

A. 原体を用いた試験成績

1. 急性毒性

(1) CYAP 原体のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1969年

検体：CYAP 原体

純度：

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 4~8 匹、5 週齢

観察期間：7 日間

試験方法：10 用量の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield & Wilcoxon の方法により LD₅₀ を求めた。

投与方法：検体はソルポール 2020 (0.25%) およびキシレン (0.5%) により乳剤を作製し、所定濃度に精製水で希釈して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

観察・検査項目：中毒症状の観察を 7 日間行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 10、25、50、100、200、400、 600、800、1000、1200 雌 10、25、50、100、200、400、 600、800、1000、2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 580 (450~748) 雌 610 (480~775)
死亡開始時間および 終了時間	投与日から開始 投与後 3 日に終了
症状発現時間および 消失時間	投与後約 30 分から発現 投与後 3 日に消失
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)	雄 200 雌 400

中毒症状としては、25 mg/kg 群では軽度の線維性攣縮がみられた。投与量を増すにしたがい振戦、歩行失調、流涎、立毛、鼻血、眼球突出、血涙および呼吸困難などが認められた。

(2) CYAP 原体のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 1-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検 体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、7 週齢、体重；雄 198～219 g、雌 150～169 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：7 用量の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield and Wilcoxon の方法により LD₅₀ を求めた。

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し、投与液量は 5 mL/kg の割合で単回経口投与した。対照群にはコーンオイルを同様に投与した。投与前約 20 時間および投与後 4 時間絶食させた。

観察・検査項目：症状観察は、投与後 4 時間までは経時的に、その後は毎日 1 回行なった。体重測定は投与直前、投与後 7 および 14 日に実施した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検し、組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	0、2.5、25、250、600、750、950、1200
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 710 (592～852) 雌 730 (597～892)
死亡開始時間 および終了時間	投与後 1 日から開始 投与後 6 日に終了
症状発現時間 および消失時間	投与後 10 分から発現 投与後 7 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2.5
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 250

中毒症状としては、自発運動減少、筋攣縮、四肢麻痺、失調性歩行、呼吸困難、呼吸不規則、立毛、眼球突出、流涙、縮瞳、流涎および尿失禁が認められた。体重では、雄の 25 mg/kg 以上および雌の 250 mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制が認められた。

剖検では、検体投与による影響として死亡動物において胃に褐色点および褐色液貯留が認められたが、生存動物では異常は認められなかった。

(3) CYAP 原体のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1-3)

文献名：応用薬理 (1971) 5(1) 75-86

検 体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：dd 系雄マウス、体重；約 20 g、1 群雄 10 匹

観察期間：72 時間

試験方法：5 用量 (500~3000 mg/kg) の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield & Wilcoxon 法を用いて LD₅₀ 値を求めた。

投与方法：検体を Sorpol 1200 で乳化した後、所定量を注射用生理食塩水で希釈し、投与液量を 10 mL/kg として経口投与した。

観察・検査項目：全ての群において、生死を 72 時間観察した。また、1000 mg/kg 群については生死および一般症状を 72 時間観察した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	0、500、800、1000、2000、3000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	1000 (670~1450)
死亡開始および 終了時間 ¹⁾	投与後 160 分から開始
症状発現および 消失時間 ¹⁾	投与後 30 分から発現
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	500

中毒症状としては、1000 mg/kg 群では、投与後 30 分より自発運動減少、呼吸促進がみられ、投与後 60 分には呼吸困難、間代性痙攣が出現し、次に流涎、軟便、全身性振戦を呈した。投与後 160 分以後に死亡例が認められた。

申請者注¹⁾：死亡終了時間および症状消失時間の記載なし

(4) CYAP 原体のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 1-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：ICR 系マウス、6 週齢、体重；雄 26.0～32.7 g、雌 18.8～23.3 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

試験方法：7 用量の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield and Wilcoxon の方法により LD₅₀ を求めた。

投与方法：検体をコーンオイルに溶解し、投与液量は 10 mL/kg の割合で単回経口投与した。対照群にはコーンオイルを同様に投与した。投与前約 20 時間および投与後 4 時間絶食させた。

観察・検査項目：症状観察は、投与後 4 時間までは経時的に、その後は毎日 1 回行なった。体重測定は投与直前、投与後 7 および 14 日に実施した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検し、組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、25、100、500、700、1000、1400、2000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 900 (750～1080) 雌 950 (760～1190)
死亡開始時間 および終了時間	投与後 4 時間から開始 投与後 4 日に終了
症状発現時間 および消失時間	投与後 30 分から発現 投与後 4 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 100
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 700

中毒症状としては、自発運動減少、筋攣縮、振戦、間代性痙攣、四肢麻痺、失調性歩行、呼吸不規則、流涙、縮瞳、流涎、油状物の排泄および尿失禁が認められた。

体重では、異常は認められなかった。

剖検では、検体投与による影響として死亡動物において胃に褐色点および褐色液貯留が認められたが、生存動物では異常は認められなかった。

(5) CYAP 原体のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 1-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、7 週齢、体重；雄 225～252 g、雌 168～187 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：投与前日に動物の背部皮膚の剪毛を行った。剪毛した皮膚に検体を 1.59 mL/kg (2000 mg/kg) の割合で塗布 (約 30 cm²) し、サージカルテープで 24 時間閉塞した。24 時間の適用後、被験物質が残存しないように塗布面をジエチルエーテルで拭き取った。対照群は、被験物質を塗布することを除き同様に処置した。

観察・検査項目：一般症状および生死を 14 日間観察し、体重は投与直前、投与後 7 および 14 日目に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現時間 および消失時間	中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

異常症状および死亡を認めず、体重および剖検においては検体投与の影響を認めなかった。

(6) CYAP 原体のラットにおける急性腹腔内毒性試験

(資料 1-6)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1973 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、7~8 週齢、

体重；雄 260~320 g、雌 160~230 g、1 群雌雄各 8 匹

観察期間：7 日間

試験方法：10 用量の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield & Wilcoxon の方法により LD₅₀ を求めた。

投与方法：検体を 10% Tween-80 に懸濁し、10 mL/kg の割合で腹腔内に投与した。

観察・検査項目：観察を 7 日間行った。

結果：

投与方法	腹腔内
投与量 (mg/kg)	2.5、5、10、25、196、274、384、 537、750、1050
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 440 (336~576) 雌 510 (378~689)
死亡開始時間および 終了時間	投与当日から開始、 投与 5 日後に終了
症状発現および 消失時間	投与後 15 分から発現 投与後 5 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 5
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 196

中毒症状としては、10 mg/kg 群で 15~30 分より呼吸深大、筋攣縮、歩行失調、尿失禁、軽度の流涎を認め、25 mg/kg 群では一部に眼球突出、立毛などがみられたが 24 時間以内に消失した。196 mg/kg 以上の群では上記症状が著明となり、さらに全身性の運動失調、血涙を認めた。死亡は 274 mg/kg 以上の群に認められた。生存ラットの症状は 3~5 日で回復した。症状は雄に比し雌でやや長時間に亘り認められた。

(7) CYAP 原体のマウスにおける急性腹腔内毒性試験

(資料 1-7)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1973 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：dd 系マウス、6~7 週齢、体重；18~22 g、1 群雌雄各 8~16 匹 (500 mg/kg の雌のみ 16 匹)

観察期間：7 日間

試験方法：7 用量の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield & Wilcoxon の方法により LD₅₀ を求めた。

投与方法：検体を 10% Tween-80 に懸濁し、20 mL/kg の割合で腹腔内に投与した。

観察・検査項目：観察を 7 日間行った。

結果：

投与方法	腹腔内
投与量 (mg/kg)	0、130、170、220、290、 380、500、650
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 480 (387~595) 雌 500 (418~597)
死亡開始および 終了時間	2~3 時間以内から開始 2~3 時間以内に終了
症状発現および 消失時間	投与後 10 分から発現 投与後 24 時間に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 130
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 290

中毒症状としては、170 mg/kg 群で約 10 分後から 1 時間持続する軽度の歩行失調を認めた。220 mg/kg 以上の群では 10 分前後から四肢または全身性の運動失調を著明に認め、呼吸深大、流涎、流涙、筋攣縮、間代性痙攣なども認められた。死亡は 2~3 時間以内に認められ、生存マウスは 24 時間以内にほぼ回復した。中毒症状に性差はなかった。

(8) CYAP 原体のマウスにおける腹腔内毒性試験

(資料 1-3)

文献名：応用薬理 (1971) 5(1) 75-86

検 体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：dd 系雄マウス、体重；約 20 g、1 群 10 匹

観察期間：72 時間

試験方法：6 用量 (500~3000 mg/kg) の検体投与群を設け、それらの死亡率から Litchfield & Wilcoxon 法を用いて LD₅₀ 値を求めた。

投与方法：検体を Sorpol 1200 で乳化した後、所定量を注射用生理食塩水で希釈し、投与液量を 10 mL/kg として腹腔内投与した。

観察・検査項目：全ての群において、生死を 72 時間観察した。また、1000 mg/kg 群については生死および一般症状を 72 時間観察した。

結 果：

投与方法	腹腔内
投与量 (mg/kg)	0、500、600、800、1000、2000、3000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	880 (638~1210)
死亡開始および 終了時間 ¹⁾	投与後 20 分から開始
症状発現および 消失時間 ¹⁾	投与後 5 分から発現
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	500

中毒症状としては、1000 mg/kg 群では、投与後 5 分から自発運動減少、呼吸困難、流涎、間代性痙攣、全身性振戦および硬直性麻痺状を呈し、投与後 20 分以後に死亡例が認められた。

申請者注¹⁾：死亡終了時間および症状消失時間の記載なし

(9) CYAP 原体のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 1-8)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1971年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD系ラット、5週齢

中毒症状および生死確認

5.0、10.0および20.0%群；1群雌雄各10匹

2.5および1.25%群；1群雌雄各5匹

溶媒対照群；1群雌雄各10匹

コリンエステラーゼ活性測定

5および1%群；1群雌雄各5匹

観察期間：6日間

曝露方法：検体を灯油およびキシレン混合溶媒（混合比1:2）で所定濃度に溶解し、自動注入装置により一定の速度で連続的にアトマイザーへ滴下させ噴射した。噴射によるミスト中に動物を2時間全身曝露させた。気中濃度の測定は、アセトンを吸収剤とし、ドライアイス・アセトン冷却下でミストを採取し、ガスクロマトグラフィーで測定し算出した。

曝露条件：

溶液濃度 (%)	1.0	1.25	2.5	5.0	10.0	20.0
実際濃度 (mg/m ³)	49.7 ¹⁾	65	135	224	555	1090
粒子径分布 空気力学的質量中位径 呼吸可能な粒子の割合	報告書に記載なし					
噴霧量 (mL/分)	0.2					
噴霧圧 (kg/cm ²)	0.5					
チャンパー内通気量 (L/分)	10~12					
曝露条件	ミスト 2時間 全身曝露					

観察・検査項目：曝露日および曝露後6日まで中毒症状および生死を観察した。

曝露終了後、1.0および5.0%群の各性5匹の血漿、赤血球および脳のコリンエ

申請者注¹⁾：1.0%の実測濃度について

1.0%の実測濃度データが記載されていなかったため、本試験内で別途実施された「Cyanox噴射時のCyanox溶液濃度と気中濃度の関係」の検討で得られた1.0%溶液噴射時の値を記載した。

ステラーゼ活性を測定した。

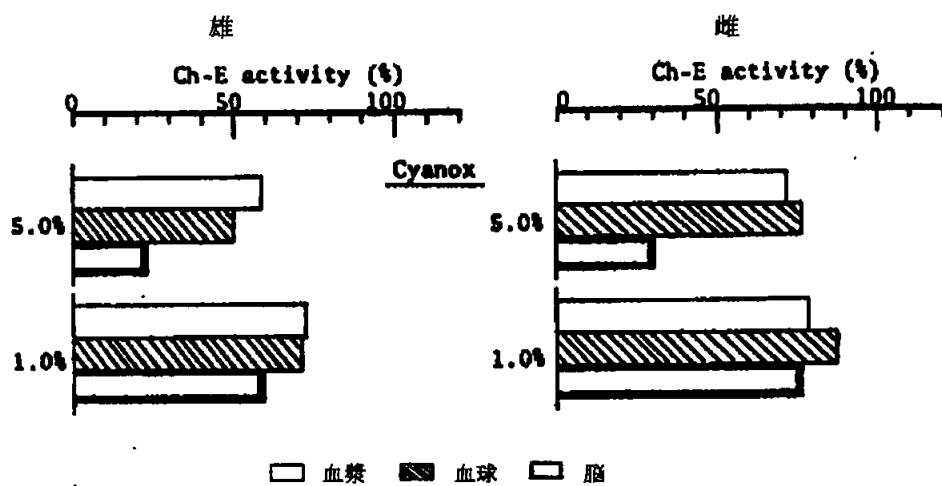
試験結果：

投与方法	吸入				
溶液濃度 (%)	1.25	2.5	5.0	10.0	20.0
曝露濃度 (mg/m ³)	65	135	224	555	1090
LC ₅₀ (mg/m ³)	雌雄共 > 1090				
死亡開始および 終了時間	死亡例なし				
症状発現および 消失時間	曝露中に開始 曝露終了後 48 時間に消失				
毒性徴候の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³)	雌雄共 135				
死亡例の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³)	雌雄共 1090				

いずれの曝露濃度においても死亡例はなかった。

中毒症状として、20% (曝露濃度 1090 mg/m³) 群において吸入初期に盛んにケージ内を探索するように歩き回るが、その後はうずくまった状態になった。曝露終了後、雌雄共に呼吸促進、流涎、尿路失禁、歩行失調、立毛および振戦を著明に認め、一部に流涙と血涙を認めた。中毒症状は濃度を減ずるにしたがい軽度となり、2.5% (曝露濃度 135 mg/m³) 以下の群に異常は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性は 1.0 および 5.0% 群ともに血漿、赤血球および脳において阻害され、同程度あるいは脳でその程度が強く現れる傾向があった。コリンエステラーゼ活性を図に示した。



(10) CYAP 原体のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 1-9)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、6 週齢、体重；雄 215～255 g、雌 149～186 g、

主群；1 群雌雄各 10 匹、衛星群；1 群雌雄各 5 匹

血漿および赤血球に加えて脳コリンエステラーゼを測定するため曝露実施 7 日後に衛星群の全例を屠殺した。

観察期間：14 日間

曝露方法：検体原液を自動注入装置により一定の速度で連続的にアトマイザーへ送り込み噴射した。噴射によるミストエアロゾル中に動物を 4 時間全身曝露した。流量計付きエアサンプラーを用いてチャンバー内の空気を薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを詰めたガラスカラムに吸引し、シリカゲルに捕集された検体をガスクロマトグラフィーで測定し実際の気中濃度を算出した。また、微粒子解析装置にミストエアロゾルを吸引し粒子径分布を測定した。なお、対照群として通気のみを行なう無処置対照群を設けた。

曝露条件：

曝露濃度 (mg/m ³)	1075	1500
平均粒子径 (μm)	0.75 ¹⁾	0.77 ¹⁾
噴射量 (mL/分)	0.07	0.14
チャンパー容積 (m ³)	0.64	
チャンパー内通気量 (L/分)	50	
曝露条件	ミストエアゾル 4 時間 全身曝露	

1)：5 回測定した平均

観察・検査項目：曝露開始後 0.5、1、2、3、4 時間および曝露終了後 4 時間までは 1 時間毎、以後毎日 1 回の頻度で 14 日間中毒症状および生死を観察した。

体重を曝露直前、曝露後 3、7、14 日に測定した。

主群の動物において、曝露終了後 14 日に 1 群雌雄各 5 匹の血漿、赤血球および脳のコリンエステラーゼ活性を測定した。また、残りの 1 群雌雄各 5 匹について曝露終了後 21 日以降 1 週間間隔で 35 日まで、眼窩静脈叢から採血し血漿お

よび赤血球中コリンエステラーゼ活性を測定した。さらに、曝露終了後 35 日には腹部大動脈から採血し血漿および赤血球に加えて脳コリンエステラーゼ活性についても測定した。衛星群の動物について、曝露実施の翌日および 3 日後に眼窩静脈叢から採血し血漿および赤血球中コリンエステラーゼ活性を測定した。また、7 日後には腹部大動脈から採血し血漿、赤血球および脳コリンエステラーゼ活性についても測定した。

主群の動物について、曝露後 14 日の観察期間終了時に全動物について肉眼的病理検査と鼻腔、気管および肺の病理組織学的検査を行った。

試験結果：

投与方法	吸入	
	曝露濃度 (mg/m ³)	1075
LC ₅₀ (mg/m ³)	雌雄共 > 1500	
死亡開始および 終了時間	死亡例なし	
症状発現および 消失時間	曝露開始後 0.5 時間から発現、 曝露後 5 日に消失	
毒性徴候の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³)	雌雄共 < 1075 (全ての投与群で症状が認められた)	
死亡例の認められなかった 最高曝露濃度 (mg/m ³)	雌雄共 1500	

いずれの曝露濃度においても死亡例はなかった。

中毒症状として呼吸不規則、呼吸深大、自発運動減少、筋攣縮、流涙、鼻汁、流涎、尿失禁が認められ、さらに 1500 mg/m³ 群では興奮と縮瞳がみられた。中毒症状は曝露開始後 0.5 時間から観察され、曝露終了後 5 日以内に消失した。検体曝露群雌雄において曝露後 3 日に体重が低下したがその後対照群と同程度に増加した。

コリンエステラーゼ活性の測定結果

(1) 血漿コリンエステラーゼ

測定日	曝露量 (mg/m ³)			
	雄		雌	
	1075	1500	1075	1500
1	↓23	↓21	↓17	↓17
3	↓44	↓43	↓37	↓29
7	114	101	76	84
14	94	105	97	108
21	91	103	114	136
28	93	110	119	144
35	91	104	119	142

(Student t 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

(2) 赤血球コリンエステラーゼ

測定日	曝露量 (mg/m ³)			
	雄		雌	
	1075	1500	1075	1500
1	↓16	↓15	↓16	↓15
3	↓14	↓13	↓15	↓13
7	↓32	↓36	↓39	↓39
14	↓52	↓47	↓44	↓44
21	↓65	↓60	↓73	↓68
28	↓79	↓81	↓85	↓84
35	90	95	96	91

(Student t 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

(3) 脳コリンエステラーゼ

測定日	曝露量 (mg/m ³)			
	雄		雌	
	1075	1500	1075	1500
7	↓42	↓41	↓40	↓39
14	↓58	↓59	↓57	↓60
35	↓81	↓79	↓83	↓77

