow:p<0.001$

脳コリンエステラーゼ活性の絶対値変化；脳コリンエステラーゼ活性の絶対値を次表に示す。  
投与15分後の屠殺群の若齢成熟ラット雌の0.3 mg/kg投与群を除き、若齢成熟ラットの値が幼若ラットよりも高値を示した。

動物	幼若ラット						若齢成熟ラット					
	雄			雌			雄			雌		
試験群/投与量 (mg/kg)	0.3	0.6	1	0.3	0.6	1	0.3	0.6	1	0.3	0.6	1
投与 15 分後 屠殺群	3.15	3.49	4.09	3.34	3.63	4.48	3.24	4.02	5.45	3.04	4.34	5.72
投与 12 時間後 屠殺群	0.54	0.48	0.5	0.3	0.07	0.03	0.71	0.59	0.82	0.55	0.67	0.74

表中の数値は対照群との差を U/g で示したもの。

脳重量； 投与後 15 分あるいは 12 時間後に、全動物の脳重量を測定した。  
全投与群の脳重量に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

以上の結果から、投与 15 分後 (抑制効果最高時点)では、すべての投与群雌雄で臨床症状を伴う脳コリンエステラーゼ活性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。

投与 12 時間後 (完全回復時点)では、若齢成熟ラットの 1.0 及び 0.3 mg/kg 投与群雄および 1.0 及び 0.6 mg/kg 投与群雌の脳コリンエステラーゼ活性の有意な低下が認められたが、投与 15 分後の結果と比較すると回復が認められた。

投与 15 分後 (抑制効果最高時点)及び 12 時間後 (完全回復時点)において、幼若ラット及び若齢成熟ラットの間で検体の赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性に対する抑制作用について差が認められないと考えられた。

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

8.9.1.13 のラットを用いた急性神経毒性試験 (資料 No. T-7.1-13)  
(コリンエステラーゼ活性阻害の経時変化)

試験目的： 検体の血中および脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点及び完全回復時点について幼若ラット及び若齢成熟ラットを用いて検討した。

検体純度：

供試動物： CrI:CD (SD)ラット、幼若ラット (11 日齢)及び若齢成熟ラット、1 群雌雄各 10 匹、  
投与時体重範囲； 幼若ラット (雄；18.9～33.6 g、雌；17.2～30.2 g)  
若齢成熟ラット (雄；296～354 g、雌；196～237 g)

試験群の構成を次表に示す。

投与後 屠殺時間	用量 (mg/kg)	供試動物数 (匹)	
		幼若ラット (11 日齢)	若齢成熟ラット
15 分	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
30 分	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
1 時間	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
2 時間	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
4 時間	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
6 時間	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10

投与方法： 検体をコーン油に溶解し、0 及び 0.1 mg/kg の用量で単回経口投与した。  
対照群にはコーン油を投与した。飼料及び飲水は自由に摂取させた。

用量設定根拠；予備試験として検体をコーン油に溶解し 0、0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 5 匹の幼若ラット (11 日齢)に単回経口投与し、投与 15 分後に屠殺した。  
投与約 15 分後に 0.3 mg/kg 投与群雌雄各 2 例に軽微～中程度の震戦が認められた。  
0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群雌雄で脳コリンエステラーゼ活性に有意な低下が認められた。  
赤血球コリンエステラーゼ活性には有意な低下は認められなかった。  
これらの結果に基づいて本試験の用量を設定した。

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。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態および生死を検体投与直前、投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間及び 6 時間後に観察した。死亡動物は認められず、検体投与に関連する症状も認められなかった。

体重変化；投与当日に全動物の体重を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

動物	幼若ラット				若齢成熟ラット			
	雄		雌		雄		雌	
用量 (mg/kg)	0	0.1	0	0.1	0	0.1	0	0.1
体重				↓91				

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
Dunnett の検定 ↑↓:p<0.01

幼若ラット雌では対照群と比較して有意な減少が認められた。

コリンエステラーゼ活性；投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間及び 6 時間後に、雌雄各 10 匹の幼若ラット及び若齢成熟ラットから血液を採取し赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。また、脳を摘出後、重量を測定し脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

測定結果を次表に示す。

投与後 屠殺時間	幼若ラット				若齢成熟ラット			
	雄		雌		雄		雌	
	赤血球 ChE	脳 ChE	赤血球 ChE	脳 ChE	赤血球 ChE	脳 ChE	赤血球 ChE	脳 ChE
15 分	↓70.7	↓79.7	83.9	↓84.5	88.0	↓83.4	↓83.4	92.1
30 分	81.7	↓78.7	92.2	↓67.7	↓78.3	↓79.1	102.1	↓82.2
1 時間	↓79.1	↓73.1	85.1	↓67.1	99.7	↓83.8	89.9	97.3
2 時間	91.0	99.3	105.2	↓82.5	114.6	↓88.4	88.9	↓90.7
4 時間	103.2	101.3	135.4	100.4	↓81.9	↓91.4	88.2	↓94.5
6 時間	123.2	98.5	102.5	98.5	89.2	95.1	114.3	97.8

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
Dunnett の検定 ↑↓:p<0.05、↑↓:p<0.01

【申請者註】：報告書に従い、統計学的有意差のない値についても記載した。

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

幼若ラットでは、雄の赤血球コリンエステラーゼ活性が投与 15 分及び 1 時間後に有意に低下した。雄の脳コリンエステラーゼ活性については、投与 15 分、30 分及び 1 時間後に、雌では、投与 15 分、30 分、1 時間及び 2 時間後に有意な低下が認められた。幼若ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は検体投与後 15 分から 1 時間の間と考えられ、脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は、投与 1 時間後と判断された。

若齢成熟ラットでは、雄の赤血球コリンエステラーゼ活性が投与 30 分及び 4 時間後に有意に低下した。雌では、投与 15 分後のみ有意な低下が認められた。雄の脳コリンエステラーゼ活性は、投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間及び 4 時間後に有意な低下が認められた。雌では、投与 30 分、2 時間及び 4 時間後に有意な低下が認められた。

赤血球コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は、雄で検体投与 30 分後であったが、雌では 15 分後であった。脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は雌雄共に投与 30 分後であると考えられる。

脳重量； 投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間及び 6 時間後に、雌雄各 10 匹の幼若ラット及び若齢成熟ラットの脳を摘出し重量を測定した。  
対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

投与後 屠殺時間	幼若ラット		若齢成熟ラット	
	雄	雌	雄	雌
15 分	↓91			
30 分	↓94	↓92		
1 時間				
2 時間	↑110			
4 時間	↑108			
6 時間	↑108	↓92		

Grubb の異常値分析 ↑↓:p<0.05、↑↓:p<0.01

幼若ラット雄で投与 15 分及び 30 分後に有意な減少が認められ、2、4 及び 6 時間後には有意に増加した。幼若ラット雌では投与 30 分及び 6 時間後に有意な減少が認められた。若齢成熟ラットでは有意差は認められなかった。

以上の結果から、幼若ラットにおいては赤血球コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は 15 分から 1 時間、脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は 1 時間であると判断された。若齢成熟ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は雄で 30 分、雌で 15 分であった。脳コリンエステラーゼ活性の抑制効果最高時点は、雌雄共に 30 分であると判断された。

幼若ラットは投与 4 時間後に、若齢成熟ラットでは投与 6 時間後にコリンエステラーゼ活性が正常値に回復した。

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。

8.9.1.14 ラットを用いた急性神経毒性試験 (資料 No. T-7.1-14)  
(コリンエステラーゼ活性阻害の用量反応試験)

試験目的： 幼若ラット及び若齢成熟ラットを用いて、検体の用量によるコリンエステラーゼ活性レベルの変化および回復性について検討した。

検体純度：

供試動物： Crl:CD (SD)ラット、幼若ラット (11 日齢)及び若齢成熟ラット、1 群雌雄各 10 匹、  
投与時体重範囲； 幼若ラット (雄；20.0～33.8 g、雌；20.0～30.8 g)  
若齢成熟ラット (雄；306～370 g、雌；217～254 g)

試験群の構成を次表に示す。

投与後 屠殺時間	用量 (mg/kg)	供試動物数 (匹)	
		幼若ラット (11 日齢)	若齢成熟ラット
30 分	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.03	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.3	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
4 時間	0	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.03	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.1	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10
	0.3	雄 10、雌 10	雄 10、雌 10

投与方法： 検体をコーン油に溶解し、0、0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg の用量で単回経口投与した。  
対照群にはコーン油を投与した。飼料及び飲水は自由に摂取させた。

用量設定根拠；予備試験として検体をコーン油に溶解し 0、0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 5 匹の幼若ラット (11 日齢)に単回経口投与し、投与 15 分後に屠殺した。投与約 15 分後に 0.3 mg/kg 投与群雌雄各 2 例に軽微～中程度の震戦が認められた。0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群雌雄で脳コリンエステラーゼ活性に有意な低下が認められた。赤血球コリンエステラーゼ活性には有意な低下は認められなかった。これらの結果に基づいて本試験の用量を設定した。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を幼若ラットでは、検体投与前、投与 15 分、30 分、1 時間、2 時間及び 4 時間後に、若齢成熟ラットでは、検体投与前、投与 15 分、30 分及び 4 時間後に観察した。

全動物に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。

幼若ラットの対照群雄 1 例の頸部に擦り傷が認められたが、その他の動物に一般状態の異常は認められなかった。

体重変化；投与開始前及び屠殺前に全動物の体重を測定した。

幼若ラット及び若齢成熟ラットの平均体重について対照群と比較して有意な差は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性；投与 30 分及び 4 時間後に、幼若ラット及び若齢成熟ラットの各群雌雄各 10 匹から血液を採取し赤血球コリンエステラーゼを測定した。また、脳重量を測定し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の認められた項目を次表に示す。

ラット		幼若ラット						若齢成熟ラット					
性別		雄			雌			雄			雌		
投与後屠殺時間/ 項目/投与量 (mg/kg)		0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3
30 分	赤血球 ChE	107.6	85.7	74.8	83.8	63.1	60.6	92.8	71.0 ↓	61.6 ↓	84.2	79.4 ↓	61.6 ↓
	脳 ChE	86.6 ↓	64.7 ↓	46.2 ↓	80.2 ↓	53.1 ↓	42.6 ↓	88.0 ↓	67.7 ↓	50.6 ↓	100.2	79.9 ↓	59.5 ↓
4 時間	赤血球 ChE	90.3	126.3	102.6	98.1	96.2	84.1	104.4	112.9	108.9	102.4	99.0	95.9
	脳 ChE	91.2	80.9 ↓	47.1 ↓	94.9	77.8 ↓	53.1 ↓	93.0	86.7 ↓	83.8 ↓	95.2	93.6	91.4

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
Dunnett の検定/Dunn 検定 (赤血球コリンエステラーゼ活性)及び  
Grubb の異常値分析 (脳コリンエステラーゼ活性) ↓:p<0.05、↓↓:p<0.01

幼若ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性では、全群で有意な変化は認められなかった。脳コリンエステラーゼ活性では、30 分後屠殺群の全投与群及び 4 時間後屠殺群の 0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群で有意な低下が認められた。

若齢成熟ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性では、30 分後屠殺群の雌雄の 0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群で有意な低下が認められた。4 時間後屠殺群ではいずれの投与群においても有意な変化は認められなかった。脳コリンエステラーゼ活性は、30 分後屠殺群の雄の全投与群及び雌の 0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群で有意な低下が認められた。また、4 時間後屠殺群では、雄の 0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群で有意な低下が認められた。

自発運動；若齢成熟ラットを用いて 4 時間後屠殺群で検体投与 30 分後に自発運動を測定した。全投与群で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。

脳重量； 全動物の脳重量を測定した。  
全投与群で有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、幼若ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性については、全群で有意な変化は認められなかった。脳コリンエステラーゼ活性は、30分後屠殺群の全投与群で有意な低下が認められた。4時間後屠殺群では0.1及び0.3mg/kg投与群で有意な低下が認められたが、30分後屠殺群の結果と比較すると回復が認められた。若齢成熟ラットの赤血球コリンエステラーゼ活性については、30分後屠殺群の0.1及び0.3mg/kg投与群で有意な低下が認められた。4時間後屠殺群ではいずれの投与群においても有意な変化は認められなかった。脳コリンエステラーゼ活性は、30分後屠殺群の雄の全投与群及び雌の0.1及び0.3mg/kg投与群で有意な低下が認められた。また、4時間後屠殺群では、雄の0.1及び0.3mg/kg投与群で有意な低下が認められたが、30分後屠殺群の結果と比較すると回復が認められた。

(申請者注)

本試験では、11日齢の幼若ラットと60日齢の若齢成熟ラットを用いた検討が行なわれている。これは米国の発達神経毒性試験のガイドラインに則って実施されたものであるが、日本の急性神経毒性試験のガイドラインでは供試動物として5~6週齢の若齢成熟ラットが推奨されていることから、若齢成熟ラットの試験結果から無毒性量を考察した。

若齢成熟ラットの0.03mg/kg投与群において、死亡例及び投与に関連する毒性症状は認められず、投与30分後及び4時間後における赤血球コリンエステラーゼ活性及び脳コリンエステラーゼ活性の阻害率は、いずれも20%未満であったことから、若齢成熟ラットにおける無毒性量は0.03mg/kg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。

ヒトに対する単回経口投与による影響

(資料 No. T-7.1-15)

被験物質：

検体純度： 報告書に記載されていない。

供試動物： ヒト 9 名（健常な成人男性、年齢 23～47 歳、体重 60.0～95.0kg）

観察期間： 24 時間

投与量及び投与方法：

事前に医療上の履歴、身体検査等を行い、不適切な既往履歴がない 23 歳から 47 歳の健常な成人ボランティア（男性）を被験者として 9 名を選抜し、無作為二重盲検法で 3 投与量（0.05、0.10 及び 0.25mg/kg； 0.05 及び 0.10 mg/kg 投与群は各 2 名、0.25mg/kg 投与群は 4 名）、対照群 1 名には偽薬を単回投与した。検体投与は被験者を施設に収容した翌朝の朝食後に実施した。被験者の特性及び投与量を表 1 に示す。

表 1 被験者の特性及び投与量

投与量(mg/kg)	被験者	年齢	身長 cm	体重 kg
0.05	#1	34	165	61.3
	#2	47	180	76.0
0.10	#3	29	173	71.2
	#4	23	169	60.0
0.25	#5	44	167	72.2
	#6	47	169	77.0
	#7	41	164	81.6
	#8	37	179	95.0
対照(偽薬)	#9	28	183	75.5

試験方法及び結果：

臨床症状：投与後 24 時間まで急性中毒症状及び徴候の発現を注意深く観察し、質問を行なった。表 2 に観察された急性中毒症状及び徴候を示す。

0.10mg/kg 投与群では軽度のめまい及び頭痛がみられた。

0.25mg/kg 投与群では悪心、発汗、嘔吐及び脱力等のコリンエステラーゼ活性阻害による特徴的な症状がみられた。

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。

表 2. 観察された急性中毒症状及び徴候

投与量 (mg/kg)	被験者	症状	症状の出現した 時間 (投与後の 経過時間:hr)	症状の 持続時間(hr)	症状の 程度	投与との 関連
0.05	#1	なし				
	#2	なし				
0.10	#3	頭痛	9.75	1	軽度	なし**
	#4	頭のふらつき感*	0.25	1	軽度	あり**
		頭のふらつき感*	10.75	就寝時まで	軽度	なし**
0.25	#5	口渇	1	0.5	中程度	あり
		過剰唾液分泌	1	1	中程度	あり
		発汗	1	1	軽度	あり
		腹痛	1	1.5	中程度	あり
		ふらつき	3	2	軽度	あり
		脱力	2	6	軽度	あり
	#6	脱力	0.75	8	中程度	あり
		過剰唾液分泌	1	2	軽度	あり
		発汗	1	3	重度	あり
		悪心	1	1	重度	あり
		不安定	1	2	軽度	あり
		衰弱	1	3	中程度	あり
		ふらつき	1	2	重度	あり
		嘔吐	2	-	中程度	あり
		口渇	3	0.5	軽度	あり
		腹痛	3	1	軽度	あり
	#7	めまい	1	2	中程度	あり
		発汗	1	2	中程度	あり
		不安定	1	2	中程度	あり
		衰弱	1	2	中程度	あり
悪心		2.5	0.25	中程度	あり	
#8	悪心	0.5	0.5	軽度	あり	
対照群(偽薬)	#9	なし				

\*:報告書原文では「lightheaded」と記載されている。

\*\*：申請者注

報告書では「probably not related」としている。

投与後 0.25 時間に被験者#4 でみられた頭のふらつき感は投与直後のためコリンエステラーゼ活性の低下による影響の可能性が考えられるので、投与との関連があるとした。

被験者#3 で投与後 9.75 時間にみられた頭痛及び被験者 #4# で投与後 10.75 時間にみられた頭のふらつき感については、コリンエステラーゼ活性測定の結果から、この時点では既にコリンエステラーゼ活性が回復していると考えられるので投与との関連はないと判断した。

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

また、投与 24 時間後の最終的な身体検査において以下の変化がみられた。

投与量 (mg/kg)	被験者	項目及び変化
0.10	#4	深度:正常～異常
0.25	#5	遠隔の横方向の斜位:正常～異常
	#6	深度:正常～異常
	#7	瞳孔:収縮状態
	#8	近距離の横方向の斜位:正常～異常 オーディオグラム: 正常～異常、 瞳孔:収縮状態
対照群(偽薬)	#9	深度:正常～異常 オーディオグラム: 正常～異常

被験者#7 及び#8 でみられた縮瞳を除いて、観察された変化は臨床的には意味がないか、あるいは投与に関連があるとは考えられなかった。これらの変化は検査における技術的変動あるいは被験者の正常な範囲での変動に起因していると考えられる。

