

1. 原体を用いた試験成績

(1) 急性毒性

ラットにおける急性毒性試験（経口、腹腔内、皮下、経皮）

毒性資料 No. 原体-1

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：95%

供試動物：Sprague-Dawley ラット (Crj: CD(SD))、7 週齢 (投与時体重：雄 200～310g, 雌 148～184g)、1 群雌雄各 15 匹 (無影響量を求めるための群は 5 匹)

観察期間：14 日間

投与方法：

1) 検体の調製

検体の所定量を秤量後にポリエチレングリコール #400 で溶解し、希釈した。

2) 経口投与

検体調製液を体重 100g あたり 0.5mL の割合で金属製胃ゾンデ針を用いて強制経口投与した。

3) 腹腔内投与

検体調製液を体重 100g あたり 0.2mL の割合で注射針 (23G) を用いて下腹部中央の腹腔内に注射した。投与可能な用量は 1000mg/kg であった。

4) 皮下投与

検体調製液を体重 100g あたり 0.5mL の割合で注射針 (23G) を用いて背部の皮下に注射した。投与可能な用量は 2200mg/kg であった。

5) 経皮投与

投与前日に電気バリカンで剪毛 (4 cm × 7 cm) しておいた背部に、検体調製液を体重 100g あたり、0.5mL の割合で塗布した。最高用量は 5000mg/kg とした。塗布後は動物が経口的に薬液を摂取しないよう塗布面をガーゼで被覆し、個別に飼育を行った。塗布時間は 24 時間とし、終了後は直ちに塗布面を微温湯にて洗浄した。

観察・検査項目：投与後 14 日間にわたり、投与後 6 時間以内は頻回、それ以降は毎日死亡および中毒症状の有無および程度等を観察した。また、経皮試験では塗布面の皮膚の状態も観察した。体重の測定は、検体投与時、投与後 7 日および観察終了時に行った。

肉眼的病理検査は死亡例についてはその発見時に、生存例については観察終了時に全生存動物について行った。

なお、LD₅₀ の算出はプロビット法に従った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果：

投与方法	経口	腹腔内
投与量 (mg/kg)	雄：36、73、220、280、360、460、600、780、1000、1300 雌：30、60、120、360、460、600、780、1000、1300、1700	雄：7.5、15、31、125、250、500、780、1000 雌：15、31、125、250、500、780、1000
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：500 440~570	雌：840 720~980
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後3時間開始、 投与後7日終了 雌：投与後1日開始、 投与後6日終了	雄：投与後1時間開始、 投与後2日終了 雌：投与後5時間、 投与後2日終了
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後1時間開始、 投与後9日消失 雌：投与後30分開始、 投与後8日消失	雄：投与後1時間開始、 投与後3日消失 雌：投与後1時間開始、 投与後4日消失
最小致死用量 (mg/kg)	雄：280	雌：460
死亡例を認めなかつた最高用量 (mg/kg)	雄：220	雌：360
毒性徴候を認めなかつた最高用量 (mg/kg)	雄：36	雌：30
		雄：1000 雌：1000
		雄：780 雌：780
		雄：7.5 雌：15

投与方法	皮下	経皮
投与量 (mg/kg)	雄：730、2200 雌：730、2200	雄：1670、5000 雌：1670、5000
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：>2200 算出不可能	雌：>2200 算出不可能
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後3時間開始、 投与後6日消失 雌：投与後2時間開始、 投与後7日消失	雄：投与後4時間開始、 投与後10日消失 雌：投与後4時間開始、 投与後10日消失
最小致死用量 (mg/kg)	雄：>2200	雌：>2200
死亡例を認めなかつた最高用量 (mg/kg)	雄：2200	雌：2200
毒性徴候を認めなかつた最高用量 (mg/kg)	雄：730	雌：730
		雄：>5000 雌：>5000
		雄：5000 雌：5000
		雄：1670 雌：1670

1) LD₅₀

経口投与においては雄でやや感受性が高い結果が得られた。他の投与経路における LD₅₀ はいずれも投与可能な用量または最高用量以上であった。

2) 中毒症状

経口及び腹腔内投与で約 30 分ないし 1 時間後から、流涎、挙尾、音・触刺激に対する反応性の昂揚、四肢の緩徐な不随意動作、よろめき歩行、呼吸困難等が認められた。皮下及び経皮投与後でも同様な症状が数時間から認められた。これらの症状は生存動物で投与翌日から徐々に消退した。

動物の死亡は経口投与後 3 時間から 1～2 日目をピークにして 4 日以内に大多数でみられ、腹腔内投与後には 1 時間から 2 日以内にみられた。皮下投与と経皮投与では動物の死亡は観察されなかった。

経皮投与での投与部位の皮膚に発赤等の変化は認められなかった。

一般に合成ピレスロイド剤についてはその中毒症状により 2 つのタイプに分けられ、本検体は流涎と四肢の緩徐な不随意動作が認められたことからデカメスリンに代表される CS (Choreoathetosis, Salivation) タイプに属すると考えられた。またその症状から本検体が中枢神経系、とくに錐体外路系への影響を及ぼすことが示唆された。

3) 肉眼的病理検査

経口投与と腹腔内投与により死亡した動物の剖検では、大部分の動物の気管内に粘稠物質の貯留、軽度の肺のうっ血が認められた。これらの所見は、中毒症状としてみられた呼吸困難との関連が窺われた。生存動物の剖検から、経口投与では各投与群の少数例に肺のうっ血を、腹腔内投与では加えて多数例に肝や脾のゆ着を認めた。皮下投与では、各投与群の数例に肺の軽度のうっ血が認められた。経皮投与で背部皮膚に発赤等の刺激性の所見はみられなかったが、5000mg/kg の雌 2 例に腸管出血を認めた。

ラットにおける急性経口毒性試験

毒性資料 No. 原体-2

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP 対応]

検体の純度：93%

供試動物：Wistar ラット (Bor: WISW (SPF-Cpb))、投与時体重：雄 161~181g、雌 163~187g、1群雌雄各5匹 (雄 100mg/kg、雌 140, 160mg/kg 群は10匹)

観察期間：14日間

投与方法：検体をアセトン+ピーナッツ油 (1:10) で調製して、これを単回経口投与した。投与前夜は絶食 (約16時間) し、投与2時間後に再給餌した (投与容量：5mL/kg)。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を投与日は頻繁に、その後14日間は少なくとも1日1回観察した。体重を投与前並びに投与後7及び14日に測定した。死亡動物及び生存動物について肉眼的病理検査を行った。
なお、LD₅₀の算出はプロビット法に従った。

結果：

投与方法	経口	
投与量 (mg/kg)	雄：10、50、80、90、100、125、140、160、180、200、250 雌：10、50、90、100、140、160、170、180、250	
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：155	雌：160
95%信頼限界	125~195	126~204
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後1日開始、投与後3日終了 雌：投与後4時間開始、投与後2日終了	
症状発現時間 及び終了時間	雄：投与後20分開始、投与後4日終了 雌：投与後15分開始、投与後5日終了	
最小致死用量 (mg/kg)	雄：100	雌：100
死亡例を認めなかつた最高用量 (mg/kg)	雄：90	雌：90
毒性徴候を認めなかつた最高用量 (mg/kg)	雄：10	雌：10

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1) LD₅₀

本検体の経口 LD₅₀ は雄で 155mg/kg、雌で 160mg/kg と算出され、明らかな性差は認められなかった。

2) 中毒症状

症状としてうずくまり、不調和な歩行、流涎、呼吸困難を観察した。生存動物の体重は比較的順調に増加を示した。

3) 肉眼的病理検査

死亡動物では肺の拡張や斑状化、肝臓における小葉構造の明瞭、腺胃の赤色化、腸管拡張等を散見した。生存動物においては特筆すべき所見は認められなかった。

マウスにおける急性毒性試験（経口、腹腔内、皮下、経皮）

毒性資料 No. 原体-3

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：95%

供試動物：ICR マウス (Crj: CD-1 (ICR))、5 週齢（投与時平均体重：雄 25～30g、雌 20～24g）、1 群雌雄各 15 匹（無影響量を求めるための群については 5 匹）

観察期間：14 日間

投与方法：

1) 検体の調製

所定量の検体を秤量後にポリエチレングリコール #400 で溶解し、希釈した。

2) 経口投与

検体調製液を体重 10g あたり 0.1mL の割合で金属製胃ゾンデ針を用いて強制経口投与した。

3) 腹腔内投与

検体調製液を体重 10g あたり 0.02mL の割合で下腹部中央の腹腔内に注射した。

4) 皮下投与

検体調製液を体重 10 g あたり 0.05mL の割合で背部の皮下に注射した。投与可能な用量は 2200mg/kg であった。

5) 経皮投与

投与前日に電気バリカンで剪毛 (1.5 cm×2 cm) しておいた背部に、検体調製液を体重 10g あたり 0.05mL の割合で塗布した。最高用量は 5000mg/kg とした。塗布後は動物が経口的に薬液を摂取しないよう塗布面をガーゼで被覆し、個別に飼育を行った。塗布時間は 24 時間とし、終了後は直ちに塗布面を微温湯にて洗浄した。

観察・検査項目：投与後 14 日間にわたり、投与後 6 時間以内は頻回、それ以降は毎日死亡および中毒症状の有無および程度等を観察した。また、経皮試験では塗布面の皮膚の状態も観察した。体重の測定は、検体投与時、投与後 7 日および観察終了時に行った。

肉眼的病理検査は死亡例についてはその発見時に、生存例については観察終了時に全生存動物について行った。

なお、LD₅₀ の算出はプロビット法に従った。

結 果：

投与方法	経口	腹腔内
投与量 (mg/kg)	雄：15、46、60、78、100、130、170、220、280 雌：26、78、100、130、170、220、280	雄：33、100、170、280、460、780、1300、2200 雌：20、60、100、170、280、460、780、1300、2200
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：113 98~129	雌：146 131~163
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後 1 時間開始、 投与後 1 日終了 雌：投与後 1 時間開始、 投与後 1 日終了	雄：投与後 1 時間開始、 投与後 4 日終了 雌：投与後 40 分開始、 投与後 4 日終了
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後 30 分開始、 投与後 4 日消失 雌：投与後 30 分開始、 投与後 2 日消失	雄：投与後 30 分開始、 投与後 4 日消失 雌：投与後 30 分開始、 投与後 4 日消失
最小致死用量 (mg/kg)	雄：60	雌：100
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：46	雌：78
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：15	雌：26

投与方法	皮下	経皮
投与量 (mg/kg)	雄：330、1000、2200 雌：200、600、1000、2200	雄：770、2300、5000 雌：770、2300、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：>2200	雌：>2200
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後 8 日 (1 匹) 雌：投与後 2 時間開始、 投与後 8 日終了	雄：投与後 1 日 (1 匹) 雌：投与後 4 時間開始、 投与後 4 日終了
症状発現時間 及び消失時間	雄：投与後 15 分開始、 投与後 10 日消失 雌：投与後 15 分開始、 投与後 11 日消失	雄：投与後 3 時間開始、 投与後 5 日消失 雌：投与後 3 時間開始、 投与後 5 日消失
最小致死用量 (mg/kg)	雄：2200	雌：1000
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：1000	雌：600
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：330	雌：200

1) LD₅₀

表に示したように、いずれの投与経路においても明らかな性差は認められなかった。皮下及び経皮投与の LD₅₀ はいずれも投与可能な用量または最高用量以上であった。

2) 中毒症状

経口及び腹腔内投与で投与後約 30 分から 2 時間にかけて、流涎、挙尾、音・触刺激に対する反応性の昂揚、四肢の緩徐な不随意動作、よろめき歩行、呼吸異常等が認められた。皮下及び経皮投与でも同様な症状が数時間後に明らかに認められた。これらの症状は生存動物で投与翌日から徐々に消退した。死亡は経口投与後 1 時間から 2~4 時間をピークにして 24 時間以内にみられ、腹腔内投与後には 40 分後から 4 日以内にみられた。皮下投与では高用量群で投与後 2 時間、投与後 7 及び 8 日に各々 1 例に死亡を認めた。経皮投与での死亡は投与 4 時間後から 4 日にかけて散見した。経皮投与において投与部位の皮膚に発赤等の変化は認められなかった。

3) 肉眼的病理検査

経口、腹腔内及び皮下投与により死亡した動物の剖検では、大多数の例に気管内に粘稠物質の貯留、軽度の肺のうっ血が認められた。これらの所見は、中毒症状としてみられた呼吸困難の関連が窺われた。経皮投与により死亡した動物の剖検では、特記すべき所見はみられなかった。生存動物の剖検から、経口投与では各投与群の少数例に肺のうっ血や脾の萎縮を、腹腔内投与ではさらに各投与群の多数例に肝や脾のゆ着を認めた。皮下投与では、各投与部位の膿瘍化や痂皮形成が散見された。経皮投与で特記すべき所見はみられなかった。

急性毒性試験（経口、腹腔内、皮下、経皮）

毒性資料 No. 原体-4

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度：83.6%

供試動物：Wistar ラット (TNO/W74)、投与時体重：160～240g

NMRI マウス、投与時体重：18～25g

New Zealand White ウサギ、投与時体重：3～4kg

Beagle イヌ、投与時体重：14～16kg（生後4～6年）

観察期間：14日間

投与方法：

1) 検体の調製

所定量の検体を秤量後にポリエチレングリコール #400 で溶解し、希釈した。

2) 経口投与

ラット（1群雌雄各15匹）では1000mg/kg以上の投与用量群には投与容量として10mL/kgを、1000mg/kg未満の投与群には5mL/kgの容量で飽食と絶食の両条件下で強制経口投与した。マウスはラットと同様な条件下で、絶食条件下のみで投与した。ウサギ（1群雄各3匹）では絶食条件下で2.5mL/kgの容量（ただし、投与用量1000mg/kg群では投与容量は5mL/kg）を投与した。イヌ（1群雄各2匹）では全投与用量群ともに2.5mL/kgの容量で投与した。

3) 腹腔内投与

ラット（1群雌雄各15匹、対照のみ5匹）に5mL/kgの容量で腹腔内に投与した。

4) 皮下投与

マウス（1群雌雄各15匹）に5mL/kgの容量（ただし、2500mg/kgのみ10mL/kg）で肩甲骨部の皮下に投与した。

5) 経皮投与

投与前日に剪毛（4cm×7cm）しておいた1群5匹の雌雄ラット（雌の5000mg/kgのみ10匹）の背部に、投与液を塗布した。

塗布後は動物が経口的に薬液を摂取しないよう塗布面をアルミホイルで被覆し、さらに絆創膏で固定した。塗布時間は24時間とし、終了後は直ちに塗布面をアセトンで、次いで水と洗剤で洗浄した。

観察・検査項目：

投与後14日間にわたり、死亡および中毒症状の有無および程度等を観察した。また、経皮試験では塗布面の皮膚の状態も観察した。死亡動物および観察終了時の生存動物を剖検した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

なお、LD₅₀の算出はプロビット法に従った。

結 果：

動物種	Wistar ラット		Wistar ラット	
投与方法	経口 (飽食)		経口 (絶食)	
投与量 (mg/kg)	雄：10、50、100、500、1000、1500、2500 雌：10、50、100、500、750、1000、1500、2000、2500		雄：10、50、100、250、300、350、500、750、1000、2500 雌：10、50、100、500、750、1000、1500、2500	
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：869 雌：1271 685~1051 1102~1456		雄：590 雌：1189 509~695 1002~1443	
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後2日開始、 投与後7日終了 雌：投与後1日開始、 投与後8日終了		雄：投与後4時間開始、 投与後7日終了 雌：投与後5時間開始、 投与後10日終了	
最小致死用量 (mg/kg)	雄：500 雌：750		雄：350 雌：750	
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：100 雌：500		雄：300 雌：500	
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：10 雌：10		雄：10 雌：10	

動物種	NMRI マウス		NZW 系ウサギ	Beagle イヌ
投与方法	経口		経口	経口
投与量 (mg/kg)	雄：10、50、100、250、500、1000、2000 雌：50、100、150、500、1000、2000、2500		雄：100、250、500、1000	雄：10、50、100
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：291 雌：609 202~413 432~827		雄：>1000	雄：>100
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後1時間開始、 投与後2日終了 雌：投与後1時間開始、 投与後5日終了		死亡例なし	死亡例なし
最小致死用量 (mg/kg)	雄：100 雌：150		雄：>1000	雄：>100
死亡例を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：50 雌：100		雄：1000	雄：100
毒性徴候を認めなかつた 最高用量 (mg/kg)	雄：10 雌：50		雄：100	雄：10

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

動物種	Wistar ラット		NMRI マウス	
投与方法	腹腔内		皮下	
投与量 (mg/kg)	雄：0、0.5、1、10、25、30、50、100、150、250 雌：0、1、10、50、100、150、250、500		雄：10、50、100、500、1000、2500 雌：10、50、100、500、1000、2500	
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：66 53~84	雌：104 76~135	雄：>2500 —	雌：>2500 —
死亡開始時間 及び終了時間	雄：投与後3時間開始、投与後1日終了 雌：投与後3時間開始、投与後3日終了		—	—
最小致死用量 (mg/kg)	雄：30	雌：50	雄：>2500	雌：>2500
死亡例を認めな かった最高用量 (mg/kg)	雄：25	雌：10	雄：2500	雌：2500
毒性徴候を認め なかった最高用 量(mg/kg)	対照群でも症状がみられたので、 求められなかった。		雄：10	雌：10

動物種	Wistar ラット	
投与方法	経皮	
投与量 (mg/kg)	雄：2500、5000 雌：2500、5000	
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	雄：>5000 雌：>5000	
死亡開始時間 及び終了時間	雄：—	雌：投与後4日
最小致死用量 (mg/kg)	雄：>5000	雌：5000
死亡例を認めな かった最高用量 (mg/kg)	雄：5000	雌：2500
毒性徴候を認めな かった最高用 量(mg/kg)	雄：2500	雌：2500

1) 死亡及び中毒症状

ラットの経口投与後に約 10～60 分で中毒症状として不穏状態、流涎、多動、腹壁の弛緩がみられたが、多動は休息期や興奮状態を伴った。24～48 時間後に流涎や多動が消失したが、アパシー、運動失調が出現し 6～10 日後に消失した。このような多動－低緊張症は舞踏病様・アテトーゼ様症状のものであり、主に錐体外路系に対する中枢作用を示唆するものであった。

マウスの経口投与ではラットとほぼ同様な症状を呈した。ウサギの経口投与ではアテトーゼと食欲低下がみられた。イヌの経口投与では 50mg/kg と 100mg/kg で嘔吐がみられた。

ラットの腹腔内と経皮及びマウスの皮下投与後にはラットの経口投与後と同様な症状を呈した。

2) 肉眼的病理検査

ラットとマウスの経口投与及びラットの腹腔内投与後に死亡した動物の剖検で肺の斑状化、肝と腎の脾の退色、腺胃のびらんがみられた。生存動物の剖検では異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ラットにおける急性吸入毒性試験(1)

毒性資料 No. 原体-4 (抜粋)

試験機関 :

報告書作成年 : 1980 年

検体の純度 : 83.6%

供試動物 : Wistar ラット (TNO/W74)、暴露時体重 : 160~240g

1 時間暴露 : 1 群雌雄各 10 匹、4 時間暴露 : 1 群雄 10 匹、雌 10~20 匹、

5 日間(4 時間/日)暴露 : 1 群雌雄各 10 匹

暴露方法 : 流動式吸入装置を用い、検体をエタノール・ポリエチレングリコール #400 混液 (1 : 1) に溶解し、エアロゾル*として噴霧した。吸入暴露は 1 時間および 4 時間単回の鼻部暴露とし、その気中の検体濃度を測定した。なお本試験では 5 日間 (6 時間/日) 暴露試験も行っており参考として掲載した。

