

(3). 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 7)

試験機関: (財) 食品農医薬品安全性評価センター (GLP 対応)

報告書作成年: 1989 年

検体純度: %

試験動物: ハートレイ系モルモット 雌 1 群 20 匹 (陽性対照群 1 群 10 匹)

開始時体重 328g~406g

観察期間: 25 日間

方 法: Maximization 法

4 匹のモルモットを用いて皮内及び経皮の投与量設定のための予備試験を実施した。

皮内投与では、検体をコーンオイルに懸濁した 1% (投与可能最高濃度) 溶液を皮内に投与した。その結果、投与後 24 時間及び 48 時間の観察でいずれも注射部位に軽度の紅斑が認められた。

経皮投与では、検体を白色ワセリンと混合し、10 及び 25% の 2 濃度について検討した結果いずれの濃度でも皮膚反応が観察されなかった。

以上の結果より本試験には下記の濃度を設定した。

皮内感作曝露: 1% コーンオイル溶液

経皮感作曝露: 25% 白色ワセリン

経皮惹起曝露: 25% 白色ワセリン

感作曝露; 動物の肩甲骨上を剃毛し、検体の 1% コーンオイル溶液、FCA を同量の注射用蒸留水で乳化したもの及び、検体を FCA に最終濃度の倍量になるように懸濁し同量の注射用蒸留水で乳化したものを夫々 0.05ml ずつ左右 1ヶ所に合計 0.1ml ずつ 1 回皮内注射した。陽性対照として DNCB の 0.1% コーンオイル溶液を用い検体の場合と同様に処理した。

1 週間後に肩甲骨上を再び剃毛し、検体の 25% 白色ワセリン混合物を肩甲骨部に 48 時間閉塞塗布した。陽性対照として DNCB の 1.0% 白色ワセリン混合物を同様に処理した。

惹起曝露; 塗布 2 週間後に検体の 25% 白色ワセリンの混合物を右腹側部に、左腹側部には白色ワセリンのみを 24 時間閉塞塗布した。

陽性対照として DNCB の 0.1% 白色ワセリンの混合物を同様に処理した。

観察・検査項目: 惹起曝露のパッチ除去 24 時間及び 48 時間後に紅斑、浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

結 果： 各観察時間における感作性変化が認められた動物数を以下の表に示した。

群			供 試 動 物 数	感作反応動物数										感作陽性率	
				24 時間後					48 時間後						
感 作	惹 起	皮膚反応評点					皮膚反応評点					24 時間	48 時間		
		0		1	2	3	計	0	1	2	3			計	
検体	25%検体	25%検体	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	溶 媒	25%検体		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
溶媒 対照	0.1%DNCB	0.1%DNCB	10	0	0	1	9	10	0	0	10	0	10	100	100
	溶 媒	0.1%DNCB		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

検体の感作群及び対照群では惹起曝露のパッチ除去 24 時間及び 48 時間後の観察において、いずれも全例皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性対照群では、24 時間後に強度の紅斑及び軽度の浮腫が 10 例中 9 例に、中等度の紅斑が 10 例中 1 例に、また 48 時間後には全例に中等度の紅斑が認められた。対照群では、いずれの観察時間にも皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、クミルロン・モルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断された。

(4) 急性神経毒性 (資料 8)
試験未実施

急性経口毒性試験及び 90 日間反復経口毒性試験成績等からの考察で対応

急性経口投与毒性試験及び 90 日間反復経口投与毒性試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅しており、神経毒性を示す所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。

下記に急性及び 90 日間反復経口投与毒性試験での神経毒性に関連する観察内容の概要、及び、急性神経毒性に対する総合考察を記載する。

1. 急性経口毒性試験からの考察

急性経口毒性試験における一般状態の観察において、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

2. 90 日間反復経口投与毒性試験からの考察

ラットを用いた 90 日間反復経口投与試験において、下記のとおり致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(1) 詳細な状態の観察項目

① 外観

致死量以下の用量で「外観」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。
(報告書 13 頁、抄録 85 頁に記載)

② 体位 及び ③ 姿勢

報告書への記載はない。しかし、試験実施機関の標準操作手順では、異常動物の検出の一部として姿勢を含めた体位の観察を行なうことになっており、異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書には体位について何らの記載もないことから、致死量以下の用量で「体位」及び「姿勢」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

④ 自律神経系

致死量以下の用量で「自律神経系」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。(報告書: 13 頁、抄録 85 頁に記載)

⑤ 歩行の異常

報告書への記載はない。しかし、試験実施機関の標準操作手順では、異常動物の検出の一部として「運動」の観察を行なうことになっており、「歩行の異常」はこの「運動」の観察に含まれている。異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書には「歩行の異常」について何らの記載もないことから、致死量以下の用

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

量で「歩行の異常」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

⑥ 動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応

報告書への記載はない。しかし、実施機関で標準操作手順のチェックリストに従って動物を観察する際に動物を手に乗せて観察するため、「取り扱い操作や環境刺激に対する反応」に異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書に何ら本項目に関して記載がないことから、致死量以下の用量では「動物の取り扱いや環境刺激に対する反応」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

⑦ 神経系及び異常行動

報告書への記載はない。しかし、実施機関で標準操作手順のチェックリストに従って動物を観察する際に動物を手に乗せて観察するため、「神経系及び異常行動」に異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書に何ら本項目に関して記載がないことから、致死量以下の用量では「神経系及び異常行動」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(2) 機能検査項目

① 自発運動量

致死量以下の用量で「自律神経系」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。(報告書: 13 頁、抄録 85 頁に記載)

(3) 病理組織学的検査項目

① 脳

報告書への記載はない。しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところである。またラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験では致死量以下の用量で「脳」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はなかった。(ラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験報告書 23、27、32 頁に記載、抄録には異常がないため記載なし。)

② 坐骨神経

報告書への記載はない。しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、何ら記載がないことから、致死量以下の用量で「坐骨神経」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

③ 骨格筋

報告書への記載はない。筋肉として大腿筋を検査している。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、何ら記載がないことから、致死量以下の用量で「骨格筋」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

④ 脊髄

報告書への記載はない。しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、何ら記載がないことから、致死量以下の用量で「脊髄」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

⑤ 眼球及びその付属器

報告書への記載はない。しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、何ら記載がないことから、致死量以下の用量で「眼球及びその付属器」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(4) その他の検査項目

① 脳重量

致死量以下の用量で「脳重量」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。
(報告書: 15 頁、抄録 89 頁に記載)

② 眼科学的検査

致死量以下の用量で「眼科学的検査」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。(報告書 15 頁、抄録 89 頁に記載)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

(5) 急性遅発性神経毒性

(資料 9)

試験未実施

急性経口毒性試験結果等から、本剤はコリンエステラーゼ活性阻害性を有さないと考えられ、また遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との構造上の相関はないことから試験は実施しなかった。。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

(6). 90 日間反復経口投与毒性

1) ビーグル犬を用いた検体封入カプセル投与による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 10)

試験機関: (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年: 1990 年

検体純度: %
試験動物: ビーグル犬 1 群雌雄各 4 頭 開始時 6~7 ヶ月齢
開始時体重 雄; 7.6 kg~9.2 kg 雌; 7.0 kg~8.6 kg
試験期間: 13 週間(雄; 1989 年 2 月 22 日~1989 年 5 月 23 日、雌; 1989 年 2 月 16 日~1989 年 5 月 17 日)
投与方法: 検体をゼラチンカプセルに封入し、0、3、30 及び 300 mg/kg/日になる様に、1 日 1 回給餌後に 13 週間にわたって毎日強制経口投与した。各動物への毎日の投与量は、各用量群の設定投与量(mg/kg/日)に最新の体重を乗じて算出した。対照群にはゼラチンカプセルのみを投与した。

用量設定根拠: 0、30、100、300 及び 1,000 mg/kg/日の用量で、各投与群雌雄 1 頭ずつのビーグル犬を用いた 4 週間用量設定試験を実施した結果、全ての投与群で肝重量の増加が、30 mg/kg/日投与群の雄を除く全ての投与群で体重増加が対照群に比較して少ない傾向が認められた。また、100 mg/kg/日以上投与群の雌雄でアルカリフォスファターゼ活性の上昇、肝の小葉中心性肝細胞の腫大が認められた。更に 1,000 mg/kg/日投与群の雌雄に肝のうっ血及び総ビリルビン値の上昇が認められた。これらの結果から、本試験に用いる最高投与用量は、100 mg/kg/日以上とすることが適当であると考えられ、本試験の最高用量を 300 mg/kg/日とし、以下公比 10 で除し、中用量及び低用量を夫々 30 mg/kg/日及び 3 mg/kg/日とした。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率;

一般状態及び生死を投与期間中毎日観察し、更に少なくとも毎週 1 回、詳細な臨床観察を実施した。

各試験群を通じて雄では、嘔吐、下痢便、軟便が、雌では脱毛、痂皮形成、泡沫液及び飼料の嘔吐、軟便、粘液便が観察されたが、いずれの変化も発生頻度に統計学的に有意な変動もしくは投与用量との相関性は認められず、検体に起因する変化とは考えられなかった。