心電図：

0 時間(投与前)、投与後 1、4 及び 24 時間に検査した。

検査結果を表 3 に示す。

徐脈が対照群 (被験者#9)、0.05mg/kg 投与群 (被験者#2)、0.10mg/kg 投与群 (被験者#3 及び#4) 及び 0.25mg/kg 投与群 (被験者#5、#6 及び#7) において認められた。

不整脈が 0.10mg/kg 投与群の投与 1 時間後に被験者#3 において、投与 4 時間後及び 24 時間後に被験者#4 において、0.25mg/kg 投与群の投与 1 時間後に被験者#7 において認められたが、これは偶発的な変動であり、臨床的な意味を有しないものと考えられた。

(申請者注)

徐脈については、対照群でも観察されており、いずれも偶発的な変動であり、投与に関連した変化ではないと考えられる。

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。

表 3. 心電図の検査結果

投与量 (mg/kg)	被験者		投与後の経過時間(hr)						
			ベース	0	1	2*	3	4	24
0.05	#1	洞調律	74	81	73	—	—	80	88
		評 価	N	N	N	—	—	N	N
	#2	洞調律	59	64	56	—	—	53	54
		評 価	SB	N	SB	—	—	SB	SB
0.10	#3	洞調律	55	59	53	—	—	51	61
		評 価	SB	SB	SB/SA	—	—	SB	N
	#4	洞調律	62	65	55	—	—	57	47
		評 価	N	N/SA	SB	—	—	SB/SA	SB/SA
0.25	#5	洞調律	79	84	68	62	57	59	66
		評 価	N	N	N	N	SB	SB	N
	#6	洞調律	65	58	90	48	46	48	57
		評 価	N	SB	N	SB	SB	SB	SB
	#7	洞調律	—	61	69	51	53	52	67
		評 価	—	N	N/SA	SB	SB	SB	N
	#8	洞調律	76	74	67	63	62	64	67
		評 価	N	N	N	N	N	N	N
対照群 (偽薬)	#9	洞調律	71	64	59	54	57	57	62
		評 価	N	N	SB	SB	SB	SB	N

表中記号の説明:

N: 正常                   —: 測定せず  
SA: 徐脈               \*: #5 のみ 2.5 時間後に測定  
SB: 不整脈

生命徴候:

仰臥位 (3 分間) 及び立位 (1 分間) による心拍数及び血圧、体温及び呼吸数を投与前 1、0.5 及び 0 時間、並びに投与後 0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4、5、6、7、8 及び 24 時間に測定した。

立位における血圧はいずれの投与群においても影響はみられなかったが、心拍数は 0.25mg/kg 投与群の被験者#5、#6 及び#7 に低下傾向がみられ、被験者#6 では比較的顕著であった。被験者#8 には何らの影響もみられなかった。

仰臥位では 0.25mg/kg 投与群の 4 名ともに心拍数の低下傾向がみられた。

体温及び呼吸数では 0.25mg/kg 投与群の被験者#5 及び#6 で体温が著しく低下し、更に被験者#6 は呼吸数が低下した。

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。

前庭機能：

Romberg test 及び Fukuda Step test を、0 時間（投与前）、投与後 1、2、3、4、5、6、7、8 及び 24 時間に実施した。

Fukuda Step test の結果を表 4 に示す。

被験者#1 で投与 4 時間後にボーダーライン反応がみられ、被験者#2 で投与 5 及び 6 時間後にボーダーライン反応及び異常反応がみられた。また、被験者#3 で投与 2 時間後にボーダーライン反応がみられた。これらは偶発的な変化であり投与との関連はないものと考えられる。

被験者#4、#7、#8 及び#9 の結果は、ベースライン及び 0 時間で異常がみられていることから投与との関連が明確でなく、評価できないと考えられる。

被験者#5 では投与 1 時間後に不安定、#6 では投与 1 時間後に不安定、めまい及び Romberg 兆候がみられ、これらは投与による影響と考えられる。

(申請者注)

被験者#1 及び#2 では投与 3 時間後の時点では赤血球コリンエステラーゼ活性が既に回復しており、投与 5~6 時間後に認められた反応は投与による影響ではないと考えられる。

血液検査の結果から、被験者#3 の赤血球コリンエステラーゼ活性が回復するのは 6 時間以降と考えられるため、投与 2 時間後に認められた反応は投与による影響と考えられる。

表 4. Fukuda Step test の結果

投与量 (mg/kg)	被験者	投与後の経過時間										
		ベース ライン	0	1	2	3	4	5	6	7	8	24
0.05	#1	1	1A	1A	1A	1A	2C	1B	1A	1A	1A	1A
	#2	1	1A	1A	1A	1A	1A	2C	3C	1B	1A	1A
0.10	#3	2	1B	1A	2C	1B	1A	1A	1A	1A	1A	1A
	#4	3	3A	2B	2A	3C	2B	3C	3A	3A	2B	3C
0.25	#5	1	1A	3C	1B	1A	1A	1A	1A	2C	1B	1A
	#6	1	1A	3C/P	1B	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A
	#7	3	3A	3A	1B	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A
	#8	3	3A	3A	3A	3A	3A	3A	3A	3A	3A	3A
対照群	#9	2	3C	3A	2B	2A	1B	2C	1B	3C	2B	2A

表中記号の説明

1=正常、2=ボーダーライン、3=異常

A=変化なし、B=回復、C=悪化、P= Romberg 兆候

眼検査

0 時間(投与前)、投与後 1、2、3、4、5、6、7、8 及び 24 時間に瞳孔径及び調節機能の検査を実施した。

0.25 mg/kg 投与群のうち、被験者#7 及び被験者#8 に縮瞳がみられたが、調節機能への影響はみられなかった。

表 4 に各被験者の瞳孔径への影響の推移を示す。

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

表 4. 瞳孔径への影響

投与量 (mg/kg)	被験者	眼 (左右)	経過時間										
			0hr	1hr	2hr	3hr	4hr	5hr	6hr	7hr	8hr	24hr	
0.05	#1	右	4	3.5	4	4	4	4	4	4.5	4	4.5	4
		左	4	3.5	4	4	4	4	4	4.5	4	4	4
	#2	右	2.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
		左	3	3	3.5	3.5	4	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	4
0.10	#3	右	3	3	3	3	3.5	3.5	3.5	3	3.5	3.5	
		左	3	2.5	3.5	3	3.5	3.5	4	3.5	3.5	4	
	#4	右	2.5	2	3	2.5	3	2	2.5	2.5	2.5	2.5	
		左	2	2.5	2.5	2	2.5	2	3	2.5	3	2.5	
0.25	#5	右	3.5	2.5	2	2.5	3	3	3.5	3	3	3	
		左	3	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	3	2.5	2.5	2.5	
	#6	右	2.5	2	2	2	2	2	2	2	2	2.5	
		左	2.5	2	2	2	2	2	2	2.5	2	2.5	
	#7	右	3.5	3	1.5	1.5	2	2.5	2	2	2	2	
		左	3.5	3	2	1.5	2	2.5	2	2	2	2	
	#8	右	3.5	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
		左	3.5	2.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
対照 (偽薬)	#9	右	3.5	3	2.5	3	3	3	3	3	3	2.5	
		左	3.5	3	2.5	3	2.5	3	3	3	3	2.5	

表中の単位は「mm」

#### 喫煙との関連

ニコチンは自律神経節亢進剤として知られていることから、各被験者の喫煙本数を記録し、結果を表5に示す。

0.25mg/kg 投与群の4名の被験者のうち、被験者#5及び#6は被験物質に最も重篤な症状を示したが2人とも喫煙をしていなかった。従って、喫煙による症状の発現、その頻度及び重篤度との関係は明らかではなかった。

表 5. 試験期間中の被験者の喫煙本数

投与量 (mg/kg)	被験者	投与後の経過時間(hr)								
		0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7-8	累計
0.05	#1	0	3	2	1	1	1	0	1	9
	#2	0	2	2.5	0	2	2	2	1	11.5
0.10	#3	0	2	0	1	1	0	2	1	7
	#4	0	0	2	2	1	0	0	2	7
0.25	#5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	#6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	#7	0	0	1	0	0	0	1	1	3
	#8	0	1	1	0	1	0	1	2	6
対照群(偽薬)	#9	0	1	1	1	1.5	2	1	3	10.5

血液検査

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。

0時間（投与前）、投与後0.5、1、2、3、6及び24時間に採血し、血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。尚、投与後2時間の採血と血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性を測定は、対照群と0.25mg/kg投与群のみで実施した。

表6に血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性への影響を示す。

対照群を含め、血漿コリンエステラーゼ活性の阻害がみられたが、投与量との相関はなかった。一方、赤血球コリンエステラーゼ活性の場合には投与量が増加するに従って阻害率が増加した。赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害率の最大値は0.05mg/kg投与群で22%及び11%、0.10mg/kg投与群で33%及び31%、0.25mg/kg投与群で62%、63%、46%及び59%であり、対照群は10%であった。

被験者#5及び#6では、急性中毒症状として、投与1～3時間後に悪心、発汗、嘔吐及び脱力等が観察され、被験者#5では投与1時間後に不安定、#6では投与1時間後に不安定、めまい及びRomberg兆候がみられた。投与1～3時間後に重度の赤血球コリンエステラーゼ活性阻害が認められていることから、症状の種類及び重篤度が赤血球コリンエステラーゼ活性阻害に関連することが示唆された。投与6時間後に被験者#5及び#6の赤血球コリンエステラーゼ活性は回復傾向を示し、投与24時間後には回復が認められた。

被験者#7及び#8では、急性中毒症状として、投与0.5～2.5時間後にめまい、発汗、悪心等が観察されたが、その程度は被験者#5及び#6と比較すると軽度であった。また、被験者#7及び#8では、投与1～2時間後に重度の赤血球コリンエステラーゼ活性阻害が認められたが、投与3時間後から回復傾向を示し、投与6時間以降は回復が認められた。

表6 血漿及び赤血球コリンエステラーゼ活性割合（%）

経過時間	投与量	0.05mg/kg		0.10mg/kg		0.25mg/kg				対照
	被験者	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
30分	血漿	-27	-20	-56*	-35*	-20	-15	-40	-47	-42
	赤血球	-8	+5	-29	-15	-21	-5	+12	-55	+6
1時間	血漿	-36*	-32*	+18	+2	-12	-12	-67	-71	-54*
	赤血球	-22*	-11*	-33*	-31*	-58	-63*	-46*	-59*	-10*
2時間	血漿	--	--	--	--	-14	-18	-100*	-81*	-51
	赤血球	--	--	--	--	-46	-49	-39	-52	+3
3時間	血漿	-15	-16	+9	+5	-2	-9	-52	-46	-38
	赤血球	+5	+3	-4	-2	-62*	-57	-32	-26	-3
6時間	血漿	-26	-24	+5	+2	-53*	-33*	-5	-7	+10
	赤血球	+8	+7	0	+12	-8	0	+6	+5	+28
24時間	血漿	+2	-3	+22	+14	-7	-10	-28	-32	-9
	赤血球	+12	+5	+1	+5	+24	+27	+51	+44	+40

表中数字は、各被験者の投与前（0時間）に対する割合（%）を示す。

\*：最大減少を示す。

--：測定せず。

結論：



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。

試験で実施された 0.05、0.10 及び 0.25mg/kg 投与群のうち、0.25mg/kg 投与群に赤血球コリンエステラーゼ活性阻害によると考えられる悪心、発汗、めまい、縮瞳等の特徴的な症状がみられ、これらは投与量に関連していると考えられた。また、赤血球コリンエステラーゼ活性阻害の継続期間と発現した症状及びその重篤度との間の関連性が示唆された。  
(申請者注)

0.10mg/kg 投与群では、頭のふらつきがみられ、赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害率の最大値が 32% (2名の被験者の平均) であったことから、投与の影響と考えられる。

0.05mg/kg 投与群では、投与に関連すると考えられる症状はみられず、赤血球コリンエステラーゼ活性の阻害率の最大値が 17% (2名の被験者の平均) であったことから、0.05mg/kg は無毒性量と推定される。

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。

### 8.9.3.1 イヌにおける1年間慢性毒性試験(資料 No. T-7.3-1)

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬、1群雌雄各6匹、投与開始時約6~8カ月齢  
投与開始時体重範囲 ; 雄 5.2~10.0 kg、雌 4.9~9.2 kg

投与期間 : 1年間(1981年11月18日~1982年11月18日)

投与方法 : 検体を0、10及び500 ppmの濃度で飼料に混入し、1年間にわたって摂取させた。  
飼料摂取は1日2時間とした。検体を混入した飼料は毎週調製した。  
500 ppm 投与群の健康状態が悪化し、雄1例の死亡が認められたため、投与開始5  
カ月後より試験終了時まで、500 ppm 投与群には検体混入飼料の他に検体を混入し  
ていない飼料を少量摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

投与開始後202日目に500 ppm 投与群の雄1例が死亡した。

剖検の結果、萎縮、形成不全、及び組織・臓器の退色等が認められ検体の高量投与に  
よる結果と判断された。

500 ppm 投与群の雄で嘔吐、軟便及び衰弱が認められた。

20及び10 ppm 投与群では検体投与に関連した変化はみられなかった。

体重変化 : 投与開始前、その後は投与終了時まで毎週一回、全動物の体重を測定した。  
対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

500ppm 投与群では12例中9例の最終体重が投与開始時の体重を下回り、検体投与  
による影響と考えられた。

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

時期 (週)	投 与 量 (ppm)					
	雄			雌		
	10	20	500	10	20	500
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15			↓73			
16			↓73			
17			↓71			
18			↓69			
19			↓69			
20			↓66			
21			↓66			
22			↓66			
23			↓66			
24			↓65			
25			↓65			
26			↓65			
27			↓64			

時期 (週)	投 与 量 (ppm)					
	雄			雌		
	10	20	500	10	20	500
28			↓63			
29			↓69			
30						
31			↓68			
32			↓70			
33			↓68			
34			↓69			
35			↓68			
36			↓69			
37			↓69			
38						
39			↓69			
40			↓68			
41			↓67			
42			↓65			
43			↓65			
44			↓66			
45			↓62			
46			↓65			
47			↓64			
48			↓64			
49			↓66			
50			↓65			
51			↓64			
52			↓63			
剖検前			↓66			
1-52 増加量			↓-1			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

統計学的検定 ↑: p<0.05、↓: p<0.01

摂餌量； 全動物の摂餌量を毎週 1 回測定した。

500 ppm 投与群の雄で投与 43 週目の摂餌量が有意に減少した。

500 ppm 投与群の雌で投与 43 及び 44 週目の摂餌量が有意に減少した。

検体摂取量； 投与期間中の平均検体摂取量を次表に示す。

投与量 (ppm)		10	20	500
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.41	0.84	14.61
	雌	0.31	0.63	13.36

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。

血液学的検査；投与開始 6 日前、投与開始後は月に一回及び剖検の前に全動物を対象として、血液を採取し、以下の項目を測定した。

総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球分画、血小板数、網赤血球数（対照群及び 500ppm 投与群のみ）

対象群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期	投与量(ppm)					
		雄			雌		
		10	20	500	10	20	500
ヘマトクリット値	5 カ月			↓81			
	6 カ月			↓73			↓87
	7 カ月			↓81			
	8 カ月			↓80			↓87
	9 カ月			↓86			
	10 カ月			↓77			
	11 カ月			↓78			
	12 カ月			↓79			
ヘモグロビン濃度	5 カ月			↓79			
	6 カ月			↓71			↓86
	7 カ月			↓78			
	8 カ月			↓77			↓85
	9 カ月			↓83			
	10 カ月			↓75			
	11 カ月			↓76			
	12 カ月			↓78			
赤血球数	5 カ月			↓82			
	6 カ月			↓73			
	7 カ月			↓80			
	8 カ月			↓79			
	9 カ月			↓86			
	10 カ月			↓77			
	11 カ月			↓78			
	12 カ月			↓79			
単球	11 カ月				↓11		
網赤血球数	4 カ月						↓50
	5 カ月						↓60
	8 カ月						↓60
	11 カ月						↓50

検査項目毎に統計学的有意差が認められた検査時期のみの成績を記載した。  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
 統計学的検定    ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

500 ppm 投与群の雄で、ヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の有意な減少がみられた。

10 ppm 投与群の雌で単球の有意な減少がみられたが、20 ppm および 500 ppm 投与群で有意差がみられなかったことから投与による影響ではないと考えられた。

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

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目を測定した。

尿素窒素(BUN)、グルコース、アルカリホスファターゼ(SAP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(SGOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(SGPT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、総コレステロール、総ビリルビン、直接ビリルビン(総ビリルビンが 2.0 mg/dl を超えた場合)、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、塩化ナトリウム、リン、塩素、カルシウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

500 ppm 投与群の雌雄で認められた有意な変化は、投与によるものと考えられた。

2ヶ月時に 10 ppm 投与群雄のみでビリルビンの有意な低下がみられたが、20 ppm 投与群では有意差がみられないことから検体投与の影響ではないと考えられた。

検査項目	検査時期	投与量(ppm)					
		雄			雌		
		10	20	500	10	20	500
アルブミン	6 カ月			↓76			
総蛋白	5 カ月			↓83			
	8 カ月						↓88
	12 カ月			↓82			↓89
コレステロール	5 カ月			↓78			
ビリルビン	2 カ月	↓70		↓63			
	7 カ月			↓67			
尿素窒素	4 カ月			↑185			
グルコース	10 カ月			↓87			
乳酸脱水素酵素	6 カ月			↑171			
塩化ナトリウム	2 カ月			↓98			
	4 カ月			↓96			
	6 カ月			↓97			
	7 カ月			↓98			
	9 カ月			↓97			
	10 カ月			↓96			
	12 カ月			↓93			
リン	6 カ月			↑116			
	10 カ月			↑114			
カルシウム	3 カ月			↓92			
	5 カ月			↓90			
	7 カ月			↓93			
	8 カ月			↓91			
	9 カ月			↓92			
	10 カ月			↓90			
	11 カ月			↓91			
12 カ月			↓86				