観察・検査項目 : 暴露期間及び暴露後 14 日間にわたり症状及び生死を観察した。死亡動物及び観察期間終了時のすべての生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

① 単回 1 時間暴露試験

投与方法	吸 入(エアロゾル, 鼻部暴露)	
暴露濃度 (実測濃度 : mg/m ³)	雄/雌 : 24、83、310、655、1089	
LC ₅₀ (mg/m ³)	雄 : >1089	雌 : >1089
死亡開始及び終了時間	雄 : 死亡例なし	雌 : 死亡例なし
最小致死濃度 (mg/m ³)	雄 : >1089	雌 : >1089
死亡例を認めなかった最高濃度 (mg/m ³)	雄 : 1089	雌 : 1089
毒性徴候を認めなかった最高濃度 (mg/m ³)	雄 : 24	雌 : 24

*申請者註) 報告書にミスト/ダスト及びその他の暴露気体の特性の情報なし。但し、検体は常温で液体のため、ミストと考えられる。

② 単回 4 時間暴露試験

投与方法	吸入(エアロゾル, 鼻部暴露)	
暴露濃度 (実測濃度 ; mg/m ³)	雄 : 57, 271, 377, 469, 592, 1067 雌 : 44, 57, 355, 377, 469, 592, 810, 1067	
LC ₅₀ (mg/m ³)	雄 : 469~592 [#]	雌 : 469~592 [#]
死亡開始及び終了時間	雄 : 暴露 4 時間以内 雌 : 暴露 4 時間以内開始、暴露後 4 日終了	
最小致死濃度 (mg/m ³)	雄 : 592	雌 : 355
死亡例を認めなかった 最高濃度 (mg/m ³)	雄 : 469	雌 : 469*
毒性徴候を認めなかった 最高濃度 (mg/m ³)	雄 : < 57	雌 : 44

: 雄では 469mg/m³群の死亡率が 0/10、592mg/m³群で 7/10、1067mg/m³群で 10/10、雌では 469 mg/m³群の死亡率が 0/10、592 mg/m³群で 8/10、810 mg/m³群で 7/10、1067 mg/m³群で 10/10 であり、いずれもプロビット法では LC₅₀ が算出できなかったため、LC₅₀ は雌雄共に 469~592mg/m³と推定された。なお、申請者側で移動平均法により算出した結果、雄の LC₅₀ は 565mg/m³、雌の LC₅₀ は 592mg/m³であった。

* : 雌では 469mg/m³群で死亡をみなかったが、355、377mg/m³群で死亡を散見した。

1) 死亡及び中毒症状

1 時間暴露の高濃度群で強直歩行とよろめき歩行が、低濃度群で行動異常と鼻粘膜の刺激症状がいずれも暴露 5 時間後までみられ、4 時間暴露では行動異常 (不穏、強直歩行) と側臥、流涎、被毛のよごれ、痙攣が認められた。行動異常の他は 24 時間以内には回復した。行動異常は暴露 11 日までみられた。死亡は 1 時間暴露の投与可能な最高濃度でも観察されなかったが、4 時間暴露では雄では 592mg/m³、雌で 355mg/m³ 以上の暴露群で認められ、その多くは翌日までに死亡した。

2) 肉眼的病理検査

4 時間暴露後に死亡したラットの剖検で肺の暗赤色斑状化や肝等の退色がみられたが、生存動物の剖検では検体に起因した変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[参考] 本試験では5日間(6時間/日)暴露試験が併せて実施された。参考として以下にその結果を要約した。

③ 5日間(6時間/日)暴露試験

投与方法	吸入(エアロゾル, 鼻部暴露)	
暴露濃度(実測濃度; mg/m ³)	雄/雌: 12, 47, 196	
推定 LC ₅₀ (mg/m ³)	雄: 47~196	雌: 47~196
死亡開始及び終了時間	雄: 暴露 1~5 日	雌: 暴露 1~3 日
最小致死濃度 (mg/m ³)	雄: 47	雌: 47
死亡例の認められなかった最高濃度 (mg/m ³)	雄: 12	雌: 12
毒性徴候の認められなかった最高濃度 (mg/m ³)	雄: <12	雌: <12

5日間吸入では暴露日翌日から全群で行動異常がみられた。高濃度群ではさらに被毛のよごれ、傾眠、足をひろげての歩行がみられた。

最高濃度群の死亡した動物の剖検では肺の暗赤色化や気腫、腎の退色、肝小葉の明瞭化、胃粘膜の刺激症状が認められた。生存動物の剖検では検体に起因した変化は認められなかった。

ラットにおける急性吸入毒性試験(2)

毒性資料 No. 原体-5

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体の純度：95%

供試動物：Sprague-Dawley ラット(Crj:CD)、7週齢(投与時体重：雄 240~280g、雌 165~190g)、1群雌雄各10匹

観察期間：4時間暴露後、14日間

暴露方法：試験は流動式吸入装置を用い、検体をポリエチレングリコール #400 とエタノールの等量混合液に溶解し、エアロゾル*としてチャンバー(約42.4L)に噴霧した。通気量は15L/分で排気量は13L/分であった。吸入は4時間暴露とし、暴露1時間と3時間後に気中濃度を測定した。結果の記載は分析値を用いた。溶媒対照群には溶媒混液のみを同様に暴露した。

観察・検査項目：暴露後14日間にわたり中毒症状および動物の死亡を観察した。体重は暴露前、暴露後7日および14日に測定した。最終日に動物を屠殺し、肉眼的病理検査を実施した。死亡動物についてはその発見時に行った。なおLC₅₀はプロビット法に従い算出した。

結果：

投与方法	吸入(エアロゾル噴霧, 鼻部暴露)	
暴露濃度(実測濃度:mg/m ³)	雄/雌:無処理、0(溶媒対照)、339、955、1085、1124	
暴露時間	4時間	
LC ₅₀ (mg/m ³)	雄:1010	雌:1020
95%信頼限界	800~1100	800~1140
死亡開始及び終了時間	雄:暴露2時間開始、暴露後2時間終了 雌:暴露2時間開始、暴露後2時間終了	
症状発現及び消失時間	雄:暴露1時間開始~暴露後5日消失 雌:暴露1時間開始~暴露後4日消失	
最小致死濃度(mg/m ³)	雄:955	雌:955
死亡例を認めなかった最高濃度(mg/m ³)	雄:339	雌:339
毒性徴候を認めなかった最高濃度(mg/m ³)	雄:<339	雌:<339

*申請者註)報告書にミスト/ダスト及びその他の暴露気体の特性の情報なし。但し、検体は常温で液体のため、ミストと考えられる。

1) LC₅₀

本検体の4時間吸入暴露におけるLC₅₀は雄で1010mg/m³、雌で1020mg/m³と算出され、明らかな性差は認められなかった。

2) 中毒症状

339mg/m³群で暴露開始1時間から挙尾、ふるえ、流涎、四肢の緩徐な不随意動作がみられたが翌日より徐々に消退した。955mg/m³以上の群で前記症状に加え、紅涙、軟便、よろめき歩行がみられたが、5日目までに回復した。

死亡は暴露開始2~3時間からみられ、暴露後2時間まで観察された。溶媒対照群では雌雄共に失禁と自発運動の低下がみられたが、翌日にはこの症状は消失した。

体重増加については溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。

3) 肉眼的病理検査

死亡した動物の剖検では、気管内に粘稠物質の貯留と中程度から高度の肺のうっ血が認められた。生存動物の剖検では、溶媒対照群を含む雌雄各群の少数例に肺の軽度のうっ血が認められた。

ラットにおける急性吸入毒性試験(3)

毒性資料 No. 原体-6

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP 対応]

検体の純度：93%

供試動物：Wistar ラット (Bor:WISW(SPF-Cpb))、7~11 週齢 (暴露時体重：雄 171~200g、雌 179~201g)、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

暴露方法：吸入装置を用いて検体のエアロゾル*を 4 時間鼻部暴露させた。溶媒としてポリエチレングリコール #400 とエタノールの混合液 (1:1) を用いた。暴露期間中、暴露空気を捕集し、重量分析法により実際濃度を求めた。

暴露：

目標濃度 (mg/m ³)	175	1500	2500	3000	3500
実際濃度 (mg/m ³) #	24.5	168.3	368.9	448.2	619.3
空気力学的質量中位径 (μm)	1.48	1.78	1.48	1.53	1.54
呼吸可能な粒子 (<5μm) の割合 (%)	100	100	100	100	100
通気量 (L/分)	10				
チャンバー内容積 (L)	20				
暴露条件	エアロゾル、4 時間、鼻部暴露				

#：3 回の分析結果の平均値

空気力学的質量中位径はいずれも 2 μm 以下であり、本検体は吸入に十分可能な条件で暴露されたと考えられた。

観察・検査項目：暴露後の当日は頻繁に、また翌日以降は少なくとも 2 回/日の割合で動物の行動、一般状態を観察した (暴露期間中は保定をしていたため十分な観察ができなかった)。

体重は暴露前及び暴露後 7 及び 14 日に測定した。

死亡動物はその発見時に、また生存動物については観察期間終了時に肉眼的病理検査を行った。なお、LC₅₀はプロビット法に従い算出した。

*申請者註) 報告書にミスト/ダストの情報なし。但し、検体は常温で液体のため、ミストと考えられる。

結 果：

投与方法	吸入（エアロゾル、4時間、鼻部暴露）	
暴露濃度（実測濃度；mg/m ³ ）	雄/雌：24.5、168.3、368.9、448.2、619.3	
LC ₅₀ （mg/m ³ ）	雄：425	雌：386
95%信頼限界	316～644	—
死亡開始時間及び終了時間	雄：暴露期間内開始～暴露後1時間終了 雌：暴露期間内開始～暴露後1時間終了	
症状発現時間及び終了時間	雄：暴露2時間開始～暴露後2日終了 雌：暴露2時間開始～暴露後1日終了	
最小致死濃度（mg/m ³ ）	雄：368.9	雌：368.9
死亡例を認めなかった 最高濃度（mg/m ³ ）	雄：168.3	雌：168.3
毒性徴候を認めなかった 最高濃度（mg/m ³ ）	雄：< 24.5	雌：< 24.5

1) LC₅₀

本検体の4時間吸入暴露におけるLC₅₀は雄で425mg/m³、雌で386mg/m³と算出され、明らかな性差は認められなかった。

2) 中毒症状

24.5mg/m³群で立毛、粗毛及び活動性の低下を、168mg/m³群では加えて足をひろげての歩行を暴露後に観察した。しかし両群では暴露翌日にはこれらの症状は消失した。368.9mg/m³以上の群では上記の症状に加えて、横臥、振せん、四肢の緩徐な不随意動作等の症状があらわれ暴露後2日目まで観察された。死亡は暴露終了の時点でその殆どが認められた。

本試験では溶媒対照群を設けなかったが、過去の溶媒対照群の結果との比較から、24.5mg/m³でみられた症状は明らかに検体暴露によるものと考えられた。また生存動物の体重増加への検体暴露の影響はみられなかった。

3) 肉眼的病理検査

死亡した動物の剖検では、肺の拡張、肝臓における小葉構造の明瞭、腎盂の赤色化、腺胃、小腸の赤色化等が認められた。生存動物に対する剖検では、検体暴露に関与したと思われる異常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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[参考] 本試験においては上記の急性吸入毒性試験とは別に以下の暴露条件で肺機能と血液ガスの測定が行われた (雌 10 匹/群)。

暴露条件	肺機能測定試験			血液ガス分析試験		
	エーロゾル、4 時間、鼻部暴露					
目標濃度 (mg/m ³)	35	175	700	35	175	700
実際濃度 (mg/m ³) [#]	5.2	24.5	78.0	7.3	29.5	57.6

その結果、一般観察において 5.2mg/m³では、検体投与に起因した症状は観察されなかった。それ以上の濃度による暴露では活動性の低下や立毛等の所見が観察された。

肺機能検査では 24.5mg/m³ 以上で暴露直後に換気量の減少またはその傾向を観察したが、暴露 7 及び 14 日後の測定では異常を認めなかった。血液ガスについては暴露直後、暴露 7 及び 14 日後の分析で異常は認められなかった。

(2) 皮膚および眼に対する刺激性

ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験 (1)

毒性資料 No. 原体-7

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体の純度：95%

供試動物：日本白色ウサギ（体重：2kg 前後）、1 群雌 6 匹

観察期間：眼刺激性試験 7 日間、皮膚刺激性試験 3 日間

1. 眼刺激性

試験方法：

無洗眼群 6 匹及び洗眼群 6 匹の左眼に 0.1mL を強制開眼して眼瞼結膜嚢に投与した。投与後 30 秒間は開眼状態を保ち、検体を結膜や角膜に接触させた。洗眼群についてはその後、100mL の微温湯で洗眼した。無洗眼群の右眼は無処理対照眼、洗眼群の右眼は洗眼対照眼とした（洗眼のみ）。

角膜、虹彩、結膜に対する症状の観察および判定は Draize の評価表に従って投与後 1、3、6、24、48、72 時間、7 日に行った。

Draize の評価結果から、J. H. Kay 等の方法に従って刺激性の評価を行った。

結 果：

無洗眼群の結果を表 1 に、洗眼群の結果を表 2 に示した。

無洗眼群、洗眼群共に角膜に対しては何ら所見を認めなかった。

虹彩においては、無洗眼群で 2 例に虹彩紋理の充血が投与後 1 時間でみられたが、6 時間後には回復した。

結膜に対して、無洗眼群と洗眼群とも眼球結膜の血管の充血、眼瞼結膜のびまん性の深紅色と眼瞼の部分的な外反や腫脹及び眼瞼周囲の分泌物が認められた。無洗眼群と洗眼群とも 7 日までにほぼ回復した。

J. H. Kay 等の方法で刺激性の評価を行った結果、無洗眼群、洗眼群共に軽度刺激性ありと判定された。

また、本試験において明らかな洗眼効果は認められなかった。

表 1. ウサギの眼に対する刺激性—無洗眼群—

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間						
			1	3	6	24	48	72	7日
1	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	20	7	9	9	5	0	0	0
2	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	20	10	10	11	6	0	0	0
3	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	20	8	8	10	11	10	6	2
4	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	0	0	0	0	0	0	0
	結 膜	20	14	16	16	14	4	1	1
5	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	5	5	0	0	0	0	0
	結 膜	20	12	14	14	12	8	5	2
6	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	5	0	0	0	0	0	0
	結 膜	20	14	14	12	8	1	0	0
平均	角 膜	80	0	0	0	0	0	0	0
	虹 彩	10	1.7	0.9	0	0	0	0	0
	結 膜	20	11	12	12	9.3	3.8	2.0	0.8

評点 角膜：程度(最高4)×面積(最高4)×5、虹彩：程度(最高2)×5
 結膜：(発赤(最高3)+浮腫(最高4)+分泌物(最高3))×2

表 2. ウサギの眼に対する刺激性—洗眼群—

動物 番号	項目	最高 評点	適用後時間						
			1	3	6	24	48	72	7日
7	結膜	20	6	11	13	7	2	0	0
8			13	16	11	14	3	2	0
9			9	12	9	3	0	0	0
10			14	16	16	18	8	4	2
11			16	16	11	10	0	0	0
12			14	14	13	10	2	0	0
平均	結膜	20	12	14	12	10	2.5	1.0	0.3

評点 角膜：程度(最高4)×面積(最高4)×5、虹彩：程度(最高2)×5
 結膜：(発赤(最高3)+浮腫(最高4)+分泌物(最高3))×2

角膜及び虹彩についてはいずれもスコアが0であったことから表示は割愛した。

2. 皮膚刺激性

試験方法：

試験前日に被験動物の左右側腹部の毛を刈り（10 cm×20 cm）、右側皮膚を無損傷皮膚、左側皮膚を粘着テープで角質層を除去した損傷皮膚とした。試験直前にアルミホイル製チャンバー（径 1.5 cm）に試験試料 0.1mL を入れ、被験動物の側腹部無損傷皮膚と損傷皮膚に貼付した。貼付後 24 時間にチャンバーを除去し、皮膚反応を Draize の評価表をもとにして貼付 24、72 時間後に評価した。

結果：

背部の皮膚適用後の結果を表 3 に示した。

表 3. ウサギの皮膚に対する刺激性（背部）

動物 番号	無損傷皮膚				損傷皮膚				一次 刺激 値 [#]
	24 時間		72 時間		24 時間		72 時間		
	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	
	4 [#]	4	4	4	4	4	4	4	8
1	—	—	—	—	2	1	2	2	※
2	—	—	—	—	—	—	—	—	※
3	1	0	0	0	1	0	1	0	0.75
4	0	0	0	0	1	0	0	0	0.25
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	0.25	0	0	0	0.5	0	0.25	0	0.25

@：最高評点、—：パッチがはずれ判定不能、※：最終評価から除外

#：無損傷皮膚と損傷皮膚の 24 時間後と 72 時間後における反応の合計点を、24 時間後と 72 時間後における反応項目である 4 で除したもの。

無損傷皮膚では 1 例に軽微発赤がみられたが、72 時間で消失した。損傷皮膚では 3 例に発赤がみられ、そのうち 1 例は軽度発赤と軽微浮腫を示した（但しこの例は無損傷皮膚でパッチがはずれ判定不能となったため、最終評価からは除外した）。4 例の結果から平均一次刺激性値は 0.25 となり、分類基準からみて本検体は皮膚刺激性を有さないと考えられた。

ただ、パッチがはずれ例数が減少したことから、再度皮膚刺激性の有無を確認するため、ここで用いた動物及び予備動物を用いて、耳介舟状窩部の皮膚を用いての刺激性試験を行った。

耳介舟状窩部の皮膚適用後の結果を表 4 に示した。

表 4. ウサギの皮膚に対する刺激性（耳介舟状窩部）

動物 番号	無損傷皮膚				損傷皮膚				一次 刺激 値 [#]
	24 時間		72 時間		24 時間		72 時間		
	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	
	4 [@]	4	4	4	4	4	4	4	8
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	—	—	—	—	0	0	0	0	※
9	—	—	—	—	0	0	0	0	※
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	—	—	—	—	※
平均	0	0	0	0	0	0	0	0	0.25

@: 最高評点、—: パッチがはずれ判定不能、※: 最終評価から除外

#: 無損傷皮膚と損傷皮膚の 24 時間後と 72 時間後における反応の合計点を、24 時間後と 72 時間後における反応項目である 4 で除したもの。

表に示したように 3 匹でパッチがはずれ最終評価ができなかったが、8 匹については貼布 24 時間及び 72 時間後の観察で皮膚損傷の有無に係らず、皮膚刺激性を示す発赤や浮腫の反応は全く観察されなかった。

以上の結果から、シフルトリンはウサギの眼に対して軽度刺激性を有する、一方、皮膚に対し刺激性はないと考えられた。

ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験 (2)

毒性資料 No. 原体-4 (抜粋)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体の純度：83.6%

供試動物：New Zealand White ウサギ*、投与時体重：3~4kg、1群動物数：眼刺激性試験/5分間適用5匹及び24時間適用3匹、皮膚刺激性試験/6匹

観察期間：眼刺激性試験7日間、皮膚刺激性試験3日間

1. 眼刺激性

試験方法：

眼粘膜刺激性試験は米国の保健、教育：福祉省の基準に従って実施した。8匹の動物の左眼に0.1mLを強制開眼して投与した。その後5匹は5分後に洗眼し、残り3匹は24時間後に洗眼した。