死亡例は雌雄共投与期間中いずれの投与群においても認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

体重変化;

全動物について、投与開始日の投与開始前に1回及び投与期間中毎週1回体重を測定し、各用量群の平均体重を測定日ごとに算出した。

300 mg/kg/日投与群の雌雄に体重増加抑制傾向が認められ、投与期間中継続していたことから、検体投与に起因した変化と考えられた。

その他の投与群では、雌雄共対照群と概ね同様の値で推移し、検体投与の影響は認められなかった。

飼料摂取量;

全動物について、投与期間中毎日飼料摂取量を測定し、各個体の週毎の平均飼料摂取量を算出した。この値から各用量群の1日1頭当たりの平均飼料摂取量を週毎に算出した。

300 mg/kg/日投与群の雌において投与第1週から3週にかけて1例の飼料摂取量が一過性に減少したため、平均値にわずかな減少が認められたが、他の3例は全量(250g/頭/日)を摂取していたため、この減少は検体投与による変化とは考えられなかった。

同群雄及び30、3 mg/kg/日投与群の雌雄は、対照群と同様に、給餌量全量を摂取していた。

眼検査;

全動物について、投与開始前及び投与開始後第13週に、眼底検査を含む眼の臨床検査を行った。

雌雄共にいずれの投与群においても、検体投与に起因する異常は観察されなかった。

尿検査;

全動物について投与開始前及び投与開始後13週に採尿トレーを用いて24時間尿を採取し、尿量を測定した。また採尿トレーで別に採取した新鮮尿について以下の項目について測定した。

尿色、尿比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン、ビリルビン。

300 mg/kg/日投与群雌で、投与第13週の尿比重値が有意に上昇したが、これは4例中3例の尿量が比較的少なかった結果によるものと考えられた。

また、3 mg/kg/日投与群雄で投与第13週の尿比重が有意に低下したが、これは、1例が多尿(890ml)であったためと考えられた。また、尿検査の他の項目及び腎の組織学的検査の結果にも腎障害を示唆する変化がないことからこの尿比重の上昇は、偶発的変化と考えられた。

その他の群では対照群と比較して有意な差は認められず、従って検体投与に起因する変化はないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

血液学的検査;

全動物について、投与開始前ならびに投与開始後第7及び13週に一晩絶食させた後、無麻酔下で保定し、ヘパリン処理を施した注射筒を用いて橈側皮静脈より採血し、以下の項目について血液自動計測装置コールターカウンターを用いて測定した。また、ギムザ染色を施した血液塗抹標本の鏡検から得られる白血球百分率と白血球数より、ディファレンシャルカウントを算出した。ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、白血球数統計学的に有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別	雄						雌					
	3		30		300		3		30		300	
投与量(mg/kg/日)	3		30		300		3		30		300	
検査時期(週)	7	13	7	13	7	13	7	13	7	13	7	13
MCH						↑ 105						
MCHC				↑ 103		⊕ 104	↑ 102	↑ 103	⊕ 102			↑ 103

↑: P≤ 0.05、⊕: P≤ 0.01 で統計学的有意差を示す(Dunnett の多重比較法)。

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

300 mg/kg/日投与群の投与第13週の検査において、雄のMCH、及び雌雄のMCHCが有意に増加した。

30 mg/kg/日投与群では、投与第7週に雌の、13週に雄のMCHCが有意に増加した。

3 mg/kg/日投与群では投与7及び13週に雌のMCHCが有意に増加した。しかし検体投与群においては貧血は認められなかったため、これら赤血球指数の変動には特別の毒性学的意義はないものと考えられた。

血液生化学検査;

血液学的検査で採取した血液の血漿を用いて次の項目について測定した。

アルカリフォスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、γ-グルタミルトランスぺプチターゼ、クレアチンフォスフォキナーゼ、総ビリルビン(T.Bil)、総蛋白、アルブミン(Alb)、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、尿素窒素、クレアチニン、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、Na、K、Cl、Ca、P。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

対照群と比較して統計学的に有意差の認められたのは次の通りであった。

性 別	雄						雌					
	3		30		300		3		30		300	
検査時期 (週)	7	13	7	13	7	13	7	13	7	13	7	13
ALP					↑ 287	↑ 446					↑ 338	↑ 434
GPT					↑ 138	↑ 155						
TG						↑ 167						
T. Bil.					↑ 132	↑ 132						
Alb							↑ 105	↑ 107		↑ 110		
P						↓ 90						
Na				↑ 102								

↑、↓: P ≤ 0.05、↑、↓: P ≤ 0.01 で統計学的有意差を示す(Dunnett の多重比較法)。

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

ALP が 300 mg/kg/日 投与群の雌雄で投与全期間を通じて上昇し、また 30 mg/kg/日 投与群の雄においても上昇傾向を示したことから、検体投与に起因した変化と考えられた。また、300 mg/kg/日 投与群の雄では総ビリルビンが全投与期間を通じて有意に上昇していたことから検体投与による変化と考えられた。同群雄で GPT が投与全期間を通じて上昇していたが、本変化は投与開始前より認められており投与期間中の値にもほとんど変動がみられないことから検体投与とは関係のない変化と考えられ、ALP、総ビリルビン以外の変化については投与期間との相関性がないことや、背景データ(本報告書に添付)と比べ正常範囲内にあることなどを考えると、検体投与による影響とは考えられなかった。

臓器重量；

投与期間終了後の計画屠殺動物全例について、剖検後、次の臓器を秤量し、対体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、心、肝、脾、脾、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

腎、副腎、精巣、卵巣、前立腺。

以下に対照群と比較して統計学的に有意差を示した項目を記した。

性 別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		3	30	300	3	30	300
体重		10.2 103	9.8 100	9.3 94	9.3 100	9.3 100	8.8 95
下垂 体	絶対重量				↑ 156		↑ 132
	対体重比				↑ 153		↑ 140
肝	絶対重量		↑ 122	↑ 135			↑ 146
	対体重比		↑ 124	↑ 144			↑ 156
腎	絶対重量						
	対体重比					↓ 88	

↑、↓: P ≤ 0.05、↑、↓: P ≤ 0.01 で統計学的有意差を示す(Scheffe の多重比較法)。

表中の数字の内、体重の上の数字は実際重量を、その他は対照群に対する変動率(%)を示す。

300 mg/kg/日投与群の雌雄及び 30 mg/kg/日投与群雄で肝の絶対重量及び対体重比値とも有意に増加したことは検体投与に起因すると考えられた。

上記以外は組織学的病理変化が認められないことから偶発的な変化と考えられた。

肉眼的病理所見;

13 週間投与終了後、供試動物全例についてソムノペンチル(ペントバルビタールナトリウム水溶液)麻酔下で総頸動脈を切断し、放血による殺処分を行った後剖検した。

300 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例に肝の腫大が観察され、雌では全例に肝のうっ血が認められた。さらに雄 2 例、雌 3 例に胆嚢膨満がまた同群雌の 3 例と 30 mg/kg/日投与群の雌 2 例に胃幽門部の赤色斑が観察されたが、3 mg/kg/日投与群では特記すべき所見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丸紅株式会社にある。

組織学的病理検査；

投与期間終了後の計画屠殺動物全例について、次の臓器・組織の組織学的検査を行った。

脳(大脳、小脳、橋、延髄を含む 8 ヶ所)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む、両側)、副腎(両側)、脾、骨・骨髄(胸骨、大腿骨、肋骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心、大動脈、唾液腺、食道、胃(噴門部、胃底部、幽門部)、肝、胆嚢、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(主要気管支を含む)、腎(両側)、膀胱、精巢(両側)、精巢上体(両側)、前立腺、卵巣(両側)、子宮、眼球(視神経を含む、両側)、骨格筋(大腿筋)、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部、雌のみ)、肉眼的異常部位。

300 mg/kg/日投与群の雌雄各 4 例に、また 30 mg/kg/日投与群の雄 3 例と雌 4 例に、検体に起因すると考えられる小葉中心性肝細胞腫大が観察された。

その他の臓器・組織には、いずれの投与群においても検体投与に関連づけられる変化は認められなかった。次頁に統計学的に有意差の認められた主な病変を示した。

結論： 300 mg/kg/日投与群では雌雄共に体重増加抑制傾向が認められ、血液生化学的検査で ALP 値が上昇し、更に雄では総ビリルビン値の上昇が認められた。臓器重量では雌雄共に肝重量及び対体重比が増加した。病理学的検査の肉眼的観察では、肝の腫大が雌雄各 1 例に、更に雄では全例に肝のうっ血が観察された。組織学的検査では雌雄全例に小葉中心性肝細胞腫大が観察された。30 mg/kg/日投与群では雄に ALP 値が上昇する傾向があった。臓器重量では雄で肝重量及び対体重比が増加した。また、組織学的検査では、小葉中心性肝細胞腫大が雄の 3 例及び雌の全例に観察された。

3 mg/kg/日投与群では検体投与に関連づけられる変化はいずれの検査項目にも認められなかった。

以上の結果から、最大無作用量、最小中毒量及び確実中毒量を以下のように判定した。

	雄	雌
最大無作用量	3 mg/kg/日	3 mg/kg/日
最小中毒量	30 mg/kg/日	30 mg/kg/日
確実中毒量	300 mg/kg/日	300 mg/kg/日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