検査項目毎に統計学的有意差が認められた検査時期のみの成績を記載した。  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
 統計学的検定    ↑↓: 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。

コリンエステラーゼ活性；投与開始前、投与開始後 3、7、14 日、その後は 1 カ月に 1 回及び剖検前に全動物を対象として、摂食後 1 時間以内の血液を採取し、血清及び赤血球コリンエステラーゼ活性を測定した。また、剖検時に脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目あるいは有意差は認められないが対照群の値の 80%以下の値を示した項目を次表に示す。

検査項目	検査時期	投与量(ppm)					
		雄			雌		
		10	20	500	10	20	500
血清 ChE	3 日	↓82	↓75	↓17		80	↓17
	7 日	↓80	↓73	↓23		78	↓20
	14 日	↓81	↓79	↓19		80	↓21
	1 カ月	↓81	↓69	↓15			↓19
	2 カ月	↓83	↓75	↓18			↓19
	3 カ月	↓81		↓15			↓18
	4 カ月	↓82	↓78	↓17			↓17
	5 カ月	↓83	↓71	↓14			↓22
	6 カ月		↓76	↓13			↓16
	7 カ月		↓75	↓19			
	8 カ月		↓74	↓16		↓74	↓21
	9 カ月		↓77	↓17			↓22
	10 カ月		↓76	↓17		79	↓21
11 カ月		↓70	↓14		80	↓23	
12 カ月		↓70	↓22			↓23	
赤血球 ChE	5 カ月			↓79			
	6 カ月			↓73			
	11 カ月			↓76			
脳 ChE	12 カ月			76			↑144

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
統計学的検定    ↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01

500 ppm 投与群の雌雄では、全検査時期において血清コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。同群雄では、5、6 及び 11 カ月時の検査で赤血球コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。同群雄の 12 カ月時には、有意差はないが脳コリンエステラーゼ活性の低下が、雌では有意差な上昇が認められた。

20 ppm 投与群の雄では、3 カ月時を除き全検査時期で血清コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。同群雌では 3、6 及び 14 日目にのみ低下が認められた。

10 ppm 投与群の雄では、5 カ月時まで血清コリンエステラーゼ活性の有意な低下が認められたが、一過性で、その程度は軽く（変動率 80～83%）、さらに同群雌では有意差が認められなかったことから、投与による影響ではないと考えられた。

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

尿検査； 投与開始前、投与開始後約 60 日毎及び剖検前に尿を採取し、以下の項目を検査した。  
 外観、比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ビリルビン、  
 ウロビリノーゲン、有形成分

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期	投与量(ppm)					
		雄			雌		
		10	20	500	10	20	500
pH	8 カ月			↓81			
	10 カ月					↓81	

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
 統計学的検定    ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

500 ppm 投与群の雄で投与 8 カ月後に pH の有意な低下が認められた。  
 20 ppm 投与群の雌で投与 10 カ月後に pH の有意な低下が認められたが、500 ppm  
 では有意差がないことから検体投与の影響ではないと考えられた。

眼科学的検査；投与開始前、投与開始後 6 カ月及び剖検前に全動物を対象に検査を行った。検  
 体投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量；試験終了時に全動物を対象に次の臓器の絶対/相対臓器重量を測定し、対体重比を算  
 出した。

肝臓、腎臓、心臓、脳、生殖腺、甲状腺及び上皮小体、副腎及び下垂体

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次表に示す。

臓器名		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		10	20	500	10	20	500
最終体重				↓67			
絶対重量	心臓			↓62			
	脳			↓85			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。  
 統計学的検定    ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

500 ppm 投与群の雄で心臓及び脳の絶対重量について有意な減少が認められたが、  
 対体重比については有意差がみられず、病理組織学的検査においても異常は認めら  
 れなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時に全動物について剖検を行った。

投与開始後 202 日目に死亡した 500 ppm 投与群の雄 1 例の剖検の結果、萎縮、形  
 成不全、及び組織・臓器の退色化、腎石灰化及び副腎皮質変性が認められ、これら  
 は検体投与による影響であると判断された。

その他、500 ppm 投与群の 2 例の雄で顕著な皮下脂肪減少が認められた。

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。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

脳、脊髄、眼、下垂体、心臓、大動脈、胸腺(可能な場合)、甲状腺及び上皮小体、肺及び主気管支、気管、食道、胃、小腸、盲腸、大腸、副腎、膵臓、肝臓、胆嚢、腎臓、膀胱、精巣及び精巣上体、卵巣、前立腺または子宮、脾臓、リンパ節、骨及び胸骨(骨髄を含む)、骨格筋、皮膚、坐骨神経、乳腺及び肉眼的異常部位

認められた主要な病変を次表に示す。

500ppm 投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞変性が 11 例中 6 例に、軽度～中程度の肺の炎症が 11 例中 7 例に認められた。同群雄で精巣の精細管変性、巨細胞形成及び無精子症が 5 例中 4 例に認められた。これらは検体投与の影響であると考えられた。20 ppm 投与群の雌雄で、500 ppm 投与群と同様の小葉中心性肝細胞変性が 11 例中 7 例に、同群雄で精巣の変性が 6 例中 1 例に認められ、これらは検体投与の影響であると考えられた。

その他全群で認められた腎皮質尿細管細胞質リポフスチン沈着、顕著な分布パターンを持たない肝細胞脂肪変性、20 並びに 10 ppm 投与群で認められた肺の炎症、肝類洞拡張及び甲状腺 C 細胞過形成、脾臓及び各リンパ節のヘモシデリン沈着、副腎皮質肥大等の急性及び慢性炎症並びに変性については用量相関性がなく、偶発的なものであり検体投与の影響ではないと判断した。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する 1 年間飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験による影響として、500 ppm 投与の群で雄 1 例の死亡、嘔吐、衰弱、体重減少、ヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の減少、血清/赤血球及び脳コリンエステラーゼ活性の低下、心臓及び脳の重量の減少、皮下脂肪減少が認められ、20 ppm 投与群の雄で血清コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。10 ppm 投与群ではわずかな血清コリンエステラーゼ活性の低下が認められたが、年間の平均は 17%以下であり、時間経過による変化は認められなかった。他の生化学検査及び病理学的検査においてこの低下を裏づける材料が認められないことから、10 ppm (雄 0.41mg/kg/day、雌 0.31mg/kg/day)を無毒性量 (NOAEL)であると判断した。



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

性別		雄				雌				
投与群 (mg/kg/day)		0	10	20	500	0	10	20	500	
臓器	所見/程度/検査動物数									
副腎	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	皮質細胞肥大	軽 微						1		
		軽 度	1	1		2	1	1	1	1
		中程度	3	1				1	2	1
		重 度	1	2	4	2	4	2	2	2
		極重度		1	2	1	1	1	1	2
	皮質嚢胞	軽 度			1					
	皮質細胞質 リポスチン沈着	軽 微	4	3	1	1		1		
		軽 度	1			2			1	
		中程度			1		1		1	
重 度									1	
脳	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	自己融解		1							
十二指腸	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	粘膜自己融解	軽 微		1						
耳	検査動物数				1				1	
	耳介不全角化症	中程度							1	
		重 度				1				
食道	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	食道腺部細胞浸潤	軽 度					1			
眼及び 付属器	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	片側網膜細胞質変性	中程度		1						
胆嚢	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	粘膜下細胞浸潤	軽 度			1					
		重 度			1					
心臓	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	血管周囲線維形成	軽 度			1					
	変性	中程度							1	
	冠状動脈肥大							1		
回腸	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	粘膜自己融解	軽 微			1					
空腸	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	絨毛自己融解	軽 微						1		
腎臓	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	糸球体変性	軽 度						1		
	皮質石灰化	軽 微				1			1	
		軽 度				1			1	

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				
投与群 (mg/kg/day)		0	10	20	500	0	10	20	500	
臓器	所見/程度/検査動物数									
腎臓	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	近位尿細管拡張	軽 微							1	
	尿細管拡張	軽 微							1	
	近位及び遠位尿細管 リポスチン沈着	軽 微					3	2	1	
		軽 度	2	3	1		1		1	3
		中程度		1	2	1	2	2	2	1
	尿細管タンパク円柱	軽 度							1	
	糸球体腎炎	軽 微								1
		中程度			1					
	間質性腎炎	軽 微	1							1
軽 度							1			
肝臓	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	類洞炎症	軽 微					1			
		軽 度								1
	門脈周囲類洞炎症	軽 度		1						
	門脈周囲類洞炎症	中程度						1		
	細胞浸潤	軽 度					2			
	小葉中心性肝細胞変性	軽 度		2				1	2	1
		中程度		1	1			3	2	2
		重 度		2	1				1	2
		極重度				1	2			
	肝細胞脂肪変性	軽 度	2							
		中程度	1	1			1		1	1
		重 度	1		1		2	2		
		極重度			2	3				
	類洞拡張	中程度	1		1					
	小葉中心性類洞拡張	軽 微								1
軽 度									2	
中程度					1	1				
重 度					1					
肺	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	気管支周囲及び 血管周囲細胞浸潤	軽 度					1			
	間質性細胞浸潤	軽 微		1						
	気管支周囲細胞浸潤	軽 度					1			
	気管支上皮過形成	軽 度							1	
	気管支杯細胞過形成	中程度							1	
	胸膜下肺泡浮腫	軽 度							1	
	無気肺	軽 度			1					

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				
投与群(mg/kg/day)		0	10	20	500	0	10	20	500	
臓器	所見/程度/検査動物数									
肺	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	血管周囲性無気肺	軽 微			1					
	細気管支炎	中程度							1	
	細気管支周囲肺炎	中程度			1					
	間質性肺炎	軽 微						1		
	肺胞性杯細胞肺炎	軽 度				1				
		軽微 中程度				1				1
乳腺	検査動物数	2			1	6	6	5	4	
	乳管嚢胞	軽 度					1			
	細管嚢胞	軽 微							1	
軽 度						1		1		
卵巢	検査動物数					6	6	6	6	
	黄体嚢胞							1		
下垂体	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	類洞鬱血	軽 度						1		
前立腺	検査動物数	6	6	6	5					
	間質性細胞浸潤	軽 度		1						
唾液腺	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	間質性炎症	軽 微	1							
	腺房外導管細胞浸潤	軽 度		2				1		
	杯細胞過形成	軽 度	1							
皮膚	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	濾胞性上皮過形成	重 度			1					
	上皮性嚢胞	軽 微							1	
	濾胞性上皮角質増殖	中程度		1						
	上皮角質増殖	軽 度		1						
	濾胞性表皮肥厚	軽 度						1		
	真皮肥厚	中程度			1					
	錯角化	中程度		1						
脊髄	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	髄膜炎	軽 微							1	
脾臓	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6	
	脾柱変性	中程度						1		
	ヘモシデリン沈着	軽 度					2			
	細胞質 ヘモシデリン沈着	軽 微	2							
	脾柱ヒアリン化	中程度		1						
	胚中心消失	中程度			1					

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			
投与群 (mg/kg/day)		0	10	20	500	0	10	20	500
臓器	所見/程度/検査動物数								
精子	検査動物数	6	6	6	5				
	精細管変性	軽度			1				
		中程度				2			
	精細管巨細胞形成	軽微			1	1			
	片側精細管巨細胞形成	軽度				1			
	両側精細管巨細胞形成	中程度				1			
	精巣上体精細管無精子	重度				2			
	片側精巣上体 精細管無精子	重度			1	1			
片側精巣上体無精子	重度		1						
胸腺	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6
	皮質出血	軽度							1
	皮質細胞変性	中程度							1
甲状腺	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6
	C細胞過形成	中程度					2	1	
		重度						1	
	甲状腺炎	中程度		1			1		
	間質性甲状腺炎	軽度			1				
中程度				1	1				
子宮	検査動物数					6	6	6	6
	腺過形成	軽度							1
	子宮内膜過形成	軽度					2	2	
	子宮留水症	軽度					1		
動脈	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6
	線維性プラーク	中程度		1					
腸間膜	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6
リンパ節	胚中心消失	中程度							1
頸部 リンパ節	検査動物数	6	6	6	5	6	6	6	6
	ヘモシデリン沈着	軽微				1			
	細胞質 ヘモシデリン沈着	軽微				1	1		
		軽度	1						
	髓洞ヘモシデリン沈着	軽度			1				
	洞ヘモシデリン沈着	中程度			1				
	洞過形成	軽度						1	
髓リンパ節炎	軽微							1	

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。

### 8.9.3.2 ラットにおける2ヵ年慢性毒性及び発がん性試験 (資料No. T-7.3-2)

検体純度 :

試験動物 : Charles River CD系ラット、1群雌雄各90匹、6ヵ月、12ヵ月、18ヵ月日に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

試験期間 : 2年間 (1977年5月20日～1979年5月31日)

投与方法 : 検体をアセトンに溶解して0、10、20及び100 ppmの濃度で飼料に混入し、2年間にわたって随時摂食させた。飼料は毎週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、挙動及び生死を1日2回観察した。毎週1回詳細な観察と触診を実施した。

明らかに検体投与に起因すると考えられる異常な性状、挙動の変化を示した動物はみられなかった。

以下の表に104週目における各群の死亡率を示す。

投与量 (ppm)		0	10	20	100
死亡率(%)	雄	62	37	55	35
	雌	42	35	52	45

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 ; 週に1回測定した。

試験期間の大部分を通し、100ppm投与群の雌の平均体重が対照群と比較して軽微ではあるが抑制傾向を示した。しかしこの傾向は最後の6ヵ月間に幾分回復した。13週ごとの体重値を以下の表に示す。

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	100	10	20	100
13週	100	98	↓93	103	101	99
26週	100	98	↓90	104	101	99
39週	100	96	↓87	102	101	↓95
52週	99	97	↓88	103	101	97
65週	99	98	↓86	104	103	98
78週	101	98	↓89	104	103	96
91週	103	100	↓90	104	96	94
104週	105	103	95	103	102	91

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01

摂餌量； 全動物摂餌量を週に1回測定した。13週毎の有意差の認められた期間を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	10	20	100	10	20	100
1・13週	101	99	98	↑113	↑108	↑110
14・26週	100	↓95	↓92	103	↓92	104
25・39週	97	103	97	↑107	↑108	↑112
40・52週	99	100	98	96	↓90	101
53・65週	103	99	↓94	↑107	106	103
66・78週	100	95	↓94	↑111	100	↑110

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01

有意な変化を示した週には経時的及び雌雄間の一貫性や用量との関連性がなく、投与による影響とは考えなかった。

検体摂取量； 摂餌量及び投与濃度から算出した1日あたりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

群 (ppm)		10	20	100
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	0.40	0.80	4.28
	雌	0.52	1.02	5.68

血液学的検査； 6、12、18及び24ヵ月目にヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血液凝固時間、網赤血球算定及び部分トロンボプラスチン時間を測定した。統計学的に有意差を示した項目を以下に示す。

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

性別		雄			雌		
測定時期/項目/投与量 (ppm)		10	20	100	10	20	100
6ヵ月	血液凝固時間	113	107	↑116	106	106	100
	白血球数	↓72	78	77	83	79	87
18ヵ月	赤血球数	96	91	94	94	↓90	94
	ヘモグロビン	98	94	93	95	↓91	96
	ヘマトクリット	96	92	96	96	↓91	96
24ヵ月	赤血球数	117	114	119	102	↑109	105
	ヘモグロビン	119	115	119	103	↑109	102
	ヘマトクリット	121	118	121	105	↑111	103
	白血球数	↓62	76	81	78	67	78

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

検体投与による影響は認められなかった。

血液生化学検査 ; 6、12、18及び24ヵ月目に血糖、BUN、SGPT、ALP、アルブミン、総蛋白、ビリルビン、コレステロール、Na、Cl、K、Ca、Mg、尿酸、LDH (総LDHとアイソザイム)を測定した。統計学的に有意差を示した項目を以下に示す。

性別		雄			雌		
測定時期/項目/投与量 (ppm)		10	20	100	10	20	100
6ヵ月	アルブミン	101	100	100	96	↑109	100
18ヵ月	Cl	99	100	100	101	101	↑101
24ヵ月	アルブミン	107	107	107	103	↑115	103
	Mg	↓92	96	↓92	↑108	100	↓96

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

検体投与による影響は認められなかった。

コリンエステラーゼ測定 ; 6、12、18及び24ヵ月目に血漿、血球及び脳コリンエステラーゼを測定した。統計学的に有意差を示した項目を次の表に示す。

性別		雄			雌		
測定時期/項目/投与量 (ppm)		10	20	100	10	20	100
6ヵ月	血漿コリンエステラーゼ	91	105	↓73	90	106	97
	血球コリンエステラーゼ	102	98	99	94	89	↓87
	脳コリンエステラーゼ	115	111	100	94	88	78
12ヵ月	血漿コリンエステラーゼ	94	↓80	↓63	98	81	↓74
	血球コリンエステラーゼ	102	94	↓82	96	94	89
	脳コリンエステラーゼ	99	99	89	93	98	82

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表 (続き)

性別		雄			雌		
		10	20	100	10	20	100
測定時期/項目/投与量 (ppm)							
18ヵ月	血漿コリンエステラーゼ <sup>g</sup>	111	102	↓75	110	100	85
	血球コリンエステラーゼ <sup>g</sup>	95	89	↓76	97	100	↓88
	脳コリンエステラーゼ <sup>g</sup>	104	100	↓75	102	97	↓74
24ヵ月	血漿コリンエステラーゼ <sup>g</sup>	87	90	70	113	111	90
	血球コリンエステラーゼ <sup>g</sup>	98	94	↓81	100	96	↓81
	脳コリンエステラーゼ <sup>g</sup>	103	99	↓79	88	88	↓57

表中の数值は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01

100 ppm投与群の雌雄において、血漿・血球・脳の全てのコリンエステラーゼ活性が有意な低下あるいは低下傾向を示した。20 ppm投与群では明らかな影響は認められなかった。