角膜、虹彩、結膜に対する症状の観察および判定はFederal Register (37, 83, 1972) の評価表に従って投与後1、2、24、48、72時間、7日に行った。

結 果：

5分間及び24時間適用の結果を各々表1及び2に示した。

*報告書に性別の記載なし

表 1. ウサギの眼に対する刺激性 (5 分間適用)

動物 番号	検査部位	最高 評点	適用後時間					動物の 反応
			1	24	48	72	7 日	
1	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	2	1	0	
	浮腫	4	1	1	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	
2	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	0	0	
	浮腫	4	1	0	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	
3	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	0	0	
	浮腫	4	1	0	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	
4	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	1	0	
	浮腫	4	1	0	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	
5	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	1	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	

表 2. ウサギの眼に対する刺激性 (24 時間適用)

動物 番号	検査部位	最高 評点	適用後時間					動物の 反応
			1	24	48	72	7 日	
1	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	0	0	
	浮腫	4	1	0	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	
2	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	1	0	
	浮腫	4	2	1	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	
3	角膜	4	0	0	0	0	0	陽性
	虹彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜 発赤	3	3	2	1	1	0	
	浮腫	4	1	0	0	0	0	
	潰瘍	3	0	0	0	0	0	

5 分間適用と 24 時間適用では、ウサギの眼粘膜に対して刺激性（中等度から重度の発赤、軽度から中等度の結膜浮腫）が認められた。

2. 皮膚刺激性

試験方法：

皮膚刺激性試験は米国の農務省の基準 (Fed. Reg. 38, 187, 27019, 1973) に従って実施した。試験前日に被験動物の背部の毛を刈り、無損傷皮膚、損傷皮膚をもうけた。検体 0.5mL を、被験動物の無損傷皮膚と損傷皮膚に貼付した。貼付 4 時間後に検体を除去し、皮膚の状態を Fed. Reg. の評価表をもとにして貼付 24、72 時間後に評価した。

結果：

皮膚適用の結果を次表に示した。

表 3. ウサギの皮膚に対する刺激性

動物 番号	無損傷皮膚				損傷皮膚				一次 刺激 値 [#]
	24 時間		72 時間		24 時間		72 時間		
	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	発赤	浮腫	
	4 [@]	4	4	4	4	4	4	4	8
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0	0	0

@: 最高評点

#: 無損傷皮膚と損傷皮膚の 24 時間後と 72 時間後における反応の合計点を、24 時間後と 72 時間後における反応項目である 4 で除したもの。

皮膚損傷の有無に係らず本検体の適用による皮膚の反応は観察されなかった。

以上の結果から、シフルトリンはウサギの眼に対して刺激性を有する、一方、皮膚に対して刺激性はないと考えられた。

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (1)

毒性資料 No. 原体-8

試験機関：

報告書作成年：1983 年

検体の純度：95%

供試動物：Hartley モルモット、体重 280～345g、1 群雌 10 匹（無感作、0.01 及び 1.0% 感作群、各々につき皮内惹起と貼布惹起のため計 6 群）

観察期間：約 3 週間

試験方法：

試験試料の調製

感作試料は検体 100mg に乳化剤（ソルポール Ex-T-15）0.1mL、メチルセルソルブ 0.4mL を加え、生理食塩水乳濁液をつくり、アジュバントを等量加えて乳鉢内で乳白色になるまで混和した。

惹起試料は、供試検体に乳化剤と溶媒を加え、乳鉢内でよく混合し、皮内注射用試料として生理食塩水を、貼付用試料として蒸留水を加えて所定濃度の試験液を調製した。濃度は%(w/v) で示した。

感作：注射感作は所定濃度の薬液を各被験動物に対し、隔日に 1 回 1 ヶ所 0.1mL を背部皮下、左右後肢の筋肉内に順次 3 回注射を行った。無感作群に対しては無処置とした。感作濃度は 1.0% 及び 0.01% とした。

惹起：注射感作 2 週間後に被験動物を 2 群に分け、接触皮膚アレルギー反応をみる目的の貼付惹起と遅延型アレルギー反応をみる目的の皮内注射惹起とを行った。貼付惹起は背部剪毛部の左側を損傷皮膚、右側を正常皮膚とし、所定惹起濃度薬液 0.05mL をパッチ用フィンチャンバーに滴下し、24 時間閉塞貼付した。貼付惹起の濃度は原体、1.0%、0.1% 及び 0%（溶媒対照）とした。皮内注射惹起は所定濃度 0.05mL を側腹部に投与濃度ごとに部位をかえながら実施した。皮内注射惹起の濃度は 0.01%、0.005%、0.001% 及び 0%（溶媒対照）とした。貼付惹起、皮内注射惹起共に無感作群に対しては感作群と同様の惹起処理を行った。

観察項目：一般状態は毎日観察した。体重は感作開始時及び惹起時に測定した。

皮膚の観察に関し、貼付惹起した動物は貼付 24、48 時間後に肉眼判定を行った。そして無感作群の動物は 24 時間後の結果、感作群の動物は 48 時間後の結果から反応の程度を点数としてあらわし、0.5 以下を陰性と判定した。

皮内惹起した無感作群の動物は 24 時間後に、感作群の動物は 48 時間後に屠殺後、皮膚を剥離し、照明拡大鏡で皮膚片を透視して紅斑径を測定した。紅斑径 2.5 mm 以下を陰性と判定した。

結 果：

1) 一般観察

1.0%と0.01%感作群の各1例で死亡が認められたが、いずれも肺炎によるものと考えられ、検体に起因するものではなかった。

2) 貼付惹起（肉眼的判定結果）

24時間閉塞貼付した後の結果を表1に示した。

表1. 貼付惹起後の判定結果

	惹起濃度 (%)	感作濃度 (%)	非損傷皮膚			損傷皮膚		
			例数		炎症の程度 (点)	例数		炎症の程度 (点)
			非炎症	炎症		非炎症	炎症	
シフルトリン	原体	1.0 ^{**}	8	1	0.2	5	4	0.4
		0.01	9	1	0.2	9	1	0.1
		無感作	7	3	0.5	10	0	0.1
	1.0	1.0 ^{**}	7	2	0.4	9	0	0.1
		0.01	8	2	0.3	10	0	0
		無感作	8	2	0.3	9	1	0.2
	0.1	1.0 ^{**}	9	0	0	9	0	0
		0.01	9	1	0.1	10	0	0
		無感作	9	1	0.3	9	1	0.2
溶媒対照液 [#]	1.0 ^{**}	9	0	0	9	0	0	
	0.01	10	0	0	10	0	0	
	無感作	10	0	0.2	10	0	0.1	

判定時間：無感作群 / 貼付後24時間、感作群 / 貼付後48時間

統計解析：炎症例数 / カイ2乗検定、炎症程度 / Wilcoxon 順位和検定

#：シフルトリン1%液中に含まれる乳化剤対照液

※：1.0%感作群の1例は皮膚の状態が悪く、評価から除外した。

本検体は非損傷皮膚、損傷皮膚とも所定濃度液による24時間閉塞貼付の結果、平均の炎症程度で0.5を上回る群はみられなかった。また感作群と無感作群で炎症の例数および炎症の程度に差は認められなかった。

3) 皮内注射惹起（透視判定結果）

皮内注射惹起後の結果を表 2 に示した。

表 2. 皮内注射惹起後の判定結果

惹起濃度 (%)	感作濃度 (%)	例数		炎症の程度 (平均値) mm
		非炎症	炎症	
0.01	1.0*	6	3	3.4
	0.01*	5	4	2.3
	無感作	3	7	3.8
0.005	1.0*	5	4	2.4
	0.01*	6	3	2.1
	無感作	4	6	3.4
0.001	1.0*	8	1	1.7
	0.01*	8	1	1.6
	無感作	5	5	2.4
溶媒対照液#	1.0*	9	0	0.4
	0.01*	8	1	1.5
	無感作	5	5	2.9

判定時間：無感作群 / 貼付後 24 時間、感作群 / 貼付後 48 時間

統計解析：炎症例数 / カイ 2 乗検定、炎症程度 / Wilcoxon 順位和検定

#：0.01%液に含まれる乳化剤対照液

※：1.0 と 0.01%感作群で各 1 例死亡

本検体の 1.0%と 0.01%液で感作し、0.01、0.005、0.001%液で皮内注射惹起したが、炎症例数と炎症の程度には無感作群との間に有意な差は認められなかった。

以上の結果、検体は皮内注射による一次刺激性確実起炎症濃度の感作処置によっても接触皮膚炎型アレルギー反応及びツベルクリン型アレルギー反応は認められず、モルモットに対する皮膚感作性は陰性と考えられた。

モルモットを用いた皮膚感作性試験 (2)

毒性資料 No. 原体-9

試験機関：

報告書作成年：1994年[GLP 対応]

検体の純度：96.2%

供試動物：DH モルモット (Bsd/Win:DH)、感作開始時体重 317~411g、感作群 20 匹、
無感作群 10 匹

観察期間：約 3 週間

試験方法：Maximization 法

適用濃度の設定根拠：

皮内注射：予備動物 1 匹を用い、ポリエチレングリコール #400 で調製した検体 0、1、2.5 及び 5% 液を皮内注射した。注射 24 及び 48 時間後、0% を含む全濃度で赤い境界部を伴った灰色域を観察した。ゆえに 5% を皮内注射による感作濃度とした。

塗布適用：4 匹の予備動物を用い、ポリエチレングリコール #400 で調製した検体の 6、12、25 及び 50% 液を 1 匹につき 4 ヶ所の皮膚に 24 時間適用した。適用後は生理食塩水で清拭し、その 24 及び 48 時間後に適用部を観察した。その結果、どの動物についても適用部に発赤等の刺激性変化はみられなかった。ゆえに 50% を塗布適用による感作濃度とした。また惹起 1 週間前に本試験と同様に感作処理をおこなった別の 4 匹の予備動物を用い前述と同様に 4 濃度を適用した。その結果、適用部に発赤等の刺激性変化はみられなかったことから、50% 及び 25% を惹起濃度とした。

感作（皮内注射）：背部及び側腹部を剪毛・剃毛し、下記の 3 種の調製液について 3 対の皮内注射（0.1 mL/部位）を行った。

- 感作群
- 1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液（前背部両側）
 - 2) 検体の 5% 液（ポリエチレングリコール #400 (PEG 400) で調製）（中背部両側）
 - 3) 検体の 5% 液（Freund's Complete Adjuvant と PEG 400 の 50 : 50 の混合液で調製）（後背部両側）

- 無感作群
- 1) Freund's Complete Adjuvant と生理食塩水の 50 : 50 の混合液（前背部両側）
 - 2) PEG 400（中背部両側）
 - 3) Freund's Complete Adjuvant と PEG 400 の 50 : 50 の混合液（後背部両側）

感作（塗布適用）：皮内注射後 6 日（感作前日）に再度剪毛し貼付部は 10% ラウリル硫酸ナトリウム軟膏で脱毛した。感作当日、以下の様に処理した非アレルギー性ろ紙（2×2 cm）を注射部の上に貼付（0.5 mL）し、アルミニウムホイールで包み、Fermoflex 接着テープで 48 時間皮膚に固定した。

- a) 感作群
検体 50% (PEG 400 で調製)
- b) 無感作群
溶媒 (PEG 400 のみ)

惹起：最終感作の 2 週間後（皮内注射 3 週後）、惹起前日に左側腹部を剪毛し貼付部は 10%ラウリル硫酸ナトリウム軟膏で脱毛した。感作群と無感作群では、50%及び 25%検体調製液に浸した非アレルギー性ろ紙を左側部に貼布 (0.5mL) し 24 時間固定した。

比較の為、同様に検体を含まないろ紙 (PEG 400 のみ) を右側腹部に処理した。

観察項目：惹起開始から 48 及び 72 時間（惹起後から 24 及び 48 時間）に適用部位を肉眼的に観察し、紅斑・腫脹について判定基準に準じて採点した。そして、感作群における陽性率と反応の程度が無感作群に比べて明らかに高い場合、皮膚感作性陽性と評価した。

試験期間を通じてすべての動物について少なくとも 1 日 1 回、一般観察を行った。また、試験開始時（皮内注射を行った日）及び観察期間終了時（惹起後の最終判定日）に体重を測定した。

結 果：

1) 一般観察

試験期間中、すべての動物について外徴や行動の変化は観察されなかった。

2) 体重

体重を試験開始時及び終了時に測定したが、感作群、無感作群共に同様の増体重を示した。

3) 皮膚観察

惹起開始後の各観察時間における皮膚変化が認められた動物数を表 1 に示す。

感作群の 20 例中 1 例で 50%液惹起により 72 時間後に軽度の発赤がみられた。25%液惹起では皮膚反応は認められなかった。その他の動物では発赤等の皮膚反応は観察されなかった。無感作群においては 50%及び 25%惹起共に皮膚の反応はみられなかった。

感作群では 5%の陽性率を示したが、陽性例の皮膚反応の程度は軽度にとどまり、皮膚感作性を示唆する明らかな結果は得られなかった。

表 1. 皮膚感作性試験結果

群	供試動物数	惹起処理		皮膚反応動物数								陽性動物数	陽性率 (%)
				48 時間				72 時間					
				皮膚反応評点#				皮膚反応評点#					
				0	1	2	3	0	1	2	3		
感作	20	50%	検体	20	0	0	0	19	1	0	0	1	5
			溶媒	20	0	0	0	20	0	0	0		
		25%	検体	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0
			溶媒	20	0	0	0	20	0	0	0		
無感作	10	50%	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒	10	0	0	0	10	0	0	0		
		25%	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒	10	0	0	0	10	0	0	0		

: 0 = 反応なし、1 = 軽度発赤、2 = 中等度発赤、3 = 重度発赤と腫脹

なお、陽性対照 (2-mercaptobenzothiazole) を用いての感受性の確認は同試験条件で定期的に行われており、直近の試験の結果、表 2 に示したように 2.5%皮内感作と 40%貼付感作後の 1 回目 (皮内感作 3 週後)、2 回目 (皮内感作 4 週後) の貼付惹起により明らかな陽性率の増加がみられた。

以上の結果から、シフルトリンのモルモットに対する皮膚感作性は陰性と考えられた。

表 2-1. 2-mercaptobenzothiazole の皮膚感作性試験結果 (1 回目貼付惹起)

群	供試動物数	惹起処理	皮膚反応動物数								陽性動物数	陽性率 (%)	
			48 時間				72 時間						
			皮膚反応評点 [#]				皮膚反応評点 [#]						
			0	1	2	3	0	1	2	3			
感作	20	40%	検体	4	10	6	0	5	12	3	0	16	80
			溶媒	20	0	0	0	20	0	0	0		
		25%	検体	7	5	8	0	9	7	4	0	13	65
			溶媒	20	0	0	0	20	0	0	0		
無感作	10	40%	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒	10	0	0	0	10	0	0	0		
		25%	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒	10	0	0	0	10	0	0	0		

: 0 = 反応なし、1 = 軽度発赤、2 = 中等度発赤、3 = 重度発赤と腫脹

表 2-2. 2-mercaptobenzothiazole の皮膚感作性試験結果 (2 回目貼付惹起)

群	供試動物数	惹起処理	皮膚反応動物数								陽性動物数	陽性率 (%)	
			48 時間				72 時間						
			皮膚反応評点 [#]				皮膚反応評点 [#]						
			0	1	2	3	0	1	2	3			
感作	20	12%	検体	6	13	1	0	9	11	0	0	14	70
			溶媒	20	0	0	0	20	0	0	0		
		6%	検体	6	13	1	0	10	9	1	0	14	70
			溶媒	20	0	0	0	20	0	0	0		
無感作	10	12%	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒	10	0	0	0	10	0	0	0		
		6%	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
			溶媒	10	0	0	0	10	0	0	0		

: 0 = 反応なし、1 = 軽度発赤、2 = 中等度発赤、3 = 重度発赤と腫脹

(4) 急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性

(毒性資料No.原体-10)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年： 2017年

検体の純度 : 98.0%

供試動物 : SD(Cr1:CD)系ラット、1群雌雄各10匹

投与日体重；雄（平均体重222～233g）

雌（平均体重180～184g）

観察期間 : 14日間

試験方法：

投与用量設定の理由及び作用ピーク時間の確定

投与用量の設定は検体を75、100、150mg/kgの設定濃度で強制経口投与した予備試験結果に基づいた（作用ピーク時間の検索には75mg/kgの設定濃度のみで実施した。）。その結果では、75mg/kg以上で後肢の伸展、運動失調や流涎がみられ、100mg以上で投与後2時間から6時間に死亡がみられた。これらの死亡例では死亡前に努力呼吸、身もだえ様動作や間代性けいれんも認められた。作用ピーク時間は投与後約4時間であることが確認された。

これらの結果から、75mg/kgを最高用量とし、用量に関連した変化をみることとNOAELを設定するために25mg/kgおよび5mg/kgを設定した。

投与方法

絶食させた雌雄ラットに、0(担体)、5、25及び75mg/kgの用量を強制的に単回経口投与した。検体をコーンオイルに混和させた。投与容量は、体重100gあたり0.5mLとした。

臨床症状の観察及び体重の測定

観察期間は14日間とし、朝および午後の2回、瀕死状態および死亡の有無について確認した。臨床観察は1日1回全例について実施し記録した。なお、機能観察検査実施日には臨床観察の記録は行わなかった。

体重は、投与日(投与0日)、投与後7日、14日に行い、更に投与7日前および剖検日(投与後15日)にも測定した。

機能観察検査

個々の動物について Moser*により記述された一連の試験法に準拠し、4回（検体投与7日前、投与後4時間、7日及び14日）検査を行った。

運動能試験

個々の動物について、4回（検体投与7日前、投与後4時間、7日及び14日）に機能観察検査を終了後に運動能および移動運動能の測定を実施した。測定時間は60分間とし、10分間隔での運動量も調べ、60分間および各10分間隔での値を対照群と検体投与群とで比較した。

剖検、脳重量の測定、脳の計測

投与15日に、全動物について、ペントバルビタールを腹腔内投与し麻酔後、4.0%パラホルムアルデヒド/0.1Mリン酸緩衝液で灌流固定した(*in situ*)。中枢および、末梢神経系の組織を採取し固定した。固定した脳の重量測定および大きさ(長さ(嗅球を除く)および幅)を計測し記録した。肉眼所見および脳や脊髄についての色の異常や所見は全て記録した。

病理組織学的検査

75mg/kg群および対照群から任意に選択した雌雄動物各5匹について、病理組織学的検査を実施した。中および低用量群の動物については組織を固定したが、検査を行わなかった。病理組織学的検査を行った臓器は脳(嗅球、大脳皮質、海馬/歯状回、基底神経節、視床、視床下部、中脳、小脳、橋および延髄)、脊髄(頸膨大、腰膨大)、三叉神経節/神経、腰部後根神経節、腰部後根神経線維、腰部前根神経線維、頸部後根神経節、頸部後根神経線維、頸部前根神経線維、頸部脊髄神経、坐骨神経、腓腹神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼および腓腹筋であった。

*: V. C. Moser, Applications of a neurobehavioral screening battery: A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 19091, 10(6), pp. 661-669