組織学的病理検査

性 別		雄				雌			
投与群 (mg/kg/日)		0	3	30	300	0	3	30	300
組 織	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	病 変								
骨 髄	造血亢進	0	1	0	0	0	0	0	0
胸 腺	囊 胞	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ節	頸 部	リンパ球系細胞過形成	0	1	0	0	0	0	1
	腸間膜	リンパ球系細胞過形成	0	0	0	0	1	0	0
脾	ガンディーガムナ結節	0	0	0	0	0	0	0	2
肺	異所性過形成	1	0	1	0	0	0	0	0
	動 脈 炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	小肉芽腫	0	0	0	1	0	0	0	0
	肺 炎	0	1	0	0	0	0	0	1
	肺胞上皮細胞限局性肥大	0	0	0	1	0	0	0	0
唾液腺	動 脈 炎	0	0	1	0	0	0	0	0
扁桃腺	化膿性炎	0	0	0	0	0	1	0	0
結 腸	囊 胞	0	0	0	0	0	1	0	0
肝	小葉中心性肝細胞腫大	0	0	3	4*	0	0	4*	4*
腎	尿細管拡張	0	1	0	0	0	0	0	0
精 巢	管 萎 縮	1	0	1	1				
精巢上体	動 脈 炎	1	0	0	0				
前立腺	萎 縮	0	0	1	2				
下垂体	前葉囊胞	1	3	1	0	0	0	0	0
	中間葉囊胞	0	1	0	0	0	0	0	0
	好塩基性細胞限局性肥大	0	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺	鱗囊残遺	0	0	0	0	0	0	1	1
	巣状C細胞過形成	1	1	0	1	1	0	0	0
上皮小体	囊 胞	0	1	0	0	1	0	0	1
	鱗囊残遺	0	0	0	0	1	0	0	0
	組織なし	0	0	0	1	0	0	0	0
副 腎	皮質脂肪化	0	1	0	0	0	0	0	0

* ; $P \leq 0.05$ で統計学的有意差示す (Fisher 直接確率計算法)。

2) ラットを用いた混餌投与による 90 日間反復投与経口毒性試験

(資料 11)

試験機関: (財)食品農医薬品安全性評価センター (GLP 対応)

報告書作成年: 1990 年

検体純度: %
 試験動物: Fischer344 系ラット 1 群雌雄各 10 匹 開始時 6 週齢
 開始時体重 雄; 88g~99g 雌; 74g~83g
 投与期間: 13 週間 (1989 年 10 月 24 日~1990 年 1 月 23 日)
 投与方法: 検体を基礎飼料に 0、100、600 及び 3,600ppm の濃度で混入し、13 週間にわたって自由に摂取させた。検体添加飼料は 2 週間に 1 回調製し、冷蔵庫に保管した。

用量設定根拠

0、150、500、1,500、5,000ppm で 4 週間投与試験を実施した結果、5,000ppm 投与群で雌雄共 10 例中 7 例が死亡し、体重、飼料摂取量が著しく減少した。また、雄の 500ppm 以上の投与群で肝及び腎重量が増加し、雌では 1,500ppm 投与群で肝重量の増加、脾、副腎、卵巣重量の減少が認められた。これらのことから投与期間を考慮して、500~600ppm で雌雄共何等かの影響が出ると予想されたため、600ppm を中用量とし、公比 6 で高用量を 3,600ppm、低用量を 100ppm とした。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率;

一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。3,600ppm 投与群雄では、投与後 2 週から生存例のほぼ半数の動物に消瘦及び立毛が観察され、さらに投与後 13 週に死亡した動物では死亡前に体温の低下及び自発運動の低下が認められた。

また、同群雌では、投与後 1 週から消瘦及び立毛が多く動物に観察され、投与後 8 及び 9 週に自発運動の低下が 2 例に観察された。

対照群を含めた他の投与群では、一般状態の変化は認められなかった。

試験終了時の累積死亡率は 3,600ppm 投与群雄で 30%、同群雌で 70%であった。対照群を含めた他の投与群では雌雄共死亡例は認められず、死亡率は 0%であった。

投与群 (ppm)		対照	100	600	3,600
死亡率 (%)	雄	0	0	0	30
	雌	0	0	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丸紅株式会社にある。

体重変化;

投与開始から投与終了時迄毎週 1 回測定した。3,600ppm 投与群の雌雄で、投与後 1 週より体重増加が著しく抑制され、投与終了時迄継続した。

100 及び 600ppm 投与群の雄で、7 週以降に対照群に比較して統計学的に有意に低い値を示したが、背景データ(本報告書に添付)と比較した場合、これら 100 及び 600ppm 投与群雄の値は正常範囲内の値であった。

飼料摂取量及び飼料効率:

飼料摂取量は毎週 1 回測定した。飼料効率は、週毎に測定した体重及び飼料摂取量から算出した。

飼料摂取量は、3,600ppm 投与群の雌雄で、投与後 1 週より投与終了時まで対照群に比較して著しく低い値を示した。その他の投与群では、対照群との間に統計学的に有意な差のみられた週もあったが、軽微であり、継続性のある変化ではなかった。

飼料効率は、3,600ppm 投与群の雌雄で、投与後 1 週から 5 週まで、対照群に比較し低い値を示し、特に投与後 1 週は顕著であった。しかし、その後は一定の傾向は認められなかった。

その他の投与群では対照群との間に統計学的に有意差のみられた週もあったが、軽微であり、継続性のある変化ではなかった。

検体摂取量;

体重、飼料摂取量及び飼料中設定濃度から算出した 1 日当たりの平均検体摂取量は、次の通りであった。

投与群 (ppm)		100	600	3,600
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	7.00	42.3	257
	雌	7.72	46.8	280

血液学的検査;

投与終了時の全生存動物について約 16 時間絶食させた後、エーテル麻酔下で開腹して腹部大動脈から採血し、以下の項目について測定した。

白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数(PLT)、白血球百分率(DLC)。

対照群との間で統計学的に有意な差の認められた検査項目は次頁に示した。

600 及び 3,600ppm 投与群雄でヘモグロビン量、MCH 及びリンパ球比率が減少し、好中球比率の増加が認められ、さらに 3,600ppm 投与群雄ではヘマトクリット値、赤血球数及び MCV の減少、血小板数の増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

同群雌では、ヘモグロビン量、MCV、MCH 及びリンパ球比率が減少し、赤血球数、血小板数及び好中球比率が増加した。

性別		雄			雌		
投与量(mg/kg/日)		100	600	3,600	100	600	3,600
HCT				↓ 79			
HGB			↓ 98	↓ 78			↓ 90
RBC				↓ 86			↑ 102
MCV				↓ 91		↓ 100	↓ 87
MCH		↓ 98	↓ 97	↓ 90			↓ 88
MCHC		↓ 99	↓ 98				
PLT				↑ 156			↑ 124
WBC			↓ 83				↑ 181
DLC	NEUT		↑ 123	↑ 195			↑ 156
	LYMPH		↓ 95	↓ 74			↓ 83
	MONO		↓ 67	↓ 67	↓ 50		

↑、↓: P≤ 0.05、↑、↓: P≤ 0.01、↑、↓: P≤ 0.001 で統計学的に有意差を示す(Student の t 検定)。

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

血液凝固検査;

血液学的検査に用いた血液の血漿を用いて血液凝固自動測定装置により、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した。なお、3,600 ppm 投与群では雌雄共体重増加抑制が著しく、採血量が少ないため凝固検査は実施できなかった。

100 及び 600ppm 群雌雄共対照群に比較してプロトロンビン時間に短縮が見られた群があったが、いずれも軽微な変化で正常範囲内(雄:14.6±0.6sec.、雌:15.2±1.0sec.、背景データは本報告書に添付)であった。

血液生化学検査;

血液生化学検査は血液学的検査に用いた血液の血清について次の項目を測定した。

血糖(Glu)、総コレステロール(T.Cho)、総ビリルビン(T.Bil)、アルカリフォスファターゼ(ALP)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Crea)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、総蛋白、アルブミン(Alb)、アルブミン/グロブリン(A/G)、Na、K、Ca、P、Cl。

統計学的に有意差の認められた検査項目を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

性別	雄			雌		
投与量(mg/kg/日)	100	600	3,600	100	600	3,600
Glu			↓ 85		↑ 105	
T. Cho			↑ 373	↑ 107		↑ 204
T. Bil	↓ 71	↓ 71	↑ 193			↑ 131
ALP		↓ 93	↑ 243			↑ 205
BUN			↑ 597			
Crea		↓ 90	↑ 320			
GPT					↑ 139	
総蛋白	↑ 104	↑ 102	↑ 104	↑ 103		↑ 106
Alb	↑ 103	↑ 103	↓ 92	↑ 105		↓ 91
A/G			↓ 78			↓ 75
Na	↑ 101	↑ 101	↓ 98		↓ 99	↓ 99
K		↓ 92	↑ 115	↑ 110		↑ 114
Ca			↑ 107	↑ 103		
P	↓ 85	↓ 88	↑ 136	↑ 124	↑ 119	↑ 147
Cl	↑ 102	↑ 102		↓ 98	↓ 98	