尿検査 ; 6、12、18及び24ヵ月目に外観、尿量、pH、比重、尿糖、尿蛋白、ケトン体、ビリルビン、潜血、尿沈渣、亜硝酸塩、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。

臓器重量 ; 6、12、18及び24ヵ月目に脾臓、肝臓、腎臓、精巣上体を含む精巣、卵巣、心臓、脳、肺、副腎、甲状腺及び下垂体の重量を測定し、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		
測定時期/臓器/投与量 (ppm)			10	20	100	10	20	100
6ヵ月	脳	相対	95	97	105	↓88	97	93
12ヵ月	肺	絶対	↑121	97	104	102	102	95
		相対	120	120	↑132	120	211	108
	下垂体	絶対	↑129	↑118	↑118	113	229	100
	精巣	相対	96	105	↑120	—	—	—
	脳	絶対	104	103	↑106	105	102	103
相対		97	106	↑119	114	102	112	
18ヵ月	心臓	絶対	↓90	91	↓89	103	102	101
		相対	93	↓90	107	100	103	106
24ヵ月	肝臓	絶対	105	98	↓90	101	99	95
	腎臓	絶対	96	87	↓85	103	99	97
	心臓	相対	94	91	91	100	94	↑111
	脳	絶対	100	99	101	↑103	101	↑104
		相対	94	94	103	95	95	↑114

表中の数值は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 ↑↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01

体重増加抑制に伴う影響以外に、投与による影響は認められなかった。



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

肉眼的病理検査；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・瀕死期屠殺動物を対象として検査を行った。  
検体投与に相関した変化及び病変は認められなかった。

病理組織学的検査；12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・切迫殺動物を対象として、気管支を含む肺、心臓、甲状腺、上皮小体、気管、食道、唾液腺、胃、腸間膜リンパ節、肝臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、卵巣、前立腺、精嚢、子宮体部、子宮角部、子宮頸部、膵臓、脾臓、副腎、胸腺、坐骨神経、骨格筋、胸骨及び骨髓、皮膚、乳腺、脳、胸部脊髄、下垂体、眼、ハーダー腺、側頭骨(耳部)、前頭骨(鼻腔及び副鼻腔)、頸部リンパ節、頸部脊髄、肉眼病変部及び結節を検査した。統計学的有意差を示し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。

各群の雄に共通して、かつしばしば中等度から重度の慢性間質性腎炎が記録された。さらに罹患動物のうちの数例に二次的な上皮小体の過形成が認められ極く少数例の動物に典型的な線維性骨異栄養症もしくは鉍質沈着を伴っていた。明らかに検体投与の影響と考えられる変化は全くなかった。腫瘍性病変としては100 ppm投与群の雄の悪性腫瘍の発現頻度が上昇したが病理組織学的分類からは検体投与との相関は認められなかった。各群における担腫瘍動物数を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	10	20	100	0	10	20	100
検査動物数		60	58	60	60	60	59	60	61
担腫瘍動物数	良性	39	38	32	38	47	42	44	39
	悪性	9	8	12	6	6	7	11	14
	合計	48	46	44	44	53	49	55	53

以上の結果から本剤のラット24ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性試験の最大無作用量は10 ppm (雄：0.40 mg/kg/day、雌：0.52 mg/kg/day)であると判断される。催腫瘍性はな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。

表1-1 非腫瘍性病変：主群

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	20	100	0	10	20	100
上皮小体 検査動物数	39	28	35	36	35	33	31	40
過形成	15	3*	10	6*	1	4	3	0
胃 検査動物数	53	54	53	50	57	59	53	58
粘膜腺拡張	0	7**	0	2	1	9**	4	2
肝臓 検査動物数	60	57	59	60	59	59	59	60
胆管過形成	16	13	12	6	18	11	9*	5**
回腸 検査動物数	42	46	46	46	51	52	46	51
粘膜下リンパ球過形成	12	9	13	18	23	11**	14	12*
盲腸 検査動物数	45	45	46	47	51	52	46	52
粘膜下リンパ球過形成	7	13	11	13	4	12*	13**	7
腎臓 検査動物数	58	58	59	59	58	56	55	59
慢性間質性腎炎	31	43*	30	27	5	4	4	2
亜急性間質性腎炎	7	1*	4	5	3	2	1	2
単核球浸潤	16	6*	20	21	32	35	30	35
精巣 検査動物数	58	57	55	61	—	—	—	—
慢性動脈周囲炎	8	8	2	0**	—	—	—	—
副腎 検査動物数	56	58	59	59	56	57	57	56
皮質結節状過形成	4	4	4	5	11	6	2**	7
皮質空胞変性	19	9*	17	11*	3	6	2	13**
脾臓 検査動物数	57	57	55	59	56	57	59	59
ヘモジデリン沈着	25	22	19	12**	39	39	37	36
膵臓 検査動物数	58	56	57	58	57	58	58	58
慢性動脈周囲炎	6	7	5	0*	0	1	3	0
皮膚 検査動物数	58	57	59	59	58	59	60	60
慢性皮膚炎	14	14	7	19	0	5*	3	5*
副鼻腔 検査動物数	53	53	51	56	56	51	53	54
非化膿性副鼻腔炎	3	4	4	1	6	3	2	0*
頸部リンパ節 検査動物数	50	53	55	55	53	54	55	57
リンパ球過形成	5	2	3	6	4	13*	10	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)

— : 検査個体なし

表2-1 腫瘍性病変：主群

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	20	100	0	10	20	100
肺 検査動物数	59	58	60	59	59	59	59	61
リンパ肉腫	0	0	2	1	0	0	1	2
細網細胞肉腫	0	1	0	1	0	0	0	0
線維肉腫	0	1	0	0	0	1	1	1
乳腺腺癌	1	0	0	0	1	1	0	0
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	1	0
副腎皮質腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0
細気管支・肺胞腺腫	0	0	1	2	1	0	0	1
心臓 検査動物数	60	58	60	60	59	59	60	61
リンパ肉腫	1	0	0	0	0	0	0	1
線維肉腫	0	0	0	0	0	1	0	1
乳腺腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0
血管肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
気管 検査動物数	55	54	53	55	55	54	51	57
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
甲状腺 検査動物数	53	53	53	54	57	54	51	57
濾胞細胞腺腫	6	2	4	4	2	2	0	3
濾胞細胞腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0
傍濾胞細胞腺腫	3	2	0	4	1	3	4	1
腸間膜リンパ節 検査動物数	53	55	57	58	58	57	57	55
リンパ肉腫	1	0	0	2	0	0	0	1
細網細胞肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
線維肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
胃 検査動物数	53	54	53	50	57	59	53	58
リンパ肉腫	0	0	1	0	0	0	0	1
線維肉腫	0	1	0	0	0	1	0	0
肝臓 検査動物数	60	57	59	60	59	59	59	60
肝細胞腺腫	3	1	4	4	1	1	2	2
肝細胞癌	1	0	0	0	0	0	0	0
リンパ肉腫	0	0	2	2	0	0	0	2
細網細胞肉腫	0	1	0	1	0	0	0	0
転移癌	0	0	0	1	0	1	0	0
未分化肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
線維肉腫	0	1	0	0	0	2	0	1
副腎皮質腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0
回腸 検査動物数	42	46	46	46	51	52	46	51
未分化癌	0	0	0	1	0	0	0	0
結腸 検査動物数	45	48	49	48	52	52	50	52
線維肉腫	0	1	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)

— : 検査個体なし

表2-2 腫瘍性病変：主群（続き）

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	20	100	0	10	20	100
腎臓 検査動物数	58	58	59	59	58	56	55	59
リンパ肉腫	1	0	1	0	0	0	1	1
線維肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0
未分化肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
移行上皮乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0
膀胱 検査動物数	53	55	54	56	58	56	54	58
血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0
線維肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
精巣 検査動物数	58	57	55	60	—	—	—	—
線維肉腫	0	1	0	0	—	—	—	—
リンパ肉腫	1	4	3	5	—	—	—	—
精巣上体 検査動物数	59	57	57	59	—	—	—	—
線維肉腫	0	2	1	0	—	—	—	—
リンパ肉腫	0	0	1	0	—	—	—	—
前立腺 検査動物数	52	54	55	58	—	—	—	—
リンパ肉腫	0	0	0	2	—	—	—	—
線維肉腫	0	1	1	0	—	—	—	—
精囊 検査動物数	51	53	55	57	—	—	—	—
リンパ肉腫	0	0	0	2	—	—	—	—
卵巣 検査動物数	—	—	—	—	58	58	57	59
リンパ肉腫	—	—	—	—	0	0	0	1
線維肉腫	—	—	—	—	0	0	0	1
顆粒膜細胞腫	—	—	—	—	0	1	1	2
子宮 検査動物数	—	—	—	—	58	57	55	58
内膜間質ポリープ	—	—	—	—	4	3	4	1
副腎 検査動物数	56	58	59	59	56	57	57	56
リンパ肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
褐色細胞腫	2	4	1	3	3	0	1	1
皮質腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0
胸腺 検査動物数	50	53	47	56	54	52	54	54
線維肉腫	0	1	1	0	0	1	0	0
リンパ肉腫	0	0	1	1	0	0	1	1
細網細胞肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
未分化肉腫	0	0	1	0	0	0	1	0
胸腺腫	0	1	0	1	0	0	0	2
乳腺腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0
脾臓 検査動物数	57	57	55	59	56	57	59	51
リンパ肉腫	2	0	2	2	1	0	2	5
細網細胞肉腫	0	1	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)

— : 検査個体なし

表2-3 腫瘍性病変：主群（続き）

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	20	100	0	10	20	100
脾臓 検査動物数	58	56	57	58	57	58	58	58
リンパ肉腫	0	0	1	1	0	0	0	1
線維肉腫	0	2	0	0	0	0	0	1
島細胞腺腫	1	3	4	0	0	2	1	0
島細胞腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0
腺房細胞腺腫	0	1	0	1	0	0	0	0
骨髄 検査動物数	60	58	58	56	59	59	57	58
リンパ肉腫	3	0	1	1	0	0	2	3
皮膚 検査動物数	58	57	59	59	58	59	60	60
扁平上皮乳頭腫	0	0	1	1	1	1	0	0
扁平上皮癌	1	0	1	0	0	0	0	0
乳腺 検査動物数	60	57	57	60	58	59	59	60
腺腫	0	0	0	0	7	3	3	8
線維腺腫	2	2	0	0	30	24	26	23
腺癌	1	0	0	0	3	5	2	6
乳頭状腺癌	0	0	1	0	1	1	1	1
乳頭状腺腫	0	1	1	0	0	1	2	3
脳 検査動物数	54	57	57	60	58	58	58	60
髄膜腫	1	0	0	0	0	0	0	0
神経膠細胞腫	0	1	0	0	0	1	0	0
星状膠細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0
下垂体 検査動物数	56	52	54	57	58	55	58	59
腺腫	32	32	25	29	45	40	47	42
腺癌	1	0	2	0	0	0	1	1
眼	45	51	47	46	51	52	43	54
線維腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0
頭蓋骨(耳部) 検査動物数	49	57	53	53	57	56	54	57
扁平上皮癌	0	1	1	0	0	0	0	0
線維肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
頸部リンパ節 検査動物数	50	53	55	55	53	54	55	57
リンパ肉腫	3	0	0	1	0	0	2	3
脂肪組織 検査動物数	—	—	—	—	—	—	—	1
脂肪腫	—	—	—	—	—	—	—	1
腸 検査動物数	—	—	—	—	—	—	—	1
平滑筋肉腫	—	—	—	—	—	—	—	1
リンパ節 検査動物数	2	1	—	—	—	—	—	—
線維肉腫	0	1	—	—	—	—	—	—
リンパ肉腫	1	0	—	—	—	—	—	—
未分化肉腫	1	0	—	—	—	—	—	—
腋下リンパ節 検査動物数	—	—	—	—	—	—	2	—
リンパ肉腫	—	—	—	—	—	—	2	—

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)

— : 検査個体なし

表2-4 腫瘍性病変：主群（続き）

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	20	100	0	10	20	100
腸骨リンパ節 検査動物数	—	—	—	—	—	—	2	—
リンパ肉腫	—	—	—	—	—	—	2	—
腎リンパ節 検査動物数	—	—	1	—	—	—	—	—
リンパ肉腫	—	—	1	—	—	—	—	—
腫瘍 検査動物数	4	5	5	9	—	1	3	4
未分化腺癌	0	0	1	0	—	0	0	0
胆管嚢胞腺癌	0	1	0	0	—	0	0	0
未分化癌	0	0	0	1	—	0	0	0
線維腫	0	2	1	3	—	0	0	0
線維肉腫	0	1	1	0	—	0	1	1
血管肉腫	0	0	0	0	—	0	0	1
脂肪腫	1	0	0	3	—	1	2	1
脂肪肉腫	0	0	1	0	—	0	0	0
リンパ肉腫	0	0	1	1	—	0	0	1
細網細胞肉腫	0	0	0	1	—	0	0	0
皮脂腺腺腫	1	0	0	0	—	0	0	0
毛嚢上皮腫	2	1	0	0	—	0	0	0
腫瘍(腹腔) 検査動物数	—	—	1	—	—	—	—	—
粘液腫	—	—	1	—	—	—	—	—
腫瘍(大腿) 検査動物数	—	1	—	—	—	—	—	—
細網細胞肉腫	—	1	—	—	—	—	—	—
腫瘍(前肢) 検査動物数	—	—	1	—	—	—	—	—
横紋筋肉腫	—	—	1	—	—	—	—	—
腫瘍(頭) 検査動物数	1	—	—	1	—	—	—	1
線維腫	1	—	—	0	—	—	—	0
線維肉腫	0	—	—	1	—	—	—	0
扁平上皮癌	0	—	—	0	—	—	—	1
腫瘍(後肢) 検査動物数	—	—	—	—	1	—	—	—
毛嚢上皮腫	—	—	—	—	1	—	—	—
腫瘍(上腕) 検査動物数	1	—	—	—	—	—	—	—
骨形成性肉腫	1	—	—	—	—	—	—	—
腫瘍(兎径) 検査動物数	—	1	—	—	—	1	—	—
線維腫	—	0	—	—	—	1	—	—
脂肪腫	—	1	—	—	—	0	—	—
腫瘍(頸) 検査動物数	3	—	1	—	—	1	—	—
線維腫	2	—	0	—	—	0	—	—
線維肉腫	0	—	0	—	—	1	—	—
脂肪腫	1	—	0	—	—	0	—	—
扁平上皮癌	0	—	1	—	—	0	—	—
腫瘍(皮下) 検査動物数	—	1	2	—	—	2	—	—
線維腫	—	0	2	—	—	0	—	—
線維肉腫	—	1	0	—	—	1	—	—
脂肪腫	—	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)

— : 検査個体なし

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。

表2-5 腫瘍性病変：主群（続き）

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	10	20	100	0	10	20	100
腫瘍(胸部) 検査動物数	1	1	2	—	2	2	—	—
線維腫	1	0	0	—	0	0	—	—
線維肉腫	0	1	0	—	1	1	—	—
脂肪腫	0	0	1	—	0	1	—	—
未分化肉腫	0	0	1	—	0	0	—	—
毛嚢上皮腫	0	0	0	—	1	0	—	—
腫瘍(外陰部) 検査動物数	—	—	—	—	—	1	—	—
線維腫	—	—	—	—	—	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)

— : 検査個体なし

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。

### 8.9.3.3 マウスにおける2ヵ年慢性毒性及び発がん性試験 (資料No. T-7.3-3)

検体純度 :

試験動物 : Charles River CD-1系マウス、1群雌雄各100匹、6ヵ月、12ヵ月及び18ヵ月目に各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

試験期間 : 2年間 (1977年5月27日～1979年6月11日)

投与方法 : 検体をアセトンに溶解して0、20、125及び500 ppmの濃度で飼料に混入し、2年間にわたって随時摂食させた。

試験項目及び結果 :

一般症状及び死亡率 ; 一般状態、挙動及び生死を毎日観察した。毎週1回詳細に観察した。明らかに検体投与に起因すると考えられる異常な性状、挙動の変化を示した動物はみられなかった。以下の表に104週目における各群の死亡率を示す。

投与量 (ppm)		0	20	125	500
死亡率 (%)	雄	53	56	34	46
	雌	67	43	43	49

死亡率に検体投与との相関性は示されなかった。

体重変化 ; 週に1回測定した。13週毎の測定値について、統計学的有意差を示した週を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	20	125	500	20	125	500
13週	98	98	▼95	101	99	98
26週	↓98	▼96	▼94	100	97	▼97
39週	99	98	▼95	101	98	▼96
52週	100	↓98	▼96	101	100	▼97
65週	98	98	▼95	101	99	98
78週	102	101	96	102	99	↓95

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。

500 ppm投与群の雄において投与65週目まで、雌において26から52週及び78週目に平均体重が有意に抑制された。それ以降はほぼ対照群と同等で推移した。

摂餌量； 全動物の摂餌量を毎週1回測定した。13週毎の測定値について、統計学的有意差を示した週を以下の表に示す。

投与量 (ppm)	雄			雌		
	20	125	500	20	125	500
13週	95	96	▼86	102	96	▼87
65週	104	102	98	109	98	↓93
78週	98	100	96	▲115	↑109	102
91週	103	98	▼90	102	95	▼85
104週	104	106	108	▲117	↑113	109

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 : ↓ : p < 0.05、▲▼ : p < 0.01

500 ppm投与群の雌雄において投与1週目から13週目まで統計的有意に低下したが、その後は対照群とほぼ同等で推移した。

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。

群 (ppm)		20	125	500
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.71	16.9	67.1
	雌	3.21	19.3	74.4

血液学的検査； 6、12、18及び24ヵ月目にヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、赤血球数、白血球数、白血球百分率、血液凝固時間を測定した。有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		20	125	500	20	125	500
12ヵ月	ヘモグロビン	99	100	99	97	98	↓92
	ヘマトクリット	100	98	96	98	98	↓94

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 : ↓ : p < 0.05、▲▼ : p < 0.01