(Student t 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

曝露の翌日に測定した各曝露群のコリンエステラーゼ活性に阻害がみられた。その程度は、1075 mg/m³群の血漿で 77~83%、赤血球で 84%、また、1500 mg/m³群の血漿で 79~83%、赤血球で 85%であった。血漿のコリンエステラーゼ活性は 7~14 日に、赤血球のコリンエステラーゼ活性は 28~35 日に回復した。一方、脳コリンエステラーゼ活性は 7 日に 1075 mg/m³群で 58~60%、1500 mg/m³群で 59~61%の阻害がみられ、35 日には 1500 mg/m³群のみに 21~23%の阻害がみられた。

肉眼的病理検査および病理組織学的検査に検体投与の影響はなかった。

2. 皮膚および眼に対する刺激性

(1) CYAP 原体のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検 体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト系ウサギ、13～17 週齢、体重 2.36～2.48 kg、
雌雄各 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：背部 15 × 15 cm を剪毛し、正中の左側部分の角質層に 18G の注射針で創傷をつけ、右側は無処置とした。その後、検体 0.5 mL をリント布 (2.5 cm × 2.5 cm) に含ませたものを左右の剪毛部分に貼付し、4 時間閉塞適用した。適用後リント布を除去し、皮膚に残った検体は水を含ませた脱脂綿水で拭き取った。

観察項目：検体適用、4.5、24、48 および 72 時間後に適用部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果：観察した刺激性変化の採点結果は次頁の表に示した。

いずれの動物においても皮膚刺激性反応、その他の異常も認められなかった。

以上の結果から、CYAP 原体はウサギの皮膚に対して、刺激性はないと判断された。

表 CYAP 原体のウサギの皮膚に対する局所反応の強さ

適用部位	動物番号	項目	最高評点	曝露後時間			
				4.5 時間	24 時間	48 時間	72 時間
無傷皮膚	7 雄	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	8 雌	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	9 雄	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	10 雌	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	11 雄	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	12 雌	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	小計	紅斑	24	0	0	0	0
		浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑	4	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	
有傷皮膚	7 雄	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	8 雌	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	9 雄	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	10 雌	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	11 雄	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	12 雌	紅斑	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	小計	紅斑	24	0	0	0	0
		浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑	4	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	
合計*	紅斑	48	0	0	0	0	
	浮腫	48	0	0	0	0	
平均*	紅斑	4	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	

*: 無傷皮膚と有傷皮膚を合わせた合計および平均

(2) CYAP 原体のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：ニュージーランドホワイト系ウサギ、13～17 週齢、体重 2.31～2.59 kg、
雌雄各 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.1 mL を片側の眼に適用した。適用後の洗眼は実施せず、他眼は無処置対
照とした。

観察項目：適用 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize
法に従って反応の強さを点数化して記録し、Kay and Calandra の方法により刺
激性の強さを分類した。

結果：観察した刺激性変化の採点結果は次頁の表に示した。
いずれの動物にも局所反応を認めなかった。

以上の結果から、CYAP 原体はウサギの眼に対して、刺激性はないと判断した。

表 CYAP 原体のウサギの眼に対する局所反応の強さ

項目	最高 評点	適用後時間						
		1	24	48	72			
非洗眼群	動物番号1雄	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
			虹彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	
	動物番号2雌	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
			虹彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	
動物番号3雄	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	0	0	0	0		
	浮腫	4	0	0	0	0		
	分泌物	3	0	0	0	0		
動物番号4雌	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	0	0	0	0		
	浮腫	4	0	0	0	0		
	分泌物	3	0	0	0	0		
動物番号5雄	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	4	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	0	0	0	0		
	浮腫	4	0	0	0	0		
	分泌物	3	0	0	0	0		
動物番号6雌	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	2	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	0	0	0	0		
	浮腫	4	0	0	0	0		
	分泌物	3	0	0	0	0		
合計*			660	0	0	0	0	
平均			110	0.0	0.0	0.0	0.0	

*: 各部位における評点に基づいて、各ウサギの評価点を次式に基づいて算出した:
 角膜 = 程度 × 面積 × 5; 虹彩 = 虹彩評点 × 5; 結膜 = (発赤 + 浮腫 + 分泌物) × 2

(3) CYAP 原体の眼粘膜、皮膚亜急性刺激性試験

(資料 2-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1972年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：日本在来白色種雄ウサギ、体重 2.5~3.0 kg、1群3匹

観察期間：3週間

試験方法：検体を 5% Tween-80 溶液で 5%および 1%の乳濁液とし、点眼および皮膚塗布を毎日1回、週6日、3週間行った。

眼粘膜刺激性試験では検体 0.1 mL を片側の眼に、他眼は対照として 5% Tween-80 溶液を点眼した。

皮膚刺激性試験では背部中央部皮膚 56 cm² に検体乳濁液 0.5 mL を毎日塗布し、皮膚の変化を 5% Tween-80 溶液塗布の対照部位と比較した。

観察項目：眼粘膜および皮膚刺激性試験ともに適用後 1 時間および翌日の適用前に適用部位の刺激性変化を観察した。眼粘膜刺激性試験では、結膜、角膜、瞳孔などの色、形、反射能の変化を観察した。皮膚刺激性試験では、皮膚の硬化、充血などの有無を観察した。

最終観察後にウサギを麻酔下で解剖し、眼瞼、眼球、皮膚について 10%ホルマリンで固定し、病理組織学的検査を行った。

結果：眼粘膜刺激性について、結膜、角膜、瞳孔などに異常はなく、反射能も正常であった。病理組織学的検査において、眼瞼、眼球、角膜、水晶体、網膜および虹彩に異常はなかった。

皮膚刺激性について、肉眼的および病理組織学的検査に異常はなかった。

3. 皮膚感作性

(1) CYAP 原体のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 3-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：1986 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：Hartley 系雄モルモット、投与開始時週齢；5 週齢、
投与開始時体重；342～461 g、1 群 10～20 匹

観察期間：感作開始後 23 日間

試験操作：[Maximization 法]

投与量設定根拠；

感作（皮内）；肩甲骨上を剪毛し、下記の投与液を用いて 3 対の皮内投与（0.05 mL/部位）を行った。陽性対照群には 2,4-ジニトロクロロベンゼン（DNCB）を用いた。対照群については溶媒を用いて同様に処置した。

- 検体処置群
- 1) Freund's Complete Adjuvant (FCA) と蒸留水の乳化混合物
 - 2) 検体の 5% コーンオイル溶液
 - 3) 検体の 10% FCA 溶液と蒸留水の 1:1 の乳化混合物

- 陽性対照群
- 1) FCA と蒸留水の乳化混合物
 - 2) DNCB の 0.05% コーンオイル溶液
 - 3) DNCB の 0.1% FCA 溶液と蒸留水の 1:1 の乳化混合物

感作（経皮）；皮内投与後 6 日に、肩甲骨上に 10% ラウリル硫酸ワセリン軟膏 0.2 g を塗布して前処理した。その翌日、同部位に検体原液または 0.5% DNCB コーンオイル溶液 0.4 mL を 48 時間閉塞貼布した。対照群については検体または DNCB を除き同様に処置した。

惹起； 最終感作の 2 週間後に腹側部を剪毛し、検体原液または 0.5% DNCB コーンオイル溶液 0.2 mL を 24 時間閉塞貼布した。対照群についても同様に処置した。

観察項目；惹起後 24 および 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、Magnusson 等の判定基準に従い、皮膚感作性の強さを評価した。
検体処置群では 1 例が惹起処置前に死亡したため、評価は 19 匹で実施した。

結果：各観察時間において感作変化が認められた動物数を次表に示した。
 検体感作群においては紅斑、浮腫等の局所反応は認められなかった。一方、陽性対照の DNCB 感作群においては、全例に軽度から中等度の紅斑および浮腫が認められた。

以上の結果から、CYAP 原体は本試験条件下 (Maximization 法) で皮膚感作性は陰性と判断した。

	群		供試動物数	皮膚反応	感作反応動物数										陽性率	
					24 時間後					48 時間後						
	感作	惹起			皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計	24 時間	48 時間
					0	1	2	3		0	1	2	3			
検体	皮内： 5%検体 経皮： 検体原液	検体原液	19	紅斑	19	0	0	0	0/19	19	0	0	0	0/19	0%	0%
				浮腫	19	0	0	0		19	0	0	0			
	皮内： 溶媒 経皮： リト布のみ	検体原液	20	紅斑	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/10	0%	0%
				浮腫	20	0	0	0		20	0	0	0			
陽性対照	皮内： 0.5% DNCB 経皮： 0.5% DNCB	0.5% DNCB	10	紅斑	0	0	10	0	10/10	0	10	0	0	10/10	100%	100%
				浮腫	0	0	10	0		0	8	2	0			
	皮内： 溶媒 経皮： 溶媒	0.5% DNCB	10	紅斑	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0%	0%
				浮腫	10	0	0	0		10	0	0	0			

検体：CYAP 原体、DNCB：2,4-ジニトロクロロベンゼン
 皮膚反応評点 (0：変化なし、1：境界不明瞭 (軽度) な反応、2：境界明瞭 (中等度) な反応、3：強度な反応)

(2) CYAP 原体の皮膚アレルギー試験

(資料 2-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1972年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：Hartley 系雄モルモット、体重 200～250 g、1 群 5 匹

観察期間：感作開始後 36 日間

試験操作：

感作：検体を落花生油で 1%および 5%に溶解し、各濃度の溶液を初回 0.05 mL、2 回目以降は 0.1 mL で 1 日おきに 10 回、腹部皮膚に皮内投与した。

惹起：最終感作の 2 週間後に、検体の感作と同濃度の落花生油溶液 0.05 mL の皮内投与並びに検体の 5%アセトン溶液 0.03 mL の皮膚塗布を、感作とは異なる部位に実施し、24 時間後の皮膚変化を観察した。結果を落花生油の陰性対照群および 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) の陽性対照群と比較した。

陰性対照群：落花生油を検体群と同様に処置した。

陽性対照群：DNCB を用いた。感作は 0.05%落花生油溶液 0.1 mL を 1 日おきに 3 回皮内投与した。惹起は最終感作の 2 週間後に、0.1%落花生油溶液 0.05 mL の皮内投与と 1%アセトン溶液 0.03 mL の皮膚塗布を行った。

結果：落花生油等よりいずれの群においても皮内注射局所に膨隆がみられたが経日的に減少もしくは消失し、5%感作群、1%感作群と陰性対照群では塗布部位を含め皮膚変化に差はなかった¹⁾。一方、DNCB 群では惹起の皮内投与および皮膚塗布部位共に皮膚の腫脹、充血等の著明な皮膚反応が観察された。

申請者注 1)：感作性の評価について

検体の 5%感作群、1%感作群における誘発注射部位では、感作時と同様に陰性対照群の落花生油投与と同程度の変化が認められたのみで、また誘発皮膚塗布部位では何ら反応を認めなかったことから、本化合物は感作性陰性であると判断した。

4. 急性神経毒性

CYAP 原体のラットを用いた急性経口投与神経毒性試験

(資料 4)

試験機関：Central Toxicology Laboratory

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：Wistar 系ラット、投与開始時 6 週齢以上、

投与開始時体重；雄 156～213 g、雌 135～171 g、1 群雌雄各 10 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体をコーンオイルに懸濁して 0、4、20、80 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。

投与量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

死亡率；生死を毎日観察した。

試験期間中、死亡は認められなかった。

一般状態；全動物について、一般症状所見を 1 日 1 回記録した。

一般症状の発現頻度を次表に示した。

性別	雄				雌			
	0	4	20	80	0	4	20	80
投与群 (mg/kg)	0	4	20	80	0	4	20	80
症状\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
活動性低下	0	0	10	10	0	0	5	9
運動失調	0	0	5	4	0	0	0	0
紅涙	0	0	0	9	0	0	0	0
円背姿勢	0	0	1	5	0	0	0	0
立毛	0	1	2	10	0	0	2	4
下痢	0	4	5	6	0	0	0	0
胴体の凹み	0	0	0	5	0	0	0	0
口周囲の汚れ	0	0	0	7	0	0	0	1
鼻周囲の汚れ	0	0	2	8	0	0	0	1
尿汚れ	0	0	0	4	0	0	0	0
振戦	0	0	10	10	0	0	0	10
背骨の上方屈曲	0	0	1	2	0	0	0	0

表中の数値は所見を有する動物数

80 mg/kg または 20 mg/kg 群において、試験 1 日の総合機能観察および一般症状観察中に様々な一般症状が雌雄において認められ、雄においては症状が試験 2～5 日まで継続して認められたが、これらの症状は試験 6 日までにすべて消失した。80 mg/kg 群で、紅涙 (雄のみ)、胴体の凹み (雄のみ)、口周囲の汚れ、下痢 (雄のみ) および尿汚れ (雄のみ) が認められた。さらに、20 および 80 mg/kg 群で、運動失調 (雄のみ)、振戦、円背姿勢 (雄のみ)、背骨の上方屈曲 (雄のみ)、鼻周囲の汚れ、立毛および活動性低下が認められた¹⁾。

4 mg/kg 群雄 1 例で立毛が認められたが、他に関連する所見が認められなかったことから、毒性学的意義のない非特異的な変化と考えられた。

体重変化；全動物について、試験開始 7 日前、試験 1 日 (投与前ならびに投与後 5 時間

申請者注 1)：下痢について

報告書中では、4 および 20 mg/kg 群の雄で認められた下痢について詳細に考察されていなかったため申請者にて以下のように判断した。

下記表のように検査日毎に下痢の発現頻度をまとめた。3 日以降については、症状は認められていなかった。報告書中では、試験 1 日の総合機能観察中に認められた下痢については、用量相関性がないことから検体投与による影響でないと記載されていたが、一般症状の項目では、80 mg/kg 群で認められた症状は検体投与の影響であると記載されていた。このことより試験 2 日で 80 mg/kg 群で認められた下痢については検体投与による影響であり、試験 1 日で認められた症状については検体投与の影響ではないと判断した。

投与群 (mg/kg)	0	4	20	80
検査時期(日)\検査動物数	10	10	10	10
1	0	4	5	1
2	0	0	0	5

の最大影響発現時点)、8および15日に測定した。

80 mg/kg 群雄では試験1日(投与後)から対照群に比して体重の低下が認められ、試験8日ないし15日には、それぞれ87%、90%となり、有意な低下が認められた。20 mg/kg 群雄においても試験1日(投与後)から対照群に比して体重の低値がみられたが、その程度はより小さかった(最大7%差)。この他の群では、検体投与による影響は認められなかった。

また、20 mg/kg および80 mg/kg の雄では、試験1日(投与後)から対照群に比して体重増加量の有意な低下が認められた。

体重および体重増加量について、対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を次表に示した。

項目	検査 時期 (日)	投与量 (mg/kg)					
		雄			雌		
		4	20	80	4	20	80
体 重	8	98	↓93	↓↓87	99	98	101
	15	99	94	↓↓90	100	99	101

(Student の t 検定 (両側)) ↓ : p < 0.05、↓↓ : p < 0.01

表中の数值は変動の目安として対照群を100とした場合の値

項目	検査 時期 (日)	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		0	4	20	80	0	4	20	80
体重増加量	1	-3.5	-3.4	↓-8.1	↓-6.7	-2.0	-1.4	-0.5	-2.7
	8	32.7	30.8 (94)	↓21.1 (65)	↓6.0 (18)	10.4	7.4 (71)	8.3 (80)	9.6 (92)
	15	59.8	58.5 (98)	↓48.6 (81)	↓37.4 (63)	19.3	17.5 (91)	18.6 (96)	19.5 (101)

(Student の t 検定 (両側)) ↓ : p < 0.05、↓↓ : p < 0.01

表中の数值は実測値 (g)

() 内の数值は変動の目安として対照群を100とした場合の値

摂餌量 ; 試験期間を通して週毎に各ケージの平均摂餌量を算出した。

20 および80 mg/kg 群雄において、試験1週に対照群に比して摂餌量の統計学的に有意な低値が認められた。この他の群では、検体投与による影響は認められなかった。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を次表に示した。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (mg/kg)					
		雄			雌		
		4	20	80	4	20	80
摂餌量	1	96	↓89	↓67	97	98	95

(Student の t 検定 (両側)) ↓: $p < 0.05$, ↓↓: $p < 0.01$

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

総合機能観察; 全動物について、試験 1 週間前ならびに試験 1 日 (投与後 5 時間の最大影響発現時点)、8 日および 15 日に、以下の一般症状観察、着地開脚幅、感覚反応 (テイルフリック試験) および筋力低下の定量的評価を含む総合機能観察を行った。

ホームケージ内で観察: 異常行動 (旋回、首振り、探索行動、後ずさり、横転、足振り)、発声

ケージからの取り出し: 接近反応、接触反応、発声

標準エリア内で観察: 活動性、昏睡状態、衰弱、円背姿勢、異常行動、痙攣、発声、運動失調、振戦、安定性低下、異常歩行、開脚歩行、つま先歩行、四肢機能の低下、背骨の上方屈曲、背骨の下方屈曲、立毛、胴体の凹み、身繕いの状態、尿失禁、下痢

動物を保定して観察: 接触反応、痙攣、発声、振戦、立毛、皮膚の色、身繕いの状態、高体温、低体温、紅涙、流涙、眼瞼下垂、眼球陥没、眼球突出、縮瞳、散瞳、口周囲の汚れ、鼻周囲の汚れ、流涎、呼吸異常、削瘦、胴体の凹み、脱水症状、腹部緊張、尿失禁、下痢

反射テスト: 正向反射、聴覚反応、開脚反射、位置視覚反応、光に対する瞳孔反射、眼瞼反射、角膜反射、耳介反射、足を引っ込める回避反射

定量的評価: 前肢および後肢の握力、着地開脚幅、テイルフリック試験

検体投与に関連していると考えられる症状の発現頻度および対照群と比較して統計学的有意差が認められた定量的評価項目を次表に示した。

投与群 (mg/kg)		0			4			20			80		
検査時期 (日)		1	8	15	1	8	15	1	8	15	1	8	15
雄	活動性減少 軽度	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
	活動性減少 中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0
	活動性減少 重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0
	運動失調 軽度	0	0	0	0	0	0	4	0	0	1	0	0
	運動失調 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	紅涙	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0
	位置視覚反応低下 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	呼吸数減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
	円背姿勢 軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0
	円背姿勢 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	低体温	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
	努力呼吸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	立毛 軽度	0	0	0	1	0	0	2	0	0	6	0	0
	立毛 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	耳介反射消失	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	衰弱	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	足を引っ込める回避反射低下 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	足を引っ込める回避反射低下 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	足を引っ込める回避反射低下 重度	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	聴覚反応低下	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	正向反射低下 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	正向反射低下 重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	流涎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	口周囲汚れ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
	鼻周囲汚れ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0
	尿汚れ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
	振戦 軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0
振戦 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	
振戦 重度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
背骨上方屈曲 軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	
背骨上方屈曲 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
雌	活動性減少 軽度	0	0	0	0	0	0	2	0	0	5	0	0
	口周囲汚れ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	鼻周囲汚れ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	振戦 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0

