

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2) イヌを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 No. T-9)

試験機関：株式会社バイオトクステック（韓国）

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検体純度：

供試動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時約 5～6 ヶ月齢

投与期間： 90 日間

雄：2007 年 6 月 21 日～2007 年 9 月 18 日

雌：2007 年 6 月 22 日～2007 年 9 月 19 日

投与方法： 検体をゼラチンカプセルに充填して、0、2、20 及び 200mg/kg の投与量で 90 日間投与した。対照群には空カプセルを同様の方法で投与した。投与量は各動物の最新の体重に基づいて算出した。

・用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果

①一般状態及び死亡率

全動物の一般状態を毎日 1 回以上観察し、生死を毎日午前及び午後の 2 回確認した。また、外観、体位、姿勢、運動協調性、環境刺激に対する反応、神経系及び自律神経系機能、探索活動の変化、排泄状態、常同行動、異常行動及び攻撃性等の詳細な状態観察を投与開始前、投与後 7、14、21、28、35、42、49、56、63、70、77、84 及び 89 日に実施した。

投与期間中に死亡はみられなかった。

一般状態観察では、検体に関連する変化として、20 及び 200mg/kg 投与群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

に検体が混入した黄色便が観察され、被毛の淡黄色～黄色の着色が 20mg/kg 投与群の 1 例及び 200mg/kg 投与群の全例にみられた。これら変化に毒性学的有意性はないものと考えられる。

その他の変化として、嘔吐（投与前及び投与後）、軟便、下痢及び粘性軟便が散見されたが、いずれも対照群を含む全群に認められたか、もしくは 1 回のみが発現であったことから検体に関連しないものと考えられた。

詳細な状態観察でも 20mg/kg 投与群の雌 1 例及び 200mg/kg 投与群全例に被毛の黄色着色が認められた。

これら一般状態及び詳細な状態観察において認められた変化を下表に示す。

項目	所見	投与量 (mg/kg)								
		雄				雌				
		0	2	20	200	0	2	20	200	
一般	嘔吐： 投与前	発現総日数	1	0	1	2	1-3	1-3	1	1-3
		異常動物数	1	0	2	1	2	3	1	2
	嘔吐： 投与後	発現総日数	0	0	0	1	0	0	0	1
		発現開始日	—	—	—	21	—	—	—	2
		異常動物数	0	0	0	1	0	0	0	3
	軟便	発現総日数	1-2	3	1-3	5-14	1-26	1-3	5-6	1-14
		発現開始日	—	13	8	4	—	14	1 ^{a)}	4
		異常動物数	3	1	2	3	3	3	3	4
	下痢	発現総日数	0	0	0	0	0	0	0	1
		発現開始日	—	—	—	—	—	—	—	88
		異常動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
	粘性軟便	発現総日数	0	0	0	0	0	0	0	1
		発現開始日	—	—	—	—	—	—	—	12
		異常動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
	黄色便	発現総日数	0	0	1-8	84-89	0	0	1	78-88
		異常動物数	0	0	3	4	0	0	1	4
被毛の淡黄色着色	発現総日数	0	0	0	3-5	0	0	9	4	
	異常動物数	0	0	0	4	0	0	1	4	
被毛の黄色着色	発現総日数	0	0	0	74-84	0	0	65	75-82	
	異常動物数	0	0	0	4	0	0	1	4	
詳細観察	被毛の淡黄色着色	発現した日	0	0	0	7-14	0	0	21	7-14
		異常動物数	0	0	0	2	0	0	1	2
	被毛の黄色着色	発現した日	0	0	0	7-89	0	0	28-89	14-89
		異常動物数	0	0	0	4	0	0	1	4

a)1 匹のみ

申請者注)

投与 1 日目にみられた影響としては、20mg/kg 投与群雌 1 匹で軟便がみられたのみで、その他の影響は全て投与 2 日目以降にみられた変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

②体重変化

全動物の体重を投与開始前日、投与後 1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 及び 90 日に測定した。また、剖検日に絶食後の体重も測定した。

いずれの投与群においても統計学的に有意な体重変化は認められなかったが、200mg/kg 投与群で低値がみられ、試験終了時の体重は雄で対照群より 5%及び雌で 16%減少した。顕著な体重減少は、特に雌 1 例で 11 週以降にみられ、この雌動物は、病理検査で腸粘膜下織の炎症がみられたことから、検体投与の影響と考えられた。

③摂餌量

全動物の摂餌量を投与開始前日、投与後 1、8、15、22、29、36、43、50、57、64、71、78、85 及び 90 日に測定した。摂餌量は、測定日前日に 1 日分の飼料を給餌し、翌日の残量を測定し、その差を 1 日分の摂餌量として算出した。

いずれの投与群においても統計学的に有意な影響は認められなかったが、200mg/kg 投与群の雌で減少傾向がみられ（試験終了時：対照群より 24%減少）、特に 1 例が 85 日及び 90 日の測定で顕著な減少を示した。この動物は、上述の顕著な体重減少が認められた個体であり、検体投与の影響と考えられた。

④血液学的検査

全動物について、投与開始前、投与 4 週及び 13 週に前腕橈側皮静脈から採血し、下記項目を検査した。採血前に 16 時間以上絶食させた。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数、網状赤血球数、白血球型別百分率、プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

項目	測定週	投与量 (mg/kg)					
		雄			雌		
		2	20	200	2	20	200
赤血球	4		↓84	↓83			
	13			↓79			
血色素量	4	↓93	↓83	↓86			
	13			↓81			
ヘマトクリット値	4		↓84	↓88			
	13			↓84			
網状赤血球	4		(227)	↑417		(187)	↑402*
	13		(245)	(427)		(187)	(336)
好酸球	13	↓43	↓41	↓37			

Dunnett の検定、*Mann-Whitney の検定 ↑ ↓ p<0.05、↑↓ p<0.01、

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

() 内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、参考値として記載した。

20 mg/kg 投与群雄で 4 週、200mg/kg 投与群雄で 4 週および 13 週に赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の有意な減少傾向が、20mg/kg 以上投与群雄で 4 および 13 週に網状赤血球の増加傾向(有意な変化は 200mg/kg 投与群の 4 週のみ) がみられた。これらの 20mg/kg 以上投与群雄においてみられた貧血傾向は検体投与の影響であると考えられる。

20 mg/kg 以上投与群雌でみられた網状赤血球の増加傾向(統計学的に有意な変化は 200mg/kg 投与群の 4 週のみ) および 2 mg/kg 投与群雄の 4 週における血色素量の低下については、その他の関連項目に変化がみられず、明らかな貧血傾向が認められないことから、毒性学的意義に乏しい変化であると考えられる。

また、全投与群雄にみられた好酸球の減少は、対照群の好酸球が増加したことに伴う変化であり、検体投与との関連性のない臨床学的意味に乏し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アグロカネショウ株式会社にある。

⑤血液生化学的検査

血液学的検査と同時に採血し、得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ -GTP)、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、グロブリン (α_1 、 α_2 、 β 、 γ)、A/G 比、総コレステロール、トリグリセリド、ブドウ糖、無機リン、カルシウム、カリウム、塩素、ナトリウム

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

項目	測定週	投与量 (mg/kg)					
		雄			雌		
		2	20	200	2	20	200
AST	13		(146)	(135)		(118)	(176)
ALT	13		(303)	(300)		(215)	(247)
総蛋白質	4			↑ 110			
	13			↑ 112			
アルブミン	投与前		↓ 91				
	4		↓ 91	↓ 92		↓ 92	↓ 93
	13		↓ 90*			↓ 90	
β グロブリン	4					↑ 111	
γ グロブリン	4			↑ 135			
	13					↑ 127*	
A/G 比	投与前		↓ 84				
	4		↓ 82	↓ 84		↓ 85	↓ 86
	13		↑ 82*			↓ 81	
総ビリルビン	4		↑ 413*	↑ 470*		↑ 403	↑ 273
	13		(140)	↑ 314			
総コレステロール	4			↑ 136			
トリグリセリド	4			↑ 213			(222)
	13			↑ 149			↑ 199*
ナトリウム	投与前	↑ 102					
	4	↑ 102					
リン	4		↑ 111	↑ 117			
	13			↑ 128			

Dunnett の検定、*Mann-Whitney の検定 ↑ ↓ p<0.05、↑ ↓ p<0.01

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

() 内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、参考値として記載した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

200mg/kg 投与群雄のビリルビン及びトリグリセリドが 4 及び 13 週間後の測定時に有意に増加し、雌でも 4 週間後にビリルビン及び 13 週間後にトリグリセリドが有意に増加した。ビリルビンの増加は、20mg/kg 投与群雌雄でも 4 週間後の測定時に認められた。ビリルビンの増加は、血清の黄色化と相関していたことから、この黄色化がビリルビンの吸光度計での測定反応過程に干渉したことによる見かけ上の高値であると考えられ、また、雄での赤血球数の減少は軽微であり、雌では認められなかったことから検体投与の影響ではないと考えられた。トリグリセリドの増加は検体の影響と考えられた。

その他の変化として、200mg/kg 投与群では 4 週後に雌雄ともアルブミン及び A/G 比の有意な減少、雄で γ -グロブリン及びコレステロールの有意な増加がみられ、4 及び 13 週間後に総蛋白の増加もみられた。20mg/kg 投与群では雌雄とも 4 及び 13 週間後の測定時にアルブミン及び A/G 比の有意な減少がみられたが、雄では投与前にも有意な減少がみられた。さらに雄では 4 週後の検査でリンの有意な増加、雌では 4 週間後に β -グロブリン及び 13 週間後に γ -グロブリンの有意な増加もみられた。2mg/kg 投与群雄では投与前及び 4 週間後にナトリウム量が有意な増加がみられた。これら変化は、対照群あるいは同一群で投与前の結果と比べて差が小さく、用量依存性も認められなかったことから、検体投与による変化ではないと考えられた。

2mg/kg 投与群雌では影響はみられなかった

⑥尿検査

全動物について、投与開始前、投与 4 週（雄は 26 日、雌は 25 日後）及び 13 週（雄は 86 日、雌は 85 日後）に自然排尿法で採取した。検査当日の投与前の午前に飼育ケージに採尿板を装着し、排尿後 3 時間以内の新鮮尿を 3mL 採取し、以下の項目を検査した。また 24 時間蓄尿も採取し、尿量及び比重を検査した。