12ヵ月時に雌の500 ppm投与群で軽度のヘモグロビン及びヘマトクリット値の減少が認められたが、その他の測定時には影響は認められなかったため、偶発性的の変化と考えた。投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学検査； 6、12、18及び24ヵ月目にBUN、アルカリホスファターゼ、GPT及びアルブミンを、6及び12ヵ月目に血糖を測定した。有意差の認められた項目を下表に示す。

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		
		20	125	500	20	125	500
18ヵ月	BUN	↑130	100	109	111	108	111

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 : ↑↓ : p < 0.05、▲▼ : p < 0.01

いずれの検査項目についても、投与に関連した変化はなかった。[申請者見解：雄の20 ppm投与群において18ヵ月時のBUN値に有意差が認められたが、他の検査時には異常はなく、また用量関連性もないため、偶発性の変化であり検体投与との関連はないと判断した。]

コリンエステラーゼ活性測定；6、12、18及び24ヵ月目に脳コリンエステラーゼ(ChE)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		
		20	125	500	20	125	500
6ヵ月		97	84	▼73	96	▼80	▼59
12ヵ月		123	84	▼55	97	▼72	▼52
18ヵ月		101	↓81	▼64	92	▼73	▼45
24ヵ月		97	▼69	▼48	95	▼69	▼47

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 : ↑↓ : p < 0.05、▲▼ : p < 0.01

脳コリンエステラーゼ活性は全期間を通して125及び500 ppm投与群の雌雄いずれにおいても対照群に比較して有意に低下あるいは低下傾向を示した。20 ppm投与群の脳コリンエステラーゼ値には影響は認められなかった。

尿検査； 6、12、18及び24ヵ月目に色調、pH、比重、蛋白質、尿糖値、潜血反応、ビリルビン量、ケトン体、尿沈渣、ウロビリノーゲン及び亜硝酸を検査した。有意差の認められた項目を下表に示す。

投与量 (ppm)		雄			雌		
		20	125	500	20	125	500
6ヵ月	比重	100	100	↑101	100	99	99

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 : ↑↓ : p < 0.05、▲▼ : p < 0.01

6ヵ月時に雌の500 ppm投与群で軽度の比重増加が認められたが、その他の測定時に変化がなかったため偶発性と考えた。投与に関連した変化はなかった。

臓器重量； 6、12、18及び24ヵ月目に脾臓、肝臓、腎臓、精巣、卵巣、心臓、脳、肺、副腎、甲状腺／上皮小体及び下垂体の重量を測定し、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。

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		
			20	125	500	20	125	500
6ヵ月	肝臓	絶対	94	96	100	102	103	↑115
		相対	97	100	104	103	106	↑113
	甲状腺	絶対	100	100	↓50	86	↓71	71
		相対	98	97	60	71	↓56	60
12ヵ月	脳	絶対	↓91	96	95	96	↓95	96
	肺	絶対	↓80	92	91	94	104	101
18ヵ月	脾臓	絶対	↑238	74	28	230	78	120
		相対	↑246	71	32	246	↓71	129
	腎臓	相対	107	106	↑115	88	99	102
	精巣	相対	109	112	↑125	—	—	—
	下垂体	絶対	200	↑200	200	150	100	100
		相対	↑154	↑196	↑177	146	122	95
24ヵ月	肝臓	相対	134	132	134	↑106	103	100
		絶対	98	108	↑116	↑160	↑111	105
	腎臓	相対	98	105	↑118	↑118	↑108	↑109
		絶対	100	93	↓93	95	95	91
	心臓	相対	99	↓89	93	91	93	94
		絶対	67	↓67	67	67	67	100
	下垂体	相対	88	↓69	99	92	73	108
		絶対	↑120	120	↑140	100	100	110
	副腎	相対	120	105	↑125	100	100	117

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnettの多重比較検定 : ↓↓ : p < 0.05、↑↓ : p < 0.01

投与に関連した変動は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 投与後6、12及び18ヵ月時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物、途中死亡動物及び切迫殺動物を対象として検査を行った。

検体投与に起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査 ; 12ヵ月時の中間屠殺動物、試験終了時の全生存動物、途中死亡動物及び切迫殺動物を対象として、副腎、骨、骨髄、脳、盲腸、頸部、結腸、十二指腸、中耳、精巣上体、食道、眼、胆嚢、涙腺、ハーダー腺、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓、肺、頸部及び腸間膜リンパ節、乳腺、鼻腔、卵巣、睪臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精囊、骨格筋、皮膚、頸部及び胸部脊髄、脾臓、胃、精巣、甲状腺、胸腺、気管、膀胱、子宮角、子宮体部及びその他肉眼的異常部位を検査した。統計学的に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。

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。

肺気管支周囲のリンパ球増殖、肺胞のマクロファージ集簇及び肺のうっ血病変が対照群を含む全群で認められたが明確な用量相関性がなく、また自然発生病変として一般に認められる所見であるため、検体投与による変化とは考えなかった。また、検体投与に相関が疑われる腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。各群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表のとおりである。

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	20	125	500	0	20	125	500
検査動物数		80	81	80	81	80	80	81	81
腫瘍数	良性	37	40	45	36	43	50	55	30
	悪性	111	68	83	68	209	153	166	116
腫瘍総数		148	108	128	104	253	203	221	146
腫瘍動物数		41	43	43	48	44	48	44	36

以上の結果から本剤のマウス24ヵ月間飼料混入投与による慢性毒性試験の最大無作用量は20 ppm (雄 : 2.71 mg/kg/day、雌 : 3.21 mg/kg/day)であると判断される。催腫瘍性はないものと考えられる。

表1-1 非腫瘍性病変(主群、全動物)

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	20	125	500	0	20	125	500
副腎 検査動物数	65	67	64	68	69	70	70	66
限局性皮質過形成	12	4*	3*	7	5	1	4	5
紡錘細胞増殖	30	29	20**	28	62	58	58	52
マクロファージ集簇	26	12**	15*	10**	16	18	17	10
骨髓 検査動物数	70	69	70	70	69	69	70	70
骨髓球過形成	35	29	23*	31	27	29	27	21
ヘモジデリン沈着	11	15	16	15	9	10	12	20*
脳 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
アミロイド小体	0	5*	1	0	1	2	0	0
空胞化	1	9*	1	0	5	3	8	1
盲腸 検査動物数	65	65	69	67	67	65	68	68
寄生虫	11	16	23*	18	16	25	10	11
結腸 検査動物数	68	69	69	68	68	67	70	68
寄生虫	11	5	5	7	11	6	4*	5
涙腺・ハーダー腺 検査動物数	69	70	70	70	69	70	70	70
限局性単核球浸潤	8	0**	1*	1*	4	5	0	2
限局性リンパ球浸潤	3	3	0	1	2	10*	3	8
心臓 検査動物数	70	69	70	70	70	68	70	70
アミロイド沈着	9	18*	8	9	7	6	9	7
腎臓 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
糸球体腎炎	2	5	8*	3	4	4	7	6
限局性単核球浸潤	5	11	15*	5	10	11	11	9
限局性リンパ球浸潤	19	11	2**	12	6	8	3	2
肝臓 検査動物数	70	70	70	70	70	69	70	70
巣状肝細胞壊死	22	23	14	14	26	18	15*	23
限局性マクロファージ	8	7	3	1*	10	12	7	6
嚢胞状胆管	5	2	0*	1	2	2	0	0
肺・主気管支 検査動物数	69	69	70	70	68	69	70	70
気管支周囲リンパ球増殖	13	8	14	19	8	11	12	22**
腸間膜リンパ節 検査動物数	65	69	69	66	65	67	70	64
うっ血	12	10	10	21	17	14	6**	11
卵巣 検査動物数	—	—	—	—	69	69	69	69
卵巣嚢腫	—	—	—	—	43	55*	49	40
皮膚 検査動物数	69	68	66	70	69	69	69	69
浮腫	8	11	0**	0**	1	4	0	3
頸部脊髄 検査動物数	70	69	70	70	69	70	70	70
空胞化	12	12	4*	2**	14	7	6*	2**
胸部脊髄 検査動物数	69	68	70	68	69	70	67	69
空胞化	12	12	4*	2**	14	7	6	2**

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)

— : 検査個体なし

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。

表1-2 非腫瘍性病変（主群、全動物）続き

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	20	125	500	0	20	125	500
脾臓 検査動物数	70	69	70	68	69	68	70	69
髄外造血亢進	16	8	10	4**	12	16	13	11
瀰漫性過形成	7	3	1*	3	12	15	12	6
子宮体部 検査動物数	—	—	—	—	70	68	70	70
嚢胞状子宮内膜過形成	—	—	—	—	43	55**	46	37

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)

— : 検査個体なし

表2-1 腫瘍性病変（全動物）

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	20	125	500	0	20	125	500
副腎 検査動物数	65	67	64	68	69	70	70	66
皮質腺腫(B)	3	0	3	1	0	1	0	0
紡錘細胞腫瘍(B)	0	1	0	0	0	1	0	0
腺癌(M)	0	0	0	2	0	0	1	0
骨 検査動物数	70	70	70	70	69	70	70	70
骨腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
盲腸 検査動物数	69	67	70	69	69	69	70	70
平滑筋腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
平滑筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
子宮頸部 検査動物数	—	—	—	—	59	67	62	58
平滑筋腫(B)	—	—	—	—	0	2	2	0
涙腺・ハーダー腺 検査動物数	69	70	70	70	69	70	70	70
腺腫(B)	4	9	6	2	6	6	4	3
回腸 検査動物数	69	68	68	66	63	70	69	67
腺癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
腎臓 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
尿細管腺腫、腺管状(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
未分化肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓 検査動物数	70	70	70	70	70	70	70	70
血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
胆管嚢胞状腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
肝細胞腺腫(B)	5	3	6	2	3	2	2	1
肝細胞腺癌(M)	7	9	11	6	0	1	0	1
血管肉腫(M)	1	0	0	0	0	2	0	0
肺 検査動物数	69	69	70	70	68	69	70	70
血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
腺腫(B)	17	23	23	20	13	19	16	14
腺癌(M)	5	2	1	8	3	1	3	3
未分化転移腫瘍(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
乳腺 検査動物数	—	4	—	1	47	51	55	51
腺癌(M)	—	0	—	0	0	3	2	0
癌肉腫(M)	—	0	—	0	0	1	0	0
鼻腔 検査動物数	70	70	70	70	69	70	69	70
骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	0	0
卵巣 検査動物数	—	—	—	—	69	70	69	69
腺腫/嚢胞状腺腫(B)	—	—	—	—	3	3	2	3
黄体腫(B)	—	—	—	—	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)

(B) : 良性、(M) : 悪性

— : 検査個体なし

表2-2 腫瘍性病変 (全動物)続き

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	20	125	500	0	20	125	500
膵臓 検査動物数	70	70	69	70	70	70	70	70
島細胞腺腫(B)	0	2	0	0	0	0	0	0
下垂体 検査動物数	68	69	68	64	67	68	68	64
腺腫(B)	0	0	0	1	2	1	1	1
前立腺 検査動物数	69	70	70	70	—	—	—	—
腺腫(B)	0	0	1	0	—	—	—	—
皮膚 検査動物数	18	16	20	26	14	12	8	15
乳頭腫(B)	1	0	1	1	0	0	0	0
角化棘細胞腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
血管腫(B)	0	2	1	2	0	0	1	0
脂肪腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
毛嚢上皮腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
線維肉腫(M)	1	0	0	1	0	1	1	0
付属腺腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓 検査動物数	70	69	70	68	69	70	70	69
血管腫(B)	1	0	0	1	1	0	1	0
血管肉腫(M)	0	2	2	0	0	1	0	1
胃 検査動物数	70	69	70	70	70	70	70	68
胃癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌(M)	0	0	0	1	1	0	0	0
精巣 検査動物数	70	70	70	70	—	—	—	—
間細胞腫(B)	1	0	1	0	—	—	—	—
胸腺 検査動物数	47	42	57	57	51	54	54	61
胸腺腫、リンパ球型(M)	1	0	2	2	4	5	7	2
甲状腺 検査動物数	69	69	70	70	70	70	67	68
腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0
子宮体部 検査動物数	—	—	—	—	70	69	70	70
血管内皮腫(B)	—	—	—	—	2	0	1	1
平滑筋腫(B)	—	—	—	—	0	0	2	0
子宮内膜肉腫(M)	—	—	—	—	0	0	1	2
子宮内膜腺癌(M)	—	—	—	—	1	0	1	0
平滑筋肉腫(M)	—	—	—	—	0	2	0	0
子宮角部 検査動物数	—	—	—	—	70	70	70	70
血管内皮腫(B)	—	—	—	—	5	5	1	0*
平滑筋腫(B)	—	—	—	—	1	0	1	0
子宮内膜腺癌(M)	—	—	—	—	1	0	0	0
子宮内膜肉腫(M)	—	—	—	—	1	1	1	0
平滑筋肉腫(M)	—	—	—	—	0	1	0	0
線維肉腫(M)	—	—	—	—	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)

(B) : 良性、(M) : 悪性

— : 検査個体なし



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。

表2-3 腫瘍性病変（全動物）続き

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	20	125	500	0	20	125	500
リンパ網内系 検査動物数	7	7	4	6	14	10	11	8
リンパ肉腫(M)	3	5	3	5	11	8	8	5
骨髄性白血病(M)	0	0	1	0	0	0	1	0
骨髄腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
形質細胞腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
細網細胞肉腫(M)	4	2	0	1	3	2	1	2
包皮腺/陰核腺 検査動物数	4	1	5	5	—	—	—	—
腺腫(B)	1	0	0	0	—	—	—	—
腹腔 検査動物数	—	—	—	—	1	—	—	1
未分化肉腫(M)	—	—	—	—	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)

(B) : 良性、(M) : 悪性

— : 検査個体なし

#### 8.9.4.1 ラットにおける3世代繁殖試験 (資料No. T-7.4-1)

検体純度 :

試験動物 : Charles River CD系ラット, 1群雄10~12匹, 雌20~24匹,  
投与開始時約6週令 (雄 145~206g、雌 108~172g)

投与期間 : F<sub>0</sub>世代 ; 投与開始からF<sub>1</sub>児離乳時までの28週間

F<sub>1</sub>世代 ; 離乳時からF<sub>2</sub>児離乳時までの30週間

F<sub>2</sub>世代 ; 離乳時からF<sub>3</sub>児離乳時までの29週間

(1977年5月27日~1979年1月18日)

投与方法 : 検体を0、20及び100ppm含有させた飼料を自由に摂食させた。

また、検体はアセトンに溶かして飼料に添加した。

試験方法及び試験項目 :

繁殖方法 ; 試験手順を表1に示した。

第1世代 (F<sub>0</sub>世代) ; 同群雄1対雌2で15日の交配期間後F<sub>1a</sub>を得た。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。

哺育4日目に1腹児数を10匹にそろえた。離乳後F<sub>1a</sub>は屠殺廃棄した。

F<sub>1a</sub>離乳10日後にF<sub>1a</sub>児を得た時と同様に雌雄を交配させてF<sub>1b</sub>を得た。

哺育4日目に1腹児数を10匹にそろえた。離乳後1週間のち各群雄10匹、雌20匹を任意に選択しF<sub>1</sub>親動物とした。F<sub>0</sub>親動物は屠殺後剖検した。

第2世代 (F<sub>1</sub>世代) ; 第1世代と同様に交配させてF<sub>2a</sub>を得た。哺育4日目に1腹児数を10匹にそろえた。離乳後F<sub>2a</sub>は屠殺廃棄した。

F<sub>2a</sub>離乳10日後に第1世代と同様に交配させてF<sub>2b</sub>を得た。哺育4日目に1腹児数を10匹にそろえた。離乳後1週間後に各群雄12匹、雌24匹を任意に選択しF<sub>2</sub>親動物とした。

さらにF<sub>2</sub>親動物に選択されなかった児動物について対照群および20ppm群は雌雄20匹、100ppm群は雄23匹、雌24匹を任意に選び屠殺剖検した。

F<sub>1</sub>親動物は屠殺後剖検した。

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。

第3世代 (F<sub>2</sub>世代) ; 第1世代と同様に交配させてF<sub>3a</sub>を得た。哺育4日目に1腹児数を10匹にそろえた。離乳後F<sub>3a</sub>は屠殺廃棄した。

F<sub>3a</sub>離乳10日後に第1世代と同様に交配させてF<sub>3b</sub>を得た。哺育4日目に1腹児数を10匹にそろえた。離乳後各群雌雄20匹を任意に選び屠殺剖検した。F<sub>2</sub>親動物は屠殺後剖検した。

試験項目 ; 全動物の全検査期間に一般状態及び生死を毎日観察した。

親動物は週2回、詳細観察、体重及び飼料摂取量を測定し、検体摂取量を毎週計算した。

F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>親世代の雌動物はさらに妊娠0、7、14、21日目、哺育0、4、14、21日目の体重を測定した (臍垢が確認された日を妊娠0日、1腹の児の全数を分娩し終わった日を哺育0日とする)。哺育0、4 (1腹児数調整前および調整後)、14日目に1腹ごとの哺育児体重、哺育21日目に個体別、性別の哺育児体重を測定した。

F<sub>2a</sub>、F<sub>2b</sub>、F<sub>3a</sub>、F<sub>3b</sub>の哺育0、4、14、21日目における雌雄の匹数を記録した。

繁殖性に関する指標 ;

$$\text{交尾率} = \frac{\text{交配した雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}}$$

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

児動物指数 :

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

$$\text{離乳率} = \frac{\text{21日生存児動物数}}{\text{4日(調整後)の生存児動物数}}$$

肉眼病理学的検査 ; F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>親世代並びにF<sub>2b</sub>およびF<sub>3b</sub>離乳児の剖検したすべての動物について異常を記録した。