表中の数値は所見を有する動物数

投与群 (mg/kg)		4			20			80		
検査時期 (日)		1	8	15	1	8	15	1	8	15
雄	着地開脚幅	96	106	93	87	111	92	↓83	94	94
	テイルフリック	153	98	86	117	92	82	↑275	102	105
	前肢握力	97	98	103	82	91	101	↓67	103	104
	後肢握力	115	104	113	84	96	90	↓75	101	103
雌	着地開脚幅	↑131	109	98	108	106	101	↑125	113	106

(Student の t 検定 (両側)) ↑ ↓ : 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

試験 1 日の総合機能観察では、一般症状所見は主に雄で認められ、雌での一般症状は全般的に雄より発現数が少なく軽度であった。80 mg/kg 群雄全例で中等度ないし重度の活動性低下ならびに軽度ないし重度の振戦が認められたのに対して、雌では 40~50%の動物で軽度の振戦や活動性低下が認められた。また、80 mg/kg 群の数例で口や鼻周囲の汚れが認められ、低頻度であるが、20 mg/kg 群で活動性低下が認められた。その他の一般症状はいずれも雄でのみ認められ、80 mg/kg 群では運動失調、円背姿勢、立毛、背骨の上方屈曲、聴覚反応低下、正向反射低下、流涎、衰弱、耳介反射消失、足を引っ込める回避反射の低下、低体温、努力呼吸、位置視覚反応低下、紅涙、呼吸数減少、尿汚れが認められ、このうち運動失調、振戦、立毛、背骨の上方屈曲、鼻周囲の汚れおよび円背姿勢は 20 mg/kg 群雄でも認められた²⁾。

試験 8 および 15 日の総合機能観察では、投与と関連のある一般症状は認められなかった。

定量的評価項目では投与に関連した変化として、80 mg/kg 群の雄において、試験 1 日にのみ、テイルフリック試験において尾を振り動かすまでの反応潜時の有意な延長ならびに前肢/後肢握力の有意な低下が認められた。

80 mg/kg 群雄において、試験 1 日に着地開脚幅の統計学的に有意な減少が認められた。しかしながら、対照群のデータ範囲を下回ったのはわずか 2 つの測定値のみで、その差も軽度であった（対照群の最小値 42 mm に対し、2 例で着地開脚幅が 40 mm）ことから、この差は検体投与に関連しないと考えられた。また、4 および 80 mg/kg 群雌では、試験 1 日に着地開脚幅の統計学的に有意な増加が認められたが、試験 1 日の対照群の平均値が試験開始 7 日前に比して低く、また、測定値のいくつかは対照群または試験開始 7 日前のデータの範囲内にあったこと、さらに用量相関性も認められなかったことから、これらの差は検体投与に関連しないと考えられた。

自発運動量；全動物について、試験 1 週間前ならびに試験 1 日（投与後約 5 時間）、8 日および 15 日に、自発運動量を 50 分間測定した。

50 分間の総運動量の対照群に対する変動率を次表に示した。

申請者注 2)：立毛および足を引っ込める回避反射低下について

4 mg/kg 群雄 1 例で立毛が認められたが、他に関連する所見が認められなかったことから、毒性学的意義のない非特異的な変化と考えられた。また、4 mg/kg 群雄 1 例で足を引っ込める回避反射低下が認められたが、用量相関性が認められないことから、毒性学的意義のない偶発的な変化と考えられた。

投与群 (mg/kg)	4			20			80		
検査時期 (日)	1	8	15	1	8	15	1	8	15
雄	78	98	90	↓46	84	80	↓13	88	79
雌	97	75	79	87	109	113	↓65	106	117

(Student の t 検定 (両側)) ↓: $p < 0.01$

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

検体投与に関連した変化として、試験 1 日に、80 mg/kg 群の雌雄において対照群に比して自発運動量 (各測定時点ならびに総運動量) の減少が認められた。20 mg/kg 群雄においても対照群に比して自発運動量の減少が認められた (総運動量ならびに 6~25 分の間)。

肉眼的病理検査;最終屠殺時に各群雌雄各 5 匹をペントバルビタールナトリウム腹腔内投与による深麻酔の後、ホルマリン生食液で灌流固定して屠殺し、外表検査を行った。

いずれの動物にも異常はみられなかった。

脳重量;灌流固定により屠殺した各群雌雄各 5 匹から脳を摘出し、一晚固定後に重量を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示した。

性別	雄			雌		
投与群 (mg/kg)	4	20	80	4	20	80
体重比脳重量	97	99	↑108	99	102	102

(Student の t 検定 (両側)) ↑: $p < 0.05$

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

脳重量に検体投与による影響は認められなかった³⁾。

病理組織学的検査;0 および 80 mg/kg 群の灌流固定後剖検動物 (雌雄各 5 匹) から採取した以下の組織を病理組織学的に検査した。坐骨神経および脛骨神経は樹脂包埋して準超薄切片を作製し、トルイジンブルー染色を施した。その他の組織はパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。

脳、眼球 (視神経および網膜を含む)、脊髄 (頸膨大部および腰膨大部)、

申請者注 3) : 体重比脳重量の増加について

80 mg/kg 群の雄において体重比脳重量が有意な増加を示したが、脳絶対重量への影響は認められないことから、体重への影響に起因した二次的变化であると考えられた。よって、体重比脳重量の変化に、毒性学的意義はないと判断された。

頸膨大部の脊髄神経根（背側根および腹側根神経線維）、腰膨大部の脊髄神経根（背側根および腹側根神経線維）、頸膨大部の背側根神経節、腰膨大部の背側根神経節、近位坐骨神経、近位脛骨神経、遠位脛骨神経（脛骨神経腓腹筋分岐部）、腓腹筋

認められた所見を次表に示した。

性別	雄		雌	
投与群 (mg/kg)	0	80	0	80
所見\検査動物数	5	5	5	5
遠位脛骨神経 脱髄/神経線維変性 軽微	0	1	0	0
近位坐骨神経 脱髄/神経線維変性 軽微	2	3	1	1
近位脛骨神経 脱髄/神経線維変性 軽微	1	0	0	0

表中の数値は所見を有する動物数

Fisher の正確確率検定を実施したが、有意差は認められなかった。

少数の自然発生的な病変が認められたが、いずれも検体投与に関連していないと考えられた。

以上の結果、CYAP 原体のラットを用いた急性経口投与神経毒性試験における影響として、80 mg/kg 群において毒性症状（振戦、立毛等）の発現、さらに雄では体重および体重増加量の低値、摂餌量の低値、テイルフリック試験における尾を振り動かすまでの反応潜時の延長、握力の低値および自発運動量の低値が認められた。また、20 mg/kg 群においても同様の毒性症状の発現、さらに雄では体重、体重増加量および摂餌量の低値、自発運動量の低値が認められた。試験 15 日の 80 mg/kg 群雄における軽度な体重の低値を除き、これらの変化は一過性であり、大部分の動物では試験 3 日までに完全な回復がみられた。中枢および末梢神経系の神経病理学的検査の結果、80 mg/kg までの投与量で雌雄共に投与の影響は認められなかった。いずれの群においても不可逆的な神経毒性作用は認められなかった。

したがって、CYAP 原体の神経毒性に関する無毒性量 (NOAEL) は、雌雄とも 4 mg/kg と判断された。

5. 急性遅発性神経毒性

CYAP 原体のニワトリを用いた急性遅発性神経毒性試験

(資料 5)

試験機関：住友化学工業株式会社
奈良県立医科大学

報告書作成年：1974年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：白色レグホン種雌ニワトリ、12～18 ヵ月齢、体重；1.4～2.0 kg、

検体投与群：12羽、陽性対照群：3羽

観察期間：1回目投与後3週間、2回目投与後3週間の計6週間

投与方法：検体を10% Tween-80 溶液に懸濁し、20 mg/kg の投与量を2 mL/kg の液量で経口投与した。検体による急性中毒の治療のため、検体投与直後ならびに投与後6、12、24 および48 時間に解毒剤としてアトロピン (20 mg/kg 皮下注射) および2-PAM (100 mg/kg 腹腔内注射) を併用注射した。3週間後、生存例に再び検体を同様に経口投与し、同様の解毒処置を施した後に3週間観察した。陽性対照として、Tri-ortho-cresyl phosphate (TOCP) を10% Tween-80 溶液で懸濁して400 mg/kg の投与量を1 mL/kg の液量で3羽に経口投与し、4週間観察した。

投与量設定根拠：

観察・検査項目：検体投与群は6週間、陽性対照群では4週間の観察期間中、急性中毒症状および麻痺の有無（遅発性神経毒性作用の指標）を記録した。観察期間終了後、全動物の坐骨神経および脊髄を摘出し、10%ホルマリンで固定後、病理組織学的検査をヘマトキシリン・エオジンおよびルクソールファースト・ブルー染色標本について行った。

結 果：

化合物		CYAP 原体	陽性対照 (TOCP)
投与量 (mg/kg)		20*	400
検査動物数		12	3
死亡数		2	1
遅発性神経 毒性症状 病理組織学 的検査	運動失調・麻痺	0	3
	坐骨神経の変性、脱髄現象	0	3

* 3 週間隔で 2 回投与 (アトロピンおよび 2-PAM で処置)

最初の検体投与後に全動物で運動失調、閉眼、開口呼吸および肉冠の暗赤色変が認められ、解毒剤による処置も及ばず投与後 24 時間に 2/12 例が死亡した。その他の動物では投与後 48~72 時間に急性的な中毒症状が消失し、投与後 21 日まで特記すべき変化は認められなかった。第 2 回の検体投与後の中毒症状も初回と大差なかったが、解毒剤の処置により全例生存した。第 2 回投与後 21 日間の観察期間中に急性中毒消失後、麻痺の発現は認められなかった。陽性対照群では投与後 10 日まで特記すべき所見はなかったが、11~12 日から運動失調、15~16 日には全例で麻痺の発現が認められた。投与後 23 日に 1/3 例が死亡し、生存例では 28 日にも同様の症状が持続していた。

病理組織学的検査では検体投与群のいずれの動物にも特記すべき変化は認められなかった。陽性対照群では全動物で坐骨神経の変性像および著明な脱髄現象が認められた。

以上の結果から、CYAP 原体の急性遅発性神経毒性は陰性であると判断された。

6. 亜急性毒性

(1) CYAP 原体のラットを用いた飼料混入による 30 日間反復経口投与毒性試験

(資料 6-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1969 年

検体：CYAP 原体

純度：

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 15 匹 (10 ppm 群は 11 匹)、投与開始時 5 週齢

投与期間：30 日間 (報告書に投与年月日の記載なし)

投与方法：検体を 0、10、20、70 および 250 ppm の濃度で飼料に混入し、30 日間にわたって随時摂食させた。

投与量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

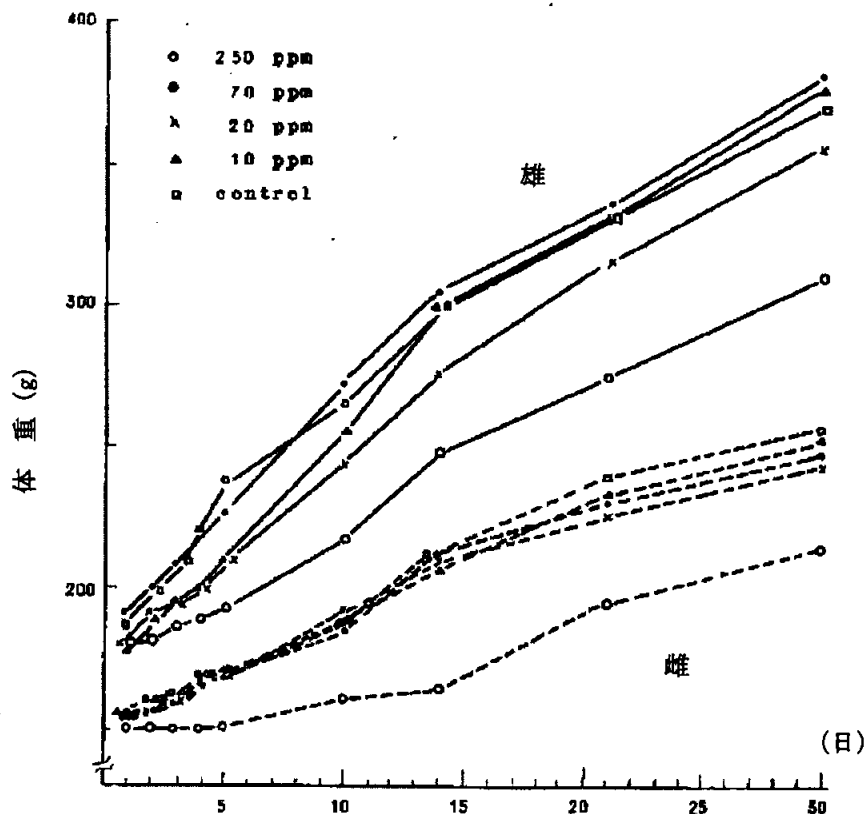
いずれの群にも死亡例はなかった。

250 ppm 群で投与 1 週を経過した頃から軽度の振戦および立毛が認められるようになり、投与 10 日頃にはほぼ全例でこれらの症状が認められた。しかし以後症状の増悪の傾向は認められず経日的に軽減し、投与 2 週～3 週には消失した。

70 ppm 群以下では異常は認められなかった。

体重変化；投与 1～5、10、14、21 および 30 日に体重を測定した。

体重変化を次図に示した。



統計検定は実施しなかったが¹⁾、雄においては70 ppm 群以上で、雌においては250 ppm 群に体重増加抑制傾向が認められた。体重増加量については、雄においては投与1~2週、雌においては投与3週まで抑制が明らかであったが、以後は大きな差は認められなかった。これらの変化は、中毒症状の発現時期に一致し、同時期の摂餌量とも関連が認められた。これらの変化は中毒症状の軽減とともに回復した。

70 ppm 群雌、20 および 10 ppm 群では投与による影響はなかった。

摂餌量；投与0~3日およびその後は週1回、摂餌量を測定した。

統計検定は実施しなかったが¹⁾、250 ppm 群で低値が認められた。

その他の投与群では著明な差は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は次のとおりであった。

申請者注1)：体重変化、体重増加量および摂餌量における統計検定について報告書中に個別別表が記載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

投与量 (ppm)		10	20	70	250
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.75	1.8	6.5	18.8
	雌	0.77	1.7	6.2	21.6

血液学的検査；投与終了後、対照群ならびに 20、70 および 250 ppm 群についてそれぞれ雌雄各 12 匹を対象として心臓から血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数、白血球分類（リンパ球、好中球、好酸球、好塩基球、単球）

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した。

検査項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	20	70	250	20	70	250
ヘモグロビン量	101	97	↓95	105	98	99
白血球数	96	84	↓78	100	101	92
リンパ球	92	85	↓79	102	104	97

検定方法記載なし ↓: $p < 0.05$ 、↓↓: $p < 0.01$

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

250 ppm 群の雄で白血球数およびリンパ球が対照群よりも有意に減少したが、検体投与の影響ではないと考えられた²⁾。

血液生化学的検査；対照群および 250 ppm 群の雌雄各 12 匹を対象として、血液学的検査用試料と同時に採取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。

血清蛋白、アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、血糖、尿素窒素

いずれの項目においても対照群と 250 ppm 群の間に有意差は認められなかった。

尿検査；投与終了後、1 群雌雄各 12 匹を対象として 24 時間尿を採取し、以下の項目を検査した。

蛋白、ウロビリノーゲン、ビリルビン、糖

申請者注 2)：血液学的検査において認められた統計学的に有意な変化について

250 ppm 群の雄で認められた白血球数およびリンパ球の低値は軽微なものであり、体重増加抑制および摂取量の減少傾向の影響を受けたもので、毒性学的意義はないものと判断した。また、ヘモグロビンの有意な減少が認められたが、軽度であり、赤血球に影響のない程度であったので投与による影響とは考えられなかった。

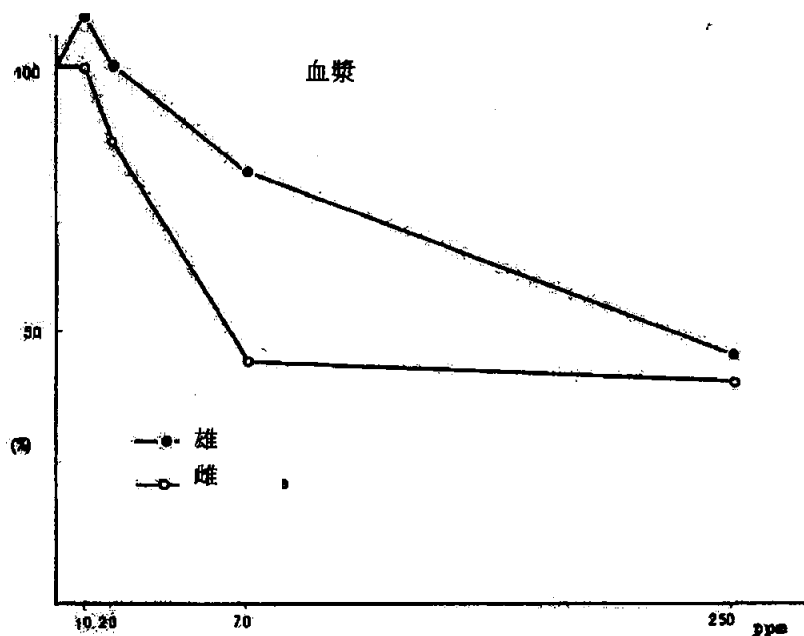
対照群と比べ変動傾向の認められた項目を次表に示した。

性別	雄					雌				
	0	10	20	70	250	0	10	20	70	250
所見\検査動物数	12	12*	12	12	12	12	12*	12	12	12
蛋白										
0%	5	5**	5	4	2	4	4**	4	4	2
0~0.5%	7	7**	7	8	6	6	8**	8	8	6
0.5~1.0%	0	0	0	0	2	2	0	0	0	4
1.0~1.5%	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0