尿の色調、尿沈渣、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血

いずれの投与群においても検体投与の影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑦眼科学的検査

全動物について、投与開始前及び投与 13 週に散瞳剤点眼後、肉眼及び検眼鏡を用いて検査した。

いずれの投与群においても検体投与に関連のある異常は認められなかった。

⑧臓器重量

全動物を対象として 16 時間以上絶食し、放血屠殺後、以下の臓器重量を測定し、対体重比（比重量）も算出した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、胸腺、心臓、肺、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

臓器		投与量 (mg/kg)					
		雄			雌		
		2	20	200	2	20	200
下垂体	絶対重量		↑ 133				
	比重量						
肺	絶対重量		↑ 113				
	比重量						
脾臓	絶対重量			(113)			↑ 156
	比重量			(119)			↑ 197*
腎臓	絶対重量						
	比重量			(127)			↑ 137

Dunnett の検定、*Mann-Whitney の検定 ↑ ↓ p<0.05

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。

200mg/kg 投与群では雌に脾臓の絶対及び比重量、腎臓の比重量の有意な増加がみられ、雄では増加傾向がみられた。これら変化は病理組織学的検査で器質的変化が認められなかったことから、投与との関連性は否定できないが、毒性学的有意性のない変化と推察された。

20mg/kg 投与群雄の下垂体及び肺の絶対重量の有意な増加がみられたが、200mg/kg 投与群では変化がみられなかったため、検体投与の影響ではないと考えられた。雌では変化はみられなかった。

2mg/kg 投与群では有意差は認められなかった。

⑨肉眼的病理検査

投与期間終了日の翌日に全動物について剖検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

検体投与に関連する変化として、200mg/kg 投与群雄 2 例及び雌 1 例、20mg/kg 投与群雌 2 例に空腸粘膜に黄色粘液性分泌物がみられ、200mg/kg 投与群の別の雌 1 例に空腸から直腸まで粘膜に黄色粘液性分泌物が認められた。これら変化は対照群及び 2mg/kg 群投与にはみられなかった。検体投与に起因するその他の変化は認められなかった。

⑩病理組織学的検査

全動物を対象として、以下の組織を摘出して固定し、常法に従って処理後、ヘマトキシリン・エオジン染色して検鏡した。

脳（大脳、小脳及び脳幹部）、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、心臓、気管、肺及び気管支、肝臓及び胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、精巣、精巣上体、前立腺、子宮、卵巣、乳腺、膀胱、膾、皮膚、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、脊髄（頸部、胸部及び腰部）、胸骨、大腿骨、骨格筋、坐骨神経、眼球及び視神経、大動脈、舌

肉眼的病理検査において空腸に異常が認められた 20 及び 200mg/kg 投与群の動物の空腸粘膜下織に細胞浸潤、空腸から直腸まで異常が認められた 200mg/kg 投与群雌 1 例では回腸から直腸まで粘膜下織に軽度の炎症が認められ、検体投与による影響と考えられた。対照群及び 2mg/kg 投与群には腸の変化はみられなかった。これら腸にみられた所見を下表に示す。その他の検体投与に関連する所見は認められなかった。

臓器	所見	程度	投与量 (mg/kg)							
			雄				雌			
			0	2	20	200	0	2	20	200
空腸	細胞浸潤	軽微	0	0	0	1	0	0	2	1
		軽度	0	0	0	1	0	0	0	1
		合計	0	0	0	2	0	0	2	2
回腸	炎症	軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
盲腸			0	0	0	0	0	0	0	1
結腸			0	0	0	0	0	0	0	1
直腸			0	0	0	0	0	0	0	1

以上の結果から、本剤のイヌに対する 90 日間カプセル投与による 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験における影響として、20 及び 200mg/kg 投与群の雄に赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値の減少、雌雄に網状赤血球数及

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

びトリグリセリドの増加がみられ、病理学的検査では、20mg/kg 投与群の雌及び 200mg/kg 投与群の雌雄に腸粘膜の黄色粘液性分泌物及び腸粘膜下織の細胞浸潤、200mg/kg 投与群の雌では腸粘膜の炎症も認められたので、無毒性量は雌雄とも 2 mg/kg/日と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

(7) 21日間反復経皮投与毒性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

(8) 90日間反復吸入毒性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性

1) ラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 No. T-10)

試験機関：株式会社 化合物安全性研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

検体純度：

供試動物：SD 系 Crj:CD(SD)IGS (ラット)、1 群雌雄各 10 匹、開始時 5 週齢

投与期間：4 週間 (雄：2003 年 8 月 28 日～2003 年 9 月 25 日、
雌：2003 年 8 月 29 日～2003 年 9 月 26 日)

投与方法：検体を 0、10、100 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、4 週間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 3～10 日に 1 回、計 4 回調製した。

・用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果

①死亡率

生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与量(ppm)		0	10	100	1000
死亡率 (%)	雄	0	0	0	0
	雌	0	0	0	0

②一般状態

全例について個々の動物の外観、行動等を、投与開始日を投与 1 日として起算し、投与 1 日から投与 29 日まで毎日の午前、午後の計 2 回観察した。ただし、投与 29 日は午前中に 1 回観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

いずれの投与群においても検体投与に関連した異常は認められなかった。検体投与に関連しない変化として、100ppm 群の雄 1 例で投与 19 日以降に左肩甲部に外傷・痲痺形成のみみられた。

③体重変化

全例について個々の動物の体重を、投与 1 (投与開始前)、4、7、10、14、21 及び 29 日の午前中に測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた体重変化を下表に示す。

性別	雄			雌		
	10	100	1000	10	100	1000
投与量(ppm)	10	100	1000	10	100	1000
検査時期\検査例数	10	10	10	10	10	10
投与 21 日			(97)			↓90
投与 29 日			(95)			↓86

Dunnett の検定法： ↓ $p<0.05$ 、↓ $p<0.01$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

()内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、参考値として記載した。

1000ppm 群の雌雄で投与 21 日以降軽度な体重増加抑制がみられ、雌のみ有意差が認められた。この変化は雌雄ともに認められ、摂餌量の低値との関連性から検体投与による影響である可能性が考えられた。

10 及び 100ppm 群では雌雄とも投与による影響は認められなかった。

④摂餌量

全例について個々の動物の摂餌量を、投与 1 (投与開始前)、7、10、14、21 及び 29 日の午前中に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた摂餌量を下表に示す。

性別	雄			雌		
	10	100	1000	10	100	1000
投与量(ppm)	10	100	1000	10	100	1000
検査時期\検査例数	10	10	10	10	10	10
投与 1 日(投与前値)					↑110	
投与 7 日			(93)			↓88
投与 14 日			(94)			(91)
投与 21 日			(93)			(89)
投与 29 日			(92)			↓86

Dunnett の検定法： ↑ ↓ p<0.05、▲ ▼ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

() 内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、参考値として記載した。

1000ppm 投与群の雌雄では投与 7 日以降有意な低値あるいは低値傾向が継続して認められた。

この低値は検体に対する忌避に起因する可能性も考えられたが、摂餌量の低値傾向が継続し、投与期間の後半に体重増加抑制が認められたことから検体投与による影響である可能性が考えられた。

10 及び 100ppm 投与群では雌雄とも投与による影響は認められなかった。

⑤ 検体摂取量

投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	100	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.86	8.47	84.10
	雌	0.88	9.04	84.51

⑥ 詳細な状態観察

全例について、投与開始前、投与 7、14、21 及び 28 日に以下の項目の測定を行った。

ケージ外から [姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦・痙攣、常同行動 (回転・旋回)、異常行動 (自傷)]

ケージから取り出す時 [取り出し易さ、扱い易さ、筋緊張、立毛、被毛の状態、皮膚、眼球突出、瞳孔径、可視粘膜、流涙、流涎、体温]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

オープンフィールド内〔痙攣、歩行、覚醒状態、排尿、排糞、常同行動（毛繕い・匂い嗅ぎ）、異常行動（後方突進・発声）、呼吸〕

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目はなかった。

⑦機能検査

全例について、投与開始前及び投与 4 週（投与 28 日）に、以下の機能検査及び測定を行った。

視覚（接近反応）、触覚（接触反応）、聴覚（音に対する反応）、痛覚（尾根部を挟む）、固有受容反応（強制姿勢からの復帰）、空中正向反射、握力、後肢の開脚幅、自発運動量

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目はなかった。

⑧眼科学的検査

投与開始前は全例、投与 4 週は対照群及び高用量群の全例（雌雄各 10 例/群）について散瞳させ、個々の動物の両眼の前眼部及び中間透光体をスリットランプを使用して観察し、同様に、眼底カメラを使用して両眼底を観察した。

1000ppm 群の雌雄ともに両眼の前眼部、中間透光体及び眼底のいずれにも異常は認められなかったため、10 及び 100ppm 群の検査は実施しなかった。

⑨血液学的検査

投与 29 日に、非絶食条件でラットをエーテル麻酔し、灌流固定に用いなかった各群の雌雄各 5 例について腹部大静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、網赤血球数、血小板数、白血球数、白血球百分比

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	10	100	1000	10	100	1000
投与量(ppm)						
検査時期 (週)	4	4	4	4	4	4
赤血球数			(95)			
ヘマトクリット値			↓89	↑104	↑105	(97)
ヘモグロビン量			↓88	↑104	↑105	↓96
平均赤血球容積			↓93			
平均赤血球ヘモグロビン量			↓93			
血小板数			(116)			↑117
網赤血球数			(140)			↑126

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

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

()内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、参考値として記載した。

1000ppm 投与群の雌雄にヘモグロビン量の有意な低値及び血小板と網赤血球数の有意な高値あるいは高値傾向がみられ、雄ではさらに赤血球数、ヘマトクリット値、平均赤血球容積あるいは平均赤血球ヘモグロビン量の有意な低値あるいは低値傾向が認められた。これらの変化は、血小板と網赤血球数の高値を伴ったことから、検体投与に関連した貧血傾向あるいは造血等の反応性の変化である可能性が考えられた。