↑、↓: P ≤ 0.05、↑、↓: P ≤ 0.01、↑、↓: P ≤ 0.001 で統計学的に有意差を示す(Student の t 検定)。

表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

3,600ppm 群雌雄で総コレステロール、総ビリルビン、ALP、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白及びPの増加、アルブミン及びA/Gの減少が認められ、更に同群雄でKの増加、血糖の減少が認められた。雌雄共上記以外に対照群と比較して統計学的に有意な差が認められた検査項目もあったが、いずれも軽微な変化で正常範囲内の値であった(背景データは本報告書に添付)。

尿検査:

試験終了時に採尿器を用いて24時間尿を採取し、下記の項目を検査した。

尿量、色調、濁度、尿比重、沈渣、pH、潜血、ケトン体、糖、
蛋白、ビリルビン、ウロビリノーゲン。

3,600ppm 投与群の雌雄で尿量の増加及び尿比重の低値が認められた。また、潜血陽性、ビリルビン陰性、蛋白が300 mg/dl以上の値を示した動物数が増加した。

しかし、600ppm以下の投与群では雌雄共検体投与に起因すると考えられ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丸紅株式会社にある。

眼科学的検査;

対照群と 3,600ppm 投与群の全生存動物について、投与直前及び投与終了時にハロゲン検眼鏡を用いて角膜、結膜、強膜及び虹彩について検査した。また投与終了時にはミドリンPで散瞳させ、眼底撮影を行った。

雌雄共に検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量;

試験終了時に全生存動物をエーテル麻酔後放血屠殺し、脳、心、肝、腎、脾、副腎、精巣及び卵巣の重量を測定し、対体重比を算出した。

対照群と比較して統計学的に有意差を示した項目を以下の表に示した。

3,600ppm 群の雌雄で脳、心及び副腎重量が減少した。更に同群雄で脾及び精巣重量の減少、雌で卵巣重量の減少、肝重量の増加が認められた。

対体重比では、600 及び 3,600ppm 群の雌雄で肝の対体重比が増加した。

更に 3,600ppm 群の雌雄で脳、心、腎、脾の対体重比が増加し、更に雄で副腎、精巣の対体重比が増加し、雌で卵巣の対体重比が減少した。これらは検体投与による影響と判断された。しかし、その他の変化はいずれも体重増加抑制に起因した二次的变化と考えられた。

性 別		雄			雌		
投与量(mg/kg/日)		100	600	3,600	100	600	3,600
体 重		301 ↓ 96	302 ↓ 97	151 ↓ 48	177 100	177 100	117 ↓ 66
脳	絶対重量			↓ 88			↓ 93
	対体重比	↑ 104	↑ 104	↑ 185			↑ 141
心	絶対重量	↓ 95		↓ 62			↓ 78
	対体重比			↑ 127			↑ 118
肝	絶対重量					↑ 104	↑ 147
	対体重比		↑ 103	↑ 212		↑ 104	↑ 222
腎	絶対重量						
	対体重比	↑ 105	↑ 104	↑ 179			↑ 144
脾	絶対重量	↓ 93		↓ 88			
	対体重比			↑ 183			↑ 153
副腎	絶対重量			↓ 82			↓ 71
	対体重比			↑ 169			
精巣/ 卵巣	絶対重量			↓ 72			↓ 48
	対体重比			↑ 148			↓ 74

↑、↓: P ≤ 0.05、↑、↓: P ≤ 0.01、↑、↓: P ≤ 0.001 で統計学的に有意差を示す(Student の t 検定)。

表中体重の上の数字は実際重量、その他は対照群に対する変動率(%)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丸紅株式会社にある。

病理学検査:

計画殺動物については投与終了時に、動物をエーテル麻酔後放血屠殺し、下記の組織について肉眼観察及び組織学的観察を行った。死亡動物は発見後直ちに解剖し、同様の観察を行った。

脳、脊髄、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾、胸骨(骨髄を含む)、リンパ節(腸間膜)、心、大動脈(胸部)、唾液腺(顎下腺)、食道、胃(前腎、腺胃)、肝、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肺(気管を含む)、腎、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮及び性器付属器、眼、筋肉(大腿筋)、皮膚、雌の乳腺、肉眼的病変部

肉眼的病理検査:

肉眼観察では、3,600ppm 投与群雌雄で全身の消瘦、胸腺の萎縮または小型化、腎表面の顆粒状化が認められ、更に同群雄で精囊の小型化、雌で子宮及び卵巣の小型化が認められ、これらは検体投与に起因する変化と考えられた。しかしながら、腎以外の変化については組織病理学的検査の結果、体重抑制に伴う二次的変化と考えられた。その他の投与群では検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

試験期間中に切迫屠殺及び死亡した動物は、3,600ppm 投与群にのみ認められたが、胸腺の萎縮、腎の表面顆粒化、卵巣及び子宮の小型化が認められた。

組織学的病理検査:

組織学的検査では、3,600ppm 投与群雌雄で、甲状腺の濾胞の拡張、肝の胆管増生、腎の乳頭部浮腫、尿細管上皮の色素沈着、リンパ球浸潤、線維化、尿細管管腔の拡張、蛋白円柱及び移行上皮の過形成、胸腺及び唾液腺の萎縮が認められた。また同群雄では、骨髄の造血低下、対照群を含めた他の群に認められた腎の尿細管上皮内の好酸体、精囊の萎縮及び副腎の空胞化が消失していた。雌では腎の尿細管の好塩基性変化、子宮、膣及び卵巣が萎縮し、対照群にも見られた腎の石灰沈着及びリンパ節の小肉芽巣が消失していた。これらの変化のうち、甲状腺、肝、腎及び骨髄に観察された変化は検体投与による直接的な影響と考えられるが、胸腺、精囊、唾液腺、子宮、膣及び卵巣に見られた萎縮性的変化は二次的なものと考えられた。

その他の投与群では、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。統計学的に有意差を示した組織学的病理所見及び標的臓器と考えられた肝の組織学的所見を次頁以降に示した。一方試験期間中に切迫屠殺及び死亡した動物では、雌雄共上記の生存動物に観察された変化以外に、肺のうっ血、肝の壊死巣及び脂肪化、腎の石灰沈着、脾の色素沈着、脾及び副腎

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

の空胞化が観察された。その他の変化は発生数も少なく、対照群にも認められる変化であることから自然発生性の病変と考えられた。

結論: 3,600ppm 投与群では雌雄共削瘦及び立毛が投与初期から認められ、自発運動が低下した。切迫屠殺を含め雄では 30%、雌では 70%の死亡例となった。体重、飼料摂取量とも雌雄で著しい低下が認められ、飼料効率も低下した。血液学的検査では雌雄共明確な貧血を示す変化が認められた。また、血液生化学的検査では雌雄共肝及び腎に対する障害を示唆する変化を示した。臓器重量測定では雌雄共肝及び腎の対体重比が増加し、雌では更に肝重量が増加し卵巣重量及びその対体重比が減少した。病理学検査のうち肉眼観察では雌雄共胸腺の萎縮又は小型化、腎の表面の顆粒状化が認められ、そのほか雄では精嚢の、雌では子宮及び卵巣の小型化が認められた。組織学的検査では雌雄の肝、腎、甲状腺及び骨髄に、検体に起因した障害性あるいは萎縮性的変化が認められた。

600ppm 投与群では、血液学的検査でヘモグロビン量、MCV、MCH 及びリンパ球比率が減少し、血小板及び好中球比率の増加が認められた。その他の変化としては、臓器重量測定の結果、雌雄で肝の対体重比が、雌で肝重量が増加した。

100ppm 投与群では、検体投与に起因する変化は認められなかった。以上に基づき最大無作用量、最小中毒量及び確実中毒量を以下のように判断した。

		雄	雌
最大無作用量	100ppm	7.00 mg/kg/日	7.72 mg/kg/日
最小中毒量	600ppm	42.3 mg/kg/日	46.8 mg/kg/日
確実中毒量	3,600ppm	257 mg/kg/日	280 mg/kg/日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

組織学的病理検査(13週)

		病変が認められた動物数											
性 別		雄				雌							
投与群 (ppm)		0	100	600	3,600	0	100	600	3,600				
組 織	検査動物数	10	10	10	7	10	10	10	3				
	病 変												
甲状腺	濾胞拡張	0	0	0	7**	0	0	0	3**				
肝	別 表 に 記 載 し た。												
腎	乳頭部浮腫	0	0	0	7**	0	0	0	3**				
	尿細管上皮好塩基化	8	9	10	7	0	0	0	3**				
	尿細管上皮色素沈着	0	0	0	7**	0	0	0	3**				
	石灰沈着	0	0	0	0	10	10	10	0**				
	リンパ球浸潤	0	0	0	6**	0	0	0	3**				
	線維化	0	0	0	7**	0	0	0	3**				
	尿細管管腔拡張	0	0	0	7**	0	0	0	3**				
	好酸体	10	10	10	0**	0	0	0	0				
	蛋白円柱	2	0	0	7**	0	0	0	3**				
	移行上皮細胞過形成	0	0	0	7**	0	0	0	3**				
胸 腺	萎 縮	0	0	0	6**	0	0	0	1				
唾 液 腺	萎 縮	0	0	0	6**	0	0	0	2*				
副 腎	空 胞 化	10	10	10	0**	0	0	0	0				
骨 髄	造 血	0	0	0	5**	0	0	0	0				
精 囊	萎 縮	0	0	0	4	/							
子 宮	萎 縮									0	0	0	3**
膣	萎 縮									0	0	0	3**
卵 巢	萎 縮									0	0	0	2*