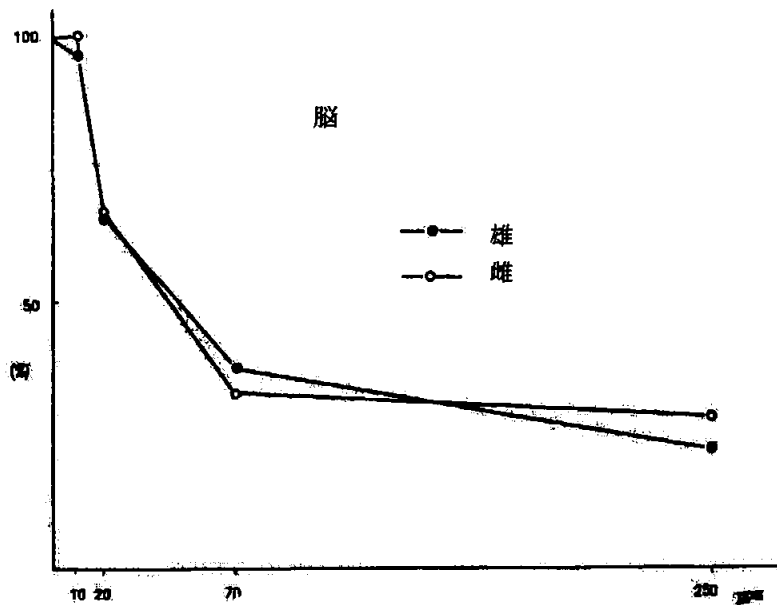
申請者注：10 ppm 群の検査動物数 (*) および所見例数 (**) について、10 ppm 群の動物数は 11 例であるため、報告書に記載されているこれらの例数は誤りであると考えられたが、個体別表が収載されていなかったため、申請者による修正および統計検定は実施できなかった。

尿蛋白はいずれの投与群でも検出され、その多くは対照群と同程度であったが、250 ppm 群の雄で比較的高濃度の尿蛋白を呈する個体が散見された³⁾。

コリンエステラーゼ活性；投与終了後、1 群雌雄各 3 匹を対象として心臓から血液を採取し、頸椎脱臼による屠殺後に脳を摘出した。得られた血漿および脳のコリンエステラーゼ活性値を測定した。結果を対照群の値に対する百分率として次の図に示した。



申請者注 3)：250 ppm 群雄における尿蛋白増加について
 数例のみの発生であり、偶発的であり、検体投与の影響ではないと考えられた。



20 ppm 以上の群で血漿および脳のコリンエステラーゼ活性の阻害が認められ、阻害の程度は用量相関的に増加した。20 ppm 群では血漿の阻害は軽度であったが、脳の活性は約 40%の阻害が認められ、250 ppm 群では血漿で 50%、脳で 70~80%の阻害を示した。

10 ppm 群では血漿および脳のいずれもコリンエステラーゼ活性の阻害は認められなかった⁴⁾⁵⁾。

臓器重量；投与終了後、対照群ならびに 20、70 および 250 ppm 群の 1 群雌雄各 12 匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、脾臓、精巣、副腎、卵巣

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した。

申請者注 4)：コリンエステラーゼ阻害の毒性学的意義について

FAO/WHO⁴⁾の基準を参考に、脳コリンエステラーゼ活性の 20%以上の阻害を毒性学的に意義のある変化と判断する。その結果、本試験では 20 ppm 群以上の雌雄で認められた脳コリンエステラーゼの低値を毒性学的意義のある変化と判断した。

a) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

申請者注 5)：コリンエステラーゼ活性における統計検定について

報告書中に個別別表が収載されていなかったため、申請者による統計検定は実施できなかった。

検査項目	投与量 (ppm)						
	雄			雌			
	20	70	250	20	70	250	
最終体重	100	↓94	↓82	102	98	↓86	
脾臓	重量	100	↓85	↓84	95	111	92
	対体重比	100	90	105	96	116	104
肝臓	重量	97	↓90	↓75	104	103	↓91
	対体重比	97	96	↓92	102	105	104
腎臓	重量	103	↓90	↓81	103	104	96
	対体重比	104	96	100	101	105	110
副腎	重量	103	106	↓73	96	94	↓92
	対体重比	103	113	91	94	96	107
卵巣	重量	—	—	—	↓85	↓84	↓82
	対体重比	—	—	—	↓83	85	95

検定方法記載なし ↓: $p < 0.05$, ↓↓: $p < 0.01$

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

250 および 70 ppm 群雄で肝臓、腎臓および脾臓の絶対重量が有意に減少し、250 ppm 群雄で副腎の絶対重量が有意に減少した。

250 ppm 群雌で肝臓および副腎の絶対重量が有意に減少し、250、70 および 20 ppm 群雌で卵巣の絶対重量が有意に減少した。

対体重比については 250 ppm 群雄で肝臓に、20 ppm 群雌で卵巣に有意差が認められるのみであった。

いずれの変化も著明なものではなく、雌における卵巣重量の変化に用量相関性はなかった⁶⁾。

組織中の検体残留量；対照群および 250 ppm 群を対象として肝臓、筋肉および脂肪中に残留する検体を測定した。

測定結果を次表に示した。

申請者注 6)：臓器重量において認められた統計学的に有意な変化について

70 ppm 群の雄の肝臓重量および 70 ppm 群以上の雌雄における、脾臓、腎臓および副腎の臓器重量の変化について、対体重比重量に変化はないため毒性学的意義はないと考えられた。

250 ppm 群の雄の肝臓重量については、血液生化学検査および病理組織学的検査に影響が認められていないため、毒性学的意義はないと考えられた。

250 ppm 雌の卵巣重量の低値は体重の低値の二次的な影響であり、病理組織学的検査に影響も認められなかったため、毒性学的意義はないものと判断した。

20 および 70 ppm 雌で認められた卵巣重量あるいは対体重比の変化は、体重への影響も認められない用量であり、卵巣の病理組織学的検査への影響もみられなかったため、偶発的なものであり、被験物質の直接的な影響によるものではないと判断した。

臓器	投与量 (ppm)			
	雄		雌	
	0	250	0	250
肝臓	0.003	0.007	—	—
筋肉	0.005	0.014	—	—
脂肪	0	0.039	0	0.033

表中の数値は測定値 (単位: ppm) —: データなし

250 ppm 群雌雄において脂肪中の残留量が肝臓および筋肉と比較して高値を示したが、それらは非常に微量であった。

肉眼的病理検査; 投与終了後、全動物を対象として剖検を行った。

いずれの投与群にも対照群と比較して肉眼的に異常と思われる変化は認められなかった。

病理組織学的検査; 全動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、卵巣

統計検定は実施しなかったが⁷⁾、いずれの投与群にも検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、CYAP 原体のラットを用いた飼料混入投与による 30 日間反復経口投与毒性試験における毒性影響として、250 ppm 群の雌雄で中毒症状 (振戦・立毛)、体重増加の抑制傾向、摂餌量の減少傾向が、70 ppm 群の雄で体重増加の抑制傾向が認められ、20 ppm 群以上の雌雄において脳のコリンエステラーゼ活性の阻害が認められた。したがって、無毒性量は雌雄とも 10 ppm (雄 0.75 mg/kg/日、雌 0.77 mg/kg/日) と判断された[□]。

申請者注 7): 病理組織学的検査結果の統計検定について

報告書中の病理組織学的検査結果の表に発現例数の記載がなく、個別別のデータも収載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

(2) CYAP 原体のラットを用いた飼料混入による 90 日間反復経口投与毒性試験

(資料 6-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1970 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 27 匹、投与開始時 4 週齢

コリンエステラーゼ活性値の経時的変動を観察するため、投与 10、20、30、60 および 90 日に 1 群雌雄各 3 匹を屠殺した。

投与期間：90 日間（報告書に投与年月日の記載なし）

投与方法：検体を 0、10、40 および 160 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって随時授食させた。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

いずれの群にも死亡例はなかった。

160 ppm 群で投与 3~5 日から線維性攣縮、振戦および立毛が認められた。これらの症状は以後増悪の傾向は認められず、約 1 週間持続した後、消失した。

40 および 10 ppm 群では異常は認められなかった。

体重変化；投与 0~5、7 および 9 日ならびにその後は週 1 回、体重を測定した。

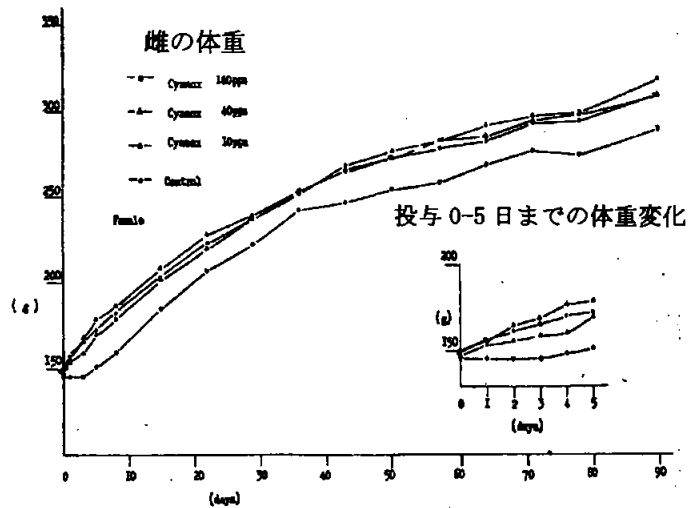
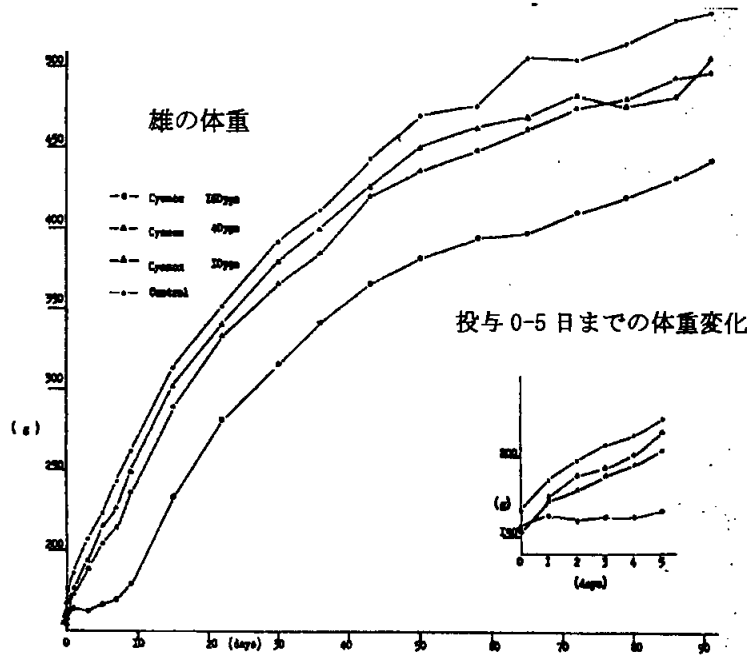
160 ppm 群雄で投与期間の初期（約 10 日間）に著しい体重増加の抑制傾向が認められた。しかし、10 日以降は他の群と同程度の体重増加曲線を示した。160 ppm 群雌では雄と同様に初期に体重増加の抑制傾向が認められたが、以後順調な体重の回復が認められた。

40 および 10 ppm 群雌雄では対照群に比して有意な差はなかった。

雌雄の体重および体重増加量の変化を次図に示した^{申請者注}。

申請者注：体重変化について

検定法および有意差の認められた時期は不明であった。



摂餌量；投与0、1、3、5、7および9日ならびにその後は週1回、摂餌量を測定した。

160 ppm 群で投与期間の初期（約10日間）に摂餌量の減少傾向を示し、体重増加の抑制傾向と関連していた。それ以降には他の群との差はなかった。

40 および 10 ppm 群では対照群と比べて差はなかった。

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。

投与群 (ppm)		10	40	160
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.75	2.8	10.3
	雌	0.75	2.9	11.6

摂水量；投与0、1、3、5、7および9日ならびにその後は週1回、摂水量を測定した。
160 ppm 群雄で投与期間を通じて摂水量の減少傾向が認められ、それは初期において著明であった。160 ppm 群雌でもほぼ同様の傾向が認められるが、雄ほど明らかではなかった。

血液学的検査；投与終了後、1群雌雄各12匹を対象として腹大動脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。なお、白血球分類は160 ppm 群のみで測定した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血沈速度、白血球数、白血球分類（リンパ球、好中球、好酸球、好塩基球、単球）

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した。

検査項目	投与群 (ppm)					
	雄			雌		
	10	40	160	10	40	160
ヘマトクリット値	104	106	↓95	100	100	↓96
血沈速度	↓55	68	80	77	84	↓58

検定方法記載なし ↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$

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

160 ppm 群雌雄でヘマトクリットが減少し、160 ppm 群雌および10 ppm 群雄で血沈速度が有意に減少したが、これらの変動は検体投与の影響とは考えられなかった¹⁾。

白血球分類については対照群と比較して差は認められなかった²⁾。

血液生化学的検査；1群雌雄各12匹を対象として、血液学的検査用試料と同時に採取し

申請者注1)：血液学的検査において認められた統計学的に有意な変化について

160 ppm 群で認められたヘマトクリットの低値は軽微な変化であり、赤血球数への影響も認められない程度であったため、毒性学的意義はないものと判断した。10 ppm 群の雄で認められた血沈速度の低値は用量に応じた変化ではないため投与の影響ではなく、160 ppm 群の雌で認められた血沈速度の低値は、赤血球数やヘモグロビンに増加が認められず、雄の10 ppm 群でも同程度の値がみられたため、投与の影響ではないものと判断した。

申請者注2)：白血球分類における統計検定について

統計検定実施の有無不明であり、また報告書に個別別表が収載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

た血液から得られた血清を用い、以下の項目を測定した。

総蛋白、アルブミン、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ、血糖、尿素窒素

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した。

検査項目	投与群 (ppm)					
	雄			雌		
	10	40	160	10	40	160
AST	93	117	102	103	↓84	96
血糖	98	98	81	94	101	↓90
尿素窒素	124	↓81	100	117	102	116

検定方法記載なし ↑ ↓ : $p < 0.05$, ↑ ↓ : $p < 0.01$

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

160 ppm 群雌の血糖³⁾、40 ppm 群雄の尿素窒素、40 ppm 群雌の AST が有意に減少した。しかし、いずれも特に異常なものではなく検体投与の影響とは考えられなかった⁴⁾。

尿検査；投与終了後、対照群ならびに 40 および 160 ppm 群の 1 群雌雄各 12 匹を対象として 24 時間尿を採取し、以下の項目を検査した。

糖、ビリルビン、潜血反応、ウロビリノーゲン、蛋白

統計検定は実施しなかったが⁵⁾、いずれの群にも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活性；10、20、30、60 および 90 日目にそれぞれ各群雌雄各 3 匹を対象として腹大動脈から血液を採取し、屠殺後に脳を摘出した。得られた血漿、赤血球および脳のコリンエステラーゼ活性値を測定した。

申請者注 3)：160 ppm 群の雌で認められた血糖の低値について

肝臓への影響も認められておらず、体重増加抑制および摂餌量の減少傾向の影響を受けたもので、毒性学的意義はないものと判断した。

申請者注 4)：40 ppm 群の雌雄でそれぞれ認められた尿素窒素および AST の低値について

用量に応じた変化でないため、検体投与の影響によるものではないと判断した。

申請者注 5)：尿検査における統計検定について

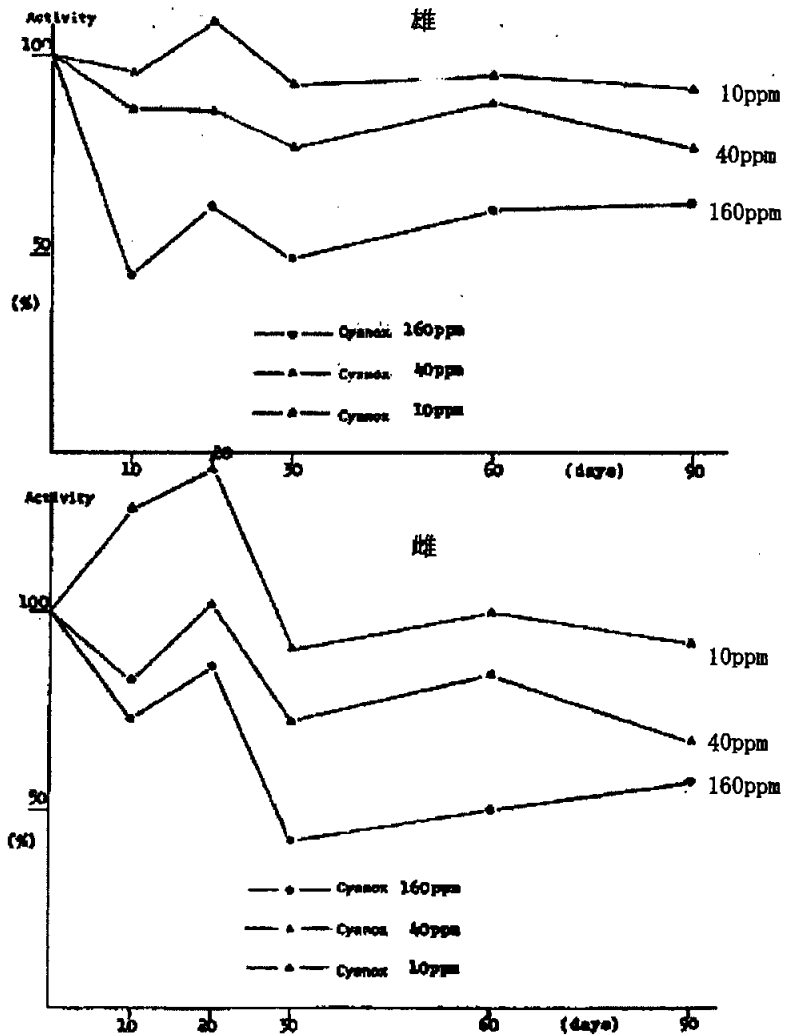
報告書中に個別別表が収載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

血漿コリンエステラーゼ活性

160 および 40 ppm 群雄で投与期間を通じてそれぞれ 40~60 および 10~20%の活性の阻害が認められ、僅かに経目的に活性値の上昇が認められた。

160 および 40 ppm 群雌では 10~20 日の活性値が非常に高かったが、30 日以後はそれぞれ 40~60 および 20~40%の阻害ではほぼ一定していた。