10 及び 100ppm 投与群では雌にヘマトクリット値及びヘモグロビン量の有意な高値がみられたが、1000ppm 投与群ではいずれの項目も有意な低値あるいは低値傾向を示し、また雄では認められなかったことから、検体投与との関連性はないと考えられた。

⑩肉眼的病理検査

投与 29 日に全動物について剖検した。なお、各群 5 例について、ペントバルビタールナトリウムによる深麻酔下にて心臓全身灌流固定を行った。各群の残りの 5 例について、エーテル麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。

10ppm 投与群の雄 1 例に肝臓の尾状葉乳頭突起の暗赤色腫瘍、100ppm 投与群の雄 1 例に左肩甲部皮膚の痂痂、同群の雌 1 例に左腋窩部皮下の黄白色腫瘍が認められたが、いずれも自然発生性あるいは偶発性の変化と考えられ、検体投与に関連する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アグロカネショウ株式会社にある。

⑪臓器重量

投与 29 日に灌流固定に用いなかった各群の雌雄各 5 例について、以下の臓器の絶対重量を測定した。

なお臓器の絶対重量と剖検日に測定した体重から比重量（対体重比）を算出した。

脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、下垂体、胸腺、甲状腺、精巣、精巣上体、卵巣

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量(ppm)		10	100	1000	10	100	1000
臓器名\検査動物数		5	5	5	5	5	5
最終体重 (g)						(92)	↓ 85
肝臓	絶対重量			↑133			(116)
	比重量			↑136			↑136
腎臓	絶対重量			(113)		(101)	(103)
	比重量			↑ 117		↑ 109	↑120
脳	絶対重量						↓ 93
	比重量						

Dunnett の検定法： ↑ ↓ p<0.05、↑↓ p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

()内の数値は、統計学的有意差は認められなかったが、参考値として記載した。

100ppm 投与群雌で腎比重量に有意な高値が認められたが絶対重量には変化がなく、体重の低値を反映したものであり、毒性学的意義はないと考えられた。

1000ppm 投与群では、雌雄の肝臓及び腎臓で絶対・比重量の有意な高値や高値傾向が認められ、この変化は検体投与による影響と考えられた。

一方、1000ppm 投与群の雌でみられた脳の絶対重量の有意な低値は体重の低値を反映したものであり、検体投与との関連はないと考えられた。

⑫病理組織学的検査

各投与群の灌流固定実施動物の全例について、以下の全臓器・組織をパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製して標本作製を行い、対照群及び高用量群について鏡検した。高用量群に異常が認められなかったため、低・中用量群の検査は実施しなかった。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経及び網膜を含む眼球、脊髄の頸膨大及び腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

及び後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（腓腹筋）

1000ppm 投与群の雌雄ともに中枢神経系・末梢神経いずれにおいても、浮腫や空胞変性、退行性変性等は認められず、検体投与による神経系に対する毒性変化はまったく認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する 28 日間飼料混入投与による神経毒性試験における影響として、1000ppm 投与群の雌雄の体重に増加抑制あるいは抑制傾向、摂餌量に低値あるいは低値傾向、血液学的検査で貧血傾向、肝臓と腎臓の絶対・比重量の高値が認められた。

しかし、これらの毒性が発現している 1000ppm 投与群においても、詳細な状態観察、機能検査及び病理組織学的検査で雌雄ともに検体投与による神経系に対する毒性変化はまったく認められなかった。

したがって、本試験条件下における神経毒性に関する無影響量は雌雄とも最高投与量の 1000ppm（雄で 84.10mg/kg/日、雌で 84.51mg/kg/日）であり、一般毒性に関する無毒性量は、雌雄ともに 100ppm（雄で 8.47mg/kg/日、雌で 9.04mg/kg/日）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アグロカネショウ株式会社にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

(11) 2年間反復経口投与毒性及び発がん性

1)ラットを用いた2年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 No. T-11)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年月日：1966年8月2日

検体純度：

試験動物：FB30系ラット、28～32日齢（♂49g、♀48g）

1群雌雄各50匹（対照群各100匹）

試験期間：2年間

投与方法：検体を粉末飼料中に0（対照群）、10、25、60、150及び500ppmの濃度で2年間投与した。

試験項目及び結果

①一般症状：

毎日動物の一般症状を観察した。

25ppmまでは何らの変化も認められなかったが60ppm群では、数匹に四肢の黄染、150ppm以上では、用量に応じたやや強い黄染を認めた。

②飼料摂取量と検体摂取量：

週に1回飼料摂取量を測定した。

500ppm群の雌においてのみ対照群に比較して有意な低下を示した。

投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量(ppm)		10	25	60	150	500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.51	1.35	3.00	7.95	27.7
	雌	0.65	1.95	3.82	10.0	34.6

※動物当たりの平均検体摂取量（mg/動物/日）と試験終了時の平均体重から申請者が算出した参考値

③体重増加：

試験開始6ヵ月後までは毎週、その後は2週間隔で体重を測定した。150ppm群までは、対照群と差はなく、むしろ増加傾向を示したが、500ppm群雌雄では、体重増加量が低下し、試験終了時にはこの群雌で有意な低下を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

④生存率：

2年間投与した時の生存数は以下のとおりであった。

投与群 ppm	雄の生存数	生存率%	雌の生存数	生存率%
0	42	42	54	54
10	19	38	24	48
25	22	44	25	50
60	14	28	23	46
150	15	30	17	34
500	20	40	26	52

最高投与の 500ppm 投与群雌雄では、対照群と比較して死亡率の増加は認められなかった。60ppm 投与群雄と 150ppm 投与群雌雄では対照群より低かった。

⑤血液学的検査：

試験終了2週間前にヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、白血球分画を測定した。全ての測定項目とも対照群に比し有意な差は認められなかった。

⑥尿検査：

試験終了時に尿蛋白、糖、胆汁色素、尿沈渣を測定した。
全ての測定項目とも対照群に比し有意な差は認められなかった。

⑦剖検及び臓器重量：

試験中に死亡した動物と終了時に屠殺した動物の剖検を行ない、屠殺動物については、心、肝、脾、腎、副腎、精巣、甲状腺の絶対重量を測定した。

試験中に死亡した動物は、肺炎や感染症によるものが主であり、検体に起因する変化は認められなかった。屠殺動物でも検体に起因すると思われる肉眼的な変化は認められなかった。

各々の動物の下垂体については、50mg 以上のものを腫大と判定しその数を対照群と比較したが、検体に起因する変化は認められなかった。

臓器絶対重量では 150ppm 投与群と 500ppm 投与群の各雄で甲状腺絶対重量が有意に増加し、雌では 25ppm 投与群と 60ppm 投与群で増加した。又肝では全投与群において絶対重量が有意に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表：肝と甲状腺の絶対重量 単位 (g)

投与群 ppm	肝臓		甲状腺	
	雄	雌	雄	雌
0	11.418	9.557	0.042	0.031
10	14.595*	12.196*	0.044	0.031
25	13.962*	10.561	0.047	0.053*
60	15.583*	11.715*	0.046	0.037*
150	14.133*	11.927*	0.053*	0.034
500	14.825*	11.451*	0.048*	0.036

* : P < 0.05 検定法は不明

⑧組織学的検査：

途中死亡動物及び屠殺動物の肝、腎、副腎、心、肺、精巣、卵巣、子宮、脾、甲状腺、胃、小腸、大腸、脳幹、小脳、延髄、下垂体及び腫瘍の疑いのある組織を検査した。

[非腫瘍性病変]

500ppm 投与群では肝臓の空胞化を伴う細胞腫大、胆管増殖、壊死の有意な増加、腎臓の尿細管腫大の有意な増加、精巣における精子形成の有意な減少、150ppm 投与群では空胞化を伴う細胞腫大の有意な増加がみられ、これらの変化は検体投与の影響であると考えられる。

その他の変化は、対照群と比較して有意差はなく、検体投与とは関連の無い偶発的な変化であると考えられた。

[腫瘍性病変]

腫瘍の発生については検体投与に起因する増加は認められなかった。

表：腫瘍発生動物数

投与群 ppm	動物数	腫瘍数	%	良性腫瘍数	%	悪性腫瘍数	%
0	200	30	15	19	9.5	11	5.5
10	100	13	13	5	5	8	8
25	100	17	17	4	4	13	13
60	100	12	12	7	7	5	5
150	100	13	13	3	3	10	10
500	100	12	12	5	5	7	7

プロビット分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

従って 500ppm 投与群では飼料摂取量の減少（雌）、体重増加量の抑制、150ppm 及び 500ppm 投与群雄で甲状腺絶対重量の増加があり、肝絶対重量は全投与群で増加した。組織学的には、150ppm 以上の肝、腎、精巣に変化が認められ、特に 500ppm では明らかであった。いずれの群でも発がん性作用は認められなかった。

雌雄の肝絶対重量が全投与群において有意に増加しており、本試験から無毒性量は求められなかったため、追加試験（資料 No. T-12）を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

検査 時期	投与群		対照	10ppm	25ppm	60ppm	150ppm	500ppm
	臓器	所見						
全 動 物	肝 臓	細胞質の腫大・空胞化	1/73	3/35	1/39	1/14	4/23 ↑	19/38 ↑
		単一の壊死	0/73	0/35	0/39	0/14	0/23	4/38 ↑
		脂肪変性	7/72	1/29	4/33	0/14	1/17	2/38
		胆管増殖	0/73	2/35	0/39	0/14	0/23	6/38 ↑
	腎 臓	尿細管腫大	8/73	11/35	6/39	0/14	2/22	12/38 ↑
		尿細管脂肪変性	5/73	1/29	1/32	0/14	0/16	0/38
	肺	出血	28/72	12/33	18/36	6/14	13/23	11/38
		水腫	8/72	1/33	6/36	0/14	2/23	3/38
	脾	線維化	32/73	11/35	14/38	9/14	11/23	17/37
		細網細胞過形成	5/73	4/35	2/38	1/14	2/23	0/37
	甲状腺	上皮細胞過形成	24/69	9/32	14/36	8/12	7/23	18/38
	精 巢	精子形成の減少	7/31	2/15	2/19	0/6	5/13	13/17 ↑
	卵 巢	線維化	8/37	1/17	4/20	1/8	1/10	5/19
		萎 縮	2/37	0/17	1/20	0/8	3/10	1/19