*;P≤0.05、**;P≤0.01 で統計学的有意差を示す(Fisher 正確確率検定法)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

肝の組織学的病理検査(13週)

<雄>

投与群 (ppm)		0			100			600			3,600		
検査動物数		10			10			10			7		
組織	病変程度 病変	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		肝	小肉芽巣	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1
線維化	0		0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
胆管増生	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	1**
肝横隔面結節	0		0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0

<雌>

投与群 (ppm)		0			100			600			3,600		
検査動物数		10			10			10			3		
組織	病変程度 病変	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		肝	小肉芽巣	5	0	0	6	0	0	6	0	0	2
線維化	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
胆管増生	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0**
肝横隔面結節	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*; $P \leq 0.05$, **; $P \leq 0.01$ で統計学的有意差を示す (Fisher 正確確率検定法)。

検定は、各病変数の合計で行なった。 病変程度: 1; 軽度、2; 中等度、3; 重度

3) マウスを用いた混餌投与による 90 日間反復投与経口毒性試験 (資料 12)

試験機関: (財) 食品農医薬品安全性評価センター (GLP 対応)

報告書作成年: 1990 年

検体純度: %
試験動物: B6C3F₁マウス 1 群雌雄各 10 匹 開始時 5 週齢
開始時体重 雄; 19.7g~22.2g 雌; 16.6g~19.6g
投与期間: 13 週間 (1988 年 8 月 19 日~1988 年 11 月 18 日)
投与方法: 検体を基礎飼料に 0、100、400、1,600、6,400 及び 25,600ppm の濃度で混入し、13 週間にわたって自由に摂取させた。検体添加飼料は 2 週間に 1 回調製し、冷蔵庫に保管した。

用量設定根拠:

投与用量は、マウスを用いた急性経口毒性試験(資料番号 2)及びラットを用いた 90 日間反復経口投与試験(資料番号 11)の薬量設定試験の結果を参考にして設定した。すなわち、マウスの急性経口毒性試験では、雌雄共 5,000 mg/kg で中毒例、死亡例共に観察されず、ラット同様低毒性であった。0、150、500、1,500 及び 5,000ppm を設定したラットの薬量設定試験では、1,500ppm 以上の群で臓器重量に影響が認められた。急性毒性で種差が明確でないことから、マウスを用いた本試験ではラットより広い範囲をカバーする必要があると考えられたため、低薬量を 100ppm とし、公比 4 で上記の投与用量を設定した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率;

一般状態及び生死を毎日 2 回観察した。

雌雄共対照群を含む全ての試験群で死亡例は認められなかった。

25,600ppm 投与群雄で、投与後 1 から 3 週の間には痂削及び立毛が 1 例に見られたが、投与第 4 週以降には回復した。雄のその他の群及び雌の各試験群では、異常を示す動物は観察されず、検体投与による影響は認められなかった。

体重変化;

投与開始から投与終了時迄毎週 1 回測定した。

25,600ppm 投与群雄で投与後 1 週から投与終了時まで、体重増加が僅かに抑制された。投与終了時の対照群に対する平均体重の減少率は 5.7%であった。また、同群雌では平均体重が投与後 3、4 及び 6 週に対照群に比較して僅かに減少した。

6,400ppm 投与群雄では各週の平均値には統計学的に有意な差は認められなかったが、13 週間の体重増加量は対照群に比較して僅かに減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

その他の試験群では、ほとんどの週で対照群と差がなく、検体投与による影響は認められなかった。

飼料摂取量及び飼料効率;

飼料摂取量は毎週 1 回給餌した残量を測定し、1 週毎の飼料摂取量を算出した。飼料効率(%)は体重と飼料摂取量に基づいてコンピューターで算出した。飼料摂取量は 400ppm 以上の投与群雄で、投与後 9、11、12 及び 13 週に対照群と比較して増加した。同群雌では対照群に比較して減少し、統計学的に有意な差を示した週も散見されたが、いずれの変化も薬量に related したものではなかった。

飼料効率は 6,400 及び 25,600ppm 投与群の雄で 13 週間の平均値が対照群に比較して僅かに低下した。しかし、その他の投与群の雄及び雌の全ての投与群では、統計学的に有意な差を示した週もあったが、薬量相関性及び継続性のある変化ではなかった。

検体摂取量;

体重、飼料摂取量及び飼料中設定濃度から算出した 1 日当たりの平均検体摂取量は、次の通りであった。

投与量 (ppm)		100	400	1,600	6,400	25,600
平均検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	16.5	67.5	273	1,116	4,576
	雌	20.5	78.8	322	1,273	5,295

血液学的検査;

投与終了時の全生存動物について約 16 時間絶食させた後、エーテル麻酔し、開腹後腹部大動脈から採血し、以下の項目について測定した。

白血球数(WBC)、赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、
ヘマトクリット値(HCT)、平均赤血球容積(MCV)、
平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、
血小板数(PLT)、白血球百分率。

対照群との間で、統計学的に有意な差が認められたのは、次頁の表の通りであった。

雄では、100ppm 以上の投与群で白血球が減少し、400ppm 以上の投与群で血小板数が増加したが対照群の変動幅及び背景データ(背景データは本報告書に添付)との比較から、白血球数の減少は 1,600ppm 以上の群で、また血小板数の増加は、25,600ppm 投与群でのみ検体投与による影響と判断された。その他 1,600ppm 以上の投与群で MCH、MCHC の減少が認められたが、軽微で、対照群の変動範囲内であった。

雌では、1,600ppm 以上の投与群で血小板数が増加したが、1,600ppm 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丸紅株式会社にある。

与群の変化は対照群の変動の範囲内であった。25,600ppm 以上の投与群ではヘモグロビン量、MCH 及び MCHC に僅かな減少が認められた。その他、群により対照群との間に統計学的に有意差の認められた項目もあったが、いずれも軽微で、薬量相関性のない変化や対照群の変動の範囲内の変化であった(背景データ:本報告書に添付)。

性別	雄					雌				
	100	400	1,600	6,400	25,600	100	400	1,600	6,400	25,600
HCT						↑ 103				
HGB										↓ 94
RBC						↑ 102				
MCV								↑ 102		
MCH			↓ 99	↓ 99	↓ 99	↓ 99	↓ 98		↓ 97	↓ 96
MCHC			↓ 99		↓ 98	↓ 98	↓ 98	↓ 97	↓ 97	↓ 96
PLT		↑ 111	↑ 115	↑ 113	↑ 130			↑ 108	↑ 114	↑ 111
WBC	↓ 68	↓ 56	↓ 36	↓ 28	↓ 28					↓ 67

↑、↓: P ≤ 0.05、↑、↓: P ≤ 0.01、↑、↓: P ≤ 0.001 で統計学的に有意差を示す(Student の t 検定)。表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

血液生化学検査;

血液生化学検査は、血液学的検査に用いた血液の血清を下記の項目について測定した。

総蛋白、アルブミン(Alb)、血糖(Glu)、総コレステロール(T.Cho)、尿素窒素(BUN)、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、アルカリフォスファターゼ(ALP)。

対照群との間に統計学的に有意差の認められた項目を次頁に示した。

25,600ppm 投与群雌で総蛋白及び ALP 活性の増加、尿素窒素の減少が認められた。6,400ppm 以上の投与群雌雄で総コレステロールが減少し、1,600ppm 以上の投与群雄で尿素窒素及び ALP 活性の増加が認められた。なお、雌の全ての投与群でアルブミンの増加が認められたが、これは対照群の値が低い(2.62 ± 0.11、背景データ; 3.15 ± 0.43g/dl、背景データは本報告書に添付)ことに起因した。

その他雌雄共、群により対照群との間に統計学的に有意差が認められた検査項目があったが、薬量に相関性のない変化や、対照群の変動範囲内の変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

性別	雄					雌				
	100	400	1,600	6,400	25,600	100	400	1,600	6,400	25,600
Glu		↑111								
T. Cho				↓76	↓71		↑107		↓87	↓78
ALP			↑110	↑121	↑137					↑117
BUN			↑123		↑129					↓85
GOT		↓88	↓85			↑114				
GPT			↓83							
総蛋白						↑103				↑103
Alb			↓98			↑107	↑108	↑112	↑108	↑106

↑、↓: P ≤ 0.05、↑、↓: P ≤ 0.01、↑、↓: P ≤ 0.001 で統計学的に有意差を示す(Student の t 検定)。
表中の数字は対照群に対する変動率(%)を示す。

尿検査;