10 ppm 群雄ではコリンエステラーゼ活性の阻害は認められなかった。10 ppm 群雌では 10~20 日の活性値が非常に高く、30 日以後は対照群と同程度であった。結果を次図に示した。各投与群の値は各測定時期の対照群の値に対する百分率で示した。



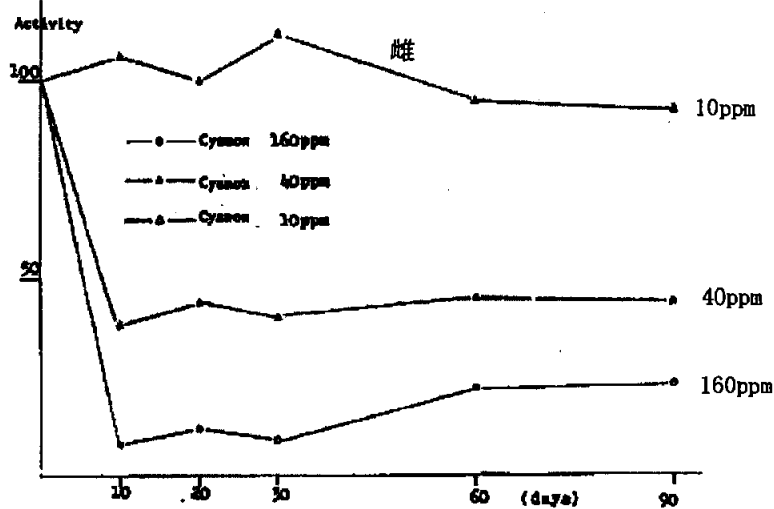
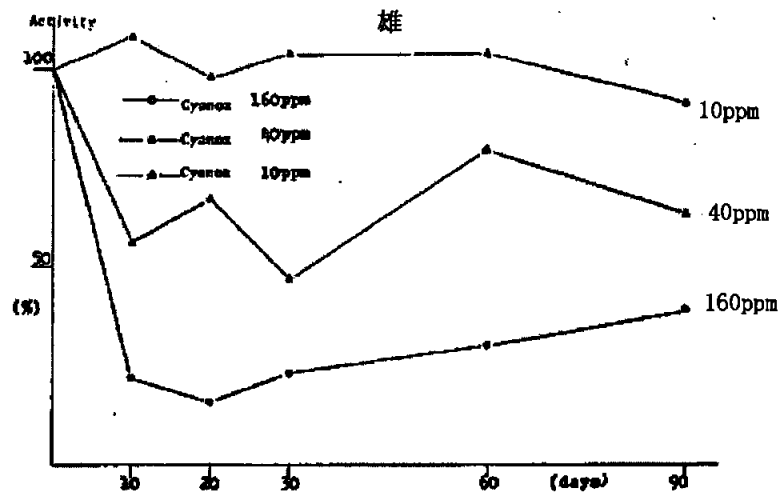
赤血球コリンエステラーゼ活性

160 ppm 群雌雄では10~30日における活性値の低下が最も大きく、80~90%の阻害を示した。しかし以後経目的に回復が認められ、90日における阻害度は雄60%、雌70%であった。

40 ppm 群雄では10~30日において35~50%の阻害を示し、以後活性の回復の傾向が認められた。40 ppm 群雌では10日に約60%の阻害を示し、以後90日まで同程度の阻害が持続した。

10 ppm 群雌雄ではコリンエステラーゼ活性の阻害は認められなかった。

結果を次図に示した。各投与群の値は各測定時期の対照群の値に対する百分率で示した。



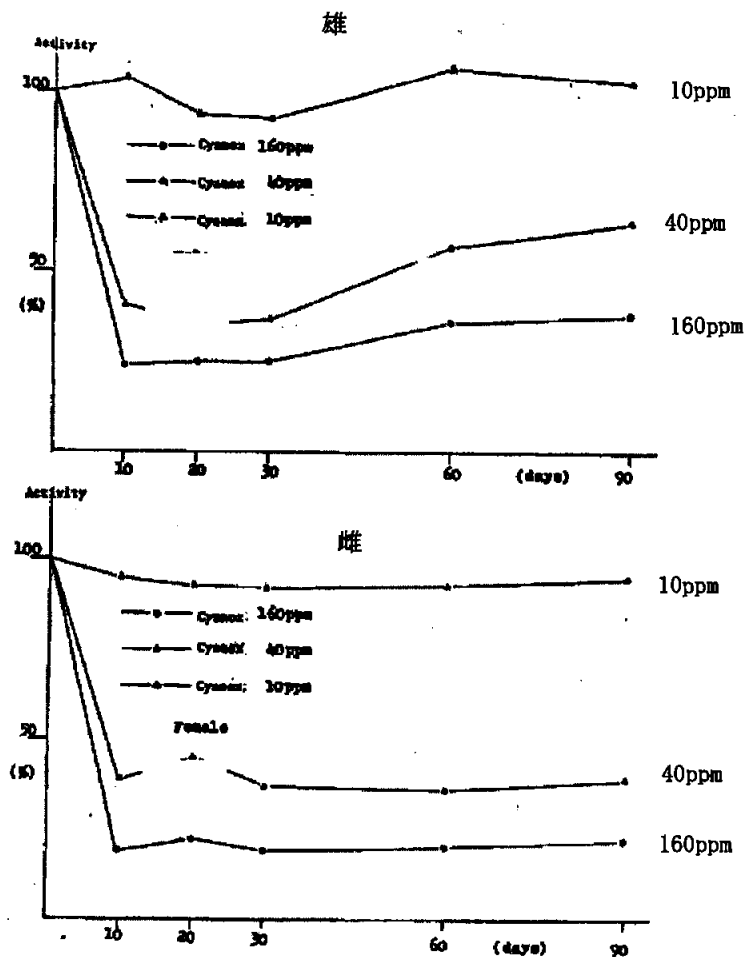
脳コリンエステラーゼ活性

160 ppm 群雌雄では 10 日に 75~80%の阻害を示し、雄では僅かに回復するが、雌ではほぼ一定であった。

40 ppm 群雌雄では 10~30 日に 60~70%の阻害が認められた。雄ではその後活性値に回復の傾向が認められるが、雌における阻害は一定であった。

10 ppm 群雌雄ではコリンエステラーゼ活性の阻害は認められなかった⁶⁾。

結果を次図に示した。各投与群の値は各測定時期の対照群の値に対する百分率で示した。



申請者注 6) : コリンエステラーゼ阻害の毒性学的意義について

FAO/WHO^{a)} の基準を参考に、脳あるいは赤血球コリンエステラーゼ活性の 20%以上の阻害を毒性学的に意義のある変化と判断する。その結果、本試験では 40 ppm 以上の雌雄の赤血球コリンエステラーゼおよび脳コリンエステラーゼの低値を毒性学的意義のある変化と判断した。

a) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

臓器重量；投与終了後、1群雌雄各12匹を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肺、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、甲状腺、精巣、卵巣

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した。

検査項目		投与群 (ppm)					
		雄			雌		
		10	40	160	10	40	160
最終体重		↓92	↓90	↓82	100	103	94
体重増加量		92	89	↓76	98	109	89
心臓	絶対重量	93	93	↓87	100	100	↓89
	対体重比	100	104	107	103	97	100
肝臓	絶対重量	↓88	↓89	↓78	93	99	↓89
	対体重比	96	99	95	94	96	96
腎臓 (左側)	絶対重量	94	↓94	↓81	100	100	↓89
	対体重比	100	100	97	97	97	97
腎臓 (右側)	絶対重量	94	94	↓81	100	100	↓89
	対体重比	103	103	100	97	97	97
副腎 (左側)	絶対重量	102	106	82	90	100	↓80
	対体重比	110	119	99	91	98	87
脾臓	絶対重量	100	↓88	↓88	83	133	↓67
	対体重比	100	87	100	94	144	83
甲状腺 (左側)	絶対重量	91	129	128	88	85	↓78
	対体重比	140	105	144	88	82	84
精巣 (左側)	絶対重量	94	100	↓89	—	—	—
	対体重比	106	109	106	—	—	—
卵巣 (左側)	絶対重量	—	—	—	90	106	↓81
	対体重比	—	—	—	90	103	88

検定方法記載なし ↑ ↓: 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

160 ppm 群雌雄ならびに 40 および 10 ppm 群雄で各臓器の絶対重量に有意な減少が認められるものがあった。しかし、対体重比に有意差はないことから、それらは単なる体重の増加抑制に起因するものであり、検体投与の影響とは考えられなかった⁷⁾。

申請者注 7) : 40 および 10 ppm 群の雄において認められた臓器重量の低値について

全ての投与群の雄で最終体重が有意な低値を示したが、それは投与開始時の平均体重が対照群より有意に低値であったためであり、40 および 10 ppm 群の雄では体重増加量で比較した場合に有意差がないことから、投与による影響とは考えられなかった。よって臓器重量で認められた有意な低値は体重の低値による二次的な変化であり、毒性学的意義はないものと判断した。

組織中の検体残留量；投与終了後、各群の肝臓、腎臓および脂肪中に残留する検体を測定した。

測定結果を次表に示した。

臓器	投与群 (ppm)							
	雄				雌			
	0	10	40	160	0	10	40	160
肝臓	0.003	0.003	0.008	0.014	0.004	0.003	0.009	0.011
腎臓	0.009	0.015	0.015	0.011	—	0.014	0.013	0.036
脂肪	0.004	0.003	0.009	0.014	0.004	0.003	0.011	0.089

表中の数値は測定値 (単位: ppm) —: データなし

検体の残留量は肝臓および脂肪では 40 ppm 以上の群に、腎臓では 160 ppm 群において検出されたが、多くは 0.01 ppm 前後と極く微量であり、160 ppm 群雌の腎臓に 0.036 ppm、脂肪に 0.089 ppm とやや高い残留量が検出されたに過ぎなかった。

肉眼的病理検査；投与終了後、全動物を対象として剖検を行った。

いずれの投与群にも対照群と比較して特に異常は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物を対象として以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

脳、肺、心臓、肝臓、腎臓、脳下垂体、甲状腺、副腎、脾臓、脾臓、骨髄、脊髄、胸腺、精巣、卵巣、胃、十二指腸、空腸、回腸、眼球

統計検定は実施しなかったが⁸⁾、いずれの投与群にも検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、CYAP 原体のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における毒性影響として、160 ppm 群で中毒症状 (線維性攣縮、振戦および立毛)、体重増加の抑制傾向ならびに摂餌量および摂水量の減少傾向が認められ、40 ppm 以上の群でコリンエステラーゼ活性の阻害が認められた。したがって、無毒性量は雌雄とも 10 ppm (雄 0.75 mg/kg/日、雌 0.75 mg/kg/日) と判断された。

申請者注 8)：病理組織学的検査における統計検定について

報告書中の病理組織学的検査結果の表に発現例数の記載がなく、個別別のデータも収載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

(3) CYAP 原体のラットを用いた飼料混入による 24 週間反復経口投与毒性試験

(資料 6-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1972 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 15 匹、投与開始時 6 週齢

投与期間：24 週間

投与方法：検体を 0、10、20、60 および 180 ppm の濃度で飼料に混入し、24 週間にわたって随時摂食させた。

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

180 ppm 群で投与開始後約 1 週間経過した頃から過敏、筋の攣縮、軽度の眼球突出を発現し始めた。これらの症状は以後 7~10 日間持続した後、回復し、投与終了時まで再発は認められなかった。

60 ppm 群以下の群では異常は認められなかった。

投与終了時の死亡率を次表に示した。

投与群 (ppm)		0	10	20	60	180
死亡率 (%)	雄	7	7	20	27	20
	雌	0	13	0	7	0

投与開始後約 11 週を経過した頃から、各群の一部、特に雄の多くに急激な体重の減少が認められ、死亡する例もあった。これらはいずれも肉眼的病理検査において著明な充血が認められ、死因は肺炎と判断された。

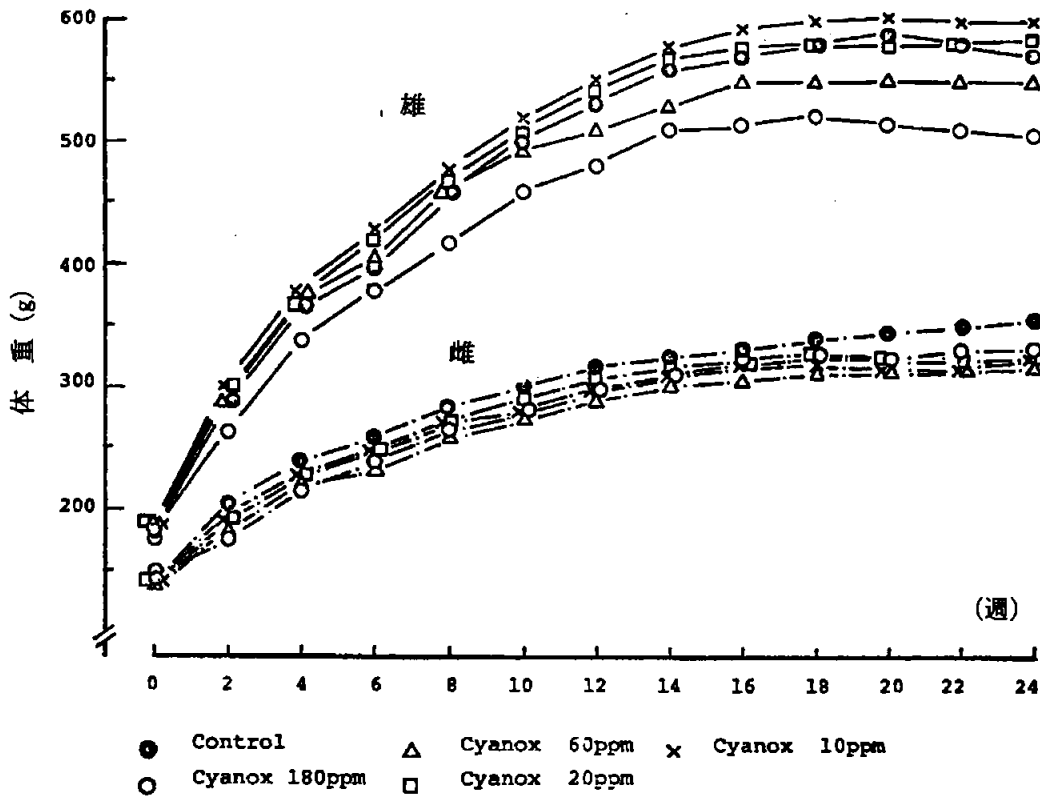
体重変化；体重を週 1 回測定した。全投与期間中の体重増加量について対照群と投与群の間に有意差が認められた。次表に示した。

検査項目	投与群 (ppm)							
	雄				雌			
	10	20	60	180	10	20	60	180
体重増加量	106	104	94	↓83	89	↓86	↓86	93

検定方法記載なし ↑ ↓ : $p < 0.05$, ↑ ↓ : $p < 0.01$

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

体重変化を次図に示した。



180 ppm 群雄で第 4 週頃から体重増加の抑制傾向が認められ、全投与期間中の体重増加量が有意に減少した。

60 および 20ppm 群雌でも全投与期間中の体重増加量が有意に減少したが、用量依存性がないことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

したがって、180 ppm 群雌および 60 ppm 群以下の群では検体投与による影響はなかった。

摂餌量；各週の体重測定日の前後 2 日間の摂餌量を測定し、その週の平均摂餌量とした。

180 ppm 群で第 1 週に摂餌量の減少傾向を示したがその他には特に変化は認められなかった¹⁾。

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。

申請者注 1)；180 ppm 群の雌で認められた摂餌量の減少傾向について

第 1 週に減少傾向を示したが、体重への影響が認められなかったため、一過性のものであり、毒性学的意義のない変化と判断した。

投与群 (ppm)		10	20	60	180
検体摂取量 (mg/kg)	雄	0.56	1.4	3.8	11.7
	雌	0.77	1.5	4.3	12.7

摂水量；摂餌量の測定と同時期に摂水量を測定した。

いずれの投与群でも特に変化は認められなかった。

血液学的検査；投与終了後、全生存動物を対象として腹大動脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。

赤血球数、血小板数、白血球数、血球容積（ヘマトクリット値）、血沈速度、ヘモグロビン量

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した。

検査項目	投与群 (ppm)							
	雄				雌			
	10	20	60	180	10	20	60	180
赤血球数	101	104	106	↑107	99	100	100	99
血小板数	↑121	105	112	107	110	104	115	110
血沈速度	81	63	67	↓38	118	↑274	179	171
ヘマトクリット値	99	100	97	99	↓96	↓93	↓96	↓93
白血球数	88	100	86	↓71	101	118	89	108

検定方法記載なし ↑ ↓: $p < 0.05$, ↑ ↓: $p < 0.01$

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

いくつかの項目において対照群と比較して投与群に有意な変動が認められた。しかし、これらの変動はいずれも著明なものではなく、検体投与の影響とは考えられなかつた²⁾。

申請者注 2)：血液学的検査において認められた統計学的に有意な変化について

10 ppm 群雄の血小板数の高値、20 ppm 群雌の血沈速度の高値、雌のヘマトクリット値の低値は用量に応じた変化ではなかったため、検体投与の影響によるものではないと判断した。180 ppm 群の雄で認められた赤血球数の高値および白血球数の低値について、軽微な変化であり毒性学的意義はないものと判断した。同群で認められた血沈速度の低値について、赤血球数の高値の影響を受けたものであり、毒性学的意義のないものと判断した。

血液生化学的検査；血液学的検査用試料と同時に採取した血液から得られた血清（各群雌雄各 10 匹を選抜）を用い、次の項目を測定した。

総蛋白量、アルブミン量、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ、尿素窒素、血糖

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した。

検査項目	投与群 (ppm)							
	雄				雌			
	10	20	60	180	10	20	60	180
総蛋白量	102	103	105	101	↑111	104	102	98
アルブミン量	108	106	112	↑124	106	93	99	108
A/G 比	120	108	134	↑161	93	78	92	125
AST	↓89	101	99	99	107	109	↑114	100
尿素窒素	109	114	110	107	↓83	↓87	91	106
血糖	↑168	↑172	128	↑173	102	↓56	↓84	↓80