結果：

臨床観察及び体重の測定

雌雄ともに死亡および検体に関連した臨床症状はいずれの群でも認められなかった。

体重も雌雄ともに対照群と投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。

機能観察検査（表 1）

ケージ内での観察

投与後 4 時間、投与後 7 日及び 14 日において、投与群と対照群との間に統計学的有意な差は認められず、検体投与による影響は認められなかった。

ハンドリングでの観察

投与後 4 時間に 75mg/kg 雌雄群でのみ検体に起因した影響がみられた。見られた影響は、被毛の汚れ、呼吸数の低下、流涎、鼻や口のまわりに赤色沈着あるいは乾燥した浸出物の付着がみられた。そして、雄では被毛が正常に保たれている動物数の減少、口のまわりに乾燥した浸出物が付着している動物数の増加、呼吸数の低下を示す動物数の増加に統計学的に有意差がみられた。

一方、同群雌では統計学的有意差は認められなかったが、更に、紅涙や軽度の流涙が 1 例ではあったが認められ、これらの所見は検体に起因した変化と考えられた。

投与後 7 日、14 日の検査では、いずれの投与群においても雌雄ともに、検体投与に関連した影響は認められなかった。

オープンフィールドでの観察

投与後 4 時間に 75mg/kg 雌雄群でのみ検体に起因した影響がみられた。統計学的な有意差を伴った所見は、最初のステップにかかる時間の平均の延長、わずかあるいは中程度の運動障害や歩行の変化（体をくねらす）、後肢開脚あるいは後肢の引きずりであった。また、統計学的な有意差を伴わなかったものの、同群雌雄では、やや酩酊状態を示す例が認められた。同群雄の 1 例においては、上記に示した症状に加え身もだえ様動作（横臥、腹部の波のような動き、交互におこる四肢の動き）が観察された。その他、オープンフィールドでの観察において、投与後 4 時間のピーク時間に検体に関連した影響は認められなかった。

なお、投与後 4 時間において同群雌において毛づくろいの増加が統計学的に有意差を伴ってみられたが、投与開始前の検査にも、統計学的な有意差は認められなかったものの対照群に比べ増加がみられたことから、この所見は投与に関連し

たものとは考えなかった。また 25mg/kg の雄で、同検査時に立ち上がり回数の統計学的に有意な増加がみられたが、用量に関連した増加がみられなかったことから投与との関連性はないものと考えられた。

投与後 7 日、14 日の検査では、いずれの投与群においても雌雄ともに、検体投与に関連した影響は認められなかった。

感覚検査

投与後 4 時間に 75mg/kg 雌雄群でのみ検体に起因した影響がみられた。この群での空中立ち直り反応の乱れを示した動物数は、対照群が 0 匹なのに対して、雄では 3 例、雌では 2 例にみられた(統計学的有意差なし)。更に同群雄では、側面および背面での着地がそれぞれ 2 例および 1 例で観察された。

投与後 7 日、14 日の検査では、いずれの投与群においても雌雄ともに、検体投与に関連した影響は認められなかった。

神経筋検査(後肢伸展力、後肢開脚幅、前肢及び後肢の握力、回転棒でのテスト)

投与後 4 時間に 75mg/kg 雌雄群でのみ検体に起因した影響がみられた。その影響は後肢の力の減少で 2 例(統計学的有意差なし)に認められた。この 2 例は、後肢および前肢の握力が投与前の検査より減少していた。

投与後 7 日、14 日の検査では、いずれの投与群においても雌雄ともに、検体投与に関連した影響は認められなかった。

生理学的検査(体温、体重、カタレプシー)

投与後 4 時間に 75mg/kg 雌雄群でのみ検体に起因した影響がみられた。この群では、平均体温の低下がみられ、雌では統計学的な有意差を伴った。その他、投与 4 時間において、検体に関連した影響は認められなかった。

なお、カタレプシーを示している平均時間において、同群雄で対照群に比べわずかな増加がみられた(雄 75mg/kg 群;1.5 秒, 雄対照群 0.5 秒)。この変化は統計学的な有意差を伴わなかった。この変化は、この群の 1 例の動物がとびぬけて長い時間(11.0 秒)を示したことによるものであり、この群のその他の動物の平均時間は 0.4 秒であった。従って、この差は検体に関連したものとは考えられなかった。このカタレプシーを比較的長く示した動物は、オープンフィールドでの観察の際、身もだえ様動作を示した。

投与後 7 日、14 日の検査では、いずれの投与群においても雌雄ともに、検体投与に関連した影響は認められなかった。

表 1. 機能観察検査 検体投与に関連すると考えられる所見 (投与 4 時間後)

性別	雄				雌				
	mg/kg	0	5	25	75	0	5	25	75
ハンドリング時の検査									
被毛の汚れ	0	0	0	5*	0	0	0	2	
呼吸数の低下	0	0	0	5*	0	0	0	2	
口の周囲乾燥した付着物	0	0	0	5*	0	0	0	2	
流涎	0	0	0	2	0	0	0	2	
オープンフィールドでの検査									
第 1 ステップの時間(秒)	0.3	0.4	0.4	0.5 ⁺	0.3	0.4	0.4	0.4	
運動異常 ^{#1}	0	0	0	6*	0	0	0	3	
歩行異常	0	0	0	6*	0	0	0	3	
酩酊 (わずか)	1	0	0	5	0	1	0	1	
感覚検査									
空中立ち直り反応正常	10	10	10	4 ⁺	10	10	10	8	
非協調性 (軽度)	0	0	0	3	0	0	0	2	
側面での着地	0	0	0	2	0	0	0	0	
背面での着地	0	0	0	1	0	0	0	0	
神経筋検査									
後肢の力の減少	0	0	0	2	0	0	0	0	
生理学的検査									
体温(°C)	38.2	38.3	37.5	36.4	38.5	38.6	38.5	37.1 ⁺	

*: p<0.05 (Fisher 検定), +: p<0.05 (Dunnett 検定)

#1: 体を引きずる, 体をくねらす, 後肢開脚, 後肢の引きずり等

運動能 (表 2)

投与後 4 時間に 75mg/kg 雌雄群でのみ検体に起因した運動能の低下(10 分間のインターバル、総運動能、移動運動能)がみられた。投与後 4 時間において、75mg/kg 雌雄群と対照群との差は、最初の 10 分間が顕著で、雌雄ともにその差に統計学的有意差が認められ、その後 11~20 分、21~30 分の各インターバルでも対照群に比べ低値が続き、雌で統計学的有意差がみられた(総運動能 21~30 分を除く)。31~60 分までの各 10 分間のインターバルでは雌雄同群ともに対照群に比べ、総運動能、移動運動能ともに影響は認められなかった。一方、60 分間のセッションで見た場合も、75mg/kg 雌雄群で対照群に比べ総運動能、移動運動能ともに低値を示し、雄の総運動能を除いて、統計学的な有意差を伴った。

投与後7日、14日の検査では、いずれの投与群においても雌雄ともに、検体投与に関連した影響は認められなかった。

表 2-1. 運動能の要約/投与4時間後 (雄)

mg/kg /分	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	0-60
総運動能							
0	1180	467	250	153	211	193	2453
75	668**	319	155	228	195	148	1713
(%)#	-43.4	-31.7	-38.0	+49	-7.58	-23.3	-30.2
25	1099	502	182	134	104	88	2110
5	1114	475	171	49	96	96	2000
移動運動能							
0	370	81	56	19	44	29	599
75	152*	47	15	24	17	5	260*
(%)#	-58.9	-42.0	-73.2	+26.3	-61.4	-82.8	-56.6
25	336	78	27	13	12	13	478
5	323	71	21	1	8	7	430

* 当該対照より(+)多い, (-)少ない

対照群からの差(%)

*; p<0.05, **; p<0.01 (傾向検定)

表 2-2. 運動能の要約/投与4時間後 (雌)

mg/kg /分	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	0-60
総運動能							
0	1535	598	319	220	205	128	3005
75	802**	159**	128	80	155	88	1413**
(%)#	-47.8	-73.4	-59.9	-63.6	-75.6	-31.2	-53.0
25	1604	550	169	115	71	67	2577
5	1490	712	490	219	243	263	3416
移動運動能							
0	539	150	85	45	52	25	896
75	208**	16**	17*	7	16	16	280**
(%)#	-61.4	-89.3	-80.0	-84.4	-69.2	-36.0	-68.8
25	505	114	24	10	3	5	660
5	5133	185	135	44	58	66	1001

当該対照より(+)多い, (-)少ない

(対照群からの差(%))

*; p<0.05, **; p<0.01 (傾向検定)

病理学的検査

剖検

検体に関連した異常所見は雌雄ともに認められなかった。

脳重量測定および脳の大きさの計測

検体に関連した異常所見は雌雄ともに認められなかった

病理組織学的検査

中枢神経系及び末梢神経系に雌雄ともに検体に起因した影響は見られなかった。

以上、本試験において、雌雄ともに 75mg/kg 群で投与後 4 時間に検体投与に起因した影響が、機能観察検査および運動能の測定でみられた。

機能観察検査では、特に自律神経系、神経筋に検体に起因した影響がみられ、運動能では前半の 30 分に総運動能、移動運動能の低下が認められ、60 分間のセッションで見した場合においても、対照群に比し低下が認められた。

これらのことから、検体の本試験における総合的な無毒性量は雌雄ともに 25mg/kg と判断した。

(5) 急性遅発性神経毒性

ニワトリに対する急性遅発性神経毒性試験

毒性資料 No. 原体-11

報告書作成年：1986年 [GLP 対応]

検体の純度：93.5%

供試動物：白色レグホン雌ニワトリ、約12ヶ月齢（投与時体重：1.2～2.0 kg）

主群：1群7～16羽（陽性対照群（TOCP投与）7羽）

NTE検査群：1群20羽（陽性対照群（TOCP投与）20羽）

観察期間：最長8週間

検体調製：検体をポリエチレングリコール #400 (PEG 400) で希釈調製した。そして胃カテーテルを用いて強制経口投与した（投与容量：10mL/kg）。溶媒対照にはPEG 400のみを、陽性対照にはコーンオイルで溶解した TOCP (tri-ortho cresylphosphate) を同様に経口投与した。

1. 遅発性神経毒性試験

5群を設定し、以下のごとく検体あるいは陽性対照物質 (TOCP) を経口投与した。

群	投与量 (mg/kg)	動物数 (屠殺時期)
I	溶媒対照	7 (投与56日後に屠殺)
	10 mL/kg (単回)	
II	TOCP、陽性対照 500 mg/kg (単回)	7 (投与21日後に屠殺)
III	シフルトリン 4300 mg/kg (単回)	12 (投与21日後に屠殺)
IV	シフルトリン 4300 mg/kg (1回目の投与、 21日後に2回目の投与)	16 (1回目の投与56日後に屠殺)
V	シフルトリン 1500mg/kg (5日間連続投与)	10 (1回目の投与56日後に屠殺)

用量設定の根拠：

予備試験で単回投与でのLD50が4300 mg/kgであったことから、本試験における検体投与量を同じく4300 mg/kgとした。また5日連続投与については2000 mg/kgで3例中2例に死亡がみられたため、投与量を1500 mg/kgとした。

観察・検査項目及び結果：

1) 症状及び運動性の観察

試験期間中は毎日、各動物の一般状態を観察した。さらに週に2回、ケージ越しに動物の運動性、行動や歩行異常を観察した。

表 1. 症状所見

群	I 溶媒対照	II 陽性対照	III 単回投与	IV 2回投与	V 連続投与
動物数	7	7	12	16	10
投与量(mg/kg)		TOCP 500	4300	4300×2	1500×5
所見	なし。 1羽死亡。	運動低下、 起立不能。 1羽死亡。	傾眼、削 瘦。	攻撃性、傾 眼、削瘦。 1羽死亡 1羽切迫殺	攻撃性、傾 眼、削瘦、 とさかの チアノーゼ。 1羽死亡 2羽切迫殺

陽性対照群(II群)では投与後5日から運動低下がみられ、13日以降、ひきずり歩行、19日以降は起立不能を示した。

各検体投与群(III、IV、V群)では投与後に傾眠や削瘦等の所見がみられ、死亡を散見した。しかし、生存動物においてII群にみられたような運動性低下、起立不能はみられず、いずれも回復した。

2) 摂餌量及び体重

すべての生存動物について毎週1回、摂餌量及び体重を測定した。

陽性対照群及び各検体投与群のいずれも投与後数日以降、摂餌量の低下がみられた。連続投与群(V群)では試験終了時に対照群と同等となった。

陽性対照群及び検体単回投与群(III群)の動物の体重は検体投与後から試験終了時まで低下した。検体2回投与群(IV群)及び連続投与群(V群)では投与期間中あるいは投与後に明らかな体重低下がみられたが、6週以降徐々に回復し、観察終了時には対照群とほぼ同等となった。

3) 肉眼的病理検査

すべての死亡動物及び最終屠殺したニワトリについて剖検を行った(最終屠殺はII、III群については投与後21日目、その他の群については(初回)投与後56日目)。

その結果、いずれの動物についても投与に起因したと思われる異常所見は観

察されなかった。

4) 病理組織学的検査

各試験群から6羽を対象に、灌流固定後、以下の神経組織を摘出し、常法に従い標本を作製し病理組織学的検査を行った。

脳（大脳、小脳、延髄）、脊髄（頸部、胸部、腰仙部）、坐骨神経（左右）、脛骨神経（左右）

表 2. 病理組織所見

群	I 溶媒対照	II 陽性対照	III 単回投与	IV 2回投与	V 連続投与
投与量(mg/kg)		TOCP 500	4300	4300×2	1500×5
検査動物数	6	6	6	6	6
延髄/軸索変性	0	5	0	0	0
脊髄/軸索変性	0	6	0	1	0
リンパ球浸潤	0	1	1	0	0
脛骨神経/軸索変性	0	6	0	0	0
坐骨神経/軸索変性	0	2	1	0	0

溶媒対照のI群と検体連続投与のV群では病理組織学的異常所見はみられなかった。

検体単回投与III群の1羽の坐骨神経と検体2回投与IV群の1羽の脊髄に限局性の軸索変性がみられたが、単発的であり検体に起因するものではなかった。陽性対照 TOCP 投与のII群ですべてのニワトリの脛骨神経、脊髄、延髄の軸索変性と2羽のニワトリの坐骨神経の軸索変性がみられた。この病理所見は遅発性に観察された臨床症状に一致するものであった。

2. 神経毒性エステラーゼ (NTE) 活性

試験方法

I群 (PEG 400、10 mL/kg)、II群 (TOCP、500 mg/kg)、III群 (シフルトリン、4300 mg/kg) をそれぞれ各20羽に単回経口投与し、投与後24、48、72時間、7日に各群各5羽を屠殺し、脳と脊髄を摘出。M. K. Johnsonの方法の変法より、NTE活性を測定した。

結 果

測定結果を表3に示した。

表 3. NTE 活性

群	脳			脊髄		
	I 溶媒対照	II 陽性対照	III 単回投与	I 溶媒対照	II 陽性対照	III 単回投与
投与量 (mg/kg)		TOCP 500	4300		TOCP 500	4300
検査動物数	5	5	5	5	5	5
投与後 24 時間	100	↓13	119	100	↓19	82
投与後 48 時間	100	↓10	97	100	↓27	102
投与後 72 時間	100	↓19	110	100	↓22	99
投与後 7 日	100	70	95	100	66	94

↓ : p<0.05 Dunnett 検定または Steel 検定

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

検体投与の III 群では、脳と脊髄の NTE 活性はいずれの投与時期にも対照群と比較して有意な阻害は認められなかった。

陽性対照 TOCP 投与の II 群では脳及び脊髄共に投与後 24、48、72 時間に対照群に比べて明らかな NTE 活性の低下が認められた。投与後 7 日には脳及び脊髄の NTE 活性はなお阻害を受けていたが、統計学的有意ではなく明らかな回復傾向が窺われた。

以上、シフルトリンのニワトリに対する高用量投与によっても、急性的に認められた症状は回復し、遅発性で神経症状を含むいずれの臨床症状は観察されず、NTE 活性の低下、さらに神経組織の形態学的変化はみられなかったことから、遅発性神経毒性誘発作用はないと判断された。

(6) 28 日間反復経口投与毒性

ラットにおける 4 週間投与および 4 週間回復試験

毒性資料 No. 原体-12

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体の純度：95%

供試動物：Sprague-Dawley ラット (CRJ:CD)、約 5 週齢 (投与開始時体重：雄 112～141g、雌 101～118g)、主群雌雄各 12 匹、回復群雌雄各 6 匹

投与期間：4 週間 [1981 年 10～12 月]

投与方法：検体を 0, 100, 300 及び 1000ppm の濃度で飼料に混入し、4 週間にわたって摂食させた。回復群については 4 週にわたり同様に投与した後、4 週の休薬期間を設けた。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：すべての動物について中毒症状や行動の変化を毎日観察した。動物の外観、行動において 100 及び 300ppm 群では対照群との間に差異を認めず、また死亡も認めなかった。1000ppm 群では投与 3 日後から雌雄ラットの多数例に歩行異常が認められたが、その後徐々に軽減した。回復群では投与終了時に同様の症状が 2 例認められたが、休薬後は速やかに消失した。その他、雌雄数例に神経過敏状態が投与 1 週間後に、また雌の数例に流涎が投与開始翌日から数日間観察されたが、その後はいずれも消失した。

体重：毎週すべての生存動物の体重を測定した。また投与開始 4 日にも測定した。

図 1 に主群の体重推移を、図 2 に回復群の推移を示した。

主群、回復群共に 100ppm と 300ppm 群では対照群との間に統計学的に有意な差は認められなかった。

主群 1000ppm では雌雄共、ほぼ投与期間を通じ統計学的有意な*低体重を示し、投与 4 週後の体重は雄で対照群の 91%、雌で 94%であった。また回復群では 1000ppm の雄で同様に投与期間を通じて統計学的に有意な*低体重を示したが、投与終了後は回復がみられた。一方、回復群 1000ppm の雌では投与 1 週まで対照群に比し統計学的に有意な*低体重がみられたがその後は対照群との間に明らかな差はみられなかった。

*統計処理方法：Student t 検定 ($p < 0.05$)

図 1. 体重 (主群 / 4 週投与)