対照群と各用量群との比較; Fisher exact test (↑ ↓ : p<0.05 ↑↓ : p<0.01 ↑↓ : p<0.001)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2) キノメチオネートのラットにおける2年間反復経口投与毒性試験 (資料 No.T-12)

試験機関：バイエル社毒性研究所 (ドイツ)
ハンチントン研究所 (病理) (英国)
報告書作成年：1971年

検体純度：工業用原体

試験動物：ウイスター系ラット、約28～32週齢 (45～55g)
1群雌雄30匹 (対照群は60匹)

試験方法：検体をラット粉末飼料中に、0、3、6及び12ppmの濃度で添加し、2年間投与した。

試験目的：本試験は以前に行った慢性毒性試験で、飼料中に10、25、60、150及び500ppmのキノメチオネートをラットに給餌させたとき (資料 No.T-11)、肝の臓器重量に用量に依存しない増加が認められた。この結果について追跡調査をする為により低濃度を投与して再度試験を行った。

試験項目及び試験結果：

①一般症状：

試験期間中12ppmまでの検体の投与により、一般症状、行動に何らの変化も認められなかった。

②飼料及び検体摂取量：

飼料摂取量は週に1回測定したが、12ppmまでの検体投与により薬量に依存した有意な変化は認められなかった。

投与量 (ppm)	飼料摂取量 (g/動物/日)		検体摂取量 (mg/kg/日)	
	雄	雌	雄	雌
0	19.60	15.94	—	—
3	19.84	15.59	0.15	0.18
6	20.27	15.89	0.30	0.33
12	20.01	15.76	0.60	0.70

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

③体重：

試験開始5月間は週毎に、6月以後は2週間隔で測定した。体重増加量に対する検体投与の影響は認められなかった。

④死亡率：

試験期間中の死亡率は以下に示す通りで、死亡率に薬量に依存した増加は認められなかった。

投与量 (ppm)	雄		雌	
	1年後	2年後	1年後	2年後
0	0/60	19/60	1/60	17/60
3	2/30	6/30	0/30	4/30
6	2/29	8/29	0/30	5/30
12	1/30	9/30	1/30	6/30

⑤血液学的検査：

試験終了時に1群雌雄各10匹について、眼窩静脈叢より採血しHb量、Ht値、赤血球数、網状赤血球数、平均血球色素量(MCH)、平均血球容積(MCV)、白血球数、血小板数、プロトロンビン時間、白血球分画について測定した。いずれの項目にも投与群と対照群との間に差は認められなかった。

⑥肝機能検査：

試験終了時に1群雌雄各10匹について、眼窩静脈叢より採血した血液を用いて、ALP、GOT、GPT、総蛋白及びビリルビンを測定した。いずれの項目にも投与群と対照群との間に差は認められなかった。

⑦尿検査と腎機能検査：

試験終了時に1群雌雄各10匹について尿を採取し蛋白、糖、潜血、胆汁色素、沈渣を測定した。腎機能検査の為に、眼窩静脈叢より採血した血液を用いて尿素窒素とクレアチニンを測定した。いずれの項目にも投与群と対照群との間に差は認められなかった。

⑧血糖及びコレステロールの測定：

試験終了時に1群雌雄10匹を用いて眼窩静脈叢より採血し血糖とコレステロールを測定した。両項目とも投与群と対照群間に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アグロカネシヨウ株式会社にある。

⑨剖検及び臓器重量：

試験中に死亡した動物と試験終了時に屠殺した全動物を肉眼的に検査し、屠殺動物の甲状腺、心、肺、肝、脾、腎、副腎及び性腺重量を測定した。

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		3	6	12	3	6	12
心	絶対重量				↓93		
	比重量						
副腎	絶対重量	↓86					
	比重量	↓79					
精巣	絶対重量		↓89				
	比重量		↓84				

Wilcoxon の検定 ↑ ↓ : P < 0.05 ⬆ ⬇ : P < 0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

剖検所見及び臓器重量（絶対及び比重量）共に検体投与に起因すると思われる所見は全く認められなかった。臓器重量では低用量群の心、副腎、精巣で有意な低値がみられたが、用量相関が認められず偶発的な変化であった。

⑩病理組織学的検査：

各動物の以下の臓器と異常部位について組織学的検査を行った。

副腎、腎、脾、骨、肝、胃、脳、肺、精巣、頸部、卵巣、甲状腺、精巣上体、下垂体、膀胱、心、骨格筋、子宮、腸。

その結果、検体に起因する組織学的変化はなく、腫瘍の頻度、分布も対照群と同様であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

表：非腫瘍性病変

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量(ppm)		0	3	6	12	0	3	6	12
全動物(死亡・切迫屠殺動物+第104週)	臓器	所見/検査動物数	60	30	30	30	60	30	30	30
	副腎皮質	小膿瘍							1	
	腎	皮質嚢胞	2							
	肺	異物肉芽腫	1							
		心膜小出血	1							
	精巣	動脈枝部内側変性			1					
	子宮	ポリープ					1			
		水腫					1			
	血管	閉塞性動脈内膜炎			1					
		動脈周囲炎	1							
	下垂体	増生部	1							
		空胞細胞	1							
	心臓	心室石灰化軟骨巣			1					
		心内膜下軟骨状巣	2							
		皮膜下梗塞			1					
脾臓	髓外造血巣					4				
上皮小体	過形成			1						

数値は当該所見がみられた動物数 統計検定は未実施

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

[腫瘍性病変]

表：腫瘍発生匹数

投与群	性	0ppm	3ppm	6ppm	12ppm
腫瘍分析：	雄	4/60	3/30	4/30	1/30
発生動物数/供試験動物数	雌	10/60	5/30	2/30	5/30

表：腫瘍性病変

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	3	6	12	0	3	6	12
臓器	所見\検査動物数	60	30	30	30	60	30	30	30
副腎	腺腫	2							
腎	腹部腫瘍(未分化)				1				
胃噴門	扁平上皮パピローマ						1		
肝臓	肝細胞腫	1							
	腹部腫瘍(未分化)				1				
甲状腺	小胞細胞腺腫		1	1		1			
	濾胞腺腫		1						
乳腺	腺維腺腫					4	2	2	
精巣	間細胞腫	2	1						
	腹部腫瘍(未分化)				1				
胆管	腺維腺腫					1			
腹部	腺癌					1			
	腺維肉腫						1		
	リンパ腫					1			
リンパ	リンパ腫					1			
	びまん性リンパ腫								1
網内系	細胞肉腫					1			
皮膚	腺維肉腫					1			
下垂体	腺腫			3			1		3
子宮	腺癌						1		
縦隔洞	網内系細胞肉腫								1
肺	腹部腫瘍(未分化)				1				

※数値は当該所見がみられた動物数 統計検定未実施

結論：

T-11 の慢性毒性試験 (10、25、60、150 及び 500ppm) では、用量に依存しない肝重量の増加が認められ、組織学的には 150ppm 以上の肝に空胞化を伴う細胞腫大、500ppm で胆管増生、壊死の増加があった。今回、12ppm 以下で試験を行ったところ上記のような肝に対する変化は認められなかった。

申請者注) したがって、T-11 において認められた用量相関性に乏しい肝重量の増加は偶発的な変化と考えられ、当該試験 (T-11) における無毒性量は 60 ppm (雄: 3.00 mg/kg/日、雌: 3.82mg/kg/日) 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アグロカネショウ株式会社にある。

3) キノメチオネートのラットにおける発がん性試験 (資料 No.T-13)

試験機関：バイエル社毒性研究所 (ドイツ)

報告書作成年：1970年

検体純度：

試験動物：Wistar系ラット、100日齢、1群雌雄各25匹

試験期間：660日間

投与方法：雌雄各25匹のラットに100mg/kgの検体を390日までは週に5日、以後は毎日飼料に混ぜて660日間投与した(3日毎に調製した下記飼料*を1日当たり140g/kg体重と、他にリンゴ、ニンジン50gを給与)。試験中の投与検体総量は16.7g/kgであった。

対照群は2群もうけ、1群の対照群には、1週間に1回生理食塩水5ml/kgを皮下注射した(試験期間中の投与総量170ml/kg)。もう1群には、生理食塩水を1週間に1回静脈注射した(試験期間中の投与総量150ml/kg)。

観察は全ラットが自然死するまで観察した。

*3日毎に以下の飼料調製を行った。

アルトロミン粉末飼料	4.2kg
糖	100g
スキムミルク	100g
キノメチオネート	3.2g
他(栄養剤)	100g

平均検体摂取量：雌雄；25.3mg/kg/日*

* 試験期間中の検体総投与量16.7g/kgを試験期間660日で除した結果。

試験項目及び試験結果

①生存日数：

キノメチオネート処理群雄の平均推定寿命は980日、雌は1130日であった。雌雄平均すると1055日であった。一方、対照群の生理食塩水の皮下注射群では1007日、静脈注射群では1038日であり、投与群の生存日数が長かった。

②腫瘍発生：

キノメチオネート投与群の悪性腫瘍発生数は、動物数及び腫瘍総数共に生理食塩水の皮下注射対照群より少なかった。しかし良性腫瘍の数は増加した。生理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

食塩水を静注した場合は、皮下注射の場合とほぼ同数の悪性腫瘍発生数であったが、良性腫瘍は約 2 倍の発生を示し、検体投与群と同様の結果であった。

表：腫瘍発生所見

投与群	動物数	悪性腫瘍を持つ動物数	悪性腫瘍総数	良性腫瘍を持つ動物数	良性腫瘍総数
キノメチオネート	50	11	12	22	36
対照群（生理食塩水皮下注射）	50	13	16	10	15