検定方法記載なし ↑ ↓ : $p < 0.05$, ↑ ↓ : $p < 0.01$

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

180 ppm 群雄でアルブミン量および A/G 比が有意に増加し、投与の影響と考えられた。

その他にもいくつかの項目において対照群と比較して投与群に有意な変動が認められたが、用量相関性も認められず、検体投与による影響とは考えられなかった³⁾。

尿検査；第 4、12 および 24 週に対照群ならびに 60 および 180 ppm 群の雌雄各 11~12 匹を対象として 24 時間尿を採取し、以下の項目を検査した。

糖、ビリルビン、潜血反応、ウロビリノーゲン、蛋白

検体投与の影響と考えられる項目を次表に示した。

申請者注 3) : 血糖の変化について

180 ppm 群の雄で高値および 20 ppm 群以上の雌で低値が認められたが、いずれの用量でも肝臓への影響等、関連する変化は認められず、また雌雄で異なった変動を示したため、偶発的な変化で検体投与の影響によるものではないと判断した。

検査時期 (週)	性 別 投与群 (ppm)	雄			雌		
		0	60	180	0	60	180
4	所見\検査動物数	12	12	10 _#	12	12	12
	糖			**			**
	0%	12	12	0	12	11	1
	0.2%	0	0	2	0	0	8
	0.5%	0	0	8	0	1	3
	所見\検査動物数	12	12	12	12	12	12
	ウロビリノーゲン						*
	—	12	12	10	12	12	8
	±	0	0	2	0	0	4
	所見\検査動物数	12	12	12	12	12	12
	蛋白					*	**
	0%	0	0	0	0	0	0
	0.05%	0	0	0	4	9	11
	0.1%	0	0	1	4	3	1
0.15%	3	6	4	4	0	0	
0.3%	6	4	7	0	0	0	
0.6%	3	2	0	0	0	0	
12	所見\検査動物数	12	12	12	12	12	12
	糖			*			
	0%	12	12	8	12	12	12
	0.2%	0	0	4	0	0	0
0.5%	0	0	0	0	0	0	
24	所見\検査動物数	12	11	12	12	12	12
	蛋白			*			
	0%	0	0	0	0	0	0
	0.05%	0	0	0	0	1	0
	0.1%	0	0	0	3	2	2
	0.15%	7	4	2	4	4	4
	0.3%	3	5	2	5	4	4
0.6%	2	2	8	0	1	2	

申請者注：申請者が検定を実施した。

Wilcoxon 検定 (両側) * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

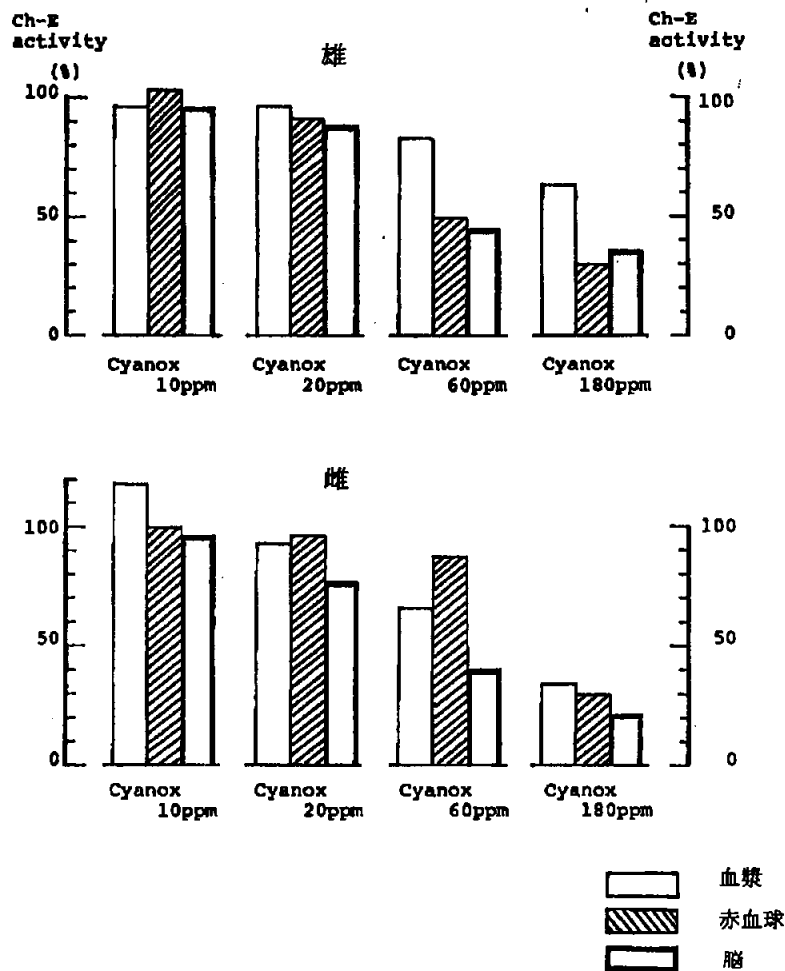
4 週時の 180 ppm 群の検査動物数 (#) については、報告書に記載されている例数を記載した。

180 ppm 群のほぼ全例で第 4 週に尿糖が検出され、後に投与期間が経過するにつれて消失した。本試験より大量 (250 ppm) の検体を投与した 30 日間試験 (資料 5-2) において尿検査および病理組織学的所見に異常はなく、また、本試験でも一過性のみ検出されたことから、急性的な中毒時の変化と考えられた。

尿蛋白は対照群を含めて投与期間を通じて検出されたが、180 ppm 群雄で第 24

週に対照群より高濃度に検出された⁴⁾。

コリンエステラーゼ活性;血液学的検査用試料と同時に採取した血液から得られた血漿および血球、投与終了後の肉眼的病理検査時に摘出した各動物の脳の半分を用い、血漿、赤血球および脳のコリンエステラーゼ (Ch-E) 活性値を測定した。結果を次図に示した。



申請者注 4) : 尿検査において認められた統計学的に有意な変化について

180 ppm 群の雌で第 4 週にウロビリノーゲンが検出されたが、一過性のものであり毒性学的意義のない変化と判断した。

60 ppm 以上群の雌で第 4 週に尿蛋白の統計学的な有意差が認められたが、対照群よりも低濃度を示しており、偶発的なもので検体投与の影響によるものではないと判断した。

180 ppm 群の雄で第 4 および 12 週に尿糖が検出されたが、12 週時点では 4 週時点より軽微な変化であり、24 週時には尿糖への影響は認められず、腎臓の病理組織学的変化にも検体投与の影響は認められず、その他関連する変化も認められなかったため、第 4 および 12 週で認められた尿糖は一過性のもので毒性学的意義のない変化と判断した。

180 ppm 群の雄で尿蛋白の有意な高値が認められたが、腎臓の病理組織学的変化に検体投与の影響は認められなかったため毒性学的意義のない変化と判断した。

コリンエステラーゼ活性の阻害は雄よりも雌で強く、20 ppm 以上の投与群で投与量の増加とともに強い阻害が認められた。

180 および 60 ppm 群で脳および血液中のコリンエステラーゼ活性の阻害が認められ、阻害の程度は脳よりも血液中で軽度であった。180 ppm 群の脳コリンエステラーゼ活性の阻害は 70~80%であった。

20 ppm 群ではコリンエステラーゼ活性の阻害は脳に認められるが、血液中の活性値に変化は認められなかった。

10 ppm 群ではコリンエステラーゼ活性の阻害は認められなかった⁵⁾。

臓器重量；投与終了後、全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣または卵巣

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した。

検査項目	投与群 (ppm)								
	雄				雌				
	10	20	60	180	10	20	60	180	
最終体重	104	103	96	↓89	92	↓91	↓89	95	
脳	重量	101	98	100	101	102	↑106	98	↑109
	対体重比	100	97	105	↑113	↑113	↑116	111	↑115
心臓	重量	—	105	95	95	—	93	97	94
	対体重比	—	104	100	↑108	—	100	107	97
肺	重量	—	97	113	↓79	—	98	96	94
	対体重比	—	94	121	89	—	106	106	98
肝臓	重量	107	103	94	98	↓88	92	↓88	91
	対体重比	104	101	99	↑110	96	100	99	96
腎臓	重量	106	105	100	↓91	105	97	94	101
	対体重比	104	102	104	102	113	105	105	107
脾臓	重量	85	89	88	↓62	122	↑154	91	102
	対体重比	81	86	95	71	140	↑173	100	113
副腎	重量	—	106	105	↓81	—	102	109	106
	対体重比	—	101	109	89	—	110	119	110

検定方法記載なし ↑ ↓: 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

申請者注 5)：コリンエステラーゼ阻害の毒性学的意義について

FAO/WHO^{a)}の基準を参考に、脳あるいは赤血球コリンエステラーゼ活性の有意な20%以上の阻害を毒性学的に意義のある変化と判断する。その結果、本試験では60 ppm以上の雄および180 ppmの雌で認められた赤血球コリンエステラーゼならびに60 ppm以上の雄および20 ppm以上の雌で認められた脳コリンエステラーゼの低値を毒性学的意義のある変化と判断した。

a) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

180 ppm 群の雄で最終体重が有意な低値を示した。

180 ppm 群の雄でいくつかの臓器の絶対重量および体重比において有意な変動が認められたが、単なる体重増加抑制によるものと考えられた。

雌でも対照群と投与群の間に有意差が散見されたが、これらの変動に用量相関性はなかった。

肉眼的病理検査；投与終了後、全動物を対象として剖検した。

いずれの投与群にも異常は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群および180 ppm 群の全動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

脳、眼、脊髄、気管、肺、心臓、脾臓、骨髄、リンパ節、胸腺、食道、胃、小腸、大腸、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣または卵巣、下垂体、甲状腺、副腎

60 ppm 群の全動物を対象として以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。

眼、脾臓、肝臓、腎臓

180 ppm 群の雄で軽度の腎臓間質細胞浸潤が高頻度に認められた⁶⁾。本所見は対照群にも認められる程度であり、特に著明なものではなく、検体投与による影響とは考えられなかった。

他の臓器には検体投与による影響は全く認められなかった。

以上の結果から、CYAP 原体のラットを用いた飼料混入投与による24週間反復経口投与毒性試験における毒性影響として、180 ppm 群の雄で体重増加の抑制傾向、180 ppm 群の雌雄で中毒症状（過敏、筋の攣縮および軽度の眼球突出）ならびにアルブミンおよびA/G比の高値が認められ、20 ppm 以上の群の雌雄で脳および/または血液中のコリンエステラーゼ活性の阻害が認められた。したがって、無毒性量は雌雄とも10 ppm（雄0.56 mg/kg/日、雌0.77 mg/kg/日）と判断された。

申請者注6)：病理組織学的検査結果について

報告書中の病理組織学的検査結果の表に発現例数の記載がなく、個体別のデータも収載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

(4) CYAP 原体のイヌにおける 4 週間強制経口投与による亜急性毒性試験

(資料 6-4)

試験機関：(株)実医研

[GLP 対応]

報告書作成年：1997 年

CYAP 原体のイヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験成績については、以下のとおり、慢性毒性試験の予備試験として実施された 4 週間投与試験の成績および 1 年間投与による慢性毒性試験の成績で代替できるものと考えます。

検体：CYAP 原体

検体純度：

試験動物：ビーグル犬、1 群雌雄各 2 頭 (6 ヶ月齢)

投与開始時体重；雄 8.8~10.0 kg、雌 7.4~9.4 kg

投与期間：4 週間 (1995 年 11 月 1 日~1995 年 11 月 30 日~12 月 1 日)

投与方法：検体を 0、3、30、300 mg/kg の用量となるよう、ゼラチンカプセルに充填し、4 週間毎日 1 回経口投与した。

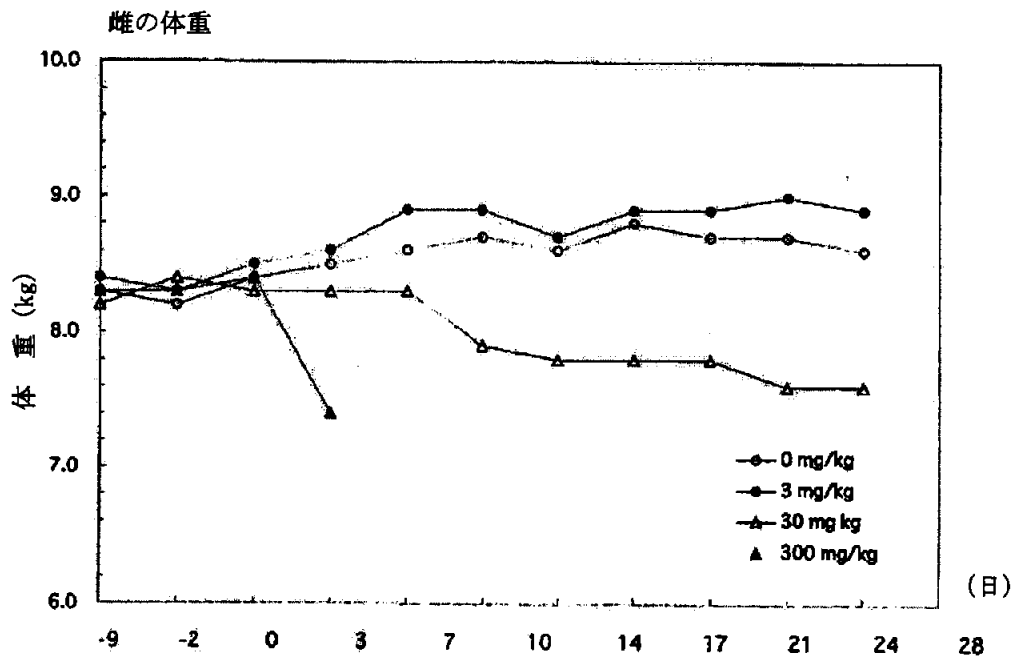
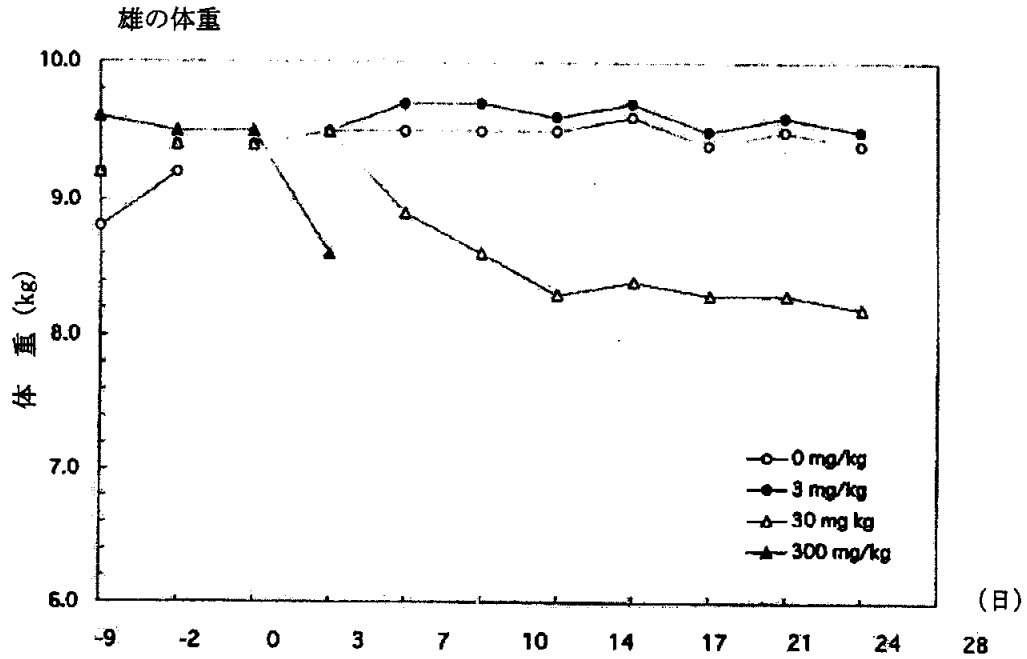
試験項目および試験結果：

一般症状および死亡；投与前、投与直後、投与後 1~2 時間および午後 4 時に毒性症状と行動の変化を観察した。また、1 日 2 回生死および瀕死動物の有無を確認した。300 mg/kg 投与群の雌雄において、投与 2 日以降食欲の廃絶が見られ、嘔吐、流涎、縮腫、横臥、腹臥などが認められ、投与 3 日には雌雄各 1 例が死亡し、雌雄各 1 例が切迫殺された。また、30 mg/kg 投与群の雌雄では縮腫、振戦、嘔吐、流涎などが観察された。なお、3 mg/kg 投与群の雄 1 例に嘔吐が観察されたが、散発的であり、毒性学的な意義はないと考えられた。

体重；投与開始前 2 週より、毎週 1 回全動物の体重を測定した。

体重変化を図に示した。

30 mg/kg 以上の投与群の雌雄で体重の減少が認められた。



摂餌量；投与開始前1週より毎日全動物の摂餌量を測定した。

30 mg/kg 以上の投与群の雌雄で投与期間を通して摂餌量の減少が認められた。

尿検査；投与開始前および投与開始後4週に尿検査を行った。潜血、ケトン体、ブドウ糖、蛋白、pH、ウロビリノーゲン、ビリルビン、沈渣、比重、色調および尿量を検査

した (300 mg/kg 群の雌雄では投与開始後 4 週の検査は実施せず)。
検体投与に起因する変化は認められなかった。

血液学的検査；投与開始前、投与開始後 2 および 4 週に各動物の橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目を測定した。300 mg/kg 群の投与開始後の検査は、投与 3 日の切迫殺時に雌雄各 1 例についてのみ実施した。

赤血球数、白血球数、血小板数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、平均赤血球血色素量、平均赤血球容積、平均赤血球血色素濃度、白血球百分比、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

300 mg/kg 群の雌 1 例 (投与 3 日の切迫殺例) で赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の増加が認められたが、瀕死状態による脱水等に関連した変化と考えられた。また、この雌および同群の雄でリンパ球比の顕著な低下と分葉核好中球比の上昇を伴う白血球数の増加が認められたが、強いストレス状態下にある動物の反応性変化と考えられた。

血液生化学的検査；投与開始前、投与開始後 2 および 4 週に血液学的検査と同時に採取した血液を遠心分離し、得られた血清または血漿について以下の項目を測定した。300 mg/kg 群の投与開始後の検査は、投与 3 日の切迫殺あるいは死亡時に、雄 1 例、雌 2 例について実施した。

アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GPT)、血糖、総蛋白、総コレステロール、総ビリルビン、尿素窒素 (BUN)、尿酸、クレアチニン、トリグリセリド、リン脂質、無機リン、カルシウム、ナトリウム、カリウム、クロール、蛋白分画、アルブミン/グロブリン比 (A/G 比)、乳酸脱水素酵素 (LDH)

300 mg/kg 群の雌雄で切迫殺時 (投与 3 日) に BUN、クレアチニン、トリグリセリド、総コレステロール、リン脂質、総蛋白、 α_2 グロブリン比の増加並びにナトリウム、カリウム、クロールの減少が認められ、さらに雄ではブドウ糖の増加並びに A/G 比、アルブミン比および α_1 グロブリン比の低下、雌では LDH、AST、ALT、ALP、 γ -GPT、総ビリルビン、尿酸、無機リン、カリウムの増加および β グロブリン比の低下が認められた。LDH、AST、ALT、ALP、 γ -GPT の上昇から肝臓への影響が示唆されたが、組織学的に対応する変化は認められず、瀕死期の循環障害に伴う肝障害によるものと考えられた。30 mg/kg 群では、投与 2 週に雄 1 例で BUN、クレアチニン、総コレステロール、リン脂質、総蛋白および α_2 グロブリン比の増加並びにナトリウム、カリウム、クロールの減少が認められた。300

mg/kg 群の雌雄および 30 mg/kg 群の雄で総コレステロール、リン脂質あるいはトリグリセリドなどの血中脂質の増加が認められたが、摂餌量の廃絶あるいは低下に起因する二次的な変化と考えられた。また、尿酸、BUN およびクレアチニンの増加は、循環障害に伴う腎糸球体濾過量の低下による可能性が考えられた。ナトリウム、カリウム、クロールなどの電解質の変動は、嘔吐、流涎などによる喪失、摂餌量の低下に伴う摂取量の減少、血中の脂質あるいは蛋白の増加に伴う血漿水分量の減少による相対的な変化など複合的な要因によるものと考えられるが、いずれも検体による直接的な変化ではなく、二次的なものと考えられた。総蛋白の増加とそれに伴う分画比の変動の主たる変化は α_2 グロブリンの増加と考えられた。これらの一連の変化は、強いストレス状態下にある動物の反応性変化と考えられた。

コリンエステラーゼ活性；投与開始前、投与開始後 2 および 4 週に各動物の橈側皮静脈から採取した血液をヘパリン処理し、分離した赤血球および血漿について、コリンエステラーゼ活性 (ChE) を測定した。また、脳コリンエステラーゼ活性については、剖検時に半脳を採取し測定した。300 mg/kg 群の投与開始後の検査は、投与 3 日の切迫殺あるいは死亡時に、赤血球および血漿については雄 1 例、雌 2 例、脳については雌雄各 2 例について実施した。

結果を次表に示した。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg)		3	30	300	3	30	300
血漿 ChE	3 日	77	19	60*	77	20	28
	2 週	76	44	—	85	49	—
	4 週	70	38	—	82	44	—
赤血球 ChE	3 日	100	34	16*	49	23	20
	2 週	65	21	—	35	10	—
	4 週	27	10	—	20	4	—
脳 ChE	3 日	—	—	11**	—	—	5**
	4 週	39	14	—	46	13	—

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

—：測定せず。

*：測定例数は 1 例

**：3 日時の対照群が存在しないため、4 週時の対照群を 100 とした場合の値を示した。

3 mg/kg 以上の投与群で血漿、赤血球および脳コリンエステラーゼ活性の低下が

認められた¹⁾。

眼科学的検査；投与開始前、投与開始後4週に眼科学的検査を行った。

投与4週の検査において、30 mg/kg 群の雌雄全例で縮瞳が認められたが、その他、特記すべき変化は認められなかった。

臓器重量；死亡例を除く全例について、下記の臓器を測定し、解剖当日の体重から相対重量を算出した。

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

30 mg/kg 以上の各群雌雄それぞれ1例で副腎重量の増加がみられ、また、30 mg/kg 以上の投与群の雌で胸腺重量の減少が認められた。その他、30 mg/kg 群の雄1例、雌2例に膵臓重量の増加、雌1例に肝臓重量の増加がそれぞれ認められた。

肉眼的病理検査；投与終了の翌日にペントバルビタール麻酔下で放血致死させ、剖検を行った。

結果は、次表のとおりであった。

申請者注 1)：コリンエステラーゼ阻害の毒性学的意義について

FAO/WHO^{a)}の基準を参考に、脳あるいは赤血球コリンエステラーゼ活性の20%以上の阻害を毒性学的に意義のある変化と判断する。その結果、本試験では3 mg/kg以上の群で認められた赤血球コリンエステラーゼならびに3 mg/kg以上の群で認められた脳コリンエステラーゼの低値を毒性学的意義のある変化と判断した。

a) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

臓器	所見	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		0	3	30	300	0	3	30	300
肝臓	淡褐色化	0	0	0	1	0	0	0	1
小腸	暗赤色化	0	0	0	1*	0	0	0	1*
大腸	暗赤色化	0	0	0	1*	0	0	0	1*
肺	暗赤色化	0	0	0	1*	0	0	0	1*
脾臓	暗赤色斑	0	0	0	1*	0	0	0	1*
胸腺	暗赤色化	0	0	0	0	0	0	0	1
副腎	肥大	0	0	1	2	0	0	0	2
精巣	萎縮	0	0	1	0	-	-	-	-
眼球	縮腫	0	0	0	2	0	0	0	2
瞬膜	暗赤色化	0	0	0	0	0	0	0	1*

表中の数字は検査動物数 2 例 (300 mg/kg では死亡動物 1 例を含む) のうち所見を有する動物数を示す。

*: 死亡動物のみで認められた

主な変化として、300 mg/kg 群の雌雄に縮腫および副腎の肥大がみられ、雌雄各 1 例 (切迫殺例) に肝臓の淡褐色化が認められた。また、30 mg/kg 群の雄 1 例で副腎の肥大が認められた。

病理組織学的検査；下記臓器について、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリン固定液、精巣はブアン固定液、その他の臓器は 10% 中性緩衝ホルマリン水溶液で固定し、パラフィン包埋、薄切後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して検鏡した。

脳、下垂体、甲状腺 (左右、上皮小体を含む)、胸腺、喉頭、気管、肺、唾液腺 (顎下腺、耳下腺、舌下腺)、心臓、肝臓、胆嚢、脾臓、膵臓、腎臓 (左右)、副腎 (左右)、精巣 (左右)、精巣上体 (左右)、前立腺、卵巣 (左右)、子宮、膣、乳腺 (雌のみ)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、大腿骨骨髓、胸骨 (骨髓を含む)、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、坐骨神経、骨格筋 (大腿部)、皮膚、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、大動脈、眼球 (視神経を含む)、涙腺

主要な病変の発現頻度を別表に示す。

300 mg/kg 群の雌雄全例および 30 mg/kg 群の雄 1 例に副腎の皮質細胞 (束状帯) の肥大がみられ、300 mg/kg 群の切迫殺例に小葉中心性の肝細胞肥大、死亡例の副腎皮質に炎症性細胞浸潤が認められた。さらに 30 mg/kg 以上の投与群の雌雄ほぼ全例に胸腺の萎縮が認められた。副腎および胸腺の変化はストレスあるいは一般状態の悪化に関連する変化と考えられた。

以上の結果から、CYAPのビーグル犬の4週間経口投与による亜急性毒性試験において、30 mg/kg 以上の投与群で一般症状、体重、摂餌量、病理組織学的検査などで影響が認められた。また、最低用量である3 mg/kg 以上の投与群で赤血球および脳コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。従って、本試験における無毒性量は、3 mg/kg を若干下回る量と考えられた。

病理組織学的所見^{a)}

(所見が認められた臓器のみを記載)

臓器	所見	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		0	3	30	300	0	3	30	300
肝 臓	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	1*
	単核細胞浸潤	2	2	2	1	1	2	0	0
	肝細胞肥大	0	0	0	1	0	0	0	1
胆 囊	自己融解	0	0	0	1*	0	0	0	1*
胃(幽門部)	死戦期出血	0	0	0	0	0	0	0	1*
十二指腸	腺拡張	1	0	1	0	1	1	0	1
	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	0
空 腸	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	0
回 腸	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	1*
盲 腸	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	1*
結 腸	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	1*
直 腸	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	1*
肺	死戦期出血	0	0	0	0	0	0	0	1*
	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	0
	肉芽腫	1	0	0	0	0	0	0	0
	間質性肺炎	0	0	1	1	0	1	0	0
気 管	単核細胞浸潤	1	0	0	0	0	0	0	1
腎 臓	鬱血	0	0	0	1	0	0	0	1
	好塩基性尿細管	0	0	1	1	0	0	0	0
	蛋白円柱	1	0	0	1	0	0	0	0
	乳頭部石灰沈着	2	2	2	2	2	2	2	2
	尿細管空胞化	0	0	1	1	0	0	0	0
脾 臓	鬱血	0	0	0	1*	0	0	0	1*
	カンティイカメ結節	0	0	0	0	0	0	1	0
胸 腺	萎縮	0	0	1	1 ^{b)}	0	0	2	2
	死戦期出血	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体	嚢胞	0	1	2	1 ^{b)}	1	1	1	1
副 腎	皮質細胞(束状帯)の肥大	0	0	1	2	0	0	0	2
	炎症性細胞浸潤(皮質)	0	0	0	1*	0	0	0	1*
精 巢	精細管萎縮	2	0	1	0	-	-	-	-
	巨細胞形成	1	2	0	2	-	-	-	-
精巢上体	細胞残屑	1	0	0	1*	-	-	-	-

a) 表中の数字は検査動物数 2 例 (300 mg/kg では死亡動物 1 例を含む) のうち所見を有する動物数を示す。

b) 2 例中 1 例でのみ検査実施

*: 死亡動物のみで認められた

90日間亜急性毒性試験については、以下に示すとおり、本試験およびイヌを用いた1年間慢性毒性試験成績(資料8-3)から、その無毒性量は、雌雄共0.3mg/kg以上かつ3mg/kgを下回るものと推定される。

(5) CYAP 原体のラットを用いた 21 日間反復吸入毒性試験

(資料 6-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1971 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 28 匹（対照群は雌雄各 27 匹）、5 週齢

コリンエステラーゼ活性の経時的変動を観察するため、曝露 7、14 および 21 日ならびに曝露終了後 1、7 および 21 日にそれぞれ各群雌雄各 3 匹を屠殺した。

曝露期間：21 日間（報告書に曝露年月日の記載なし）

曝露方法：原体の検体を 0.2 および 1.0% で灯油に溶解した。自動注入装置により一定の速度で連続的にアトマイザーへ滴下させ噴射した。噴射によるミスト中に動物を 1 日 2 時間で 21 日間、全身曝露させた。気中濃度の測定は、アセトンを吸収剤とし、ドライアイス・アセトン冷却下でミストを採取し、ガスクロマトグラフィーで測定し算出した。

なお、対照群として有効成分を除いた灯油のみの曝露群（溶媒対照群）および無処置対照群（対照群）を設けた。

曝露条件：

溶液濃度 (%)	0.2	1.0
曝露濃度 (mg/m ³)	約 10 ¹⁾	49.7 ²⁾
粒子径分布 空気力学的質量中位径 呼吸可能な粒子の割合	報告書に記載なし	
噴霧量 (mL/分)	0.2	
噴霧圧 (kg/cm ²)	0.5	
チャンバー内通気量 (L/分)	10~12	
曝露条件	ミスト 2 時間 全身曝露	

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を毎日観察した。

検体投与に起因すると考えられる死亡例および一般状態の変化はなかった。

申請者注 1)：0.2% の実測濃度について

報告書内にデータが記載されていなかったため、報告書内の「気中濃度は約 10 mg/m³ と推定される」の表記に基づき記載した。

申請者注 2)：1.0% の実測濃度について

報告書内にデータが記載されていなかったため、本試験内で実施している「Cyanox 噴射時の Cyanox 溶液濃度と気中濃度の関係」の 1.0% の値を用いた。

体重変化；体重を3日に1回測定した。

体重増加の抑制が対照群と比較して雄のラットのみで認められたが、溶媒対照群と比較するとその差はなく、検体投与に起因する変化ではないと考えられた。雌の体重増加に変化は認められなかった。

検査項目	投与量					
	雄			雌		
	溶媒対照	0.2%	1.0%	溶媒対照	0.2%	1.0%
初体重	98	99	94	99	96	91
最終体重	91	91	84	103	104	98
体重増加量	85	83	75	110	119	114

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

申請者注：統計検定の有無不明、また個別別表がないため、申請者による検定も実施せず。

血液学的検査；曝露終了後、各群雌雄各10匹（対照群は雌雄各9匹）を対象として腹大動脈から血液を採取し、

以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血沈速度、白血球数

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した。

検査項目	投与量					
	雄			雌		
	溶媒対照	0.2%	1.0%	溶媒対照	0.2%	1.0%
ヘモグロビン量	102	↑105	102	101	101	101
白血球	↑137	↑129	↑133	112	109	111

統計方法記載なし ↑：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

雄で認められたヘモグロビン量および白血球数の高値は溶媒対照群と比較すると差は認められず、毒性学的意義のない変化と考えられた³⁾。

血液生化学的検査；血液学的検査用試料と同時に採取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。

総蛋白、アルブミン、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、血中尿素窒素、

申請者注 3)：0.2%群の雄で認められたヘモグロビンの高値について

当該変化は用量相関性が認められなかったことから、検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

血糖、A/G 比

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した。

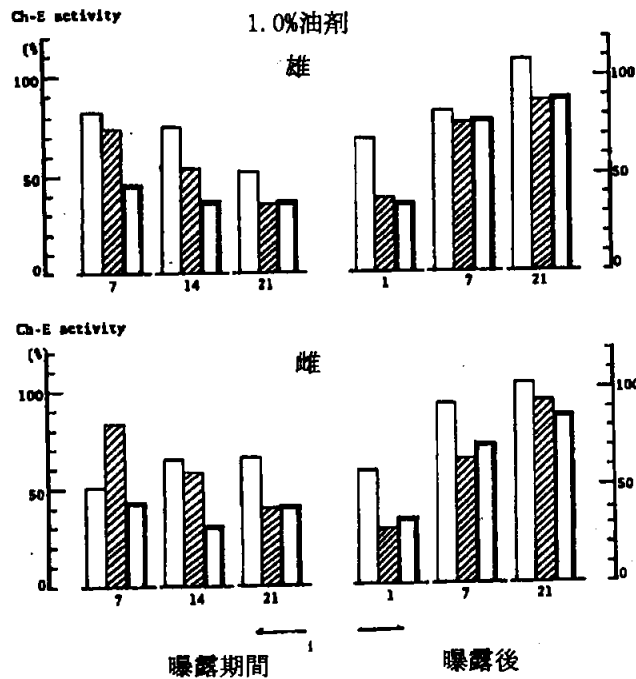
検査項目	投与量			
	雄		雌	
	0.2%	1.0%	0.2%	1.0%
ALT	106	116	102	↑116

統計方法記載なし ↑: 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

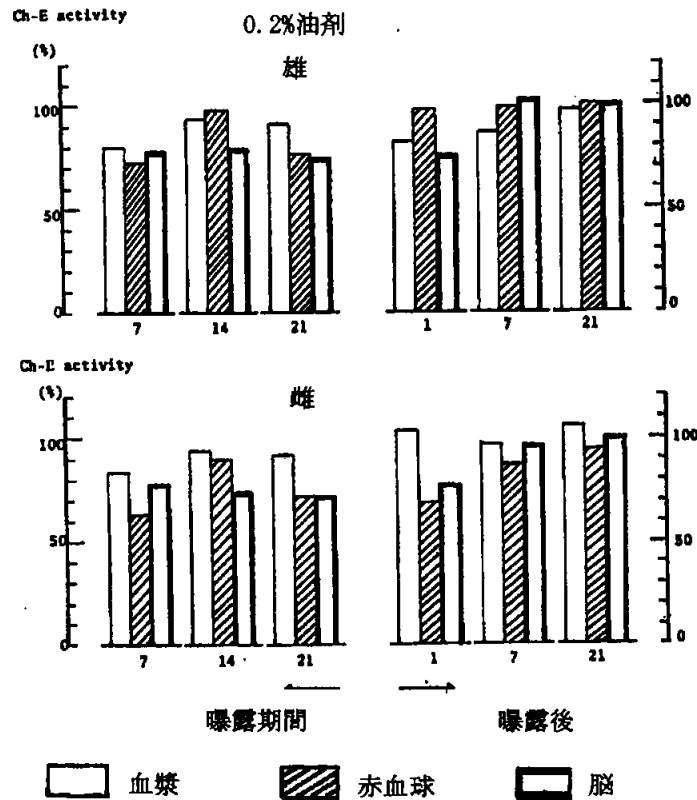
雌で認められた ALT の高値はごく軽度であったことから毒性学的意義のない変化と考えられた⁴⁾。

コリンエステラーゼ活性；曝露 7、14 および 21 日ならびに曝露終了後 1、7 および 21 日にそれぞれ各群雌雄各 3 匹を対象として腹大動脈から血液を採取し、屠殺後に脳を摘出した。得られた血漿、赤血球および脳のコリンエステラーゼ活性を測定した。結果を対照群の値に対する百分率として次の図に示した。



申請者注 4)：1.0%群の雌で認められた ALT の高値について

当該変化は、他の肝臓と関連した血液生化学的検査項目に変動が認められず、臓器重量および病理組織学的検査においても毒性学的意義のある変化は認められなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。



1.0%油剤群において雄の血漿および赤血球で経日的に阻害を増強する傾向が認められ、雌では赤血球にその傾向が認められた。21日間の吸入直後におけるコリンエステラーゼ活性は雌雄とも脳および赤血球は約60%の阻害を示すが、血漿では40および60%であった。阻害された各組織のコリンエステラーゼ活性は、血漿では曝露終了後7日に、その他は21日までには正常値を示した。

0.2%油剤群における曝露7、14および21日のコリンエステラーゼ活性の低下は血漿、赤血球および脳いずれも10~30%のごく軽度の阻害を認めたに過ぎなかった。そして、それらの阻害は曝露終了後7日までにいずれも回復していた^{5) 6)}。