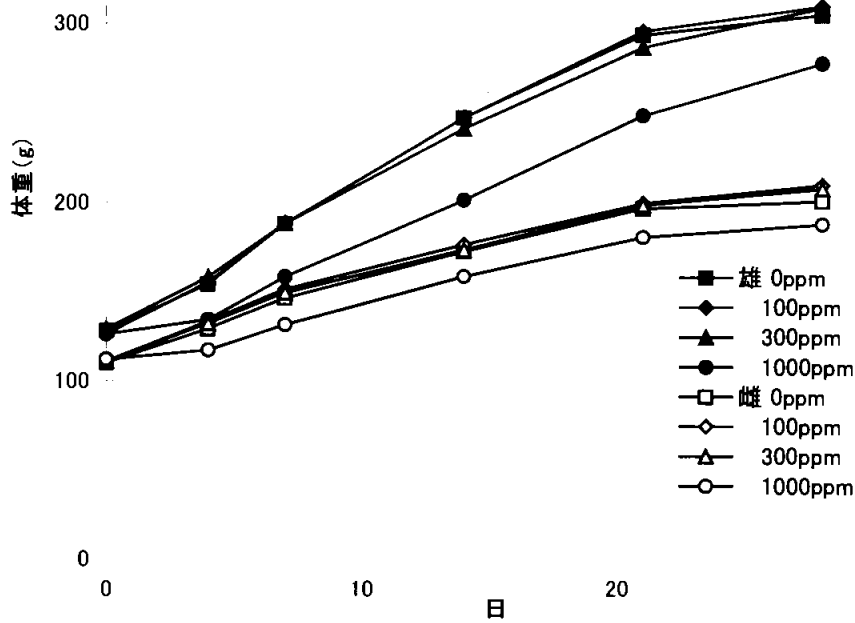
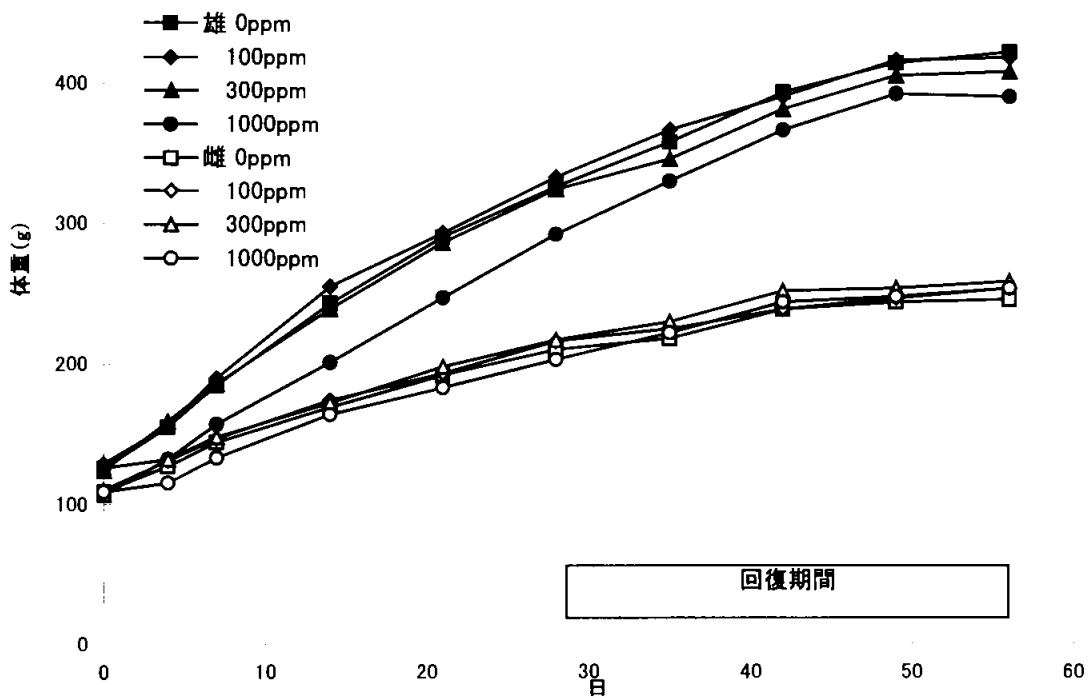


図 2. 体重 (回復群 / 4 週投与 + 4 週回復)



摂餌量、飲水量及び摂餌効率：試験期間を通じて毎週、摂餌量と飲水量を群飼育のためケージ単位で測定した。また摂餌効率を算出した。

表 1 には統計学的有意な変動をみた摂餌量と飲水量の結果を示し、表 2 に摂餌効率を示した。

表 1. 摂餌量及び飲水量

摂餌量						
性	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	300	1000	100	300	1000
主群 1 週			↓64			◆72
2 週			◆74			(89)
3 週			◆87			
4 週			◆88			
回復群 1 週			(63)			(71)
3 週			(89)			(93)
回復 1 週			(100)			(104)
飲水量						
性	雄			雌		
投与量 (ppm)	100	300	1000	100	300	1000
主群 1 週			↓63			◆68
2 週			↓76			
3 週			↓80			
回復群 1 週			(61)			(63)
3 週			(83)			(85)
回復 1 週			(106)			(109)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓ : $p < 0.05$ 、◆ : $p < 0.01$ / Student t 検定 (主群のみ実施 ; サンプル数 (ケージ数) = 4/群, 回復群についてはサンプル数 (ケージ数 = 2/群) が少ないため、統計解析は実施せず。)

() は参考までに記載。

摂餌量及び飲水量共に 100 及び 300ppm 群では影響を受けなかった。しかし 1000ppm 群では雌雄共に摂餌量及び飲水量の減少がみられ、また雄で明らかであった。休薬後は摂餌量及び飲水量共に速やかに回復した。

表 2. 摂餌効率

性	主群							
	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
摂餌効率 (%)	31	30	32	34	22	23	24	21
摂餌量 (g/動物)	561	571	555	↓444	405	416	405	↓345
体重増加量 (g)	176	179	180	↓151	90	97	96	74
	回復群 (投与期間)							
摂餌効率 (%)	36	35	37	38	26	26	27	27
摂餌量 (g/動物)	551	577	545	444	395	413	411	351
体重増加量 (g)	200	203	201	167	102	106	110	94
	回復群 (回復期間)							
摂餌効率 (%)	10	8	10	9	6	6	6	6
摂餌量 (g/動物)	634	647	636	637	444	441	468	459
体重増加量 (g)	64	52	63	60	28	28	30	29

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 / Student t 検定 (主群のみ実施 ; サンプル数 (ケージ数) = 4/群、回復群についてはサンプル数 (ケージ数 = 2/群) が少ないため、統計解析は実施せず。)

摂餌効率については、投与期間、回復期間のいずれにおいても投与群と対照群の間に明らかな変動を認めなかった。

検体摂取量 : 投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量 (主群)

投与量 (ppm)		100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	8.27	24.7	78.9
	雌	8.44	25.2	77.9

血液学的検査 : 投与 4 週後に主群、回復 4 週後に回復群の全生存動物を対象として剖検時に麻酔下で腹部大動脈から採血 (抗凝固剤処理) し、以下の項目を測定した。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCC)、白血球数 (WBC)、白血球分画、血小板数 (PLT)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
RBC	投与 4 週			↓96			
Hb	投与 4 週			↓95			↓97
Ht	投与 4 週			↓95			↓95
MCV	回復 4 週	↓98					
MCC	投与 4 週				↑102		↑103
	回復 4 週	↑103					
WBC	投与 4 週					↓70	
	回復 4 週					↑203	
PLT	投与 4 週	↓94	↓88				↓88

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Student t 検定)

投与終了時の検査において、1000ppm 群の雌雄に Ht 及び Hb、また雄では RBC、雌の PLT に統計学的有意な低値が認められたが、いずれも生理的変動範囲内の変化*であり、検体の毒性影響とは考えられなかった。

その他の項目でも散発的な変動が統計学的有意に認められたが、いずれも用量に依存した変動はみられず、検体投与の影響とは考えられなかった。

回復期間終了時の検査においては、投与終了時にみられた 1000ppm 群の雌雄に Ht や Hb 等の変動はみられなかった。また特記すべき所見は観察されなかった。

白血球分画については何らの変化も認められなかった。

*申請者註) 試験責任者は生理的変動範囲内の基準を、病的でない範囲としており、その根拠として、背景データ範囲内であることを判断の材料とした。

背景データ

項目	性別	0ppm	1000ppm	背景データ
RBC (10 ⁴ /mm ³)	雄	795	761	700~970
Ht (%)	雌	47.5	45.1	
	雄	45.5	43.4	42.9~50.1
Hb (g/dL)	雌	15.6	14.8	
	雄	15.4	14.9	11.4~19.2
PLT (10 ⁴ /mm ³)	雌	95.7	84.5	

生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液より得られた血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

血漿中酵素活性---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)
 血漿中基質---総蛋白 (TP)、総コレステロール (T. Chol)、グルコース (Glu)、
 尿素窒素 (BUN)、クレアチニン

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表5に示す。

表5. 血液生化学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
AST	投与4週				↓81	↓79	
ALT	投与4週				↓85	↓91	
	回復4週	↓92					
ALP	投与4週	↓89					
TP	投与4週				↓96		↓94
	回復4週			↓96			↓94
T. Chol	投与4週		↓84				
Glu	投与4週		↓88	↓83			↓82
	回復4週			↓80			
BUN	投与4週				↓87	↓87	↓90

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 (Student t 検定)

投与終了時の検査で、1000ppm群の雌雄と300ppm群の雄でGluの統計学的に有意な低値が認められ、回復期間終了時にも1000ppm群の雄で有意な低値を認めた。しかしいずれも生理的変動範囲内と考えられた*。

TPについて雌1000ppm群で統計学的有意な減少がみられたが、変動巾が小さくまた明らかな用量に依存した変動がみられなかったことから毒性影響とは捉えられなかった。

その他の項目で統計学的有意な変動をみたが、いずれも用量に依存した変動ではない、あるいは毒性的意義に乏しいことから、検体投与による毒性影響とは捉えなかった。

*申請者註) 試験責任者は生理的変動範囲内の基準を、病的でない範囲としており、その根拠として、背景データ範囲内であることを判断の材料とした。

この観点から、Gluの減少に関しては、背景データ(80~200mg/dL, 雄/対照群-111mg/dL, 300ppm-98mg/dL, 1000ppm-92mg/dL, 雌 / 対 照 群 -99mg/dL, 1000ppm-81mg/dL)内に入っていたことから、検体による毒性作用を示すものではないものと考えられた。また同用量で実施された4週間の混餌試験(毒性資料No. 原体-13)やより長期の慢性毒性発がん性併合試験(毒性資料No. 原体-23, 24)において、同様の所見が認められなかったことから、このGluの低下は毒性学的に重要な変化とは考えられなかった。

尿検査: 主群の雌雄各12匹と回復群雌雄各6匹について各々屠殺前日に尿試験紙を用い、以下の項目について半定量検査を実施した。

pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表6に示す。

表 6. 尿検査 (主群動物、投与 4 週後)

性別	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
／検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
所見								
ケトン体(+)	2	0	1	▲9	0	1	0	↑4
ウロビリノーゲン(+)	0	0	0	▲9	0	0	1	▲7

↑ : p<0.05、▲ : p<0.01 (Fisher 直接確率計算法、申請者実施)

投与終了時の検査で、潜血と糖はいずれも陰性であった。pH には有意な変動は認められなかった。ケトン体とウロビリノーゲンについて 1000ppm 群の雌雄で少量 (+) の出現が高頻度に認められた。(+) の程度は生理的変動範囲内と考えた。尿蛋白は対照群を含む全投与群で陽性を示す例が多くみられ、その程度や頻度に用量に依存した変動はみられなかったことから検体投与との関連はないと判断した。

回復期間終了時の検査では検体に起因した変化は全く認められなかった。

臓器重量 : 投与終了時と回復期間終了時に全生存動物を対象に、剖検後に以下の臓器を摘出してその重量を測定した。また屠殺時体重から対体重比を算出した。

脳、顎下腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣、下垂体
投与 4 週後の主群動物について、対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 7-1 に、また回復 4 週後の回復群動物について表 7-2 に示した。

表 7-1. 臓器重量 (主群—投与 4 週後)

臓器		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
最終体重				▼90			↓92
脳	実重量	↓97	↓97	↓97			
	対体重比			▲108			▲111
顎下腺	実重量	↓92		▲115			▲127
	対体重比			▲123	↓93		▲146
心臓	実重量			▼89			↓91
	対体重比		↓94				
肺	実重量		↓93	▼91			
	対体重比		▼92				
肝臓	対体重比			↑105			
腎臓	実重量						↓93
	対体重比			↑106			
副腎	実重量						↓89
精巣	実重量	▼92	↓92				
	対体重比	↓93	▼91				
卵巣	実重量						↓83

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

↓ ↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Student t 検定)

表 7-2. 臓器重量 (回復群—回復 4 週後)

臓器	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
最終体重				(93)		
脳	対体重比					↓ 93
顎下腺	対体重比	↓ 91				
心臓	実重量			↑ 110		
副腎	実重量	↑ 117			↑ 117	
	対体重比	↑ 114				
脾臓	実重量			↑ 110		
下垂体	実重量					↓ 79
	対体重比					↓ 81

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

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

() は統計学的有意ではなかったが参考までに記載。

投与終了時に雌雄 1000ppm 群の顎下腺の実重量及び対体重比の増加が認められた。しかし回復期間終了時には顎下腺重量に有意な変動は認められず、可逆的な所見であった。

雌雄 1000ppm 群では他の臓器重量で統計学的有意な変動をみたが、病理組織学的検査で特記すべき所見が認められないことから、対照群に比べて体重が低いことによる変動と考えられた。

肉眼的病理検査：投与 4 週後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象とし剖検が行われた。

投与終了時の剖検で、各投与群の雌雄に肝の黄色化、肺のうっ血等の所見を散見したが、いずれも発生頻度に用量に依存した増加は認められず、検体投与との関連性はないと考えられた。

回復期間終了時の剖検において特記すべき所見は全く認められなかった。

病理組織学的検査：全ての生存動物について以下の臓器/組織を摘出、固定後、通常の方法で病理組織標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣、膀胱、食道、胃、膵臓、空腸、結腸、腸間膜リンパ節、気管、骨格筋、骨髄、坐骨神経

統計学的有意差を認めた所見を表 8 に示した。

表 8. 病理組織学的検査 (主群—投与 4 週後)

投与 4 週 後	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
	検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
	所見								
	肝臓:								
	有糸分裂像	4	7	5	▲11	1	0	0	0
	好酸性肝細胞	7	↑12	10	8	11	12	12	11
	腎臓:								
	間質性細胞浸潤	0	1	1	0	4	↓0	3	↓0
	顎下腺:								
	腺房細胞肥大	0	0	0	▲12	0	0	0	▲12
	坐骨神経:								
	軸索変性(単線維)	0	0	0	↑4	0	0	0	2

↓ ↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

投与終了時の検査で、顎下腺に 1000ppm 群の全例に腺房細胞の肥大を認めた。一般観察では同群で流涎(雌のみ)や顎下腺重量の増加がみられており、この腺房細胞の肥大所見との関連が示唆される。また 1000ppm 群の雄 4 例と雌 2 例に坐骨神経の軽微ないし軽度の単一線維の軸索変性を認めた。同群の一般観察において歩行異常を散見しており組織学的所見との関連が示唆される。しかし上記両所見共、回復期間終了時の検査では観察されておらず、いずれも可逆性の変化と考えられた。

他の所見として、4 週投与後に雄の 1000ppm 群で肝細胞の有糸分裂像の所見の統計学的有意な増加がみられた。しかし、この所見は対照群を含む全試験群にみられ、その出現の頻度に用量に関連した明らかな増加は認められなかった。

その他、検体の投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
1000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ 歩行異常、神経過敏 ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量・飲水量減少 ・ 顎下腺重量増加 ・ 顎下腺：腺房細胞肥大 ・ 坐骨神経：単一線維の軸索変性 (軽微～軽度) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 流涎、歩行異常、神経過敏 ・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量・飲水量減少 ・ 顎下腺重量増加 ・ 顎下腺：腺房細胞肥大 ・ 坐骨神経：単一線維の軸索変性 (軽微～軽度)
300ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
100ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
回復性	上記いずれの所見共、4週休薬によって回復した。	上記いずれの所見共、4週休薬によって回復した。

以上、シフルトリンのラットに対する4週間混餌投与毒性試験において、1000ppmで雌雄に摂餌量及び飲水量の減少、体重増加の抑制、一般観察で歩行異常、神経過敏が観察され、更に雌では流涎がみられた。また同群雌雄ともに顎下腺重量増加と腺房細胞の肥大、さらに坐骨神経の単一線維の軸索変性が認められた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄ともに300ppm(雄：24.7mg/kg/日、雌：25.2mg/kg/日)であった。また回復試験の結果から、いずれの所見共、可逆的な変化と考えられた。

ラットにおける 4 週間混餌投与試験(免疫毒性含む)

毒性資料 No. 原体-13

試験機関：

報告書作成年：2002 年 [GLP 対応]

検体の純度：97.3% (2 回分析の平均)

供試動物：Wistar ラット (HsdCpb:WU)、約 5～6 週齢(投与開始時体重：雄 127～155g、雌 122～151g)、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：4 週間 [2000 年 4～5 月]

投与方法：検体をピーナッツ油で溶解、0, 100, 300 及び 1000ppm の濃度になるよう飼料に混入し、4 週間にわたって摂食させた。

用量設定の根拠：以下の 3 本の試験の結果を参考に設定した。

4 週間投与試験 (毒性資料 No. 原体-12、0-100-300-1000ppm、NOAEL 雄 100ppm、雌 300ppm)

3 ヶ月投与試験 (毒性資料 No. 原体-15、0-30-100-300ppm、NOAEL 300ppm)

3 ヶ月投与試験 (毒性資料 No. 原体-16、0-100-300-1000ppm、NOAEL 雄 100ppm、雌 300ppm)

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：すべての動物について中毒症状や行動の変化を毎日観察した。

表 1. 一般症状

性別	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
所見\検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
不調和な歩行	0	0	0	▲10	0	0	0	▲10
立毛	0	0	0	▲6	0	0	0	0
足をひろげての歩行	0	0	0	1	0	0	0	0

↓▲：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

表に示したように、1000ppm 群では雌雄全例に不調和な歩行を投与 1 週後から観察した。また雄では 6 例に立毛を、1 例に足をひろげての歩行を観察した。投与期間を通じて死亡は認められなかった。

体 重：毎週すべての生存動物の体重を測定した。

図 1、表 2 に体重推移を示した。

図 1. 体重

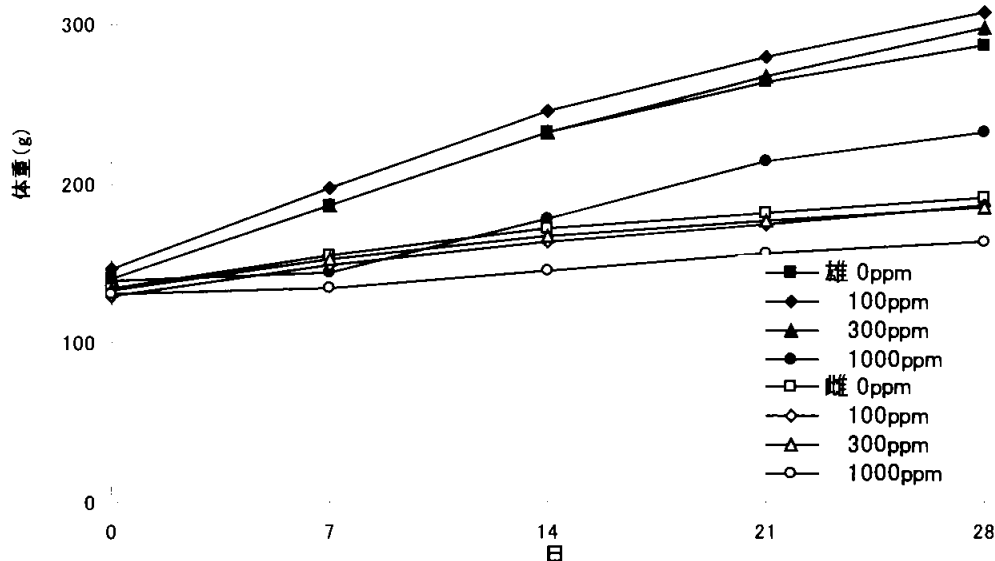


表 2. 体重

体重						
性	雄			雌		
投与量(ppm)	100	300	1000	100	300	1000
1 週	↑106		↓77			↓87
2 週			↓76			↓84
3 週			↓81			↓86
4 週			↓81			↓85

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↑ : p<0.05、↓ : p<0.01 (Dunnett 検定)