試験終了時に下腹部圧迫法により尿を採取し、下記の項目について検査した。

pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン。

全投与群の雌雄共、全ての項目について対照群との間に差が認められなかった。

眼科学的検査;

対照群及び25,600ppm群の全生存動物について投与直前及び投与終了時にハロゲン検眼鏡を用いて角膜、虹彩及び水晶体について検査した。

いずれの検査時期においても、検査した全動物に異常は認められなかった。

臓器重量;

投与終了時に全生存動物をエーテル麻酔後放血屠殺し、脳、心、肝、腎、脾、副腎、精巣及び卵巣の重量を測定し、対体重比を算出した。

対照群と比較して統計学的に有意差の認められたのは、次頁の表の通りであった。

臓器重量は、25,600ppm投与群の雌雄で腎重量の減少及び同群雌に副腎重量の減少が認められた。また、1,600ppm以上の投与群雌雄で肝重量が増加した。その他雌雄共対照群との間に統計学的有意差の認められた臓器があったが、薬量相関性のない変化や、対照群の変動範囲内の変化であった。

対体重比は、25,600ppm投与群の雌で腎及び副腎の対体重比が減少した。

1,600ppm以上の投与群雌雄で肝の対体重比の増加が認められた。

400ppm投与群雌で肝の対体重比が減少したが、対照群の変動範囲内の変化であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

その他雌雄共に、対照群との間に統計学的有意差の認められた臓器があったが、薬量相関性のない変化や、対照群の変動範囲内の変化であった。

性 別		雄					雌				
投与群 (ppm)		100	400	1,600	6,400	25,600	100	400	1,600	6,400	25,600
体 重		32.8 104	32.1 102	31.2 99	29.8 95	29.7 ↓ 94	27.5 103	28.5 ↑ 107	27.6 103	27.9 104	26.4 99
脳	絶対重量					↓ 98					
	対体重比	↓ 94						↓ 95		↓ 94	
心	絶対重量					↓ 100					
	対体重比	↓ 91						↓ 95		↓ 94	
肝	絶対重量			↑ 106	↑ 113	↑ 124			↑ 109	↑ 119	↑ 128
	対体重比	↓ 95		↑ 107	↑ 119	↑ 131		↓ 94	↑ 105	↑ 114	↑ 129
腎	絶対重量					↓ 93					↓ 94
	対体重比						↓ 95	↓ 90			↓ 95
脾	絶対重量							↓ 88		↓ 88	↓ 88
	対体重比						↓ 90	↓ 84		↓ 86	↓ 90
副腎	絶対重量			↓ 80							↓ 80
	対体重比			↓ 81							↓ 79
精巣 / 卵巣	絶対重量				↓ 95	↓ 95			↑ 108		
	対体重比	↓ 93									

↑↓ : $P \leq 0.05$ 、↑↓ : $P \leq 0.01$ 、↑↓ : $P \leq 0.001$ で統計学的有意差を示す (Studentの t 検定)。
表中体重の矢印の上の数字は実際重量、その他は対照群に対する変動率 (%) 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丸紅株式会社にある。

病理学検査;

投与終了時の全生存動物をエーテル麻酔後放血屠殺して解剖し、以下の組織及び臓器について肉眼的観察及び組織学的観察を行った。

脳、脊髄、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脾、胸骨(骨髄を含む)、リンパ節(腸間膜)、心、大動脈(胸部)、唾液腺(顎下腺)、食道、胃(前胃、腺胃)、肝、胆嚢、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肺(気管を含む)、腎、膀胱、精巣、前立腺、卵巣、子宮及び性器付属器、眼、筋肉(大腿筋)、皮膚、雌の乳腺、肉眼的病変部。

肉眼的病理検査;

検体投与の影響として 25,600ppm 投与群の雄では全例で、雌では 10 例中 3 例に肝の褐色化が観察された。

組織学的病理検査;

統計学的に有意差が認められた病理所見及び標的器官である肝の全ての病理所見を以下の表に示した。

雄の 6,400ppm 投与群で、5 例及び 25,600ppm 投与群の全例の肝に肝細胞の腫脹を伴う軽い変性が、更に 25,600ppm 投与群雄で肝細胞核の大小不同性亢進を示すものが 2 例、肝細胞壊死や胆管増生を伴うものが 3 例あった。

雌では 25,600ppm 投与群の 7 例に肝細胞の軽い変性が認められた。

また、雄では腎尿細管上皮の脂肪出現が薬量が高くなるにつれて減少した。これらの変化は、いずれも検体投与による影響と考えられた。その他の変化は群間に差は無いが、単発性に近い少数例の発生にとどまるものであった。

組織学的病理検査(13 週)

性 別		病 変 が 認 め ら れ た 動 物 数											
		雄						雌					
投 与 群 (ppm)		0	100	400	1,600	6,400	25,600	0	100	400	1,600	6,400	25,600
組 織	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	病 変												
肝		別 表 に 記 載 し た											
腎	脂肪変性	10	10	10	9	3**	0**	0	1	2	0	0	0
	好塩基化	2	2	2	3	2	4	0	0	0	0	0	0
副 腎	被膜下紡錘形細胞増生	9	7	6	7	4*	5	10	10	10	10	10	10
	x 域退縮	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
脾	色素沈着	1	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
胃	腺腔拡張	0	2	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0

*:P≤0.05、**:P≤0.01 で統計学的有意差を示す (Fischer 正確確率検定法)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

肝の組織学的病理検査(13週)

<雄>

投与群 (ppm)		0			100			400			1,600			6,400			25,600		
検査動物数		10			10			10			10			10			10		
組織	病変	病変程度																	
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
肝	細胞壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	脂肪化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細胞変性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0*	10	0	0**
	色素沈着	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	小肉芽巣	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	細胞核大小不同性亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	胆管増生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0

<雌>

投与群 (ppm)		0			100			400			1,600			6,400			25,600		
検査動物数		10			10			10			10			10			10		
組織	病変	病変程度																	
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
肝	細胞壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	脂肪化	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細胞変性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0**
	色素沈着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	小肉芽巣	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0	0	1	0	0
	細胞核大小不同性亢進	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	胆管増生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$ で統計学的有意差を示す (Fisher 正確確率検定法)。

検定は、各病変数の合計で行なった。病変程度:1;軽度、2;中等度、3;重度

結論: 25,600ppm 投与群では雄に体重増加抑制傾向が認められ、血液学的検査では雌雄共血小板数の増加、雄で白血球数の減少が認められた。血液生化学検査では雌雄共総コレステロールの減少、ALP 活性の増加、更に雄では尿素窒素の増加が、雌では総蛋白の増加、尿素窒素の減少が認められた。臓器重量測定では雌雄共肝重量及び対体重比が増加し、更に雄では腎重量が、雌では腎及び副腎重量、対体重比が減少した。病理学検査の肉眼的観察では雌雄の肝に褐色化が、組織学的には雌雄に軽い腫張を伴う肝細胞の変性が、雄では更に肝細胞壊死と胆管増生、核の大小不同性亢進を示すものが観察された。

6,400ppm 投与群では、血液学的検査で雄に白血球の減少、雌に血小板数の増加が認められ、血液生化学検査で雌雄に総コレステロールの減少、更に雄では ALP 活性及び尿素窒素の増加が認められた。臓器重量測定では雌雄共に肝重量及び対体重比が増加した。病理学検査では雄の 5 例に肝細胞の軽い腫張を伴う変性が観察

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

された。

1,600ppm 投与群では血液学的検査で雄に白血球の減少、血液生化学検査で雄にALP活性及び尿素窒素の増加が認められた。また、臓器重量測定では、肝重量及び対体重比が増加した。

400ppm 及び 100ppm 投与群では対照群との間に明確な差ほどの試験項目にも認められなかった。

以上の結果から最大無作用量及び最小中毒量を以下のように判定した。

		雄	雌
最大無作用量	400ppm	67.5 mg/kg/日	78.8 mg/kg/日
確実中毒量	6,400ppm	1,116 mg/kg/日	1,273 mg/kg/日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

(7) 21 日間反復経皮投与経毒性

(資料 13)

試験未実施

急性経皮毒性試験成績からの考察で対応。

ラットを用いた急性経皮毒性試験では、全投与動物に異常な行動及び中毒症状は認められておらず、剖検所見においても異常は認められなかった。これらの結果からクミルロンは強い経皮毒性を有する恐れはないと判断されることから、試験を省略しても良いと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

(8) 90日間反復吸入毒性

(資料 14)

試験未実施

急性吸入毒性試験成績の考察から対応。

ラットを用いた急性吸入毒性試験では、一般状態の異常として暴露当日の雌雄に陰部の濡れが観察されたが、翌日までには回復した。また、暴露当日に雌 1 例に左側眼裂狭小が、暴露 2 日後の雌 2 例に鼻吻部被毛の汚れが認められたが、何れも当日あるいは翌日に回復していた。また、剖検所見においても全く異常は認められておらず、クミルロンの吸入毒性は極めて弱いと判断されたことから、反復投与による吸入毒性を考慮する必要はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

(9) 反復経口投与神経毒性試験 (資料 15)
試験未実施

90 日間反復経口投与毒性試験及びその他の毒性試験成績の考察から対応。

90 日間反復経口投与毒性試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅しており、またその他の試験においても神経毒性を示す所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。