臓器重量 ; F<sub>2</sub>親世代およびF<sub>3b</sub>離乳児の剖検したすべての動物について下記の臓器重量を測定し、体重比を計算した。

脾臓、肝臓、腎臓、精巣、卵巣、心臓、副腎、甲状腺

病理組織学的検査；F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>親動物並びにF<sub>3b</sub>離乳児の剖検したすべての動物、また、F<sub>2b</sub>離乳児の任意に選んだ各群雌雄10匹について下記の臓器・組織の病理組織標本を作製し鏡検した。

脳、甲状腺、上皮小体、主気管支を含む肺、心、膵、脾、腸間膜リンパ節、卵巣、肝、腎、精巣、精巣上体、精囊、乳腺、前立腺、子宮角、子宮体部、乳腺、下垂体、副腎、脊髄、肉眼的病変部

試験結果； 概要を表2に示した。

一般状態および死亡；親動物では、一般状態および死亡に検体投与の影響は認められなかった。平均体重に関しては、20ppm投与群では影響は認められなかったが、100ppm投与群では各世代の育成期に試験期間を通して一貫して対照群より低値を示し、いくつかの測定時点において有意差が認められた。また、雌動物の妊娠および哺育期間における体重においてもF<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>世代で有意な低値が認められた。

飼料摂取量は、20ppm投与群は3世代に亘って対照群と同等であった。100ppm投与群は、有意差は認められなかったが、雄親動物は各世代の検体投与期間を通して全般的に低値な傾向を示し、雌親動物ではF<sub>0</sub>は、低値傾向を示したがF<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>に異常は認められなかった。

児動物では、100ppm投与群において、4日目生存率がF<sub>1a</sub>、F<sub>2a</sub>およびF<sub>3a</sub>で対照群に比し軽度の低値を示したが、F<sub>1b</sub>、F<sub>2b</sub>およびF<sub>3b</sub>に異常はなかった。また、いずれの世代の離乳率に対照群との差はなかった。平均体重は哺育期間中に一貫して抑制傾向を示し、哺育21日目では各世代ともに対照群に比し有意に減少した。20ppm群児動物において、F<sub>3a</sub>の生存産児数が対照群に比し有意に低かったが、100ppmでは有意差が認められなかったことから、投与に関連した変化ではないと考えられる。その他の検査項目に異常は認められなかった。

繁殖成績；親世代雄および雌動物の生殖能ならびに妊娠期間に検体投与の影響は認められなかった。

肉眼病理学的検査；試験終了時に屠殺、剖検に供したF<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>親動物およびF<sub>2b</sub>、F<sub>3b</sub>児動物、ならびに試験期間中に死亡した親動物および児動物のいずれについても、用量に相関した病理変化もしくは異常病変は認められなかった。

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

臓器重量；試験終了時に屠殺、剖検に供したF<sub>2</sub>親動物ならびにF<sub>3b</sub>児動物において、20 ppm投与群および100 ppm投与群ともにいくつかの臓器の平均重量および体重比に以下に示すように有意な変動が認められた。

F<sub>2</sub>親動物

雄：100ppm群 脾・肝・副腎重量減少

20 ppm群 肝体重比減少、副腎・甲状腺重量および体重比減少

雌：100ppm群 脾重量および体重比減少、卵巣重量および体重比増加

F<sub>3b</sub>児動物

雄：100ppm群 脾・腎・精巣・心重量減少、肝重量および体重比減少、副腎体重比増加

雌：100ppm群 脾・肝重量および体重比減少、腎重量減少／体重比増加、卵巣体重比増加、心・副腎重量減少

20ppm群 卵巣・甲状腺重量および体重比増加、副腎体重比増加

(申請者注：臓器重量の変動は病理組織学的変化を伴わず毒性学的に意義ある変化とは考えない)

病理組織学的検査；F<sub>1</sub>、F<sub>2b</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3b</sub>で認めた病変、出現率、程度による形態学的変化は偶発的な病変であり、検体投与に関連した変化ではないと考えられる。

以上の結果から、本試験条件下における親動物の一般毒性学的無毒性量および児動物の発育における無毒性量は20ppm (F<sub>0</sub>世代 雄 1.18mg/kg/日、雌 1.95mg/kg/日；F<sub>1</sub>世代 雄 1.20 mg/kg/日、雌 1.84mg/kg/日；F<sub>2</sub>世代 雄 1.15mg/kg/日、雌 1.80mg/kg/日)、親動物の繁殖機能における無毒性量は100ppm (F<sub>0</sub>世代 雄 6.01mg/kg/日、雌9.70 mg/kg/日；F<sub>1</sub>世代 雄 6.49 mg/kg/日、雌 10.20mg/kg/日；F<sub>2</sub>世代 雄 6.22mg/kg/日、雌 9.63mg/kg/日)と考えられる。

表 1-1 試験手順

世代	期間	交配・調整・選抜	観察・試験項目
F <sub>0</sub>	育成(9週)		体重、餌を週1回測定
	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、7、14、21日に母動物の体重を測定
	出産(F <sub>1a</sub> )		出産状況の観察 児動物の一般状態、出産児数、生存産児数、死産児数、外表異常、性別及び生存産児体重測定
	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および生存児数記録 哺育0、4、7、14日に1腹ごとの児動物体重、21日に個別および性別の児動物体重測定 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 <sub>1a</sub> 児動物を屠殺、廃棄
	10日以上		
	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、7、14、21日に母動物の体重を測定
	出産(F <sub>1b</sub> )		出産状況の観察 児動物の一般状態、出産児数、生存産児数、死産児数、外表異常、性別及び生存産児体重測定
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および生存児数記録 哺育0、4、7、14日に1腹ごとの児動物体重、21日に個別および性別の児動物体重測定 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			
F <sub>1</sub>	離乳1週間後	継代用にF <sub>1b</sub> 児動物から各群雄10匹、雌20匹を無作為に選抜	児動物およびF <sub>0</sub> 親動物を屠殺、剖検

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 <sub>1</sub>	育成(10週)	}	}		
	交配(2週)				
	妊娠(3週)				
	出産(F <sub>2a</sub> )				
	哺育(3週)				
	離乳				
	10日以上			(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)
	交配(2週)				
	妊娠(3週)				
	出産(F <sub>2b</sub> )				
哺育(3週)	}	}			
離乳					
離乳 1週間後			継代用に F <sub>2b</sub> 児動物から各群雄 12 匹、雌 24 匹を無作為に選抜	継代用に選抜されなかった児動物から各群雌雄 20 匹以上および F <sub>1</sub> 親動物を屠殺、剖検し、全親動物および児動物から各群雌雄 10 匹を病理組織学的検査	
育成(10週)			}	}	
交配(2週)					
妊娠(3週)					
出産(F <sub>3a</sub> )					
哺育(3週)					
離乳					
10日以上					(F <sub>0</sub> 世代に準ずる)
交配(2週)					
妊娠(3週)					
出産(F <sub>3b</sub> )					
哺育(3週)	}	}			
離乳			児動物から各群雌雄 20 匹および F <sub>2</sub> 親動物を屠殺、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査		

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		F <sub>0</sub>			F <sub>1</sub>			F <sub>2</sub>		F <sub>3a</sub>	
投 与 群 (ppm)		0	20	100	0	20	100	0	20	100	
動 物 数	♂	10	10	10	10	10	10	12	12	12	
	♀	20	20	20	20	20	20	24	24	24	
一 般 状 態		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
死 亡 率 (%)	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	♀	0	0	5	0	5	0	0	0	0	
体 重 (g) a	♂	交配前	425	427	385	496	486	427	459	472	401
		交配後	248	252	233	274	286	243	264	274	↓243
	♀	妊娠期	313	315	300	326	355	314	396	404	↓352
		哺育期	296	296	272	322	343	307	318	327	↓295
摂 餌 量		NE	NE	♂♀ 低値	NE	NE	♂ 低値	NE	NE	♂ 低値	
検 体 摂 取 量 (mg/kg/日) <sup>b</sup>	♂	—	1.18	6.01	—	1.20	6.49	—	1.15	6.22	
	♀	—	1.95	9.70	—	1.84	10.20	—	1.80	9.63	
交 尾 率 (%)		100	90	90	100	90	100	100	92	92	
妊 娠 率 (%)		95	90	90	65	85	95	92	83	83	
妊 娠 期 間 (日)		22.0	22.1	22.2	22.0	22.2	22.2	21.9	21.9	21.5	
臓 器 重 量		—	—	—	—	—	—	NE	♂肝体重比減少、 副腎及び 甲状腺重量及び体 重比減少	♂脾、副腎及び 肝重量減少 ♀脾重量及び 体重比減少、 卵巣重量及び 体重比増加	
病 理 所 見		—	—	—	NE	NE	NE	NE	NE	NE	
出 産 児 数		203	200	174	174	217	237	269	234	244	
生 存 産 児 数		197	199	174	174	213	233	269	▼229	241	
死 産 児 数		6	1	0	0	4	4	0	5	3	
性 比 (雄/雌)		—	—	—	86/88	103/110	118/115	138/130	107/122	129/112	
4 日 生 存 率 (%)		99	98	95	98	100	91	99	98	89	
離 乳 率 (%)		99	98	99	100	100	98	100	99	99	
体 重 (g)	0日	♂♀	6.7	6.6	6.5	6.3	6.7	6.2	6.3	6.6	5.6
		♂♀	11.2	11.3	10.8	10.2	10.6	9.1	10.4	10.3	8.4
	21日	♂	46.5	44.6	↓39.9	44.8	46.3	↓40.9	47.5	47.5	↓36.5
		♀	44.3	43.0	↓38.5	43.3	44.1	↓39.7	45.3	45.1	↓35.2
一 般 状 態		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	脱水症 (4腹)	
外 表 異 常		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	

a: 親動物の交配前、妊娠期、哺育期の体重について、F<sub>0</sub>は試験9、12、16週、F<sub>1</sub>は試験38、41、44週、F<sub>2</sub>は雄の交配前値は試験68週、雌は報告書の表22に示す妊娠0日及び21日、哺育21日の成績を用いた。

b: 全試験期間の平均

NE: 対照群では異常なし。投与群では投与に関連すると考えられる影響なし。

—: 検査せず

統計学的有意差: ↓ p<0.05、↓ p<0.01 (Dunnett多重比較検定)

▼ p<0.05 (Mann-Whitney U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2 結果の概要 (続き)

世 代			F <sub>0</sub>			F <sub>1</sub>			F <sub>2</sub>			
			F <sub>1b</sub>			F <sub>2b</sub>			F <sub>3b</sub>			
投 与 群 (ppm)			0	20	100	0	20	100	0	20	100	
動 物 数		♂	10	10	10	10	10	10	12	12	12	
		♀	20	20	20	20	20	20	24	24	24	
親 動 物	体 重 (g)	♂	交配前	521	531	478	585	575	512	565	581	488
			交配前	300	303	285	305	317	283	301	308	289
		♀	妊娠期	345	347	322	371	385	363	442	440	↓403
			哺育期	332	328	316	349	371	331	332	343	318
	交尾率 (%)			100	100	100	100	90	100	92	92	100
	妊娠率 (%)			90	85	85	70	75	89	83	83	92
	妊娠期間(日)			22.0	21.3	21.8	21.9	22.6	22.1	21.7	21.7	21.6
	出産児数			216	225	212	178	201	220	262	260	271
生存産児数			210	224	201	177	182	217	259	256	270	
死産児数			6	1	11	1	19	3	3	4	1	
性比(雄/雌)			—	—	—	95/82	89/93	118/99	131/128	133/123	142/128	
4日生存率(%)			98	98	97	98	98	97	100	97	97	
離乳率(%)			100	99	99	100	100	100	100	100	100	
児 動 物	体 重 (g)	0日	♂♀	6.2	6.1	5.8	6.4	6.5	5.9	6.4	6.1	5.9
			♂♀	10.6	9.7	9.5	10.3	10.2	9.2	10.3	10.0	8.6
		21日	♂	49.9	48.2	↓43.5	46.9	48.3	↓39.7	45.4	45.9	↓38.5
			♀	47.7	47.6	↓41.0	44.4	45.5	↓38.3	43.7	43.6	↓36.9
	一般状態			NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	脱水症(3腹)
	外表異常			NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	臓器重量			—	—	—	—	—	—	NE	NE	♂脾、腎、精巣及び心重量減少、肝重量及び体重比減少、副腎体重比増加 ♀卵巣・甲状腺重量及び体重比増加副腎体重比増加 ♀脾及び肝重量及び体重比減少、腎重量減少、体重比増加、卵巣体重比増加、心及び副腎重量減少
	病理所見			—	—	—	—	—	—	NE	NE	NE

a: 親動物の交配前、妊娠期、哺育期の体重について、F<sub>0</sub>は試験19, 22, 25週、F<sub>1</sub>は試験48, 51, 54週、F<sub>2</sub>は雄の交配前値は試験77週、雌は報告書の表22に示す妊娠0日及び21日、哺育21日の成績を用いた。

NE: 対照群では異常なし。投与群では投与に関連すると考えられる影響なし。

—: 検査せず

統計学的有意差: ↓ p<0.05、↓↓ p<0.01 (Dunnett多重比較検定)

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

#### 8.9.4.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料No. T-7.4-2)

検体純度 :

試験動物 : Charles River CD (SD)系ラット (80~90日齢)、1群24匹

投与期間 : 妊娠期間中10日間 (1977年12月21日~1978年1月4日)

投与方法 : 検体を0.25%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、0.1、0.3および1.0 mg/kgの投与量で妊娠6日から15日(膣栓および精子が認められた日を妊娠0日として起算)までの10日間、毎日1回経口投与した。なお、対照群には0.25%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

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、6~15、18および20日に体重を測定した。妊娠20日に帝王切開し、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、全ての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、胎盤重量を測定し、性別、頭臀長測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、残りの胎児について骨格標本を作製して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 ; 対照群の3匹に被毛粗剛が認められ、0.1 mg/kg/day群の5匹に投与直後、短時間の咀嚼行動が認められた。0.3 mg/kg/day群においては被毛粗剛、嗜眠、咀嚼行動、1.0 mg/kg/day群では嗜眠、流涙、角膜混濁、流涎、被毛粗剛、振戦、咀嚼行動および痙攣が認められた。また、1.0 mg/kg/day群の1匹が妊娠9日に死亡した。

体重、体重増加量、肉眼病理学的検査および黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数については検体投与に起因する影響は認められなかった。

生存胎児 ; 胎児体重、胎盤重量、頭臀長、性比、外表・内臓および骨格検査において、いずれの群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

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1.0 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 : 0.1 mg/kg/day群の母動物においても一時的な臨床所見が認められたことから、本試験条件下において、母動物のNOELは設定できなかった。いずれの投与群においても胎児に対して、検体投与に起因する影響は認められなかったことから、胎児のNOAELは1.0 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。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1.0	
1 群当りの動物数		24	24	24	24	
親動物	一般状態	被毛粗剛	咀嚼行動	被毛粗剛、嗜眠、咀嚼行動	嗜眠、角膜混濁、流涎、流涙、振戦、被毛粗剛、痙攣、咀嚼行動	
	死亡または切迫屠殺動物数	0	0	0	1	
	妊娠数(%)	23(96)	24(100)	22(92)	22(92)	
	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	23	24	22	22	
	体重		-	-	-	
	体重増加量(妊娠 6~20 日 ; g)	118	119	114	111	
	肉眼病理学的検査		-	-	-	
	着床所見	黄体数(平均)	14.0	14.8	14.5	15.8
	着床数(平均)	14.0	13.9	13.6	14.1	
	生存胎児数(平均)	12.8	13.5	13.1	13.6	
	死亡胎児数 早期	1.1	0.3	0.5	0.4	
	後期	0.0	<0.1	0.0	0.0	
胎児動物	胎児重量(g)	雄	4.1	4.0	4.0	3.9
		雌	3.9	3.8	3.8	3.7
	胎盤重量(mg)		487	512	485	465
	性比(%雄)		48	49	59	46
	頭臀長 :	雄	3.9	3.9	3.9	3.9
		雌	3.8	3.8	3.8	3.8
	外表異常 <sup>(1)</sup>	検査胎児数	295	324	289	300
			-	-	-	-
	内臓異常	検査胎児数	105	119	104	106
	奇形 <sup>(1)</sup>		-	-	-	-
変異 <sup>(1)</sup>						
	側脳室拡張	0	1(1)	1(1)	2(1)	
	腎盂拡張	1(1)	8(4)	1(1)	1(1)	
	尿管拡張	0	1(1)	0	2(2)	
	精囊拡張	0	0	1(1)	0	
	精巣位置異常	0	0	0	1(1)	

- : 検体投与による影響なし

(1) 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。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1.0
1 群当りの動物数		24	24	24	24
胎 児 動 物	骨格異常 検査胎児数	190	205	185	194
	奇形 <sup>(1)</sup>				
	脊柱側弯	5(3)	4(3)	2(1)	8(6)
	肋骨屈曲	0	2(2)	2(1)	1(1)
	変異 <sup>(1)</sup>				
	第 14 痕跡状過剰肋骨	25(10)	24(10)	16(9)	10(7)
	胸骨分節:骨化の変異 <sup>(2)</sup>	90(17) 47%	114(19) 56%	143(22) 77%	129(22) 66%
	不完全骨化 <sup>(1)</sup>				
	舌骨	16(4)	3(2)	3(2)	3(1)
	脊椎	7(3)	3(3)	6(2)	0
	第 13 肋骨	1(1)	0	1(1)	0
	坐骨	1(1)	1(1)	2(1)	0

(1) 発生数 (発生腹数)

(2) 下段 : 発生率(%)

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

#### 8.9.4-3 ラットにおける催奇形性試験 (資料No. T-7.4-3)

検体純度 :

試験動物 : Charles River COBS<sup>®</sup> CD<sup>®</sup>系ラット (19週齢)、1群25匹

投与期間 : 妊娠期間中10日間 (1980年9月19日～1980年9月28日)