図 1 及び表 1 に示すように、雌雄共に 1000ppm 群で明らかな体重増加抑制が認められ、いずれの測定時点においても対照群に比べ統計学的な有意差を伴った。投与最終時において対照群に比し雄で 19%減、雌で 15%減の体重であった。100 及び 300ppm では雌雄共に投与の影響はみられなかった。

摂餌量及び飲水量：試験期間を通じて毎週、摂餌量と飲水量を測定した。

表 3 に各週の摂餌量と飲水量を示した。

表 3. 摂餌量及び飲水量

摂餌量						
性	雄			雌		
投与量(ppm)	100	300	1000	100	300	1000
1 週			↓60			↓50
2 週			↓70			↓71
3 週			↓61			↓65
4 週			↓75			↓73
飲水量						
1 週			↓64			↓70
2 週	↑107		↓71			↓75
3 週			↓79			↓75
4 週			↓74			↓70

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定)

摂餌量及び飲水量共に 100 及び 300ppm 群では影響を受けなかった。しかし 1000ppm 群では雌雄共に摂餌量及び飲水量の減少がみられた。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 4. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	9.1	26.0	75.2
	雌	10.6	28.9	76.9

血液学的検査：投与 4 週後に主群動物、回復 4 週後に回復群動物を対象として剖検時に麻酔下で腹部大動脈から採血（抗凝固剤処理）し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度、白血球数 (WBC)、白血球分画、血小板数 (PLT)、トロンボプラスチン時間 (TPT)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 5 に示す。

表 5. 血液学的検査

検査項目/性別	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
投与量 (ppm)	100	300	1000	100	300	1000
MCH	↑103					
WBC		↑135				
PLT			(88)			↓86
TPT			↑113			↑111

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定)

() : 統計学的有意ではなかったが参考として記載

雌雄共に赤血球系及び白血球系については検体投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。一方、PLT*が 1000ppm の雄では減少傾向、雌では統計学的有意に減少した。また TPT*が雌雄共に 1000ppm で統計学的有意に延長した。

*申請者註

1000ppm 群の PLT 値については雌雄ともに背景データ範囲内に入っており、より長期試験においても検体による減少は認められていないことから、検体の投与の影響とは考えられなかった。

PLT(10E9/L)

	0ppm	1000ppm	(Dunnett 検定)	背景データ(平均±2SD)
雄	1028	905	有意差なし	1078±297
雌	1038	894	p<0.05	1050±288

TPT については、背景データ範囲内に入っていなかったが、より長期の試験において、検体による延長は認められていないことから、検体の投与の影響とは考えられなかった。

生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液(血漿)を用い、以下の項目を測定した。但しグルコースについては尾静脈より採血したものをを用いた。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、アルカリホスファターゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、アルブミン、総蛋白(TP)、総ビリルビン、総コレステロール(T.Chol)、グルコース、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、中性脂肪(TG)、電解質(ナトリウム(Na)、カリウム、クロール(Cl)、カルシウム(Ca)、無機リン(P))

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表6に示す。

表6. 血液生化学的検査

検査項目	投与量					
	雄			雌		
	100	300	1000	100	300	1000
GLDH						↓23
T.Chol			↓82			
TG			↓63			
TP			↓93			↓92
BUN						↑117
Na		↓99		↓99		
Cl			↑101			
Ca			↓96			↓95
P						↓82

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定)

1000ppm 群の雌雄で TP と Ca の統計学的有意な減少が認められた。

1000ppm 群では他に雄で T.Chol 及び TG の減少、雌で BUN の増加と P の減少

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

を統計学的有意に認めたが、両性にみられない、かつ背景対照の範囲*にあるとの理由から投与には関連しない変動と考えられた。また GLDH の減少に関しては毒性学的意義が低い、Na と Cl の変動については変動巾が小さいあるいは用量に依存した変動がみられないことから、検体投与との関連はないと考えられた。

*：測定値と背景対照範囲

項目	性	群	測定値	背景データ範囲:平均±2SD (範囲)
T.Chol	雄	対照	2.17 mmol/L	1.97 ± 0.772 mmol/L (1.25 ~ 2.70)
		1000ppm	1.79 mmol/L	
TG	雄	対照	1.02 mmol/L	1.11 ± 1.004 mmol/L (0.10 ~ 2.11)
		1000ppm	0.64 mmol/L	
BUN	雌	対照	6.98 mmol/L	8.42 ± 1.832 mmol/L (6.58 ~ 10.25)
		1000ppm	8.18 mmol/L	
P	雌	対照	2.77 mmol/L	2.56 ± 1.284 mmol/L (1.27 ~ 3.84)
		1000ppm	2.28 mmol/L	

申請者注

Ca 及び TP も下記に示すように、雌雄共に背景データの範囲内にあった。

試験責任者は両性で認められた変化であることから、投与に関連した変化としている。しかし、有害作用であるかの評価はしていない。申請者は、これらの変化は統計学的に有意なものの背景データ範囲内にあり、検体による有害作用とは考えられなかった。

項目	性	群	測定値	背景データ範囲:平均±2SD (範囲)
Ca	雄	対照	2.77 mmol/L	2.81 ± 0.378 mmol/L (2.43 ~ 3.19)
		1000ppm	2.66 mmol/L	
Ca	雌	対照	2.82 mmol/L	2.81 ± 0.276 mmol/L (2.54 ~ 3.09)
		1000ppm	2.67 mmol/L	
TP	雄	対照	64.7 g/L	63.6 ± 6.66 g/L (57.0 ~ 70.3)
		1000ppm	60.1 g/L	
TP	雄	対照	64.1 g/L	64.2 ± 6.32 g/L (57.9 ~ 70.5)
		1000ppm	59.2 g/L	

臓器重量：剖検後に以下の臓器を摘出してその重量を測定した。また屠殺時体重から対体重比を算出した。

脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、胸腺、腎臓、副腎、精巣、上皮小体、前立腺、精囊、卵巣、子宮

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表7に示した。

表 7. 臓器重量

臓器		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
最終体重				↓81			↓84
脳	対体重比			↑120			↑117
心臓	実重量	↑112		↓82			
	対体重比					↑119	
肺	実重量	↑113		↓83			↓86
肝臓	実重量			↓81			↓80
脾臓	実重量			↓75			↓84
腎臓	実重量			↓82			
	対体重比	↓94					↑108
副腎	実重量	↑119	↑116				↓80
	対体重比			↑113			
精巣	対体重比			↑119			
前立腺	実重量			↓68			
	対体重比		↓79				
精囊	実重量			↓67			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↑ ↓ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定)

表にみられるように雌雄共に 1000ppm 群でいくつかの臓器に実重量の減少、対体重比の増加が統計学的有意に認められた。しかし、いずれも対照群に比し低体重に伴う変動であり、検体投与による直接の影響ではなかった。100 及び 300ppm 群でも統計学的有意な変動を散見したが、いずれも用量に依存したものではなく、検体投与との関連はないと考えられた。

肉眼的病理検査：投与 4 週後にすべての生存動物を対象とし剖検が行なわれた。

検体投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は観察されなかった。

病理組織学的検査：全ての生存動物について臓器/組織を摘出、固定後、通常の方法で以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。なお鏡検は肝臓、大腿骨、胸骨、肉眼的異常部位については全動物を対象、他の組織は対照群と 1000ppm 群動物を対象とした。

胸腺、肺、肝臓、腎臓、脾臓、唾液腺、パリエル板、顎下リンパ節、骨髓(胸骨、大腿骨)、肉眼的異常部位

統計学的有意差を認めた所見を表 8 に示した。

表 8. 病理組織学的検査

性別	雄				雌			
	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
所見								
肝臓:	10	10	10	10	10	10	10	10
脂肪化	2	2	5	2	6	6	2	↓0
骨髄/大腿骨:	10	10	10	10	10	10	10	10
脂肪細胞	10	10	10	\$10	10	10	10	10
グレード 1	6	8	7	1	1	2	2	
グレード 2	4	2	2	6	7	6	3	3
グレード 3			1	3	2	2	5	7
骨髄/胸骨:	10	10	10	10	10	9	10	10
脂肪細胞	10	10	10	\$10	10	9	10	10
グレード 1	10	10	7	5	1	3	1	
グレード 2			3	5	8	4	6	5
グレード 3					1	2	3	5

↓↑: p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

\$: p<0.05 (累積カイ 2 乗検定、申請者実施)

雌の 300ppm 以上の群および雄の 1000ppm 群において、大腿骨および胸骨の骨髄に脂肪細胞の増多傾向がみられた。一方、雄の 300ppm 群では、胸骨のみに脂肪細胞の増多傾向がみられた*。

また 1000ppm の雌で肝臓の脂肪化の頻度の統計学的有意な減少がみられたが、増加ではないことから、肝臓への毒性影響を示唆するものではないと判断した。

その他の組織では特記すべき異常所見は観察されなかった。

[申請者註: 申請者実施の統計学的解析では 1000ppm の雄で大腿骨及び胸骨骨髄での脂肪細胞増多が統計学的に有意に認められたが、300ppm ではいずれも有意差はみられなかった。雌ではいずれの群でも統計学的な有意差は認められなかった。従って、雄の 1000ppm でみられた大腿骨及び胸骨骨髄での脂肪細胞増多を毒性所見と判断することが妥当と考えられた。]

免疫学的検査: 全ての生存動物について脾臓組織の一部を用いて本検査を実施した。検査項目は脾臓細胞数、FAC スキャン分析、抗体産生能 (IgA, IgM, IgG) とした。

脾臓細胞数については雄の 1000ppm 群で統計学的有意に減少を示した。しかしその程度は弱く背景対照の範囲にある値を示した。FAC スキャン分析において脾臓細胞のサイズ、構成細胞の特性において雌雄共に対照群と各投与群との間に明らかな差はみられなかった。さらに抗体産生能についても雌雄共に対照群と各投与群との間に明らかな差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[申請者註:本試験において脾臓細胞数の統計学的有意な減少を雄の 1000ppm 群で認めた
が、後日実施された免疫毒性試験(毒性資料 No. 原体-49、0-100-300-1000ppm)
で脾臓細胞数の減少は全く認められず、プラーク形成アッセイにおいても特筆すべ
き所見はみられなかったことから、検体の免疫毒性は陰性と考えられた。]

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
1000ppm	<ul style="list-style-type: none">・不調和な歩行、立毛・体重増加抑制・摂餌量・飲水量減少・骨髄(大腿骨及び胸骨):脂肪細胞の増多傾向*	<ul style="list-style-type: none">・不調和な歩行・体重増加抑制・摂餌量・飲水量減少
300ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
100ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

以上、シフルトリンのラットに対する 4 週間混餌投与毒性試験において、1000ppm で雌雄に一般観察で不調和な歩行、体重増加抑制がみられた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄共に 300ppm (雄: 26.0mg/kg/日、雌: 28.9mg/kg/日) と考えられた。免疫毒性は 1000ppm においても認められなかった。

マウスにおける 4 週間投与及び 4 週間回復試験

毒性資料 No. 原体-14

試験機関：

報告書作成年：1982 年

検体の純度：95%

供試動物：ICR マウス (CRJ:CD-1)、約 5 週齢 (投与開始時体重：雄 25~30g、雌 20~24g)、主群雌雄各 12 匹、回復群雌雄各 6 匹

投与期間：4 週間 [1981 年 10~12 月]

投与方法：検体を 0、300、1000 及び 3000ppm の濃度で飼料に混入し、4 週間にわたって摂食させた。回復群については 4 週にわたり同様に投与した後、4 週の休薬期間を設けた。

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率：すべての動物について中毒症状や行動の変化を毎日観察した。

300 及び 1000ppm 群の雌雄共、投与期間及び回復期間を通じて外観や行動の異常は認めなかった。一方、3000ppm 群の雌雄では多数の動物に投与開始 6 時間後から流涎を認め、多くは翌日には消失したが、数例についてはその後も散発的に流涎がみられた。また、雌雄共に活動性の低下がみられ、雌では削瘦した個体も認められた。しかし、各症状ともに投与終了時にはいずれも消失していた。

動物の死亡は、3000ppm 群の雌で削瘦が重度になった 1 例にみられ、投与に起因したものと考えられた。他に雌雄各 2 例が死亡したが、この雄 2 例については飼育上の事故によるものであり、雌の 1 例(対照群)は水頭症、残りの 1 例(300ppm 群)は糸球体腎炎によるもので、いずれも検体投与との関連はないと判断した。

体重：毎週すべての生存動物の体重を測定した。また投与開始 4 日にも測定した。

図 1 に主群の体重推移を、図 2 に回復群の推移を示した。また表 1 に投与期間中及び回復期間中の体重増加量を示した。

3000ppm 群の雌雄では、投与期間中に明らかな体重増加の抑制がみられた。1000ppm では主群の雌で第 3 週に統計学的有意な体重増加の抑制がみられた(8%減)。しかし回復群の 1000ppm 群の雌では減少はみられなかった。その他の投与群においては投与期間中の体重への影響はみられなかった。

休薬後の回復期間に入ってから、3000ppm 群の体重増加抑制は雌では速やかな回復を示した。また雄については回復 2 週までは対照群に比べ低値を示したもののその後は順調な体重増加を示し、回復期間中の体重増加量は雌雄共に対照群よりも多かった。

図1. 体重 (主群 / 4週投与)

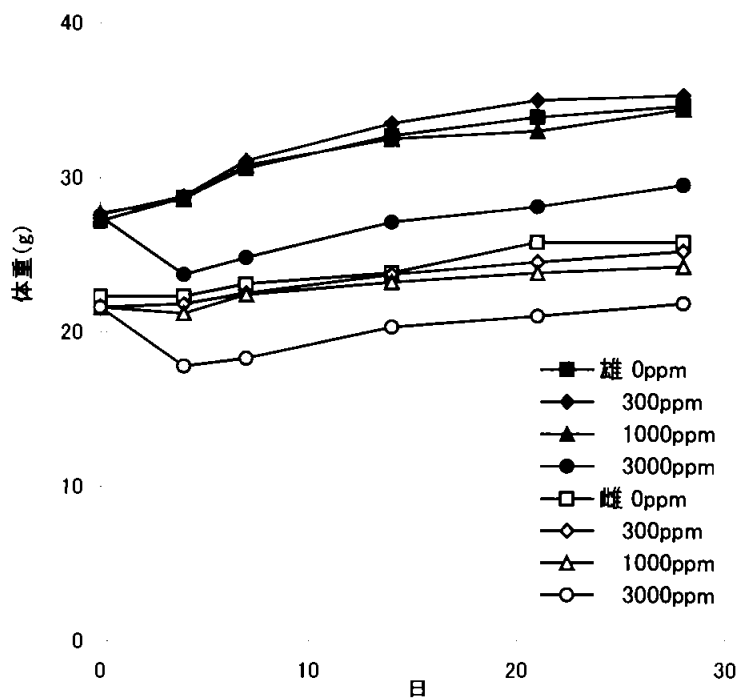
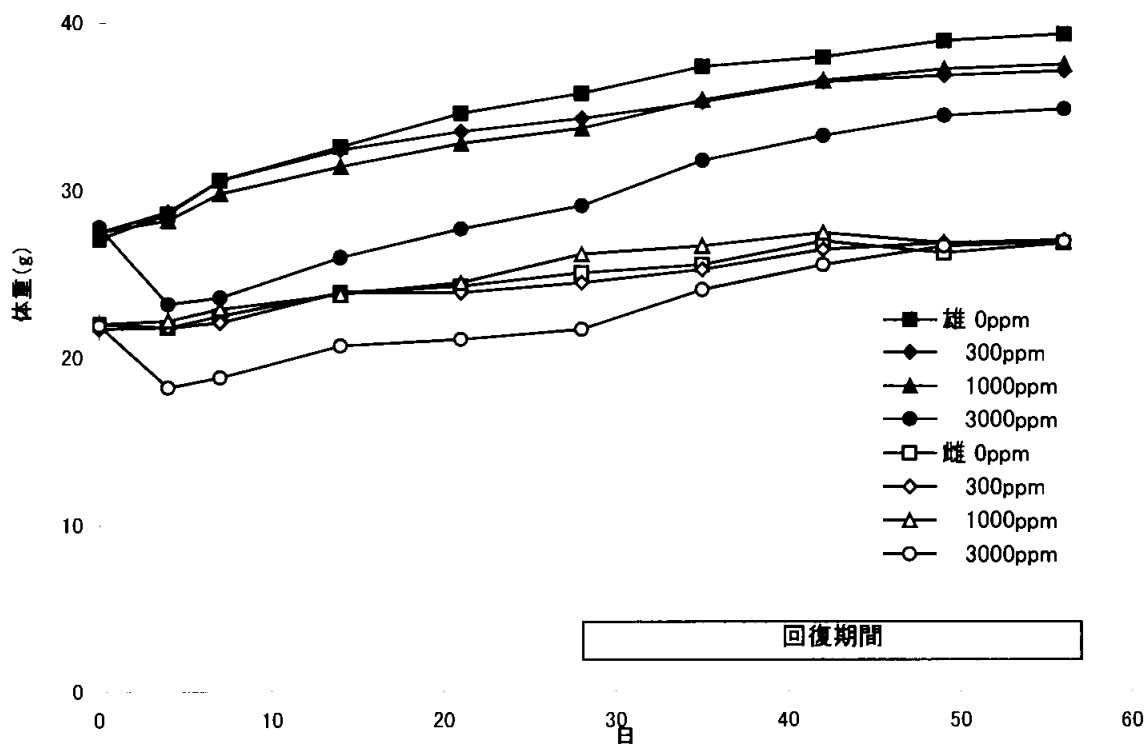


図2. 体重 (回復群 / 4週投与+4週回復)



摂餌量及び飲水量：試験期間を通じて毎週、摂餌量と飲水量を群飼育のためケージ単位で測定した。また摂餌効率を算出した。

表1には統計学的有意な変動をみた摂餌量と飲水量の結果を示し、表2に摂餌効率を示した。

表1. 摂餌量及び飲水量

摂餌量						
性	雄			雌		
投与量(ppm)	300	1000	3000	300	1000	3000
主群 1週			↓56			↓54
2週			(83)			(78)
4週			(87)			↓77
回復群 1週			(52)			(54)
3週			(85)			(71)
回復 1週			(124)			(96)
飲水量						
性	雄			雌		
投与量(ppm)	300	1000	3000	300	1000	3000
主群 1週			↓49			↓57
2週			↓54			↓62
4週			(66)			↓62
回復群 1週			(43)			(56)
4週			(62)			(53)
回復 1週			(112)			(96)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 / Student t 検定(主群のみ実施；サンプル数(ケージ数)=4/群、回復群についてはサンプル数(ケージ数=2/群)が少ないため、統計解析は実施せず。)

() は参考までに記載。

表2. 摂餌効率

性	主群							
	雄				雌			
投与量(ppm)	0	300	1000	3000	0	300	1000	3000
摂餌効率(%)	5.5	5.7	5.4	↓1.9	2.5	3.1	2.4	0.1
摂餌量(g/動物)	132	135	124	↓103	116	112	107	↓82
体重増加量(g)	7.4	7.7	6.7	↓1.9	3.0	3.5	2.6	0.0
回復群(投与期間)								
摂餌効率(%)	6.5	4.8	5.0	1.3	2.7	2.5	3.6	0.5
摂餌量(g/動物)	134	144	124	101	113	109	113	76
体重増加量(g)	8.7	6.8	6.3	1.3	3.1	2.8	4.2	0.4
回復群(回復期間)								
摂餌効率(%)	1.6	1.3	1.6	1.9	1.0	0.7	0.3	2.2
摂餌量(g/動物)	127	142	127	148	133	132	137	129
体重増加量(g)	2.0	1.9	2.1	2.9	1.4	1.0	0.4	2.8