臓器重量；曝露終了後、各群雌雄各10匹（対照群は雌雄各9匹）を対象として以下の臓

申請者注5)：コリンエステラーゼ阻害の毒性学的意義について

FAO/WHO⁴⁾の基準を参考に、脳あるいは赤血球コリンエステラーゼ活性の20%以上の阻害を毒性学的に意義のある変化と判断する。その結果、本試験では0.2%および1.0%群の雌雄で認められた脳および赤血球コリンエステラーゼの低値を毒性学的意義のある変化と判断した。

a) Pesticide residues, Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

申請者注6)：コリンエステラーゼ活性における統計検定について

報告書中に個別別表が収載されていなかったため、申請者による統計検定は実施できなかった。

器重量を測定し、対体重比も算出した。

肺、脾臓、肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

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した。

検査項目		投与量			
		雄		雌	
		0.2%	1.0%	0.2%	1.0%
肺	重量	97	98	108	92
	対体重比	107	↑117	105	95
肝臓	重量	87	87	102	91
	対体重比	95	103	99	92
腎臓 (左)	重量	↓91	↓91	↑114	98
	対体重比	100	108	111	97
腎臓 (右)	重量	94	↓93	↑115	99
	対体重比	103	↑111	113	100
精巣 (左)	重量	95	96	-	-
	対体重比	104	↑116	-	-
精巣 (右)	重量	95	97	-	-
	対体重比	104	↑116	-	-
卵巣 (左)	重量	-	-	↑123	96
	対体重比	-	-	↑121	98
卵巣 (右)	重量	-	-	114	98
	対体重比	-	-	110	100

統計方法記載なし ↑ ↓ : 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

雄の 0.2%群で認められた腎臓の絶対重量の低値ならびに 1.0%群の絶対重量の低値および相対重量の高値、1.0%群で認められた肺および精巣における相対重量の高値、雌の 0.2%群で認められた腎臓の絶対重量ならびに卵巣の絶対および相対重量の高値については軽微な変化であり用量相関性が明らかではなかったことから、検体投与に起因した変化ではないと考えられた⁷⁾。

肉眼的病理検査；曝露終了後、各群雄雌各 10 匹（対照群は雌雄各 9 匹）を対象として剖

申請者注 7)：臓器重量において認められた統計学的に有意な変化について

雄の 0.2%群で認められた腎臓の絶対重量ならびに 1.0%群の絶対重量の低値および相対重量の高値は、関連する血液生化学的検査項目で変動が認められず、病理組織学的検査でも検体投与の影響が認められなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。1.0%群の雄で肺および精巣で認められた相対重量の高値は病理組織学的検査において検体投与の影響が認められなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。雌の 0.2%群で認められた腎臓の絶対重量ならびに卵巣の絶対および相対重量の高値は用量相関性が認められない変化であり、検体投与に起因した変化ではないと考えられた。

検を行った。

肺に充血、壊死、膿腫などが認められたが、無処置対照群にもみとめられる程度および頻度であり、検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

病理組織学的検査；曝露終了後、各群雌雄各 10 匹（対照群は雌雄各 9 匹）を対象として以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

肺、脾臓、肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、気管、眼球

統計検定は実施しなかったが⁸⁾、検体投与に起因すると考えられる変化はなかった。

以上の結果から、CYAP 原体のラットを用いた 21 日間反復吸入毒性試験における毒性影響として、すべての曝露群で赤血球および脳のコリンエステラーゼ活性の阻害が用量相関的に認められたため、無毒性量は判定できなかった。しかし、低濃度の 0.2% 群における阻害はごく軽度であり、無毒性量は 0.2%（推定曝露濃度：約 10 mg/m³）付近と考えられた。

申請者注 8)：病理組織学的検査における統計検定について

報告書中の病理組織学的検査結果の表に発現例数の記載がなく、個体別のデータも収載されていなかったため、申請者による統計検定も実施できなかった。

7. 反復経口投与神経毒性

CYAP 原体のラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料 7)

試験機関：Central Toxicology Laboratory

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検体：CYAP 原体

検体純度：

供試動物：Wistar 系ラット、投与開始時 7～8 週齢、

投与開始時体重；雄 162～234 g、雌 118～173 g

主群；1 群雌雄各 12 匹、衛星群；1 群雌雄各 15 匹

投与期間：90 日間（2006 年 7 月 25 日～2006 年 10 月 27 日）

投与方法：検体を 0、3、20 および 100 ppm の濃度で飼料に混入し、連続 90 日間以上にお
たって随時授食させた。衛星群については投与 2、5 または 9 週に雌雄各 5 例ず
つ安楽殺して赤血球および脳コリンエステラーゼ活性の測定に供した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目および結果：

死亡；投与期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態；すべての動物について一般状態の変化を 1 日 1 回観察し、詳細な症状観察を
週 1 回および計画屠殺前に実施した。

主群における一般症状の発現頻度を次表に示した。

性別	雄				雌			
	0	3	20	100	0	3	20	100
投与群 (ppm)	0	3	20	100	0	3	20	100
症状\検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
振戦	0	0	0	2	0	0	0	6
つま先歩行	0	0	0	6	4	1	1	9
接触反応の亢進	2	0	1	8	1	0	0	10
削瘦	0	0	0	1	0	0	0	1
蒼白化	0	0	0	1	0	0	0	0
立毛	0	2	4	12	0	0	4	10
胴体の凹み	0	0	0	7	0	0	3	8
開脚反射の低下	3	5	5	7	3	2	6	8
聴覚反応の亢進	0	0	0	0	0	0	0	1
挙尾	0	0	0	1	0	0	0	1
背骨の上方屈曲	0	0	0	8	0	0	0	8
位置視覚反応の低下	0	0	0	1	0	0	0	0
呼吸数の増加	0	0	0	0	0	0	0	1

表中の数値は所見を有する動物数

100 ppm 群で、投与に関連した一般症状として振戦、つま先歩行、接触反応の亢進、削瘦、蒼白化（雄のみ）、立毛、胴体の凹み、開脚反射の低下、聴覚反応の亢進（雌のみ）、挙尾、背骨の上方屈曲および位置視覚反応の低下（雄のみ）が認められた。雌 1 例では投与 5~14 週目に呼吸数の増加も認められた。20 ppm 群では、投与に関連した一般症状として立毛、開脚反射の低下（雌のみ）および胴体の凹み（雌のみ）が認められた。

3 ppm 群において投与との関連があると考えられた所見は立毛（雄のみ）のみであった。他に関連する所見が認められなかったことから、毒性学的意義のない非特異的な変化と考えられた。

体重変化；試験期間を通して週 1 回ならびに安楽殺直前に測定した。

主群において、対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を次表に示した。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		3	20	100	3	20	100
体 重	2	101	101	↓92	102	↓92	99
	3	102	101	↓89	104	↓93	97
	4	101	100	↓88	104	↓94	98
	5	102	100	↓87	103	↓94	101
	6	102	100	↓88	105	↓94	100
	7	102	101	↓88	105	↓94	101
	8	102	101	↓88	104	95	101
	9	102	101	↓88	105	94	102
	10	102	102	↓88	104	94	100
	11	102	102	↓90	103	94	101
	12	102	102	↓90	103	94	101
	13	102	102	↓89	103	94	100
	14	102	102	↓89	103	↓93	101
	体重増加量	2	93	91	↓31	↑132	82
3		100	93	↓46	↑130	89	↓67
4		99	94	↓54	↑122	98	↓78
5		100	94	↓60	113	96	96
6		101	96	↓63	↑119	94	95
7		100	96	↓66	↑118	95	98
8		101	99	↓68	↑117	98	99
9		102	99	↓69	↑117	97	101
10		102	100	↓71	↑114	96	95
11		101	101	↓75	110	96	98
12		101	100	↓76	110	96	99
13		101	100	↓75	108	95	97
14		102	101	↓75	109	94	98

(Student の t 検定 (両側)) ↑ ↓ : $p < 0.05$ 、↑ ↓ : $p < 0.01$
 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

100 ppm 群雄で、試験期間を通して体重および体重増加量の低値が認められ、主群では対照群との体重差は最大で投与 5 週の 13%であった。100 ppm 群の雌では同様の影響は認められなかった。

他の投与群では一部統計学的に有意な差が認められたが散発的であり一貫した用量相関性がないことから、検体投与に関連した体重の変化ではないと考えられた。

摂餌量; 試験期間を通して週 1 回の頻度で測定した。摂餌効率は、投与 1~4 週、5~8 週、9~13 週および 1~13 週 (全投与期間) における摂餌量 100 g あたりの体重増加

量として算出した。

主群において、対照群と比べ統計学的有意差の認められた検査時期を次表に示した。

項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		3	20	100	3	20	100
摂餌量	1	93	95	↓82	104	91	103
	2	100	99	↓83	106	93	91
	3	↑104	102	↓91	108	95	106
	4	101	101	↓92	111	113	116
	6	100	99	98	↑112	97	↑111
	7	103	102	103	109	96	↑116
	11	101	100	101	107	94	↑112
摂餌効率	1~4 週	101	95	↓69	105	98	92
	9~13 週	101	108	93	↓72	83	82
	1~13 週 (全投与期間)	101	101	↓78	101	96	91

(Student の t 検定 (両側)) ↑↓: $p < 0.05$ 、↓: $p < 0.01$

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

100 ppm 群雄で投与 1~4 週の摂餌量が対照群に比して低値であった。また、体重増加抑制に伴い、雄では投与開始後 4 週間ならびに全投与期間の摂餌効率の低値が認められた。同群の雌の摂餌量および摂餌効率に検体投与に関連した明らかな影響は認められなかった。

他の投与群では、一部統計学的に有意な差が認められたが散発的であり一貫した用量相関性がないことから、検体投与に関連した摂餌量および摂餌効率の変化ではないと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の主群の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与群 (ppm)		3	20	100
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.20	1.35	7.25
	雌	0.26	1.70	8.83

総合機能観察；主群の全動物について、投与開始 2 週間前ならびに投与 2、5、9 および 14 週に、以下の一般症状観察、着地開脚幅、感覚反応 (テイルフリック試験) および筋力低下の定量的評価を含む総合機能観察を行った。

投与群 (ppm)		3				20				100			
検査時期 (週)		2	5	9	14	2	5	9	14	2	5	9	14
雄	テイルフリック	112	111	100	↓65	107	85	113	75	115	102	105	101
	後肢握力	102	112	110	111	106	↑127	119	106	98	104	102	81
雌	テイルフリック	100	119	100	102	102	102	109	90	90	↑144	109	110
	前肢握力	97	94	103	101	98	91	97	91	↓78	86	↓88	↓79
	後肢握力	106	95	90	89	97	↓77	82	↓72	98	88	84	↓79

(Student の t 検定 (両側)) ↑ ↓ : $p < 0.05$, ↑ ↓ : $p < 0.01$
 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

100 ppm 群では、投与に関連する一般症状として、振戦 (雌のみ)、接触反応の亢進、背骨の上方屈曲、開脚反射の低下、胴体の凹み、呼吸数の増加 (雌のみ)、立毛および聴覚反応の亢進 (雌のみ) が認められた。振戦と聴覚反応の亢進を除き、発現頻度および重症度は投与 5 週以降 14 週にかけて増加した。さらに、14 週には雄 1 例で位置視覚反応の低下が認められた。雌では、前肢握力の低値 (2、9 および 14 週)、後肢握力の低値 (14 週のみ) も認められた。

20 ppm 群における影響は 100 ppm 群での影響に比して発現頻度および重症度が低く、一般症状 (立毛 (9 週、雄のみ)、胴体の凹み (14 週、雌のみ)、開脚反射の低下 (9 週、雌のみ)) の他、雌における後肢握力の低値 (14 週のみ) が認められたのみであった。投与 5 週に認められた後肢握力の低値 (雌のみ) および後肢握力の高値 (雄のみ) は本測定時点で 100 ppm 群に影響が認められなかったことから、検体投与との関連はないと考えられた。

3 ppm 群 (雄のみ) において、検体投与との関連があると考えられた所見は軽度の立毛のみであったが、本所見の他に何ら関連する変化がみられなかったことから、非特異的な所見であり毒性学的意義はないと考えられた。

開脚反射の低下が、20 ppm の雌では投与 5、9 および 14 週に、雌では投与 5 および 14 週に複数の動物に認められた。3 ppm 群でも 5、9 および 14 週に雌雄ともに軽度な開脚反射の低下が少数例に認められ、9 週に雌雄各 1 例で中等度の開脚反射の低下が認められた。しかし、これらは同齢のラットに自然発生的にみられる所見であり、検体投与との関連はないと考えられた。

テイルフリック試験において 100 ppm 群雌で 5 週に尾を振り動かすまでの反応潜時の延長が、また 3 ppm 群雄で 14 週に尾を振り動かすまでの反応潜時の短縮が認められたが、これらの変化は経時的な影響の増強がみられない、あるいは用量相関性が無いことから、検体投与との関連はないと考えられた。

自発運動量; 主群の全動物について、投与 2 週間前ならびに投与 2、5、9 および 14 週に、自発運動量を 50 分間測定した。

検体投与に関連する対照群と比較して統計学的有意差が認められた 50 分間の総運動量の変動を次表に示した。

投与群 (ppm)		3				20				100			
検査時期 (週)		2	5	9	14	2	5	9	14	2	5	9	14
雌	総運動量	109	102	92	97	116	101	99	98	↓55	91	96	109

(Student の t 検定 (両側)) ↓: $p < 0.05$

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

投与 2 週に、100 ppm 群雌で 1~5 分間、26~30 分間および総測定時間における自発運動量の低値が認められた。その他に認められた統計学的有意差は、中間用量群でのみ認められた変化、各測定時点で単発的に生じたが総運動量には差がない変化、あるいは雌雄間で一貫性のない変化であり、いずれも検体投与との関連はないと考えられた。

眼科学的検査；投与開始前にはすべての主群動物について、最終屠殺前の週には、主群の 0 および 100 ppm 群の動物について眼科学的検査を行った。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；主群の各群雌雄各 5 匹を、投与 14 週にバルビツール酸塩の腹腔内投与による深麻酔の後、ホルマリン生食液で灌流固定して安楽殺した。

いずれの動物にも肉眼的病理所見は認められなかった。

コリンエステラーゼ活性；各群雌雄各 5 匹について投与 2、5 および 9 週 (衛星群) ならびに 14 週 (主群) の計画屠殺時に、ハロタン蒸気過量暴露後に心臓穿刺により放血死させて血液および脳サンプルを採取し、赤血球および脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示した。

投与群 (ppm)		3				20				100			
検査時期 (週)		2	5	9	14	2	5	9	14	2	5	9	14
雄	脳	95	102	103	99	↓67	↓57	↓68	↓65	↓17	↓19	↓20	↓17
	赤血球	95	92	104	92	↓80	↓72	↓80	↓76	↓48	↓47	↓53	↓50
雌	脳	105	94	89	107	↓43	↓46	↓62	↓48	↓21	↓17	↓18	↓18
	赤血球	101	↓88	98	95	↓61	↓60	↓60	↓64	↓46	↓44	↓40	↓49

(Student の t 検定 (両側)) ↓: $p < 0.05$ 、↓: $p < 0.01$

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

試験期間を通して、20 および 100 ppm 群で、対照群に比して脳ならびに赤血球コリンエステラーゼ活性が有意な低値を示した。

3 ppm 群雌において、赤血球コリンエステラーゼ活性の低値が投与 5 週にのみ認められたが、その後に影響はみられず、対照群値と比較した変化率は 20%未満であったことから、この変化に毒性学的意義はないと考えられた¹⁾。

臓器重量；投与 14 週に灌流固定により安楽殺した全動物については、一晚固定後に脳重量を測定した。また、コリンエステラーゼ活性測定に用いた全動物についても脳重量を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示した。

投与群 (ppm)		3				20				100			
検査時期 (週)		2	5	9	14	2	5	9	14	2	5	9	14
雄	体重比脳重量	100	105	107	98	99	108	107	95	↑111	113	↑120	↑115
雌	体重比脳重量	102	101	104	101	98	101	110	101	107	101	↑111	98

(Student の t 検定 (両側)) ↑: 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 14 週のは固定後重量

100 ppm 群では体重比脳重量の増加がしばしばみられたが、これらは体重の低値を反映したものであり、検体投与に起因すると考えられる脳重量の変化は認められなかった。

病理組織学的検査；0 および 100 ppm 群の灌流固定後剖検動物 (雌雄各 5 匹) から採取した以下の組織を病理組織学的に検査した。坐骨神経および脛骨神経は樹脂包埋して準超薄切片を作製し、トルイジンブルー染色を施した。その他の組織はパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。

脳、眼球 (視神経および網膜を含む)、脊髄 (頸膨大部および腰膨大部)、頸膨大部の脊髄神経根 (背側根および腹側根神経線維)、腰膨大部の脊髄神経根 (背側根および腹側根神経線維)、頸膨大部の背側根神経節、腰膨大部の背側根神経節、近位坐骨神経、近位脛骨神経、遠位脛骨神経 (脛骨神経腓腹筋分岐部)、腓腹筋

認められた病理組織学的所見を次表に示した。

申請者注 1) :

FAO/WHO²⁾ の基準を参考に、脳あるいは赤血球コリンエステラーゼ活性の統計学的に有意な 20%以上の阻害を毒性学的に意義のある変化と判断した。

a) Pesticide residues Guideline for the preparation of toxicological working papers for the WHO Core Assessment Group of the Joint Meeting on Pesticide Residues, Geneva, December 2000

性別	雄		雌	
	0	100	0	100
投与群 (ppm)	0	100	0	100
所見\検査動物数	5	5	5	5
遠位脛骨神経 脱髓/神経線維変性 軽微	1	0	1	1
近位坐骨神経 脱髓/神経線維変性 軽微	1	1	2	0
近位脛骨神経 脱髓/神経線維変性 軽微	1	2	1	1

表中の数値は所見を有する動物数

Fisher の正確確率検定を実施したが、有意差は認められなかった。

少数の軽微な病変が認められたが、これらは自然発生的なものであり、検体投与に関連するものではないと考えられた。

以上の結果、CYAP 原体のラット 90 日間反復経口投与神経毒性試験における影響として、100 ppm 群において毒性症状（振戦、立毛等）の発現、脳および赤血球コリンエステラーゼ活性の低値、さらに雄では体重、体重増加量、摂餌量および摂餌効率の低値、雌では握力および自発運動量の低値が認められた。また、発現頻度および重症度はより低かったものの、20 ppm 群においても同様の毒性症状の発現、コリンエステラーゼ活性および握力への影響が認められた。中枢および末梢神経系の神経病理学的検査の結果、100 ppm までの用量で雌雄共に投与の影響は認められなかった。

したがって、CYAP 原体の本試験における無毒性量 (NOAEL) は 3 ppm (雄 0.20 mg/kg/日、雌 0.26 mg/kg/日に相当) と判断された。