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表：腫瘍性病変

性別		雄		雌	
投与物質		検体	生理食塩水	検体	生理食塩水
投与量(ppm)		100	5	100	5
発生部位	所見\検査動物数	25	25	25	25
後頭部	紡錘形細胞肉腫	1			
頭部皮下	肉腫		1		
脳	多形細胞性癌		1		
頬	巨大細胞含む紡錘形細胞肉腫			1	
肺	腺様癌		1		
	巨大細胞の癌				1
リンパ	肉腫	1			
リンパ節	腺腫	1			
	硝子質線維症	1			
腸	細網細胞肉腫	1			
胸腺	胸腺腫	1	1	1	
	肉腫				1
	線維腺腫				1
副腎	腺腫	4		1	
皮膚	角質化した扁平上皮癌	2			
	扁平上皮癌	1			
	癌		1		
甲状腺	腺腫	2			
	小栓状腺腫			1	
	小胞状腺腫			1	
	腺様癌				1
胆管	ヘパトーマ	1			
精索	線維血管腫	1			
乳腺	線維腫	3		4	
	線維腺腫			9	12
	腺様線維腫			1	
	腺様癌				2
	扁平上皮癌			1	
	癌性肉腫			1	
	癌性腫瘍含む繊維脂肪腫				1
嚢腫性線維腺腫				1	
陰茎	リンパ肉腫	1			
膣	リンパ血管腫			1	
子宮	線維腫			1	
	粘液腫			1	
	ポリープ			3	
	腺様癌				2
	線癌				1
膀胱	癌			1	
卵巣	癌				1
骨髄	白血病				1
耳介	角質化した扁平上皮癌				1

※数値は当該所見がみられた動物数 統計検定未実施

以上の結果から、キノメチオナートを長期間にわたって、25.3mg/kg/日を投与した結果、雄において副腎および甲状腺に腺腫、乳腺に腺維腫がみられ、雌においては乳腺の腺維腫および子宮にポリープがみられたが、発がん性はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

4) キノメチオネートの NMRI マウスを用いた発がん性試験

(資料 No. T-14)

試験機関：バイエル社毒性研究所（ドイツ）

報告書作成年：1988 年

検体純度：

試験動物：NMRI 系マウス、1 群雌雄各 70（このうち各 20 匹を副群として使用）
約 4 週齢（雄 23.6g、雌 20.7g）

試験期間：21 ヶ月間投与（1981 年 10 月 1 日～1983 年 6 月 30 日）

試験方法：検体を 0、90、270 及び 800ppm の濃度になるよう 1%ピーナツオイル添加の粉末飼料に混合し 21 ヶ月間動物に投与した。12 ヶ月経過後に副群各 20 匹を屠殺し剖検した

飼料中の検体濃度は 3 ヶ月間隔で測定し、検体の均質性と安定性も確認した。

用量設定根拠；

試験項目と結果

①一般状態：

少なくとも 1 日 2 回一般状態を観察し（週末と休日は 1 回）、1 週間に 1 回更に詳しい観察を個体毎に行った。800ppm 群まで外観や行動に異常は認められなかった。

②死亡率：

以下表に死亡率を示したが、死亡直前の動物は、一般状態の低下を示した。270ppm 以上の雄では対照群より有意に低い死亡率であったが、雌では有意に高かった。副群では、52 週の間屠殺時まで 90ppm 群と 800ppm 群の各々雌 1 匹と 270ppm 群の雌 2 匹が死亡した。

申請者註） 270ppm 以上投与群雌での死亡率の有意な高値は、試料摂取量及び体重に変化が無いことから、検体投与の影響とは考えられない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

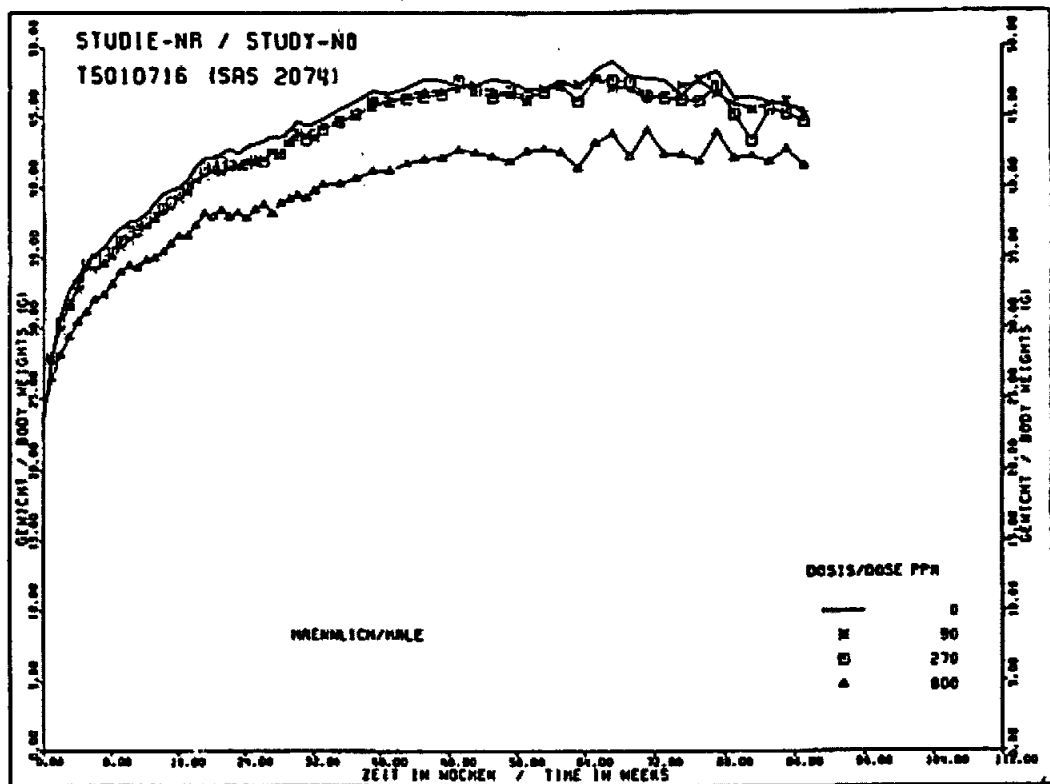
表：累積死亡動物数

投与量 ppm	0	90	270	800	0	90	270	800
性	雄				雌			
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
1～13週	0	0	0	0	0	0	0	0
1～26週	1	0	0	0	0	0	0	0
1～39週	1	0	0	0	2	0	5	4
1～52週	2	0	0	0	3	7	11*	11*
1～65週	7	2	0*	0*	8	11	18*	16
1～78週	12	9	0**	2**	16	21	29*	31*
1～89週	16	15	5**	5**	22	30	34	38**

Wilcoxon の検定 * P < 0.05 ** P < 0.01

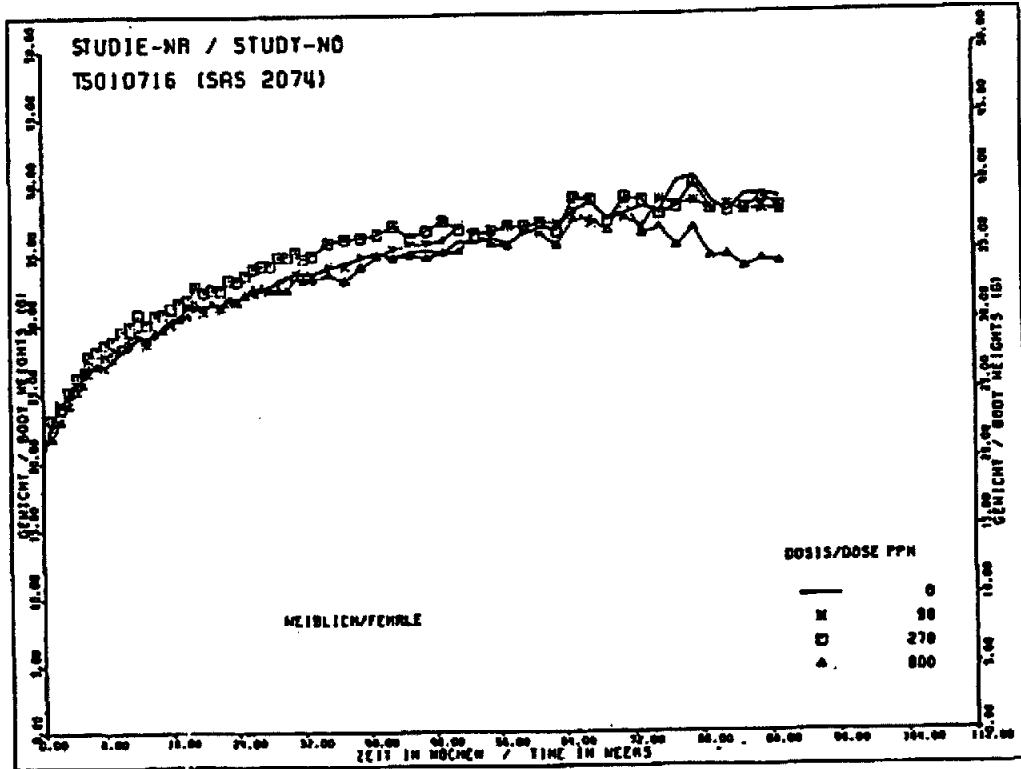
③体 重

雄ラットの結果



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

雌ラットの結果



試験開始前及び 34 週目までは週に 1 回、その後は 2 週間隔で測定した。800ppm 群の雄では著しく（約 10%）、雌では試験終了前の短期間、対照群に比し有意な低下を認めた。270ppm 群までは対照群と差はなかった。

④飼料摂取量と検体摂取量

試験開始 20 週目までは週に 1 回、以後 2 週間隔で飼料摂取量を測定した。各群とも対照群と同様の飼料を摂取した。検体摂取量は以下表に示すとおりであった。

投与群	(mg/kg/日)	
	雄	雌
0 ppm	—	—
90	16.12	21.20
270	47.81	59.35
800	152.67	187.57

⑤血液学的検査

52 週時の副群のうち雌雄各 10 匹と試験終了時に主群の中から各 10 匹を選抜し眼窩静脈叢より採血し、白血球分画、赤血球の形態、白血球数、網状赤血

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

球数、赤血球数、Hb量、MCV、ヘマトクリット値、MCH、MCHC、血小板数を測定した。

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性	試験群 (ppm)	白血球数		網赤血球		赤血球数		Hb		MCV		HCT	
		①	②	①	②	①	②	①	②	①	②	①	②
雄	90					92		109		104	96	108	
	270					94		95			93		
	800	62				88		89			91		
雌	90		79		130								
	270												
	800			176	265					104	104		