投与方法 : 検体をコーン油に溶解し、0、0.25、0.5および1.20 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日から15日 (膣栓もしくは精子が認められた日を妊娠0日として起算)までの10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 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18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、全ての雌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、頭臀長測定および外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常を検査し、その後、骨格標本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 ; いずれの群においても途中死亡は認められず、一般状態、体重、体重増加量、妊娠子宮重量および補正体重についても対照群と有意な差は認められなかった。また、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も有意差は認められなかった。

生存胎児 ; 性比、胎児体重、外表・内臓・骨格異常について、いずれの群においても検体投与の影響は認められなかった。

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1.2 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 : いずれの群においても検体投与に起因する影響は認められなかったことから、母動物および胎児のNOAELは1.2 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。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	0.25	0.5	1.2
1 群当りの動物数		25	25	25	25
親 動 物	一般状態		-	-	-
	死亡または切迫屠殺動物数	0	0	0	0
	妊娠数(%)	22(88)	19(76)	18(72)	20(80)
	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	22	19	18	20
	体重		-	-	-
	体重増加量		-	-	-
	肉眼病理学的検査				
	子宮水腫	0	4	1	0
	水腎症	0	1	0	0
	卵巢嚢胞	0	1	1	0
	妊娠子宮重量	64	60	67	73
	補正体重 <sup>(1)</sup>	338	333	326	326
着 床 所 見	黄体数(平均)	14.5	14.0	14.8	14.2
	着床数(平均)	12.1	11.2	12.6	13.1
	生存胎児数(平均)	11.0	10.5	11.9	12.6
	死亡胎児数(平均)				
	早期	1.0	0.7	0.6	0.4
後期	0.1	0.7	0.1	0.1	

(1) 補正体重:妊娠20日の体重－妊娠子宮重量

∴検体投与による影響なし

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。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	0.25	0.5	1.2
胎 児 動 物	胎児重量(g)	3.7	3.8	3.8	3.8
	性比(%雄)	50	47	45	55
	頭臀長(cm)	3.8	3.8	3.8	3.7
	検査胎児数	242	199	214	252
	外表異常 <sup>(2)</sup>				
	矮小体	0	0	1(1)	0
	内臓異常				
	奇形 <sup>(2)</sup>				
	糸様子宮角	0	1(1)	0	0
	変異 <sup>(2)</sup>				
	主要血管変異	2(2)	0	2(1)	1(1)
	腎盂拡張 and/or 尿管拡張	1(1)	1(1)	5(3)	0
	骨格異常				
	奇形 <sup>(2)</sup>				
	肋骨異常を伴う脊柱側弯	2(2)	0	0	0
	肋骨屈曲	0	0	3(2)	1(1)
変異 <sup>(2)</sup>					
第 14 痕跡状過剰肋骨	25(11)	42(12)	23(11)	32(11)	
頸肋骨	0	0	1(1)	0	
過剰胸骨分節	0	0	0	2(2)	
胸骨分節非対称	1(1)	0	0	0	
不完全骨化 <sup>(2)</sup>					
頭蓋骨	0	0	1(1)	0	
舌骨	2(1)	1(1)	0	3(3)	
胸骨分節:全て	0	0	0	1(1)	
5 and/or 6	29(13)	26(10)	46(14)	29(13)	
その他	1(1)	0	4(2)	1(1)	

(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。

#### 8.9.4.4 ウサギにおける催奇形性試験（資料No. T-7.4-4）

検体純度：

試験動物： New Zealand白色種 妊娠ウサギ（試験開始時体重3～4 kg）、1群17匹

投与期間： 妊娠期間中13日間（1978年1月7日～1978年2月9日）

投与方法： 検体を0.25%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、0.2、0.6および2 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日から18日まで（人工授精した日を妊娠0日として起算）の13日間、毎日1回投与容量1 ml/kgで経口投与した。なお、対照群には0.25%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

観察・試験項目：

親動物； 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18、24および30日に体重を測定した。妊娠30日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存胎児数、早期および後期死亡胎児数とそれらの位置を記録した。また、全親動物について肉眼病理学的検査を行った。

生存胎児； 性別、胎児体重および胎盤重量測定、頭腎長測定及び外表異常の観察を行った。全胎児について内臓検査を行い、その後、骨格標本作製して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； 0.2 mg/kg/day群の2匹ならびに2 mg/kg/day群の1匹が投与期間中に死亡したが、これらの死因は検体投与に起因するものではないと考えられた。また、0.6 mg/kg/day群の2匹が死亡したが、これらの死因は特定できなかった。2.0 mg/kg/day群では、親動物17匹のうち投与期間中に5匹が死亡し、追加した予備動物3匹のうち1匹が投与期間中に死亡した。対照群の1匹、0.2 mg/kg/day群の2匹ならびに、2 mg/kg/day群の1匹で全胎児死亡、0.6 mg/kg/day群の1匹で流産が認められた。

0.2および0.6 mg/kg/day群の一般状態および体重については、対照群と有意な差は認められなかった。2 mg/kg/day群においては、ほぼ全ての動物に検体投与に起因した毒性学的症状（振戦、摂食行動消失、運動失調、流涎、くしゃみ、咀嚼行動）が反復して認められたが、体重には有意な差は認められなかった。

肉眼病理学的検査においては、各群数例に肺うっ血や胎盤のミルク様液状付着物が認められたが、対照群にも認められたことから非特異的変化と考えられた。

生存胎児； 体重、頭腎長および胎盤重量については、いずれの群においても顕著な差は認められなかった。また、外表、内臓および骨格検査においても、検体投与に起因する影響は認められなかった。



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

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2.0 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：2.0 mg/kg/day群において検体投与に起因した毒性学的症状（振戦、摂食行動消失、運動失調、流涎、くしゃみ、咀嚼行動）が反復して認められたことから、母動物のNOAELは0.6 mg/kg/dayと判断した。また、胎児については、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は認められなかったことから、胎児のNOAELは2.0mg/kg/dayであると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はエフエムシー・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	0.2	0.6	2	
1群当りの動物数		17	17	17	20	
親動物	一般状態	-	-	-	流涎、咀嚼行動、振戦、くしゃみ、摂食行動、運動失調	
	死亡・切迫屠殺動物数	0	2	2	6	
	妊娠数(%)	16(94)	14(80)	17(100)	15(85)	
	流産動物数	0	0	1	0	
	全胎児死亡動物数	1	2	0	1	
	体重		-	-	-	
	体重増加量		-	-	-	
	動物	肉眼病理学的検査				
		胎盤ミルク様液状付着物 肺うっ血	3 1	1 1	5 1	4 1
	着床所見	検査親動物数	15	10	14	10
黄体数(平均)		9.3	8.3	9.2	9.8	
着床数(平均)		8.5	7.7	9.0	9.2	
生存胎児数(平均)		8.1	6.3	8.6	7.8	
死亡胎児数(平均)						
	早期	0.3	1.2	0.2	1.2	
	後期	0.2	0.2	0.2	0.2	
胎児動物	胎児重量(g):雄	41.1	43.3	45.6	43.1	
	雌	42.8	43.2	43.7	42.5	
	胎盤重量(g)	5.2	5.6	5.5	5.4	
	性比(%雄)	56	46	55	50	
	胎児体長(cm):雄	9.5	9.7	9.9	9.8	
	雌	9.6	9.7	9.8	9.7	
	検査胎児数	129	76	120	85	
	外表異常 <sup>(1)</sup>					
	眼球膨化・突出	13(2)	10(1)	10(1)	0	
	内臓異常 <sup>(1)</sup>					
臍帯ヘルニア	0	1(1)	0	0		
出血性着色塊	1(1)	0	0	0		

∴ 検体投与による影響なし

(1) 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。

#### 8.9.5.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料No. T-7.5-1)

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 2hcr株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix)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5,000µg/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で行った。

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、S-9Mix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、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 ( $\mu\text{g}$ 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						プレインキュベーション法	
			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	-	101	6	17	27	7	7	189	13
検体	10	-	91	3	16	26	11	10	181	12
	100	-	86	5	20	35	12	9	163	17
	500	-	94	5	18	31	12	13	180	14
	1000	-	87	6	17	29	7	12	160	13
	2500	-	98	6	15	28	9	10	151	15
	5000	-	67	5	14	30	9	11	151	15
対照 (DMSO)	0	+	109	9	25	19	10	12	157	16
検体	10	+	92	8	15	20	6	12	172	20
	100	+	106	4	24	26	9	14	172	16
	500	+	98	6	16	28	7	15	166	16
	1000	+	88	8	18	22	9	10	127	16
	2500	+	101	6	15	26	10	13	161	20
	5000	+	88	4	16	20	8	15	165	22
$\beta$ -PL	50	-		1410						
9-AA	200	-					>10000			
2-NF	50	-						4802		
AF-2	0.05	-	1373						1340	
	0.1	-								339
	0.25	-								
2-AA	0.5	+	341			212		191		
	10			261	436		390			
2-AA	0.5	-	96			37		10		
	10			8	26		14			
3,4-BP	5	+							1354	249
		-							162	19

$\beta$ -PL :  $\beta$ -プロピオンラクトン

AF-2 : フリルフラマイド

9-AA : 9-アミノアクリジン

2-AA : 2-アミノアントラセン

2-NF : 2-ニトロフルオレン

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。

#### 8.9.5.2 細菌を用いたDNA修復試験 (資料No. T-7.5-2)

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<sup>+</sup>) と欠損株 (M-45, rec<sup>-</sup>) を用いたRec-assayにて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。

試験結果 : 結果を以下の表に示した。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ )	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M 45	H 17	
対照 (DMSO)	—	0	0	0
検体	2	0	0	0
	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
陰性対照 (カナマイシン)	10	12	10	2
陽性対照 (マイトマイシンC)	0.1	22	0	22

検体はいずれの濃度でも両菌株に生育阻止を認めなかった。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では両菌株間に顕著な生育阻止の差が認められた。

以上の結果から、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。

#### 8.9.5.3 カルボスルファンおよび代謝・分解物

の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料No. T-7.5-3)

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及びG-46株)を用いてAmesらの方法で変異原性を検定した。

はTA98及びTA100株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix)の存在下および非存在下で試験した。

カルボスルファン及び はG-46株を用い、S9Mix非存在下で試験した。

試験はいずれも2連性とし、プレインキュベーション法で行った。カルボスルファン及び はDMSOに溶解して用いた。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

はTA98及びTA100に対してS9Mixの有無にかかわらず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。

カルボスルファン及び はG46に対していずれの濃度においても対照と比べて復帰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AF・2及び8・PLではS9Mixの非添加で、また3,4-BPはS9Mixの添加により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、カルボスルファン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 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	復帰変異コロニー数/プレート(2枚の平均値)			
		TA98		TA100	
		S9Mix(-)	S9Mix(+)	S9Mix(-)	S9Mix(+)
対照 (DMSO)	0	20	24	87	128
	31.3	22	31	130	104
	62.5	25	18	134	144
	125	20	22	145	94
	250	19	28	167	138
	500	25	23	133	124
	1000	24	15	150	85
	2500	33	15	159	146
AF-2	0.05			1452	
	0.1	580			
3,4-BP	5	25	179	141	546

AF-2 : フリールフラマイド<sup>®</sup>

3,4-BP : 3,4-ベンゾピレン

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	復帰変異コロニー 数 /プレート
		G-46
		S9Mix(-)
対照 (DMSO)	0	4
カルボスルファン	1	4
	10	3
	100	3
	500	2
	1000	4
	2500	5
	5000	6
$\beta$ -PL	1000	293

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	復帰変異コロニー 数 /プレート
		G-46
		S9Mix(-)
対照 (DMSO)	0	4
	1	4
	10	4
	100	5
	500	2
	1000	4
	2500	4
	5000	2
$\beta$ -PL	1000	260

表中の数値はプレート2枚の平均値を示す。

$\beta$ -PL :  $\beta$ -ピロピラクトン



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。

#### 8.9.5.4 細菌を用いたマウスによる宿主経路試験 (資料No. T-7.5-4)

検体純度 :

試験動物 : Jcl-ICR系マウス、7週令、1群雄6匹、平均体重33.6 g

試験方法 : 細菌を用いたマウスによる宿主経路試験によって検体の突然変異誘発性を調べた。  
カルボスルファンは75及び150 mg/kg/day、は62.5、125及び250  
mg/kg/dayを24時間間隔で2回経口投与した。陽性対照のジメチルニトロソアミンは  
50 mg/kgを1回経口投与した。2回目投与直後に対数増殖期のヒスチジン要求性サル  
モネラ菌G46株2 mLをマウスの腹腔内に投与し、3時間後に屠殺した。腹腔内から  
回収した菌液を最小寒天培地に重層し、37°C、2日間培養後復帰変異コロニー数お  
よび生存菌数を計数して復帰変異誘発頻度を算出した。

試験結果 : 結果を次頁の表に示した。

カルボスルファン及びはいずれの投与量においても、対照と比較し  
てG-46株の復帰変異誘発頻度の顕著な増加は認められなかった。一方、陽性対照の  
ジメチルニトロソアミンでは明らかに復帰変異誘発頻度が著しく増加した。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン及びは突  
然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	投与量 (mg/kg/day)	動物 数	復帰変異数 (菌数/mL)	生存菌数 ( $\times 10^8$ /mL)	復帰変異誘発頻度 (復帰変異菌数/ $10^8$ 生存菌数)
対照 (コーン油)	0 × 2	6	15.3 ± 4.01	62.2 ± 14.78	0.26 ± 0.086
カルボスルファン	75 × 2	6	22.4 ± 8.03	54.7 ± 15.48	0.46 ± 0.245
	150 × 2	6	13.2 ± 3.37	44.0 ± 13.30	0.32 ± 0.103
陽性対照 (ジメチルニトロソアミン)	50	6	18100 ± 5377	42.0 ± 7.27	423.80 ± 64.72**
対照 (コーン油)	0 × 2	6	14.3 ± 7.10	59.1 ± 6.95	0.25 ± 0.13
	62.5 × 2	6	17.4 ± 2.05	72.2 ± 9.67	0.25 ± 0.06
	125 × 2	6	16.1 ± 4.10	75.6 ± 30.98	0.24 ± 0.09
	250 × 2	6	12.5 ± 2.37	47.1 ± 10.78	0.28 ± 0.07
陽性対照 (ジメチルニトロソアミン)	50	6	8016 ± 1258	50.9 ± 23.16	225.88 ± 176.80**

表中の数値は平均値 ± SDを示す。

\*\* : t検定 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。

## 8.10 製剤の毒性試験

### 8.10.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. TF-1.1)

検 体： 5%粒剤  
[製剤組成]  
カルボスルファン 5.0%

試験動物： CRJ：CD (SD)系ラット、4週令、体重：雄 100～130 g、雌  
90～120 g、

1群雌雄各10匹

試験期間： 14日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： 検体を1 w/v% メチルセルローズ溶液に懸濁して強制経口投与した。検体投与容量は10% (w/v)を懸濁液を所定の投与薬量に相当する量を投与した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行い、主要臓器の異常の有無を観察した。

試験結果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 500、600、720、864、1037、1244
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 820 (722～932) 雌 812 (677～974)
死亡開始時間および終了時間	投与後10分～1日後に終了
症状発現および消失時期	投与後2分～6時間後に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <500
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 500 雌 500

死亡

投与量 (mg/kg)	500	600	720	864	1037	1244	
死亡数	雄	0/10	1/10	5/10	7/10	8/10	10/10
	雌	0/10	2/10	4/10	6/10	7/10	10/10

中毒症状としては自発運動低下、蹲踞姿勢 (うづくまり姿勢)、振戦、背部筋攣縮、流涎、流涙、間代性痙攣、血涙、眼球突出、瞳孔収縮が観察された。

剖検所見では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。

#### 8.10.2 5%粒剤のラットにおける急性経口毒性試験 (資料No. TF-1.2)

検 体 : 5%粒剤  
[製剤組成]  
カルボスルファン 5.0%

試験動物 : Cr1 : COBS CD (SD)BR系ラット (週令 : 記載なし)、1群雌雄各10匹  
体重 : 雄 240~300 g、雌 175~200 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 固定用量法

投与方法 : 検体を1 w/v% メチルセルロース溶液に検体を10% (w/v)を懸濁させて投与した。動物は投与前に約24時間絶食した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を14日間観察した。

死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行い、主要臓器の異常の有無を観察した。

試験結果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 506、759、1139、1709
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 1200 (925~1557) 雌 905 (674~1216)
死亡開始時間および終了時間	投与後30分~1日後に終了
症状発現および消失時期	投与後30分~14日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 <506 雌 506

死亡

投与量 (mg/kg)	506	759	1139	1709	
死亡数	雄	1/10	0/10	5/10	8/10
	雌	0/10	6/10	5/10	9/10

中毒症状としては頭部肥大、立毛、流涎、嘔気、自発運動低下、鼻出血、角膜混濁、振戦、筋攣縮、流涙、血涙、血尿、縮瞳、眼瞼下垂、眼球突出、痙攣が観察された。剖検所見では膀胱・胃内容物褪色、腸管粘膜褪色、脾褪色、胃・腸管膨張、上行性腹腔内睾丸が認められた。

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。

### 8.10.3 マウスにおける急性経口毒性試験 (資料No. TF-1.3)

検 体 : 5%粒剤  
[製剤組成]  
カルボスルファン 5.0%

試験動物 : CRJ : CD-1(ICR)系マウス (4週令)、1群雌雄各10匹

体重 : 雄 24~28 g、雌 19~25 g

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 固定用量法

投与方法 : 検体を1 w/v% メチルセルロース溶液に懸濁して強制経口投与した。

投与容量は10 mL/kgで実施した。

観察・検査項目 : 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行い、主要臓器の異常の有無を観察した。

試験結果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 600、750、938、1173、1466、1833
LD <sub>50</sub> (ppm) (95%信頼限界)	雄 1140 (891~1459) 雌 1040 (852~1269)
死亡開始時間及び終了時間	投与後30分~1時間後に終了
症状発現及び消失時期	投与後2分~6時間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (ppm)	雌雄共 600

死亡 :