下記に 90 日間反復経口毒性試験及びその他の試験における神経毒性に関連する観察内容の概要、及び、急性神経毒性に対する総合考察を記載する。

1. ラットを用いた 90 日間反復経口投与試験からの考察

ラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験において、以下のとおり致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(1) 詳細な状態の観察項目

① 外観

致死量以下の用量で「外観」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。
(報告書 13 頁、抄録 85 頁に記載)

② 体位 及び ③ 姿勢

報告書への記載はない。

しかし、試験実施機関の標準操作手順では、異常動物の検出の一部として姿勢を含めた体位の観察を行なうことになっており、異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書には体位について何らの記載もないことから、致死量以下の用量で「体位」及び「姿勢」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

④ 自律神経系

致死量以下の用量で「自律神経系」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。
(報告書 13 頁、抄録 85 頁に記載)

⑤ 歩行の異常

報告書への記載はない。

しかし、試験実施機関の標準操作手順では、異常動物の検出の一部として「運動」の観察を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

行なうことになっており、「歩行の異常」はこの「運動」の観察に含まれている。異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書には「歩行の異常」について何らの記載もないことから、致死量以下の用量で「歩行の異常」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

⑥ 動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応

報告書への記載はない。

しかし、実施機関で標準操作手順のチェックリストに従って動物を観察する際に動物を手に乗せて観察するため、「取り扱い操作や環境刺激に対する反応」に異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書に何ら本項目に関して記載がないことから、致死量以下の用量では「動物の取り扱いや環境刺激に対する反応」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

⑦ 神経系及び異常行動

報告書への記載はない。

しかし、実施機関で標準操作手順のチェックリストに従って動物を観察する際に動物を手に乗せて観察するため、「神経系及び異常行動」に異常があれば報告書に記載されることになるが、本報告書に何ら本項目に関して記載がないことから、致死量以下の用量では「神経系及び異常行動」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(2) 機能検査項目

① 自発運動量

致死量以下の用量で「自律神経系」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。
(報告書 13 頁、抄録 85 頁に記載)

(3) 病理組織学的検査項目

① 脳

報告書への記載はない。

しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところである。またラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験では致死量以下の用量で「脳」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(ラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験、報告書 23、27、32 頁に記載、抄録には異常がないため記載省略。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

② 坐骨神経

報告書への記載はない。

しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、本報告書には記載がないことから、致死量以下の用量で「坐骨神経」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

③ 骨格筋

報告書への記載はない。

筋肉として大腿筋を検査している。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、記載がないことから、致死量以下の用量で「骨格筋」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

④ 脊髄

報告書への記載はない。

しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、記載がないことから、致死量以下の用量で「脊髄」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

⑤ 眼球及びその付属器

報告書への記載はない。

しかし検査項目に入っている。異常があれば本報告書に記載されるところであるが、記載がないことから、致死量以下の用量で「眼球及びその付属器」に特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(1) その他の検査項目

① 脳重量

致死量以下の用量で「脳重量」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(報告書 15 頁、抄録 89 頁に記載)

② 眼科学的検査

致死量以下の用量で「眼科学的検査」に関して特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(報告書 15 頁、抄録 89 頁に記載)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

2. その他の試験からの考察

1 年間の反復経口投与試験等において、以下のとおり致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(1) 12ヶ月慢性毒性試験（イヌ；1991年）

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

(2) 104週慢性毒性/発がん性併合試験（ラット；1992年）

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

(3) 104週間発がん性試験（マウス；1992年）

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

(4) 繁殖試験（ラット；1991年）

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

3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

現在の科学的知見において、本農薬クミルロンは、既知神経毒性物質との化学構造の相関性はない。

以上のことから本剤の反復経口投与神経毒性試験は省略しても問題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丸紅株式会社にある。

(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性

(資料 16)

試験未実施

急性経口毒性試験、長期反復投与毒性試験等からの考察で対応。

急性経口毒性試験、長期反復投与毒性試験成績等から、本剤はコリンエステラーゼ活性阻害性を有さないと考えられ、また遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との構造上の相関はない。

以上の理由から本剤の28日間反復投与遅発性神経毒性試験は省略できると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

1) ビーグル犬を用いた強制経口投与による慢性毒性試験

(資料 17)

試験機関: (財) 残留農薬研究所 (GLP 対応)

報告書作成年: 1991 年

検体純度: %
試験動物: ビーグル犬 1 群雌雄各 5 頭 開始時 6-7 ヶ月齢
開始時体重 雄; 7.3 kg~9.1 kg 雌; 6.6 kg~9.1 kg
投与期間: 52 週間(雄; 1989 年 10 月 24 日~1990 年 10 月 22 日雌; 1989 年 11 月 1 日~1990 年 10 月 30 日)
投与方法: 検体をゼラチンカプセルに封入し、1、10 及び 100 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回給餌後に 52 週間にわたって毎日強制経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを投与した。

用量設定根拠:

0、3、30 及び 300 mg/kg/日の用量で同機関で実施した 90 日間反復経口投与毒性試験(資料番号 10)の結果に基づいて決定した。

すなわち 300 mg/kg/日投与群で雌雄共に体重増加抑制、ALP 活性の上昇、雄でトリグリセライド及び総ビリルビン値の上昇が認められ、更に肝重量が増加した。病理組織学的検査においては、雌雄共に全例に小葉中心性肝細胞腫大が観察された。

30 mg/kg/日投与群では、雌雄共に MCHC が、また、雄の肝重量が増加し、小葉中心性肝細胞腫大が、雄 3 例、雌 4 例に観察された。

3 mg/kg/日投与群では雌雄共に特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最高投与用量を 100 mg/kg/日とし、以下公比 1/10 で 3 濃度設定した。各動物への毎日の投与量は、各用量群の設定投与量 (mg/kg/日) に最新の体重を乗じて算出した。

試験項目及び結果:

一般状態及び死亡率;

投与期間中毎日動物の一般状態を観察し、更に少なくとも毎週 1 回詳細な臨床観察を実施した。また、死亡の有無を投与期間中毎日確認した。

雌雄共に、いずれの投与群においても検体に関連づけられるような症状の発現は認められなかった。100 mg/kg/日投与群雌の 1 例に投与第 16 週より食思不振が認められ、投与を中止したが、その後衰弱、呼吸異常音、自発行動量の減少等が認められたため予後不良と判断して第 17 週において切迫屠殺した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

また 1 mg/kg/日投与群の雄の 1 例が投与第 23 週に死亡が確認された以外には死亡例は認められなかった。

体重変化;

全動物について、投与開始前 1 回(投与開始日)及び投与開始後第 14 週までは毎週 1 回、16 週以後は 4 週毎に体重を測定し、各用量群の平均体重を測定し週毎に算出した。

雌雄共いずれの投与群においても対照群と比較して統計学的に有意な増減は認められなかった。

飼料摂取量;

1 日 1 頭当たり 250g の飼料を与え、全動物について投与開始後第 14 週までは毎週、16 週以後は 4 週毎に 1 週間毎日飼料摂取量を測定し、各個体の週毎の平均飼料摂取量を算出した。この値から各用量群の 1 日 1 頭当たりの平均飼料摂取量を測定し週毎に算出した。

いずれの投与群においても投与期間を通じて対照群と同様に、雌では給餌量のほぼ全量を、雄では全量(250g)を摂取していた。

眼科学的検査;

全動物について、投与開始前ならびに投与開始後第 26 及び 52 週に、眼底検査を含む眼の臨床検査を行った。

100mg/kg/日投与群の雄の 1 例で投与第 26 と 52 週に、また 1mg/kg/日投与群の雄の 1 例で投与第 52 週に、角膜の混濁が観察されたが、発生頻度には投与用量との相関がないことから検体投与に起因する変化とは考えられなかった。また、その他の動物では全く異常は認められなかった。

尿検査;

全動物について、投与開始前ならびに投与開始後第 26 及び 52 週に採尿トレーを用いて 24 時間尿を採取して尿量を測定し、尿沈渣を鏡検した。

また、採尿トレーで別に採取した新鮮尿について、尿色、尿比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン及びビリルビンを測定した。

100mg/kg/日投与群の雌の投与第 52 週に尿沈渣中に赤血球もしくは白血球を排出する個体が増加する傾向が認められたが、これらの個体の泌尿器系における組織病理学的検査において何ら変化が認められなかったことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

雄の投与第 26 及び 52 週、雌の投与第 26 週の検査では、いずれの投与群においても各検査項目に特記すべき変化は認められなかった。

血液学的検査;

全動物について、投与開始前ならびに投与開始後第 26 及び 52 週に、動物を一晩絶食させた後、無麻酔下で保定し、ヘパリン処理を施した注射筒を用い

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

て橈側皮静脈より採血し、以下の項目について測定した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積、
平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、
白血球数、ディファレンシャルカウント。