性	試験群 (ppm)	MCH		MCHC		白血球分画	
		①	②	①	②	①	②
雄	90	104	104			SEGM: 146	LYM: 90
	270		109	101	103		
	800				103	EOSIN: 58 LYM: 91	SEGM: 153
雌	90					SEGM: 54	LYM: 123
	270						
	800		108	96		SEGM: 55	LYM: 122

① 52 週後の検査 ② 試験終了時の検査

Mann/Whitney の U 検定 下線なし P < 0.05 下線あり P < 0.01

SEGM: 分節好中球 LYM: リンパ球 EOSIN: 好酸球

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。

800ppm 群では貧血の徴候を現わし、赤血球数、ヘモグロビン量の減少 (約 10%、いずれも雄)、網状赤血球数の増加 (165%、雌) を認めた。

その他にも各投与量で有意な変化がいくつか認められたが、測定時や雌雄間に共通したものではなく、ほとんどが下記の背景データと比較した時、生理学的変動の範囲にあった。

又、用量相関性もなく検体に起因するものではなかった。

※背景データ

白血球数 (雄 1.8~9.8、雌 0.4~10.7×10³/mL) 網状赤血球 (雄 8~54、0~67%)

赤血球数 (雄 6.93~9.79、雌 6.33~9.61×10⁶/mL)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

ヘモグロビン (雄 120~171、雌 114~171g/L)

MCV (雄 47~59、雌 48~60 fL)

HCT (雄 36~56、雌 35~51%)

MCH (雄 15.5~19.2、雌 15.4~20.2 fL)

MCHC (雄 305~359、雌 306~366 g/L)

EOSIN (雄 3~10、雌 3~8%)

LYM (雄 49~93、雌 53~98%)

MONO (雄 0~1、雌 0~1%)

SEGM (雄 4~46、雌 6~43%)

STAB (雄 0~1、雌 0~1%)

⑥血液生化学的検査

血液学的検査と同様にして同時期に、アルカリホスファターゼ、GOT、GPT、ビリルビン、総蛋白、尿素窒素、クレアチニン、コレステロール、血糖を測定した。

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性	試験群 (ppm)	ALP		GOT		GPT		BILI		蛋白		尿素窒素		CREA		CHOL		血糖	
		①	②	①	②	①	②	①	②	①	②	①	②	①	②	①	②	①	②
雄	0																		
	90							146											
	270											117		119	78				114
	800					64				95				115	<u>76</u>				
雌	0																		
	90																<u>70</u>		
	270											121				72		88	
	800							122				<u>147</u>		134					

① 52 週後の検査 ② 試験終了時の検査 * 対照群に対する割合

Mann/Whitney の U 検定 下線なし P < 0.05 下線あり P < 0.01

試験終了時の検査で 270ppm 雄と 800ppm の雄雌でクレアチニンの増加、270ppm 以上の雌で尿素窒素の増加が認められたが、その他の検査項目には特記すべき所見は認められなかった。

申請者註) 270ppm 以上投与群雌の尿素窒素の高値は、用量相関がみられることから検体投与の影響と考えられる。

⑦途中死亡動物と 52 週時の中間屠殺及び試験終了時の剖検

途中死亡動物は剖検し、52 週時には 1 群雌雄各 20 匹を麻酔下で中間屠殺し、試験終了時には全生存動物を麻酔下で屠殺し剖検した。

死亡動物の剖検では、270ppm と 800ppm 群の雌で腎の色調と表面構造の変化がみられた。中間屠殺時には、全群の雌の脾で軽度の腫大が認められたが、終了時の屠殺では特記すべき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アグロカネショウ株式会社にある。

⑧臓器重量

52 週時の中間屠殺動物と終了時の屠殺動物を対象として以下の臓器重量を測定し、比重量（対体重比）も算出した。

脳、甲状腺、副腎、心、腎、肝、肺、卵巣、脾、精巣
 対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性別		雄						雌					
検査時期（週）		52 週			91 週			52 週			91 週		
投与量（ppm）		90	270	800	90	270	800	90	270	800	90	270	800
体 重				↓89			↓93						
脳	絶対重量					↑103							
	比重量			↑114			↑108						
甲状腺	絶対重量								↑122				
	比重量												
副腎	絶対重量												
	比重量	↑126	↑115	↑114									
心	絶対重量			↓87						↑112			
	比重量									↑110			↑112
肝	絶対重量			↓88					↑125				
	比重量								↑116	↑112			
肺	絶対重量		↑114										
	比重量		↑118	↑120									↑121
脾	絶対重量							↑167	↑171	↑192	↑130	↑141	
	比重量		↑122	↑124				↑159	↑159	↑195	↑128	↑136	↑170
腎	絶対重量							↑115	↑120				
	比重量			↑119			↑108	↑109		↑110			
精巣	絶対重量												
	比重量			↑112			↑116						
卵巣	絶対重量												
	比重量												

Mann/Whitney の U 検定 ↑↓：P<0.05 ↑↓：P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

90ppm 以上投与群雌で脾絶対重量及び比重量が有意に増加し、用量依存性もみられることから検体投与の影響と考えられる。しかしながら、血液学的及び病理組織学的な所見に変化がみられないことから、毒性学的意義はないと考えられる。

800ppm 投与群では、52 週時の雌雄、試験終了時の雄で腎比重量が有意に増

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

加し、検体投与の影響と考えられる。

その他にも統計学的有意差の認められた項目もあったが、いずれも用量相関性に乏しく、検体投与の影響とは考えられなかった。

⑨組織学的所見

剖検した動物の副腎、骨髄、脳、結腸、十二指腸、精巣上体、食道、眼、大腿骨、胆嚢、心、回腸、空腸、腎、肝、肺、リンパ節（腸間膜、頸部）、乳腺、筋肉（後肢上部）、卵巣、膵、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経、精嚢、皮膚、脊髄、脾、胸骨、胃、精巣、甲状腺、気管、膀胱、子宮及び異常病変部を組織学的に検査した。非腫瘍性病理解剖組織所見と腫瘍所見は表で示した。

・非腫瘍性病理解剖組織所見

中間屠殺群の動物では、270ppm以上の雌と800ppmの雄の脾で髄外造血の増加を認めたが、各群共に腫瘍所見には、特異的变化は認められなかった。試験終了時の検査では、270ppmまでは、投与に相関する変化は認められなかったが、800ppm群雌雄では老齢性の変化として特徴的な腎臓病変が増加した。

・腫瘍所見

肺の腫瘍数では、270ppm群以上の雄と800ppm群雌が対照群に比較して5%の危険率で有意差を示したが、高頻度で認められる自然発生腫瘍を検定するときには、1%の危険率での比較が推奨されており（J. HASEMAN, Environmental Health Perspectives, 1984, 他）又、発生頻度はこの系統の動物の背景データの範囲にあったことから、検体に起因する発がん性作用は認められなかった。

以上の結果をまとめると、次のようである。

- 1) 800ppm群では体重増加量が低下（特に雄、約10%）し、貧血傾向を示した。
- 2) 貧血傾向は脾臓への影響によるものであり、次の様な所見が認められた。
 - イ) 12ヶ月後の中間屠殺検査で、270ppm以上の雌と800ppmの雄で髄外造血の増加
 - ロ) 中間屠殺動物の全投与群雌の脾の腫大、脾重量の増加この貧血所見と脾に対する影響は雄では800ppm群、雌では270ppm以上で影響があると考えべきで、90ppm群雌の脾重量の増加は、血液や組織学的に変化が認められないことを考慮すると、影響の初期徴候とみなされる。
- 3) 800ppm投与群雌における尿素窒素及びクレアチニンの有意な増加、同投与群雌雄における腎比重量の有意な増加がみられた。また、剖検所見及び病理組織学的検査においても腎臓病変の増加がみられた。

したがって、無毒性量は雄 270ppm (47.81 mg/kg/日)、雌 90ppm (21.20 mg/kg/日)であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

マウス発がん性試験の非腫瘍性病理解組織所見

部位	性		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	90	270	800	0	90	270	800
	使用動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
所見										
心	心膜炎	0	0	0	0	1	0	0	2	
	石灰化	0	0	0	0	0	1	0	2	
	腫大	0	0	0	0	0	0	0	2	
肺	気腫	4	2	1	1	0	1	0	2	
	リンパ系細網組織増生	2	1	1	0	2	5 (1)	2 (1)	2	
	黄色腫状肺炎	2 (1)	2	0	2	0	2 (1)	0	0	
胃	炎症性細胞浸潤	21 (8)	13 (5)	13 (2)	12 (4)	15 (4)	11 (3)	13 (2)	9 (3)	
大腸	寄生虫	10	13	26 (1)	14	9	5	8	2	
唾液腺	円形細胞浸潤	17 (5)	21 (7)	27 (1)	19 (4)	17 (1)	28 (6)	26 (8)	19 (4)	
脾	円形細胞浸潤	6 (1)	3	2 (1)	4 (1)	5	9	8 (3)	3 (1)	
肝	肉芽腫	6 (1)	9 (1)	6 (1)	5	8	4 (1)	3 (1)	5 (3)	
	小葉中心うっ血	14	7	9	2	11	16 (1)	3	15	
	間質付随反応 (肝炎)	0	1	0	1	3	0	0	2	
	充実性壊死	2	3	1	0	1	3	2	2	
	単一細胞壊死	6	10	10	7	10	3	5 (1)	4 (4)	
	仮性黄色腫細胞	1	4	3	3	0	3 (1)	5	2	
	寄生虫性炎症	0	0	0	0	0	0	1 (1)	4 (4)	
腎	腎石灰症	3 (2)	3 (1)	1	7 (3)	1	0	1	2 (1)	
	多発性動脈炎	2	0	0	1	2	1	3	2	
	進行性腎臓病	21 (2)	25 (1)	9 (1)	32 (1)	16	20 (2)	20 (1)	38	
	円形細胞浸潤	19 (3)	19 (5)	16 (2)	18	37 (9)	27 (6)	34 (11)	31 (3)	
	石灰化	11	4	2	0	0	0	0	2	
	近位尿管腫大	0	0	0	0	0	2 (3)	3 (3)	3 (3)	
膀胱	腫大	4	1	10 (1)	4	1	0	0	1	
	円形細胞浸潤	11 (1)	5	9	6	38 (6)	29 (5)	29 (4)	17 (1)	
精巣	萎縮	19	17 (1)	21	20 (1)	—	—	—	—	
	精子肉芽腫	2	0	3	2	—	—	—	—	
	精子滞留	1	4 (1)	3	10 (1)	—	—	—	—	
	石灰沈着	20	17	18	19 (2)	—	—	—	—	
精巣上体	線維化	1	2	0	3	—	—	—	—	
	円形細胞浸潤	3	1	3	2	—	—	—	—	
精囊	線維化	37 (2)	32 (1)	29	28	—	—	—	—	
	円形細胞浸潤	35 (2)	32 (1)	28	25	—	—	—	—	
カウパー腺	嚢胞性腫大	7	5	4	3	—	—	—	—	
卵巣	子宮内膜症	—	—	—	—	0	3	1	2	
	嚢胞	—	—	—	—	2 (1)	9 (1)	8 (2)	8	
	多発性動脈炎	—	—	—	—	2	12 (1)	14	16 (3)	
	嚢胞性出血黄体	—	—	—	—	2	5	2	3	
子宮	腺嚢胞性過形成	—	—	—	—	24 (3)	23 (7)	18 (5)	13 (5)	
	多発性動脈炎	—	—	—	—	3	10	5	10 (3)	
乳腺	嚢胞性腫大	—	—	—	—	1	4	1	5	
脾	濾胞増生	9 (1)	8	16 (3)	7 (2)	8 (2)	13 (3)	12 (5)	2	
	髓外造血	27 (1)	19 (1)	21 (2)	40 (7)	42 (4)	37 (5)	46 (12)	39 (17)	
下垂体	洞拡張	0	1	0	0	4	6	11	3	
眼	円形細胞浸潤	0	0	0	2	1	0	0	0	
	石灰沈着	12 (1)	14	12	12	4	9 (1)	2	14	
骨	線維性骨折	3	2	1	2	33 (5)	41 (8)	28 (5)	32 (4)	
皮膚	炎症細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	2	
	潰瘍	3	5	3	2	0	1	3	1	
	浮腫	0	0	0	0	0	0	0	2 (2)	
腹腔	被包脂肪組織壊死	0	0	1	0	0	0	1	2	