投与量 (mg/kg)	600	750	938	1173	1466	1833	
死亡数	雄	0/10	3/10	3/10	5/10	7/10	10/10
	雌	0/10	2/10	3/10	7/10	7/10	10/10

中毒症状としては自発運動低下、蹲踞姿勢 (うずくまり姿勢)、振戦、背部筋攣縮、流涎、流涙、間代性痙攣、眼球突出、血涙が観察された。

剖検所見では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。

#### 8.10.4 5%粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料No. TF-1.4)

検 体： 5%粒剤  
【製剤組成】  
カルボスルファン 5.0%

供試動物： Wistar系ラット 7週齢、1群雄10頭、雌10頭  
体重 雄 282～328 g、雌 184～218 g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 背部中央を4×5 cm程度の塗布面となるよう剪毛し、塗布部位をあらかじめ精製水  
でぬらしてから所定量を塗布した。24時間の塗布時間経過後中性洗剤で洗浄した。

観察・検査項目： 一般症状および死亡を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動  
物について肉眼病理学検査を行なった。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 0、1000、3000、5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌雄共 >5000
死亡開始および終了時間	雌雄共 死亡なし
症状発現および消失時期	雌雄共 毒性症状なし
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000

一般症状としては塗布後ガーゼおよびテープ保定による一時的な自発運動の低下、  
蹲くまり姿勢、腹臥位および消瘦が認められたが、本検体に起因するものではな  
かった。雌雄両群に投与翌日から2日目に体重減少または体重増加抑制が認められたが、  
その後改善された。剖検では各群の雌に子宮水腫が認められたが、本検体に起因す  
るものではないと考えられた。

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

#### 8.10.5 5%粒剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料No. TF-1.5)

検 体： 5%粒剤

【製剤組成】

カルボスルファン 5.0%

試験動物： 日本白色種ウサギ、体重 2.0～2.5 kg、雄6匹

試験期間： 3日間観察

試験方法： 背部正中部を2.5×2.5 cmで刈毛し、更に剃毛し適用部位とした。検体500 mgを十分湿らせ、リント布で覆って外科用粘着テープで皮膚に密着させた。曝露時間は4時間とし、曝露終了後検体は水で除去した。

観察項目： 曝露終了後、30分、24、48および72時間に適用部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）を観察した。判定の基準は農林水産省ガイドライン（59農蚕第4200号）に従った。

試験結果： 下表に採点結果を示す。

変 化	最高評点*	適 用 後 時 間			
		30分	24時間	48時間	72時間
紅斑, 痂皮	4	0	0	0	0
浮 腫	4	0.17	0.17	0	0
合 計		0.17	0.17	0	0

注) 表の点数は6匹の平均値である。

\*：判定基準の最高評点

6例中1例に非常に軽度の浮腫（評点1）が認められたが、48時間の観察では消失した。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン5%粒剤のウサギに対する皮膚刺激性はほとんどないと思われる。

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。

#### 8.10.6 5%粒剤のウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験（資料No. TF-1.6）

検 体： 5%粒剤

【製剤組成】

カルボスルファン 5.0%

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 雄3匹および雌3匹、洗眼群 雄1匹および雌2匹

試験期間： 7日間観察

試験方法： 左眼の結膜嚢内に粉砕した検体100 mgを投与した。洗眼群では検体投与の20～30秒後に1分間微温湯で眼を洗浄した。右眼を無投与対照とした。

観察項目： 投与後、1、4、24、48、72時間および4、7日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って評価して採点した。

結試験果： 次表に結果を示す。

項 目		最高 評点*	投 与 後 時 間						
			1時間	4時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
非洗眼群 6匹平均	角膜混濁	4	0	0	0.2	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0.3	0	0	0	0	0
	結膜発赤	3	1.0	1.0	0.5	0.3	0	0	0
	結膜浮腫	4	1.7	1.8	0.3	0	0	0	0
	結膜排出物	3	1.8	2.2	0.2	0	0	0	0
洗 眼 群 3匹平均	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0
	結膜発赤	3	1.0	1.0	0.7	0	0	0	0
	結膜浮腫	4	1.0	1.0	0	0	0	0	0
	結膜排出物	3	1.0	1.0	0	0	0	0	0

\*：判定基準の最高評点

非洗眼群では角膜混濁が1匹、虹彩の刺激性変化が2匹見られたがいずれも48時間後までに正常に回復した。結膜の刺激性変化は72時間後までに正常に回復した。

洗眼群では角膜および虹彩の刺激性変化は見られなかった。結膜の刺激性変化は48時間後までに正常に回復した。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン5%粒剤はウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性を有すると判断する。また、投与30秒後の洗眼効果が認められた。



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。

#### 8.10.7 5%粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (資料No. TF-1.7)

検 体： 5%粒剤

[製剤組成]

カルボスルファン 5.0%

試験動物： ハートレー系モルモット、投与時体重範囲 341～417 g

検体群 雌雄各10匹、陽性物質群 雌雄各2匹

試験期間： 感作開始日から惹起終了後48時間までの30日間

試験方法： Buehler法

投与量設定根拠；予備試験の結果をもとに感作及び惹起時の検体処理濃度を決定した。白色ワセリン中10、25、50及び75% (w/w)検体混合物を6時間閉塞貼付した。その結果、50%濃度が発赤、浮腫及びその他の皮膚障害を起こさなかったため、感作及び惹起に用いた。

陽性対照物質のDNCBは予備試験の結果を基に、感作は0.15% DNCB 80%エタノール、惹起は0.1% DNCBアセトン溶液を用いた。

処理方法；感作は、24時間前に除毛した動物の左背中上部域に処理物質0.5 mLを塗布し、1インチ角の綿布と低アレルギー性テープを用いて6時間閉塞貼付した。同様の処理を1週間間隔で合計3回行った。

惹起は、最終感作2週間後に、24時間前に除毛した動物の右腹側部に、処理物質0.5 mLを感作と同様の方法で6時間閉塞貼付した。

皮膚反応の観察；皮膚反応の観察は惹起貼付除去後24及び48時間に行い、次に示すDraizeの判定基準に従って評点した。

皮膚反応の評価表

紅斑及び痂皮形成		浮腫の形成	
皮膚反応の程度	評点	皮膚反応の程度	評点
紅斑なし	0	浮腫なし	0
非常に軽度の紅斑	1	非常に軽度の浮腫	1
はっきりした紅斑	2	軽度浮腫	2
中等度ないし高度紅斑	3	中等度浮腫	3
高度紅斑からわずかな痂皮形成まで	4	高度浮腫	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。

評価方法；評点1以上を陽性とする感作率（%）を算出し、感作群と非感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

試験結果： 各観察時間における結果を下表に示す。

群	供試動物数	反応	観察時間 (時間)	感作反応動物数					陽性反応動物数	感作率 (%)
				皮膚反応評点						
				0	1	2	3	4		
検体感作群	10雄5雌5	紅斑・痂皮	24	10	0	0	0	0	0	0
			48	10	0	0	0	0	0	
		浮腫	24	10	0	0	0	0	0	
			48	10	0	0	0	0	0	
検体対照群	10雄5雌5	紅斑・痂皮	24	10	0	0	0	0	0	/
			48	10	0	0	0	0	0	
		浮腫	24	10	0	0	0	0	0	
			48	10	0	0	0	0	0	
陽性物質 DNCB 感作群	4雄2雌2	紅斑・痂皮	24	0	0	4	0	0	4	100
			48	0	2	2	0	0	4	
		浮腫	24	3	1	0	0	0	1	
			48	4	0	0	0	0	0	

DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン

検体投与群では、24及び48時間後の観察で全例に皮膚反応が認められなかった。陽性物質感作群では、24及び48時間後の観察で全例に明らかな陽性反応が認められ、感作率は100%であった。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン5%粒剤に皮膚感作性はないと判断する。

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

### 8.10.8 3%粒剤のラットにおける急性経口投与毒性試験 (資料No. TF-2.1)

検 体： 3%粒剤

[製剤組成]

カルボスルファン 3.0%

供試動物： Hsd : Sprague-Dawley® (SD™) BR系ラット

体重 雄 200.1~300.0 g 雌 200.1~258.7g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： コーン油を媒体として、10 mL/kgの容量にて、経口投与した。検体投与前1晩絶食させた。

観察・検査項目： 中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。投与前、投与後7日及び14日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 500、1000、2500、4000
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 4349 (算出不能) 雌 771 (算出不能)
死亡開始時間及び終了時間	投与後1時間~2日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後1時間~最終計画殺まで消失せず
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <1000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2500 雌 500

死亡

投与量 (mg/kg)		500	1000	2500	4000
死亡数	雄	0/5	0/5	0/5	1/5
	雌	0/5	4/5	5/5	5/5

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。

中毒症状としては、沈鬱、運動失調、振戦、被毛粗剛、沈着尿、鼻と目の赤色着色、顔面腫脹が観察された。

生存動物の剖検所見では胸腔内臓器の癒着、死亡動物の剖検所見では肺、肝臓、脾臓、腎臓の退色、胃の異常内容物と胃壁の菲薄化、腸管の異常内容物、唾液腺の拡張、肺と心臓の癒着、肺の白色クリーム様内容物が観察された。

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。

### 8.10.9 3%粒剤のマウスにおける急性経口投与毒性試験 (資料No. TF-2.2)

検 体： 3%粒剤  
 [製剤組成]  
 カルボスルファン 3.0%

供試動物： CrI : CD-1® (ICR) BR系マウス、若齢、1群 雌雄各10匹  
 体重 雄 18.3~28.0 g、雌 18.0~22.9 g

試験期間： 14日間観察

試験方法： 固定用量法

投与方法： コーン油を媒体として、20 mL/kgの容量にて、経口投与した。検体投与前一晚絶食させた。

観察・検査項目： 中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。投与前、投与後7日及び14日に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄共 5000、6250、6875、7500、8750
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 8494.6 (6804.2~10605) 雌 6530.6 (5434.1~7846.9)
死亡開始時間及び終了時間	投与後1時間~1日後に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後1時間~7日後に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <5000

死亡：

投与量 (mg/kg)	5000	6250	6875	7500	8750	
死亡数	雄	1/10	2/10	2/10	5/10	5/10
	雌	2/10	2/10	8/10	9/10	6/10

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。

中毒症状としては、沈鬱、運動失調、振戦、被毛粗剛、尿汚れが観察された。  
生存動物の剖検所見では蒼白腎、死亡動物の剖検所見では肺、肝臓、脾臓の退色、  
胃、腸管の異常内容物、気泡膨満と赤色もしくは暗色被膜、心臓の拡張が認められ  
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。

#### 8.10.10 3%粒剤のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料No. TF-2.3)

検 体： 3%粒剤

[製剤組成]

カルボスルファン 3.0%

供試動物： Hsd: Sprague-Dawley (SD)BR系ラット、若齢、1群雌雄5匹

体重：雄226.1～300.0 g、雌245.8～258.7 g

試験期間： 14日間観察

投与方法： 剪毛した背部 (全体表面の10%)に検体 (希釈せず)を24時間適用した。

観察・試験項目：中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。観察終了時の全生存動物について適用部位を含む肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	試験期間を通して死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	投与後4時間～2日後
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 <2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 >2000

中毒症状としては、軽度の沈鬱が観察された。

剖検所見では主要臓器に特記すべき変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に刺激性変化および他の異常は認められなかった。

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

#### 8.10.11 3%粒剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験 (資料No. TF-2.4)

検 体： 3%粒剤

[製剤組成]

カルボスルファン 3.0%

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ、若齢成獣、雌雄各3匹

試験期間： 4日間観察

試験方法： 背部および側腹部の皮膚を剪毛し、24時間後非擦過および擦過部位に検体0.5 gを適用した。

適用時間は24時間とし、皮膚に残った検体はガーゼおよび水道水で拭き取った。

観察項目： 適用終了後、30～60分、24、48、72および96時間に適用部位の刺激性変化（紅斑、浮腫）の有無等を観察し、Draize法に従って評価、採点した。

試験結果： 下表に結果を示す。

部 位	変 化	最高評点*	適 用 後 時 間				
			30～60分	24時間	48時間	72時間	96時間
非擦過部	紅 斑	4	0.7	0.5	0.2	0	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
	合計	8	0.7	0.5	0.2	0	0
擦 過 部	紅 斑	4	0.7	0.5	0.3	0.3	0
	浮 腫	4	0	0	0	0	0
	合計	8	0.7	0.5	0.3	0.3	0

注) 表の点数は6匹の平均値である。\*：評価の最高評点

非擦過部及び擦過部ともに軽度の紅斑が観察されたが、96時間後には消失した。  
また、適用部位の青色染色が全例に認められた。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン3%粒剤のウサギに対する皮膚刺激性はないと判断する。



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

### 8.10.12 3%粒剤のウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験 (資料No. TF-2.5)

検 体： 3%粒剤

[製剤組成]

カルボスルファン原体 3.0%

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 雄3匹 雌3匹、洗眼群 雄1匹 雌2匹

試験期間： 7日間観察

試験方法： 左眼に0.5% Ophthaine液 (鎮痛薬)を2滴点眼し、10分後に検体97 mgを点眼した。  
洗眼群では検体点眼20~30秒後に1分間微温湯で眼を洗浄した。  
右眼を無投与対照とした。

観察項目： 点眼後、1、4、24、48、72時間および4、7日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って評価して採点した。

試験結果： 次表に結果を示す。

項 目		最高 評点*	投 与 後 時 間						
			1時間	4時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
非洗眼群 6匹平均	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩	2	0.2	0.2	0	0	0	0	0
	結膜発赤	3	1	1.2	0.7	0	0	0	0
	結膜浮腫	4	1.8	1.8	0.3	0	0	0	0
	結膜排出物	3	1.7	1.5	0.3	0.2	0	0	0
洗 眼 群 3匹平均	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0
	結膜発赤	3	1	1.3	0.3	0	0	0	0
	結膜浮腫	4	1	1.7	0.3	0	0	0	0
	結膜排出物	3	1.3	1.7	0.7	0	0	0	0

\*：判定基準の最高評点

いずれの群においても角膜混濁は認められなかったが、点眼直後に瞳孔の収縮および角膜の曇りが見られ、24時間後までには正常に回復した。

虹彩炎は非洗眼群で1例のみ認められたが、24時間後には回復した。

結膜炎は24時間後までみられたが、72時間後には全例が正常に回復した。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン3%粒剤はウサギの眼粘膜に対してわずかな刺激性を有すると判断する。

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

#### 8.10.13 3%粒剤のモルモットにおける皮膚感作性試験 (資料No. TF-2.6)

検 体 : 3%粒剤

[製剤組成]

カルボスルファン原体 3.0%

供試動物 : Hra : Hartley系モルモット

体重 雄 367.7~505.9 g 雌 311.6~444.4 g

1群 雄5匹 雌5匹、 陽性対照群 雄2匹 雌2匹

試験期間 : 48時間観察

試験方法 : Buehler法

予備試験 ; 検体の10, 25, 50および75% (w/v)濃度ワセリンを経皮適用した結果, 刺激性は認められなかったため75%濃度を感作および惹起に選択した。

さらに陽性対照群設定のため, DNCBの0.05, 0.10, 0.15および0.20%濃度80%エタノール溶液を経皮適用した結果, 全濃度で非常に軽度~はっきりした紅斑および非常に軽度の浮腫が認められた。従って, 感作には0.15% w/v 80%エタノール溶液を惹起には0.10% (w/v)アセトン溶液を選択した。

感 作 ; 背部を剪毛し, 約24時間後にその左上部に検体の75% (w/w)濃度ワセリン0.5 gを塗布して閉塞感作を行ない, 6時間後水道水で洗浄した。感作は週1回計3回実施した。陽性対照群にはDNCBの0.15% (w/v)濃度80%エタノール溶液を用いて同様に処理した。

惹 起 ; 最終感作の2週間後, 背部の右下部に検体の75% (w/w)濃度ワセリン0.5 gを塗布し, 無処理対照群にも同様に行なった。

陽性対照群には0.10% (w/v)アセトン溶液を用いた。

惹起の約22時間後, 適用部位に脱毛剤を塗布し, 30分後に水道水で洗浄した。

観察項目 ; 感作24時間後および惹起24, 48時間後に紅斑および浮腫の有無をDraize法に従い観察した。

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。

皮膚反応の評価

紅斑及び痂皮形成		浮腫の形成	
皮膚反応の程度	評点	皮膚反応の程度	評点
紅斑なし	0	浮腫なし	0
非常に軽度の紅斑	1	非常に軽度の浮腫	1
はっきりした紅斑	2	軽度浮腫	2
中等度ないし高度紅斑	3	中等度浮腫	3
高度紅斑からわずかな痂皮形成まで	4	高度浮腫	4

試験結果： 各観察時間における結果を下表に示す。

群	供試動物数	反応	観察時間 (時間)	感作反応動物数					陽性反応動物数	感作率 (%)
				皮膚反応評点						
				0	1	2	3	4		
検体感作群	10	紅斑・痂皮	24	9	1	0	0	0	0	0
			48	10	0	0	0	0	0	
		浮腫	24	10	0	0	0	0	0	
			48	10	0	0	0	0	0	
検体非感作群	10	紅斑・痂皮	24	8	2	0	0	0	0	0
			48	10	0	0	0	0	0	
		浮腫	24	10	0	0	0	0	0	
			48	10	0	0	0	0	0	
陽性物質 DNCB 感作群	4	紅斑・痂皮	24	0	2	2	0	0	10	100
			48	0	3	1	0	0	10	
		浮腫	24	4	0	0	0	0	10	
			48	4	0	0	0	0	10	

惹起24時間後において、検体投与群の雌1匹および対照群の雄2匹に非常に軽度な紅斑が認められた以外、各感作・惹起時とも異常は認められなかった。

一方、陽性対照群では各時期に非常に軽度～はっきりした紅斑が認められた。

以上の結果から、本試験条件下においてカルボスルファン3%粒剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。