投与第 26 及び 52 週の検査では、雌雄共いずれの投与群においても各検査項目に特記すべき変化は認められなかった。

血液生化学検査；

全動物について、投与開始前ならびに投与開始後第 26 及び 52 週に、血液学的検査用に採取した血液のヘパリン加用血漿を用いて、次の項目について測定した。

尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール、総蛋白、アルブミン、
グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖、総ビリルビン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、トリグリセライド、
γ-グルタミルトランスぺプチターゼ、クレアチンフォスフォキナーゼ、
Na、K、Cl、Ca、P。

対照群と比較して統計学的に有意差の認められた検査項目は次の通りであった (背景データは本報告書に添付した)。

性 別	雄						雌					
	1		10		100		1		10		100	
投与群(mg/kg/日)												
検査時期 (週)	26	52	26	52	26	52	26	52	26	52	26	52
GPT						↓73						
ALP												↑195
Ca		↑104										

↑、↓: $P \leq 0.05$, ↑ $P \leq 0.01$ で統計学的に有意差を示す (Dunnett の多重比較法)。

表中の数字は対照群に対する変動率 (%) を示す。

100mg/kg/日投与群の雄で GPT 値が投与第 52 週に対照群と比較して統計学的に有意に低下したが、投与開始前及び投与第 26 週の値と比べて殆ど差はなく、且つ対照群及び他の投与群においてもその推移に大きな変化はないことから、検体投与に起因するものではないと判断された。

1mg/kg/日投与群の雄の Ca 値が、投与第 52 週に対照群と比較して統計学的に有意に上昇したが、投与用量との相関性がないことから、偶発的变化と判断した。

100mg/kg/日投与群の雌雄で、全検査期間を通じて ALP 活性が対照群に比

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

較して上昇する傾向があり、特に雌の投与第 52 週の検査時では統計学的に有意な差が認められた。本変化は、ビーグル犬を用いた 90 日間反復経口投与毒性試験においても認められており、投与期間を通じて高い値で推移していることから、検体投与に起因する変化と判断した。上記の投与群のその他の検査項目及び 10mg/kg/日投与群の雄雌、1mg/kg/日投与群の雌では特記すべき変化は認められなかった。

臓器重量;

投与期間終了後の計画殺動物全例をネンブタール®(ペントバルビタールナトリウム注射液)の麻酔下で総頸動脈を切断し、放血屠殺後次の臓器の重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心、肝、膵、脾、腎、副腎、精巣、卵巣、前立腺。

対照群と比較して統計学的に有意な差のあったのは次の通りであった。

性 別		雄			雌		
投与群(mg/kg/日)		1	10	100	1	10	100
体重		11.7	11.4	11.1	11.2	11.3	11.0
		106	104	101	103	104	101
肝	絶対重量			↑ 136			
	対体重比			↑ 134			

↑ P ≤ 0.01 で統計学的に有意差を示す(Scheffe の多重比較法)。

表中の体重の上の数字は実際重量、その他は対照群に対する変動率(%)を示す。

100mg/kg/日投与群雄の肝重量及び対体重比が対照群に比べ有意に増加し、同群雌においても増加の傾向が認められた。

上記以外はいずれの投与群の雌雄共検体投与による変化は認められなかった。

病理学検査;

最終投与終了後の計画殺動物及び切迫殺動物をネンブタール®の麻酔下で総頸動脈を切断し、放血屠殺して解剖し、以下の組織及び臓器について肉眼的観察及び組織学的観察を行った。死亡動物については、発見後速やかに解剖し同様の観察を行った。

脳(大脳、小脳、橋、延髄を含む 8 ヶ所)、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾(2 ヶ所)、骨・骨髄(胸骨、肋骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心(3 ヶ所)、大動脈、唾液腺、食道、胃(噴門部、胃底部、幽門部)、肝(3 ヶ所)、胆嚢、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺(主要気管支を含む3ヶ所)、腎(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、卵巣(両側)、子宮(角部・体部・頸管部)、眼球(視神経を含む、両側)、骨格筋(大腿筋)、皮膚(腰背部)、雌の乳腺(腹部)、肉眼的異常部位。

肉眼的病理検査;

100mg/kg/日投与群で計画殺動物の雄4例(80%)、雌2例(50%)に検体投与に起因すると考えられる肝の暗調化が認められた以外は、いずれの投与群においても検体投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

組織学的病理検査;

主に観察された組織学的病理検査成績を、次表にまとめた。100mg/kg/日投与群の計画殺動物の雌雄全例及び10mg/kg/日投与群の雄の全例、雌の3例(60%)に検体投与に起因した小葉中心性肝細胞腫大が認められた。

100mg/kg/日投与群の途中切迫殺された雌に食道・気管・頸部リンパ節の膿腫及び肺胸膜炎が、また、1mg/kg/日投与群の途中死亡例の雄では肺のうっ血性水腫と出血、腸のリンパ濾胞過形成が認められたが、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。

以上のように、100mg/kg/日投与群における肝の暗調化、肝重量の増加あるいは増加傾向及び小葉中心性肝細胞腫大が認められたこと、また、10mg/kg/日投与群雌雄にも小葉中心性肝細胞腫大が認められたことより、クミルロンのビーグル犬における標的器官は肝であることが判明した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

組織学的病理検査(52週) ()内は、死亡及び切迫屠殺動物

性 別		病 変 が 認 め ら れ た 動 物 数							
		雄				雌			
投 与 群 (mg/kg/日)		0	1	10	100	0	1	10	100
組 織	検査動物数	5	4(1)	5	5	5	5	5	4(1)
	病 変								
胸 腺	うっ血	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
	出 血	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
	萎 縮	0	0(0)	0	0	0	0	1	0(1)
リンパ節	頸部 膿瘍	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
	腸間膜 形質細胞過形成	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
	腸間膜 血液吸入	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
脾	白髄萎縮	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
	形質細胞過形成	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
	褐色色素沈着増加	1	2(0)	0	0	1	3	1	1(0)
	うっ血	2	1(1)	1	0	1	1	0	0(0)
	カディ-カメ結節	1	0(0)	1	2	1	2	0	0(0)
気 管	膿瘍	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
肺	動脈炎	2	1(0)	0	2	0	1	0	1(0)
	気管支肺炎	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(1)
	うっ血性水腫	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
	出 血	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
	胸膜炎	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
	水 腫	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
下顎腺	単核細胞集簇	1	0(0)	2	0	0	1	0	1(0)
	線維化	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
耳下腺	単核細胞集簇	0	2(0)	1	1	0	0	1	1(0)
食 道	膿瘍	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(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丸紅株式会社にある。

組織学的病理検査(52週) ()内は、死亡及び切迫屠殺動物

性 別		病 変 が 認 め ら れ た 動 物 数							
		雄				雌			
投 与 群 (mg/kg/日)		0	1	10	100	0	1	10	100
組 織	検査動物数	5	4(1)	5	5	5	5	5	4(1)
	病 変								
十二指腸	腺嚢胞化	3	0(0)	1	1	0	0	1	0(1)
	うっ血	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
空 腸	腺嚢胞化	0	0(0)	1	0	2	0	0	0(0)
回 腸	リンパ濾胞過形成	0	0(1)	0	0	0	0	0	1(1)
盲 腸	リンパ濾胞過形成	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
結 腸	リンパ濾胞過形成	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
肝	小葉中心性肝細胞腫大	0	0(0)	5*	5*	0	0	3	4*(0)
脾 臓	外分泌細胞 α - α 顆粒減少	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
	外分泌細胞萎縮	0	0(0)	0	0	0	0	0	0(1)
腎	単核細胞集簇	1	1(0)	0	2	0	0	0	0(0)
	腎盂炎	0	0(1)	0	0	0	0	0	0(0)
精 巢	管萎縮	2	0(0)	0	0				
前立腺	単核細胞集簇	0	2(0)	0	1				
卵 巢	黄体嚢胞					0	0	0	2(0)
下垂体	前葉嚢胞	2	2(0)	0	2	2	1	2	1(0)
甲状腺	C細胞濾胞上皮細胞過形成	1	0(0)	0	0	1	2	2	2(0)

*: $P \leq 0.01$ で統計学的有意差を示す(Fisherの直接確率計算法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸紅株式会社にある。

結論： 試験期間中に死亡した動物の死因は明らかに出来なかったが、100mg/kg/日投与群雌(No.37)の死因は食道の穿孔、また1mg/kg/日投与群雄(No.10)の死因は呼吸器と消化管における障害が考えられ、これら2例では標的臓器である肝には何ら病変が観察されていないことから、その死亡は検体投与に起因するものとは考えられなかった。

検体投与に起因した変化としては、100mg/kg/日投与群の雌雄で認められたALP活性の上昇、肝の暗調化、肝重量の増加あるいは増加傾向、小葉中心性肝細胞腫大及び10mg/kg/日投与群の雌雄の組織学的病理検査で観察された、肝の小葉中心性肝細胞腫大が上げられる。

また、1mg/kg/日投与群では検体投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果から検体のビーグル犬を用いた12ヶ月間慢性経口毒性試験における最大無作用量、最小中毒量及び確実中毒量を以下の様に判定した。

	雄	雌
最大無作用量	1mg/kg/日	1mg/kg/日
最小中毒量	10mg/kg/日	10mg/kg/日
確実中毒量	100mg/kg/日	100mg/kg/日