↓ : p<0.05、↓ : p<0.01 / Student t 検定(主群のみ実施；サンプル数(ケージ数)=4/群、回復群についてはサンプル数(ケージ数=2/群)が少ないため、統計解析は実施せず。)

摂餌量及び飲水量共に300及び1000ppm群では影響を受けなかった。

3000ppm 群では雌雄共に投与期間中は摂餌量及び飲水量の減少が著明にみられた。しかし休薬後は摂餌量及び飲水量共に速やかに回復した。

摂餌効率については、投与期間中、3000ppm 群の雄で統計学的に有意な低下、雌で統計学的に有意ではないものの低下傾向がみられた。しかし回復期間には投与群と対照群の間に明らかな変動を認めなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量 (主群)

投与量 (ppm)		300	1000	3000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	43.1	136	407
	雌	50.4	165	433

血液学的検査：投与 4 週後に主群、回復 4 週後に回復群の全生存動物を対象として剖検時に麻酔下で心穿刺により採血 (抗凝固剤処理) し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCC)、白血球数 (WBC)、白血球分画

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液学的検査

検査項目		投与量					
		雄			雌		
		300	1000	3000	300	1000	3000
RBC	投与 4 週	↑ 105					
Hb	投与 4 週	↑ 107					
MCV	投与 4 週	↓ 98					
	回復 4 週						↑ 101
MCC	投与 4 週	↑ 104					
WBC	投与 4 週						↓ 65
	回復 4 週	↓ 67					

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

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

投与終了時の検査では、3000ppm 群の雌で WBC の有意な減少を認めた。しかし、回復期間終了時にはこの所見は認められなかった。その他には 300ppm の雄で Hb と RBC に有意な変動がみられたが、用量に依存しておらず投与との関連はないと判断した。

白血球分画については何らの変化も認められなかった。

[申請者註：3000ppm 群の雌でみられた WBC の減少に関して、発がん性試験 (毒性資料 No.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

原体-25, 26)において検体の白血球系への影響は明らかではなかったこと、また白血球分画に全く変動がみられなかったことから、本試験で認められた WBC の低下は偶発的なものであり、検体によるものではないと考えられた。尚、実施施設の WBC の背景データは 300~5500/mm³ であり、1000ppm 群の数値 1700/mm³ は背景データ範囲内であった。[対照群値 ; 2600/mm³]

生化学的検査:血液学的検査で得られた血液の血漿を用い、以下の項目を測定した。

血漿中酵素活性---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)

血漿中基質---総コレステロール (T.Chol)、尿素窒素 (BUN)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 5 に示す。

表 5. 血液生化学的検査

検査項目		投与量					
		雄			雌		
		300	1000	3000	300	1000	3000
ALT	投与 4 週						↓ 76
ALP	投与 4 週			▲ 133		↑ 135	↑ 133
T.Chol	投与 4 週				▲ 151	▲ 130	
	回復 4 週		↓ 83	↓ 80			
BUN	投与 4 週			↑ 112	↓ 77		
	回復 4 週		↓ 82	↑ 118			

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓ ↑ : p<0.05、▼ ▲ : p<0.01 (Student t 検定)

投与終了時の検査において、雌雄 3000ppm 群と雌の 1000ppm 群で ALP 活性の増加を認めた。この所見は回復 4 週間後には観察されなかった。この ALP の上昇は、いずれも生理的変動範囲内の変化(背景データ ; 雄 32~264 IU/mL, 雌 60~308 IU/mL)であり、特に雌では用量相関性もみられていないことから、投与による変化とは判断できなかった。

一方、雌の 3000ppm 群では ALT 活性の低下を認めたがこれは毒性学的に意義のあるものとは考えられなかった。

雄 3000ppm 群では投与終了時に加え回復 4 週間後にも BUN の増加が統計学的有意にみられた。しかし、腎臓の病理組織学的検査で特記すべき所見がみられず、毒性学的に問題とならないものと思われた。

T.Chol の変動については雌では用量に依存した変動ではないこと、雄では投与 4 週で認められていないことから検体投与との関連はないと判断した。

臓器重量 : 投与終了時と回復期間終了時に全生存動物を対象に、剖検後に以下の臓器を摘出してその重量を測定した。また屠殺時体重から対体重比を算出した。

脳、顎下腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣

投与 4 週間後の主群動物について、対照群と比較して統計学的有意差を認めた

項目を表 6-1 に、また回復 4 週後の回復群動物について表 6-2 に示した。

表 6-1. 臓器重量 (主群—投与 4 週後)

臓器	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	1000	3000	300	1000	3000
最終体重			↓85		↓90	↓80
脳	対体重比		↑117		↑109	123
顎下腺	対体重比		↑120			↑122
心臓	実重量		↓84			↓85
	対体重比				↑107	
肺	実重量				↓90	↓86
	対体重比		↑110			
肝臓	実重量				↓86	↓79
	対体重比		↑109	↑125		
腎臓	対体重比		↑113			↑113
副腎	実重量			↓74	↓84	↓71
	対体重比			↓79		↓88
脾臓	実重量		↓69			↓69
	対体重比		↓81			
精巣	実重量	↑115				
	対体重比			↑120		
卵巣	実重量				↓75	↓63

表 6-2. 臓器重量 (回復群—回復 4 週後)

臓器	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	300	1000	3000	300	1000	3000
最終体重			(89)			
脳	対体重比		↑116			
肝臓	対体重比	↑111				
腎臓	対体重比	↑114		↑130		
副腎	実重量	↑128				
	対体重比	↑135			↑140	
脾臓	実重量				↓80	
	対体重比				↓75	

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

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

() は統計学的有意ではなかったが参考までに記載。

顎下腺重量の対体重比が 3000ppm 群の雌雄で有意な増加を示した。回復期間終了時にはこの所見はみられなかった。

肝臓重量の対体重比が雄の 3000ppm 群で有意な増加を示した。この変動も回復期間終了時にはみられなかった。尚、雄の 1000ppm 群でも肝臓重量の対体

重比が統計学的に有意に認められたが、きわめて軽度であることから検体の影響とは考えられなかった。

その他に雌雄 3000ppm 群及び雌 1000ppm 群では統計学的に有意な臓器重量の変動を散見したが、いずれも対照群に比べ低い体重に伴ったものであり検体に直接起因したものではないと考えられた。

肉眼的病理検査：投与 4 週後に主群、回復 4 週後に回復群の生存動物を対象に剖検が行われた。

投与終了時の剖検では、3000ppm 群の雄 3 例と雌 5 例に肝の暗赤色化がみられた。この所見は回復期間終了時には認められなかった。

その他には投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は全く認められなかった。

病理組織学的検査：全ての生存動物について以下の臓器/組織を摘出、固定後、通常の方法で病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣、膀胱、食道、胃、膵臓、空腸、結腸、腸間膜リンパ節、気管、骨格筋、骨髄、坐骨神経

統計学的有意差を認めた所見を表 7 に示した。

表 7. 病理組織学的検査（主群—投与 4 週後）

性別	雄				雌			
	0	300	1000	3000	0	300	1000	3000
投与量 (ppm)	0	300	1000	3000	0	300	1000	3000
検査動物数	12	12	12	12	11	12	12	11
所見								
肝臓：								
グリソン氏鞘内細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1	↑4
核内クロマチン増加	3	4	↑8	↑11	0	3	2	↑10
顎下腺：								
腺房細胞肥大	0	0	↑9	↑12	0	2	↑11	↑10

↓↑：p<0.05、↓↑：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

投与終了時の検査で、雌雄共 1000ppm 群の顎下腺に腺房細胞の肥大を高頻度に認めた。3000ppm 群では一般観察で流涎、顎下腺重量(対体重比)の増加がみられており、これらの所見との関連が示唆される。しかし回復期間終了時の検査では、この組織所見は認められず、可逆性の変化と考えられた。

肝臓で投与終了時に 1000ppm と 3000ppm 群の雄と 3000ppm の雌で軽微な核クロマチン増加を対照群に比し高頻度に認めた。さらに 3000ppm の雌でグリソン氏鞘内細胞浸潤の頻度が統計学的有意に増加した。しかし、回復期間終了時にはこれら肝臓の所見は認められなかった。

その他には検体に起因した変化は認められなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
3000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・流涎、活動性低下 ・体重増加抑制 ・摂餌量・飲水量減少 ・ALP 活性増加 ・顎下腺重量(対体重比)増加 ・肝臓重量(対体重比)増加 ・肝臓：暗赤色化 	<ul style="list-style-type: none"> ・流涎、活動性低下、削瘦 ・死亡（主群 1 例） ・体重増加抑制 ・摂餌量・飲水量減少 ・顎下腺重量(対体重比)増加 ・肝臓：暗赤色化 ・肝臓：核内クロマチン増加、グリソル氏鞘内細胞浸潤
1000ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝臓：核内クロマチン増加 ・顎下腺：腺房細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制（主群のみ） ・ALP 活性増加 ・顎下腺：腺房細胞肥大
300ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
回復性	上記いずれの所見共、4 週休薬によって回復した。	上記いずれの所見共、4 週休薬によって回復した。

以上、シフルトリンのマウスに対する 4 週間混餌投与毒性試験において、3000ppm で雌雄に体重増加の抑制、一般観察で流涎、活動性低下がみられ、雌 1 例が死亡した。さらに肝臓や顎下腺への影響を示唆する所見が観察された。また 1000ppm でも雌雄共に顎下腺の形態学的変化等が認められた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄共、300ppm（雄 43.1 mg/kg/日、雌 50.4 mg/kg/日）であった。また、回復試験の結果から、上記いずれの所見共に、可逆的变化であると考えられた。

(7) 90 日間反復経口投与毒性

ラットに対する 3 ヶ月反復経口投与毒性試験 (1)

毒性資料 No. 原体-15

試験機関：

報告書作成年：1980 年

検体の純度：84.2%

供試動物：Wistar ラット (TNO W.74, Winkelmann)、約 5 週齢 (投与開始時体重：雄 65~87g、雌 59~83g)、1 群雌雄各 30 匹 (うち 10 匹は肝薬物代謝酵素測定のため投与 1 週及び 1 ヶ月に屠殺)

投与期間：3 ヶ月 [1979 年 11 月~1980 年 2 月]

投与方法：検体を 0、30、100 及び 300ppm の濃度で飼料に混入し、3 ヶ月にわたって摂食させた。

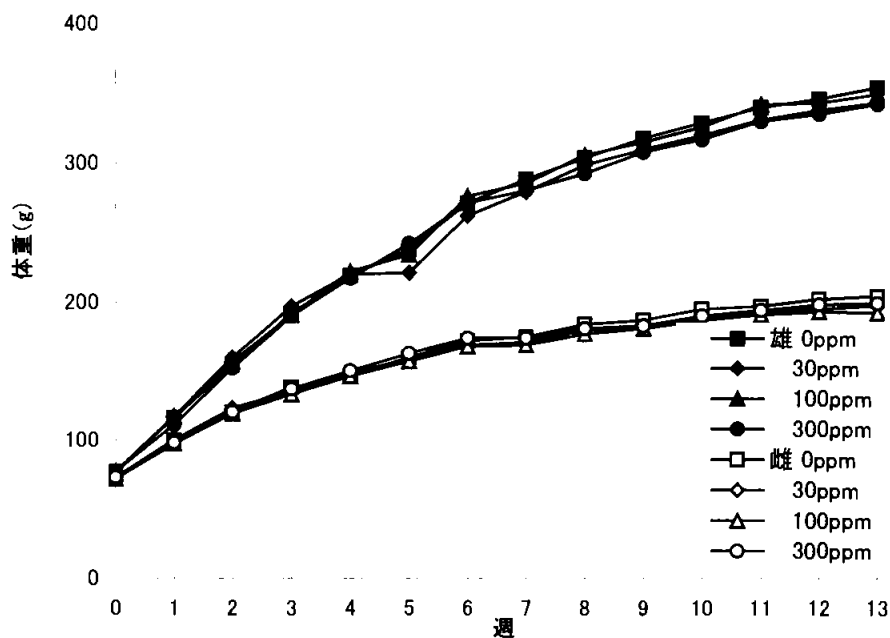
観察・検査項目及び結果：

一般観察及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。

その結果、投与期間を通じて検体投与に起因した外徴や行動の変化は全くみられなかった。雄の対照群 1 例と雌の 100ppm 群 1 例が採血時に死亡した。いずれも過剰麻酔の結果によるもので投与との関連はなかった。

体重：すべての生存動物について週 1 回測定した。

投与期間中の体重の推移を次図に示した。



図にみられるように、雌雄共に対照群と各投与群との間に差はみられず、検体投与の影響は認められなかった。雄の 30ppm 群で投与 5 週に対照群に比べやや低体重を示したが、用量に依存した変動はみられず、投与に関連しないものと判断した。

摂餌量：すべての動物について毎週測定した。

その結果、雌雄共、300ppm でも検体投与に起因した摂餌量の減少は観察されなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 1. 検体摂取量

投与量 (ppm)		30	100	300
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.24	7.39	22.5
	雌	2.70	8.83	28.0

血液学的検査：投与 1 ヶ月及び最終時の 3 ヶ月に 1 群雌雄各 5 匹を対象に眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。なおトロンボプラスチン時間については 3 ヶ月時のみとし心採血した。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、血小板数、トロンボプラスチン時間 (TPT)、白血球分画

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 2 に示す。

表 2. 血液学的検査

検査項目	検査時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	100	300	30	100	300
Ht	1					↓95	↓91
	3		↑106				
MCV	1					↓95	↓92
MCH	1			↓97			
MCHC	1					↑105	↑104
	3		↓96	↓96			↑104
TPT	3					↓92	↓91

↓ ↑ : p<0.05、↓◆ : p<0.01 (Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

雄ではいくつかの項目で統計学的有意な変動を散見したが、用量に依存した変動ではない、あるいは一貫性のある所見がみられないことから、投与には関連しない偶発的な変化と考えられた。また雌では投与 1 ヶ月時に 300 及び 1000ppm 群で Ht と MCV の減少、MCHC の増加を統計学的有意に認めた。しかし 3 ヶ月時にはこれら所見が全くみられなかったことから、毒性影響とは捉え

られなかった。さらに投与3ヶ月時に雌の300及び1000ppmでTPTの短縮が統計学的有意にみられたが、本所見における毒性学的意義は低く、毒性影響とは捉えられなかった。

血液生化学検査：投与1ヶ月及び最終時の3ヶ月に1群雌雄各5匹を対象に眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。なお、グルコースについては尾静脈より採血した。

血糖、尿素窒素、クレアチニン、総蛋白 (TP)、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、アルカリホスファターゼ、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、総コレステロール、総ビリルビン

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表3に示す。

表3. 血液生化学的検査

検査項目	検査時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	100	300	30	100	300
TP	1	(95)	(96)	↓93			

↓↑ : p<0.05 (Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意ではなかったが参考として記載。

表に示したように、TPの減少が雄の300ppm群の投与1ヶ月時に統計学的有意に認められた。しかし用量に依存した明らかな減少ではないこと、3ヶ月時には認められなかったことから、偶発的な変動と考えられた。

その他の項目については検体投与に関連した変動は全く認められなかった。

肝薬物代謝：投与1週、1ヶ月及び最終時の3ヶ月に1群雌雄各5匹を対象に肝臓を用いて以下の酵素活性を測定した。

N-デメチラーゼ (N-DEM)、O-デメチラーゼ (O-DEM)、チトクロム P-450

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表4に示す。

表4. 肝薬物代謝酵素活性

検査項目	検査時期	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	100	300	30	100	300
N-DEM	1週	↑151	↑130	↑134			
O-DEM	1週					↑134	↑146
P 450	1週			↑119			
	1ヶ月				↓80		

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

投与1週後において雄の各投与群でN-DEM活性に統計学的有意な増加をみた。しかし用量に依存した変動ではなかったことから、検体投与には関連しない偶発的な変動と考えられた。また雄の300ppmでP450の増加や雌の100ppm以上でO-DEM活性の有意な増加をみたが、随伴すると考えられる肝臓での所見も認められていないことから、毒性影響とは捉えられなかった。

尿検査：投与1ヶ月及び最終時の3ヶ月に1群雌雄各5匹を対象に尿を採取(16時間蓄尿)し以下の項目について検査した。

[定量検査]；尿蛋白

[半定量検査]；pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ビリルビン

[鏡検]；尿沈渣

尿検査の結果、検体に起因したと思われる所見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対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重から対体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣/卵巣、甲状腺、副腎、胸腺

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表5に示す。

表5. 臓器重量

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		30	100	300	30	100	300
最終体重					↓97	↓94	
副腎	対体重比				↑107		
脾臓	対体重比				↑111		↑111
胸腺	対体重比						↑115
精巣	実重量	↓96					

↓↑：p<0.05 (Wilcoxon, Mann-Whitney 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

統計学的に有意な所見を散見したが、いずれも用量に依存しない偶発的な変動であり、関連した病理組織学的所見もみられなかったことから、検体投与には関連しないと考えられた。

肉眼的病理検査：全動物を対象に剖検を行った。

採血時に死亡した2例における剖検で特記すべき所見は認められなかった。また、3ヶ月投与後の生存動物に対する剖検においても検体投与に関連したと思われる肉眼的異常は雌雄共にみられなかった。

病理組織学的検査：投与3ヶ月後の雌雄各群5匹について副腎、大動脈、骨、骨髄、脳、精巣上体、食道、気管、眼、心臓、腎臓、肺、肝臓、リンパ節、骨格筋、卵巣（卵管含む）、膵臓、下垂体、前立腺、精嚢、唾液腺、腸、脾、胃、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮、肉眼的異常部位を摘出、ブアン液に固定後、常法により標本を作製して病理組織学的検索を行った。また、肝臓については脂肪染色標本も作製した。鏡検は対照群及び300ppm群のみ実施し、投与に関連した所見がみられた場合について、30及び100ppm群についても実施した。

その結果、検体投与に関連したと思われる病理組織学的な異常所見は雌雄共に観察されなかった。

また、上記の以外の動物（1群各15匹）の組織はいずれもホルマリン固定され、後日、同試験施設にて病理組織学的検査が実施された。この検査では0及び300ppm群の雌雄については上記の組織、30及び100ppm群の雌雄については肝臓について調べられた。

この追加検査においても検体投与に関連したと思われる病理組織学的な異常所見は雌雄共に観察されなかった。わずかに対照群を含む各試験群で肝臓に脂肪染色の陽性例を散見したが、その頻度に用量に依存した増加はみられず、検体投与との関連性はないものと考えられた。

以上、シフルトリンのラットに対する3ヶ月混餌投与毒性試験において、300ppmでも明らかな毒性影響は認められなかった。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄共に300ppm（雄22.5mg/kg/日、雌28.0mg/kg/日）であった。

ラットに対する3ヶ月反復経口投与および1ヶ月間回復試験(2)

毒性資料 No. 原体-16

試験機関:

報告書作成年: 1983年

検体の純度: 95%

供試動物: Sprague-Dawley ラット (CRJ:CD)、約5週齢(投与開始時体重: 雄 116~141g、雌 88~115g)、主群雌雄各20匹、回復群雌雄各8匹

投与期間: 3ヶ月 [1982年7~10月]

投与方法: 検体を0、100、300及び1000ppmの濃度で飼料に混入し、3ヶ月にわたって摂食させた。回復群については3ヶ月にわたり同様に投与した後、1ヶ月の休薬期間を設けた。