各所見は最高投与群で2例以上認められた所見のみを抜粋、左側数値は、中間屠殺（各群のみ♀20匹）及び最終屠殺動物（各群のみ♀各50匹）に認められた所見の合計を示す。統計検定は未実施。
右側（）内数値は、左側数値のうち中間屠殺時（12ヵ月時）に認められた動物の所見数を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

表 腫瘍の発生頻度

部位	性		雄				雌			
	投与群 (ppm)		0	90	270	800	0	90	270	800
	使用動物数		70	70	70	70	70	70	69	69
腫瘍の種類										
鼻咽頭	線維性歯牙腫				1					
肺	腺腫	6 (1)	11 (4)	16 (4)	16 (4)	4	6	4	6 (3)	
	※癌腫	12 (2)	13 (1)	14 (1)	16 (1)	3	4	4	10	
下垂体	腺腫		1			11	3	4	1	
副腎	クロム親和細胞腫	2				2			1	
	皮質腺腫	17 (2)	17 (4)	15 (1)	20	5				
	※皮質癌腫		1		1					
脾臓	島細胞腺腫				1					
甲状腺	胞状腺腫	1								
	乳頭状囊胞腺腫					1	1			
	※癌腫					1				
肝臓	肝細胞腺腫	1	1		1					
	※肝細胞癌	6 (1)	1	3	1	2				
	血管腫	1	2	2	1	1 (1)	1			
唾液腺	診断不能						1			
胃	腺腫	10 (1)	2	7 (3)	3	1	2	3 (1)	2	
	※未分化の癌			1						
大腸	※扁平上皮癌			1						
肛門	パピローマ								1	
血液、リンパ系	※悪性リンパ腫	3	5	4	4	11 (1)	10	12	10 (2)	
胸腺	※悪性リンパ腫						1			
腎、尿管	※副腎様癌				1					
膀胱	線維粘液腫		1							
精巣	間質細胞腫	1	2	1	2 (1)					
	セルトリ細胞腫	2		3	1					
卵巣	黄体腫					1	3 (1)	2		
	※顆粒膜細胞腫瘍					5	2 (1)	4	1	
	乳頭状囊胞腺腫					2				
子宮	ポリープ					1				
	平滑筋腫						1	1		
	※平滑筋肉腫					3	1			
	※腺癌					2				
	※悪性血管内皮腫						1 (1)			
骨、関節	※骨肉腫					1	1			
乳腺	※腺癌						1	1		
ハーダー氏腺	乳頭状囊胞腺腫	3	1	3	1	1				
	※腺癌							1		
皮膚	パピローマ	1							2	
	線維腫			1						
	線維性組織球腫				1					
軟組織	※線維性組織球腫	1	2		3		1			
	※血管周囲細胞腫							1		
	※悪性腫瘍、診断不能						1			
眼	囊腺腫		1 (1)							
腹腔	脂肪腫						1 (1)			
腫瘍総数		67	61	71	74	58	42	38	34	
良性腫瘍		45 (4)	39 (9)	48 (8)	48 (5)	30 (1)	18 (2)	15 (1)	13 (3)	
悪性腫瘍		22 (3)	22 (1)	23 (1)	26 (1)	28 (1)	24 (2)	23	21 (2)	
担腫瘍動物数		43 (5)	44 (9)	46 (8)	48 (6)	42 (2)	30 (3)	29 (1)	26 (5)	
担重複腫瘍動物数		19 (2)	12 (1)	22 (1)	20	14	8 (1)	8	7	

※ 悪性腫瘍 左側は中間屠殺（各群雌雄 20 匹）及び最終屠殺（各群雌雄 50 匹）時の合計値

右側（ ）内数値は、左側数値のうち中間屠殺時の所見数を示す。

Fischer の exact test 及び trend test の結果、<0.01 で有意差のある項目は無く、全ての変化は背景データの範囲内であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

5) イヌを用いた慢性毒性試験

(資料 No. T-15)

試験機関：シカゴ大学病理部（米国）

報告書作成年月日：1966年5月28日

検体純度：

試験動物：ビーグル犬（12～14週齢）、1群雌雄各2匹

試験期間：28ヵ月間

試験方法：検体をイヌ用粉末飼料中に0（対照群）、10、25および50ppmの割合で飼料中に混合し、28ヵ月間イヌに投与した。飼料は週2回又は必要に応じそれ以上調製した。

試験項目及び試験結果

①一般症状及び死亡率：

毎日一般症状を観察した。

各投与群において試験期間中、検体に起因する中毒症状は認められなかった。

10ppm群雌1匹が26ヵ月目に偶発的事故的な為、死亡した。

②体重増加量：

2ヵ月間隔で体重を測定した。

各投与群において試験期間中、検体に起因する体重増加量への影響は認められなかった。

③飼料摂取量：

各イヌの毎日の平均飼料摂取量は4、12及び26ヵ月目に算出した。各投与群において試験期間中の飼料摂取量に差はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

④血液学的検査：

試験開始 12 ヶ月後と 28 ヶ月後の試験終了時に、伏在静脈より採血し赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血液凝固時間、プロトロンビン時間を測定した。

その結果、1年後の検査では、各検査項目とも対照群との差は全く認められなかった。試験終了時の検査では低用量の 2 群で血液凝固時間がわずかに増加（約 20%）したが、この変化は最高用量では認められず、プロトロンビン時間の減少も引き起さなかった。

その他の検査項目には変化は認められず、従って血液学的検査に影響は認められなかった。

⑤血液生化学的検査：

試験 13 ヶ月目と 27 ヶ月目に、伏在静脈より血液を採取し対照群と 50ppm 群雌雄イヌの GOT と GPT および LDH（雄のみ）を測定した。その結果、検体投与の影響は、各測定項目とも全く認められなかった。

⑥剖検及び臓器重量：

試験終了時に各イヌを屠殺し、各臓器の剖検後、脳、肝、腎、脾、心、肺、精巣及び副腎の臓器重量を測定した。

剖検所見では何ら肉眼的異常所見は認められず、臓器重量（絶対及び相対）でも検体投与による影響は全く認められなかった。

⑦組織学的所見：

試験終了時に、重量を測定した臓器に加え、胃、十二指腸、回腸、結腸、膀胱、膵、腸間膜リンパ節、甲状腺、横隔膜、骨髄、卵巢の組織学的検査を行った。

検体投与に起因すると思われる組織学的変化は認められなかった。50ppm 群の雌 1 匹の肝臓に好酸性の核内封入体と、核の大小不同や好塩基性の封入体を有する巨核細胞がみられる例があったが、この変化は 1 匹にのみしか認められないことから検体に起因するものではないと判断された。

以上の結果から、本剤のイヌに対する 28 ヶ月間飼料混入投与による反復経口投与毒性試験における影響としては特記すべき事項がなかったことから、無毒性量は 50ppm 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アグロカネショウ株式会社にある。

6) イヌを用いた慢性毒性試験

(資料 No. T-16)

試験機関：モーベイ社 (米国)

報告書作成年月日：1983年3月7日

検体純度：

試験動物： ビーグル犬、4～6ヵ月齢、1群雌雄各6匹

試験期間： 1年間 (1980年8月25日～1981年8月27日)

投与方法：

キノメチオネートを0、25、75及び225ppmの割合で2%コーン油添加の粉末飼料に混合し (週2回調製)、イヌに1年間投与した。

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毎日観察した。

嘔吐や流涎、粘血便を呈する動物が散見されたが、頻度は少なく、用量相関性もなかったため、投与に起因する症状ではなかった。又、死亡例も認められなかった。

飼料摂取量及び検体摂取量：

毎日飼料摂取量を測定し、1週毎に集計した。雄では225ppm群の試験後期21週間に45、49、50週時を除き有意な減少が認められた。雌では、用量に相関しない有意差が散見されたのみで、雌の飼料摂取量に検体の影響は認められなかった。検体摂取量は以下に示す通りであった。

試験群	雄 (mg/kg/日)	雌 (mg/kg/日)
0	—	—
25ppm	0.650	0.644
75ppm	2.030	2.353
225ppm	5.973	6.333

体重変化；

週に1回体重を測定した。体重に関する有意な変化は、225ppm群雄の3、5、6、36、37及び38週時と25ppm群雌の5週時のみに低下が認められたのみで、用量相関性は認められなかった。全投与群において検体に起因する体重への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アグロカネショウ株式会社にある。

臨床学的検査；

血液学的検査；

試験開始時、及びその後 2 ヶ月間隔と試験終了時に頸静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、MCV、MCH、MCHC、Hb 量、赤血球数、白血球数、血小板数、網状赤血球数、白血球分画

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性	試験群 (ppm)	白血球数		Hb		HCT		MCV		MCHC	
		①	②	①	②	①	②	①	②	①	②
雄	25	↑ 126									↓ 99
	75										
	225							↑ 105	↑ 105		↓ 98
雌	25			↑ 112			↑ 112				
	75										
	225										

性	試験群 (ppm)	MONO		LYM		BAND		EOSN	
		①	②	①	②	①	②	①	②
雄	25		↓ 63						↓ 50
	75								↓ 25
	225								
雌	25		↓ 44						
	75		↓ 56	↓ 61			↑ ※		
	225		↓ 67	↓ 69					

数値は 0、2、4、6、8、10、12 ヶ月後の検査時点のうち、① 6 カ月後の検査 ② 試験終了時の検査の対照群に対する割合を示す。

最小有意差検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

MONO: 単核球 LYM: リンパ球 BAND: 棒状白血球 EOSN: 好酸球

※有意に増加しているが、計算できないため有意差の↑のみを記載した。

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

各測定時期において対照群に比べてごく僅かの有意差のある変化が散見されたが、一定した変化や用量相関性はなくいずれも生物学的変動範囲の値であり、検体投

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

与の影響とは考えられなかった。

血液生化学検査；

血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

カルシウム、LDH、ALP、コレステロール、尿素窒素、SGPT、SGOT、ビリルビン、アルブミン、血糖、総蛋白、グロブリン、ナトリウム、カリウム

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性	試験群 (ppm)	ALP				LDH		SGOT		SGPT			
		①	②	③	④	①	④	①	④	①	②	③	④
雄	25												
	75												
	225				↑ 196						↑ 198	↑ 314	↑ 313
雌	25					↑ 170							
	75									↓ 70			
	225	↑ 140	↑ 181	↑ 170	↑ 206			↑ 126				↑ 153	↑ 179

性	試験群 (ppm)	血糖		尿素窒素		Ca		総蛋白		アルブミン		グロブリン	
		①	④	①	④	①	④	①	④	①	④	①	④
雄	25			↓ 75								↓ 83	
	75			↓ 80	↓ 81		↓ 93				↓ 91		
	225			↓ 75									
雌	25					↓ 93		↓ 88	↓ 88				↓ 77
	75		↓ 92					↓ 91	↓ 88	↓ 89			
	225		↓ 84						↓ 88			↑ 116	

数値は0、2、4、6、8、10、12ヵ月後の検査時点のうち、①6ヵ月後、②8ヵ月後、③10ヵ月後、

④試験終了時の検査で対照群に対する割合を示す。

最小有意差検定 ↑ ↓ : p < 0.05

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

性	試験群 (ppm)	ビリルビン		カリウム	
		①	④	①	④
雄	25		↑ 200		↑ 110
	75	↓ ※			↑ 107
	225		↑ 200		↑ 107
雌	25		↑ 200		
	75		↑ 200		
	225		↑ 200		

数値は0、2、4、6、8、10、12ヵ月後の検査時点のうち、①6ヵ月後、②8ヵ月後、③10ヵ月後、④試験終了時の検査で対照群に対する割合を示す。

※対照群の値が0.0のため計算できなかった。

最小有意差検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

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

225ppm投与群ではALPが雄で12ヵ月後に、雌で6、8、10及び12ヵ月後に有意に上昇し、SGPT値は雄で8、10及び12ヵ月後、雌で10及び12ヵ月後に有意に上昇した。他にも各検査時に有意差が散見されたが、いずれも用量相関性はなく、生物学的有意性も認められなかった。

尿検査；

比重、pH、糖、潜血、ケトン体、ビリルビン、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣を測定した。

尿検査成績に検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

精液検査；

雄の全動物について4ヵ月毎に精液を検査した。その結果、225ppmまでの投与によって精液の量や質の変化は認められなかった。

眼検査；

試験開始前と終了時に、全動物について検眼鏡検査を行った。全ての動物に異常所見は認められなかった。

剖検及び臓器重量；

全動物を屠殺し剖検した後、以下の臓器重量を測定し、比重量（対体重比）も算出した。

肝、脾、腎、心、肺、性腺、脳、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、下垂体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

対照群と比べて有意差のみられた項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		25	75	225	25	75	225
体重		(95)	(89)	(85)	(89)	(90)	(83)
心	絶対重量	↓88	↓86	↓80			
	比重量						
肺	絶対重量					↑145	
	比重量				↑145	↑157	
肝	絶対重量			↓78			
	比重量						
脾	絶対重量						
	比重量			↑148			
副腎	絶対重量			↓79			
	比重量				↓100		
腎	絶対重量						
	比重量						↑133
生殖腺	絶対重量				↓56		
	比重量						

最小有意差検定 ↑ ↓ : $p < 0.05$

剖検では、検体に起因する所見が 225ppm 投与群雄 2 匹の肝に認められた。肝は円形化し辺縁は不規則で断面は堅く脆弱であった。

臓器重量では、検体投与群雄の心絶対重量が有意に低下したが、体重に相応しての減少であり、生物学的に有意な変化とは判断されなかった。225ppm 投与群雄の肝及び副腎絶対重量が有意に低下、同投与群の脾比重量が有意に増加、75ppm 以下投与群雌の肺比重量、75ppm 投与群雌の肺絶対重量が有意に増加したが、いずれも用量相関性が認められず偶発的所見と考えられた。

⑧組織学的検査：

全ての異常組織、肝、胆嚢、心、肺と気管支、喉頭、大動脈、下垂体、甲状腺と上皮小体、副腎、脳、脊髄、眼、唾液腺、胸腺、気管、食道、胃、小腸、大腸、盲腸、膵、膀胱、前立腺、精巣又は卵巣、子宮体と子宮頸部、脾、リンパ節（腸間膜他）、坐骨神経、皮膚、乳腺、骨格筋、胸骨、肋骨（肋軟骨接合部）、大腿骨（骨髓を含む）、腎を組織学的に検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

組織所見

部位	性		雄				雌			
	投与量 (ppm)	検査動物数	0	25	75	225	0	25	75	225
	所見		6	6	6	6	6	6	6	6
甲状腺	細胞非活性化		3	4	2	2	3	3	4	2
	石灰沈着		0	1	2	1	1	0	1	3
肺	間質性肺炎		1	3	4	1	2	3	3	3
	気管支梢炎		0	1	2	3	2	0	1	1
腎	色素沈着		3	3	4	3	2	4	4	3
脾	髓外造血		3	6	4	4	5	5	5	5
	ヘモジデリン沈着		1	2	3	4	2	3	4	6
肝	リボフスチン沈着		2	2	6	5	6	2	4	6
	ヘモジデリン沈着		0	0	2	2	1	2	1	3
	変性 NOS		0	0	0	2	0	0	0	4
	巨大細胞化		0	0	0	2	0	0	0	1
	巨核細胞		0	0	0	4	0	0	1	2
	結節状過形成		0	0	0	2	0	0	0	1
	線維化		0	0	0	1	0	0	0	0
	胆管増生		0	0	1	3	0	0	0	2
	クッパー細胞/髓外造血 肉芽種		0	4	4	3	2	1	5	2
下垂体	嚢胞		2	2	3	1	3	1	1	2
唾液腺	炎症		2	1	1	2	0	0	0	0
皮膚	嚢胞		0	0	0	2	0	0	0	0
前立腺	過形成		1	0	1	2	0	0	0	0
	炎症		0	0	1	2	0	0	0	0
胆嚢	嚢胞		0	0	1	2	0	0	0	0

最高投与群 2 例以上の一般所見と全ての腫瘍例数を記載

部位	性		雄				雌			
	投与量 (ppm)	検査動物数	0	25	75	225	0	25	75	225
	所見		6	6	6	6	6	6	6	6
肝臓	ヘモジデリン沈着	合計	0	0	2	2	1	2	1	3
		グレード 1			2	2	1	2	1	3
		2								
		3								
		4								
	胆管増生	合計	0	0	1	3	0	0	0	2
		グレード 1			1	1				
		2								1
		3				1				1
		4				1				
	線維化	合計	0	0	0	1	0	0	0	0
		グレード 1								
		2				1				
		3								
		4								
	クッパー細胞/髓外造血 肉芽腫	合計	0	4	4	3	2	1	5	2
	グレード 1		4	3		2	1	4	1	
	2			1				1		
	3				2				1	
	4				1					

グレード 1: 軽微 2: 軽度 3: 中等度 4: 重度

※統計検定は未実施

75ppm 以上投与群雌雄に検体投与に関連する検体投与の影響がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

すなわち 75ppm 以上投与群雌雄においてヘモジデリン沈着、髄外造血、肉芽腫の形成を伴ったクッパー細胞の増加がみられ、225ppm 投与群雌雄では中等度または重度の胆管増生の増加も認められ、肝臓に対する検体投与の著しい影響が認められた。225ppm 投与群雄でみられた軽度の線維化は、1例のみの変化であるが、胆管増生に伴う変化で、検体投与の影響と考えられる。

25ppm 投与群雄に軽微な変化のクッパー細胞の増加がみられたが、変化の程度も軽く、その他の変化もみられず、対照群雌にも同様な変化がみられていることから、検体投与とは関連のない偶発的な変化であると考えられる。

その他の臓器には特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のイヌに対する 12 ヶ月間飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験における影響として、225 ppm 投与群の雄で飼料摂取量の減少、雌雄動物の ALP、GPT の増加及び 75 ppm 投与群の組織所見、225 ppm 投与群の剖検及び組織所見において肝に変化がみられたことから、無作用量は雌雄とも 25 ppm (雄 0.650 mg/kg/日、雌 0.644 mg/kg/日) であると判断される。