用量設定の根拠: 本報告書には記載されていないが、同施設(日本特殊農薬製造(株)農薬研究所)で実施されたラットを用いた4週間投与及び4週間回復試験(毒性資料 No. 原体-12、0、100、300及び1000ppm)の結果を参考に設定された。その試験では1000ppmで雌雄にいずれも回復性のある体重増加の抑制、一般観察で歩行異常や流涎、坐骨神経の単一線維の軽微から軽度の軸索変性、顎下腺の腺房細胞肥大等が認められた。

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率: すべての動物について中毒症状や行動の変化を毎日観察した。

100及び300ppm群では、雌雄共に投与期間を通じて中毒症状や行動の変化は認められなかった。1000ppm群では、雌雄共に投与開始翌日から弛緩性麻痺様状態および後肢の動作が緩徐となった軽度の歩行異常があらわれ、投与2週には雄28例中21例、雌28例中18例にみられた。その後は徐々に軽減し投与期間中にすべての症状が消失した。症状の消失時期には性差があり、雌に比して雄で遅延した。また流涎は1000ppm群の雌雄の数例で投与開始翌日から2週にかけてみられた。回復群では認められた症状の種類、発症および消失ともに主群と同様であった。

尚、300ppm群の雄1例が試験61日目に死亡したが、死因は白血病と診断され、偶発的なものであり投与との関連はなかった。他の群では死亡例は認められなかった。

体 重: 毎週すべての生存動物の体重を測定した。

図1に主群の体重推移を、図2に回復群のそれを示した。また、投与期間中及び回復期間中の体重増加量を表1に示した。

図1. 体重 (主群 / 3ヶ月投与)

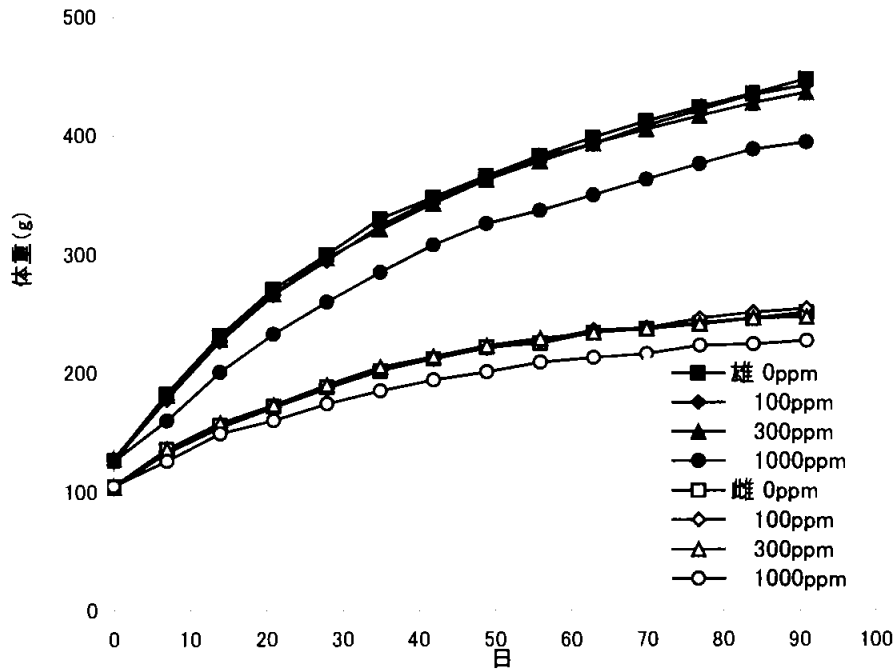


図2. 体重 (回復群 / 3ヶ月投与+1ヶ月回復)

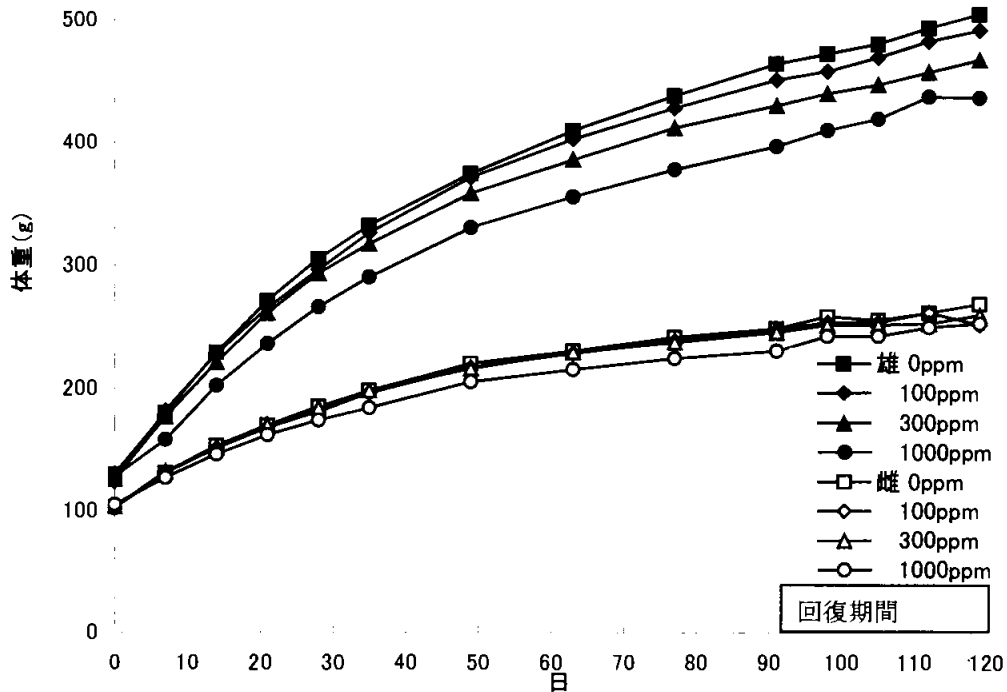


表 1. 投与開始後 1 週時体重¹⁾および体重増加量²⁾

群	時期	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
主群	1 週時体重 ¹⁾	183	178	181	↓160	136	133	136	↓126
	投与期間 ²⁾	320	316	309	↓268	146	150	143	↓122
回復群	1 週時体重 ¹⁾	180	182	177	↓158	131	131	132	127
	投与期間 ²⁾	333	326	303	↓268	145	144	142	↓126
	回復期間 ²⁾	40	39	37	39	19	↓5	13	22

数値の単位;g

↓: p<0.05、↓: p<0.01 (体重; Student-t 検定, 体重増加量; Dunnett 検定(申請者実施))

100 及び 300ppm の雌雄の体重には、対照群との間に統計学的有意な差は認められなかった。1000ppm 群では雌雄共に体重増加抑制が投与期間を通じて認められ、試験期間中 1000ppm 群の体重は雌雄共に対照群の約 90%を推移し、統計学的に有意であった(Student-t 検定)。しかし休薬後は回復傾向を示し、回復期間中の体重増加量は対照群と変わりなかった。

摂餌量：試験期間を通じて毎週、摂餌量を測定した。

表 2 に摂餌量の結果を要約した。

表 2. 摂餌量

性	投与量(ppm)	摂餌量				
		雄			雌	
		100	300	1000	100	300
主群	1 週			↓68		↓74
	3 週			↓78		↓79
	7 週			(85)		↓80
	13 週			(91)		(90)
回復群	1 週			(67)		(71)
	3 週			(72)		(86)
	13 週			(88)		(90)
休薬	1 週			(91)		(100)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓↑: p<0.05、↓↑: p<0.01 (Student t 検定(主群のみ実施; サンプル数(ケージ数)=5/群, 回復群についてはサンプル数(ケージ数=2/群)が少ないため、統計解析は実施せず。) () は参考として記載。

摂餌量については 100 及び 300ppm 群では影響を受けなかった。一方 1000ppm 群では雌雄共に投与期間を通じて摂餌量の減少がみられ、とくに投与開始数週で明らかであった。しかし休薬後は回復傾向を示し、対照群と変わらない程度に回復した。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量（主群）

投与量 (ppm)		100	300	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	6.20	18.5	61.0
	雌	7.24	21.2	68.5

(投与期間中の平均体重から申請者により算出)

血液学的検査：投与3ヶ月後に主群動物、回復1ヶ月後に回復群動物を対象として剖検時に麻酔下で腹部大動脈から採血（抗凝固剤処理）し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCC)、白血球数(WBC)、白血球分画、血小板数 (PLT)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表4に示す。

表 4. 血液学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
RBC	投与3ヶ月				▲104		
Hb	投与3ヶ月	↑104		↑103			
	回復1ヶ月				▲116	▲115	▲114
MCV	投与3ヶ月				↓99		
	回復1ヶ月		▼98				
MCH	投与3ヶ月	↑102	▲102				
	回復1ヶ月		▼91		▲121	▲113	▲116
MCC	投与3ヶ月				▲102		
	回復1ヶ月			▼91	▲121	▲114	▲115
WBC	回復1ヶ月			↑133	↓60		
PLT	投与3ヶ月	↑110		↓93			

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

↓↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Student t 検定)

投与終了時の検査で、いくつかの項目で統計学的有意な変動を散見した。しかし用量に依存した変動ではないことから、いずれも投与には関連しない所見と考えられた。また休薬1ヶ月後の検査においても統計学的有意な変動を散見したが、いずれも3ヶ月投与後にはみられていないことから投与には関連しない偶発的な変動と考えられた。

白血球分画については何らの変化も認められなかった。

生化学的検査：血液学的検査と同時期に採取した血液より得られた血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

血漿中酵素活性---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)
 血漿中基質---総蛋白 (TP)、総コレステロール (T. Chol)、グルコース (Glu)、
 尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)

対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 5 に示す。

表 5. 血液生化学的検査

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
AST	投与 3 ヶ月			▲116	↓88	▼82	
	回復 1 ヶ月	▼79		▼82			
ALT	投与 3 ヶ月	▼77	▼76	↓87	▼62	▼67	
	回復 1 ヶ月				▼81		
TP	回復 1 ヶ月						↓96
Glu	投与 3 ヶ月		▼85	▼71			▼83
	回復 1 ヶ月				↓83		
BUN	投与 3 ヶ月		↑109	▲116			▲116
	回復 1 ヶ月				▼84		
Cre	投与 3 ヶ月		▲113			↓93	▼85
	回復 1 ヶ月	▼79	↓87	↓94	▼81		

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

↓↑ : p<0.05、▼▲ : p<0.01 (Student t 検定)

3 ヶ月投与後の検査で、1000ppm 群の雌雄と 300ppm 群の雄で Glu の有意な減少が認められた。用量に依存した変動であり投与との関連が示唆された。しかし休薬 1 ヶ月後にはこの所見は観察されなかった。

同様に 1000ppm 群の雌雄および 300ppm の雄で BUN の統計学的有意な増加が認められた。しかし BUN の値は生理学的変動内 (背景データ ; 10~30mg/dL, 雄/0ppm; 18.5mg/dL, 300ppm; 20.2mg/dL, 1000ppm; 21.4mg/dL, 雌/0ppm; 20.4mg/dL, 1000ppm; 23.7mg/dL) であったこと、また Cre の数値に関連した変動はみられず、尿検査、腎臓に組織学的な異常所見はみられなかったことから検体の影響とは考えられなかった。

また 1000ppm 群では雄で AST 活性の増加が認められたが、病理組織学的検査で関連するような所見は認められず、また変動巾も小さいことから毒性影響とは捉えられなかった。

Cre の減少が雌の 300ppm 以上でみられたが他に関連した所見はみられず、また生理学的変動内 (背景データ ; 0.0~1.1mg/dL, 0ppm; 0.96mg/dL, 300ppm; 0.89mg/dL, 1000ppm; 0.82mg/dL) であったことから毒性学影響とは捉えられなかった。

その他の項目で統計学的有意な変動がみられたが、用量に依存していない、あるいは変動巾が小さいことからいずれも投与には関連しない所見と考えら

れた。

回復期間後の検査で統計学的有意な変動がみられたが、いずれも用量に依存しておらず、また投与後の検査では観察されていないことから投与に関連しないものと判断した。

尿検査：投与3ヶ月後に主群動物、回復1ヶ月後に回復群動物を対象として、各々屠殺前日に採尿し、尿試験紙を用いて、以下の項目について半定量検査を実施した。

pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

さらに尿を遠心分離処理して後、その沈渣について細胞及び無機塩等の有無を鏡検した（但し主群については各群半数の10匹を選抜して実施）。

その結果、投与3ヶ月後及び回復1ヶ月後の尿検査において投与に関連したと思われる異常所見は全く観察されなかった。

臓器重量：投与3ヶ月終了時と回復期間終了時に全生存動物を対象に、剖検後に以下の臓器を摘出してその重量を測定した。また屠殺時体重から対体重比を算出した。

脳、顎下腺、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣/卵巣、下垂体
投与3ヶ月後の主群動物について、対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表6-1に、また回復1ヶ月後の回復群動物について表6-2に示した。

3ヶ月投与後の検査で、下垂体を除く各臓器に各投与群の雌又は雄に実重量あるいは比重量に統計学的有意な変動が散見された。しかし、用量に依存したのではなく、また1000ppm群でみられた増減についても同群の低体重による変動と考えられ、いずれも検体に起因した変化とは考えられなかった。1ヶ月休薬後の検査で、各投与群の雌雄に統計学的有意な変動がみられたが、用量に依存していない、また3ヶ月投与後の検査でみられていないことから、偶発的な変動と考えられた。

表 6-1. 臓器重量 (主群—投与 3 ヶ月後)

臓器		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
最終体重				↓88			↓89
脳	対体重比			↑116			↑109
顎下腺	実重量	↓92			119	117	
	対体重比	↓91		↑117		↑120	↑116
心臓	実重量			↓85	↑115	↑114	
	対体重比				↑114	↑117	↑111
肺	実重量			↓90	↑120	↑119	
	対体重比				↑117	↑118	
肝臓	実重量			↓90			↓88
	対体重比		↑104		↓95		
腎臓	実重量	↑108					↓91
	対体重比	↑109	↑107	↑108			
副腎	実重量		↑112				↓90
	対体重比		↑113				
脾臓	実重量		↑126			↑137	
	対体重比		↑129			↑140	
精巣	実重量		↑105				
	対体重比			↑110			
卵巢	実重量						↓86

表 6-2. 臓器重量 (回復群—回復 1 ヶ月後)

臓器		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	300	1000	100	300	1000
最終体重				↓89			
顎下腺	実重量			↓85			
副腎	実重量						
	対体重比						
肺	実重量			↓82			
肝臓	実重量				↓89		
	対体重比	↑107		↑106			
腎臓	実重量				↓93		
脾臓	対体重比			↑136			
精巣	実重量		↓90	↓91			
下垂体	実重量						↓89

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

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

肉眼的病理検査：投与3ヶ月後に主群動物、回復1ヶ月後に回復群動物を対象とし剖検が行われた。

投与終了時の剖検で、雌雄各投与群に肝の黄色化が散見されたが、用量に依存した頻度の増加は認められなかった。また、肺のうっ血、膵臓の肥大が散見されたが、頻度は低くまた用量に依存していないことから検体に起因するものではないと判断された。

休薬後の剖検でも、同様の所見を散見したが投与との関連はないと判断した。

病理組織学的検査：全ての生存動物について以下の臓器/組織を摘出、固定後、通常の方法で病理標本を作製し、鏡検した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣/卵巣、膀胱、食道、胃、膵臓、空腸、結腸、腸間膜リンパ節、気管、骨格筋、骨髄、坐骨神経

投与に関連したと思われる所見及び高頻度にみられた所見を表7に示した。

表7. 病理組織学的検査

	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	100	300	1000	0	100	300	1000
投与3ヶ月後	検査動物数	20	20	19	20	20	20	20	20
	所見								
	肝臓：								
	グリッソ氏鞘内細胞浸潤	20	18	18	↓15	12	16	17	12
	小肉芽	14	16	18	17	17	15	14	16
	腎臓：								
	尿細管内蛋白円柱	20	20	19	20	20	20	20	20
	再生尿細管	4	7	4	5	2	4	2	3
回復1ヶ月後	検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8
	所見								
	肝臓：								
	グリッソ氏鞘内細胞浸潤	5	5	4	3	3	8	7	4
	小肉芽	6	5	8	6	7	5	6	5
	腎臓：								
	尿細管内蛋白円柱	8	8	8	8	8	8	8	8
	再生尿細管	4	1	2	3	0	0	0	1
坐骨神経：									
軸索変性(単一線維)	0	0	0	↑5	0	0	0	3	
軸索変性(単一線維)	0	0	0	1	0	0	0	0	

↓ ↑ : p<0.05 (Fisherの直接確率計算法、申請者実施)

投与終了時の検査で、坐骨神経の単一線維の軸索変性が 1000ppm 群の雄で 20 匹中 5 匹、雌で 20 匹中 3 匹にみられ、一般観察でみられた歩行異常との関連が示唆された。この所見は、休薬後の検査で 1000ppm 群の雄 1 匹になお観察されたが、明らかに頻度の減少がみられており、可逆的なものと示唆される。その他、肝のグリソン氏鞘細胞浸潤や小肉芽所見、腎で尿細管内蛋白様物質の存在や尿細管再生等が各群の雌雄で観察されたが、用量に依存した頻度の増加はみられず、検体に起因するものではないと考えられた。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
1000ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・流涎、歩行異常 ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・坐骨神経：単一線維の軸索変性(軽微～軽度) 	<ul style="list-style-type: none"> ・流涎、歩行異常 ・体重増加抑制 ・摂餌量減少 ・グルコース減少 ・坐骨神経：単一線維の軸索変性(軽微～軽度)
300ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・グルコース減少 	300ppm 以下毒性所見なし
100ppm	毒性所見なし	
回復性	上記いずれの所見共、1ヶ月休薬によって回復またはその傾向がみられた。(可逆性あり。)	上記いずれの所見共、1ヶ月休薬によって回復またはその傾向がみられた。(可逆性あり。)

以上、シフルトリンのラットに対する 3ヶ月混餌投与毒性試験において、1000ppm で雌雄に体重増加の抑制、一般観察で歩行異常や流涎、坐骨神経の単一線維の軸索変性が認められた。また 1000ppm の雌及び 300ppm 以上の雄でグルコースの減少が認められた。ゆえに本試験における無毒性量は雄で 100ppm (6.20mg/kg/日)、雌で 300ppm (21.2mg/kg/日) であった。また、回復試験の結果から、上記いずれの所見共、可逆的变化であると考えられた。

イヌに対する6ヶ月反復経口投与毒性試験

毒性資料 No. 原体-17

試験機関：

報告書作成年：1981年

検体の純度：84.8%

供試動物：ビーグル犬、投与時 24～31 週齢（投与開始時体重：雄 7.1～10.4kg、雌 6.6～9.1kg）、1 群雌雄各 6 匹、

投与期間：6ヶ月 [1979年11月～1980年5月]

投与方法：検体を 0、65、200 および 600ppm の濃度で飼料に混入し、6ヶ月にわたって摂食させた。

観察・検査項目及び結果：

臨床観察及び死亡率：一般状態及び生死を毎日観察した。反射（角膜、瞳孔、膝蓋、屈筋各反射、伸展力）、体温及び心拍数については投与開始前、投与開始 4、7、13 及び 26 週にすべての動物を対象に計測した。

動物の外観において試験期間中、異常は認められなかった。600ppm 群の雄 5 匹と雌 3 匹に投与 21 週目から歩行の不安定、運動性の低下等の運動障害が認められた。しかし、65ppm と 200ppm 群にはこのような症状は認められなかった。また、下痢と嘔吐が 600ppm 群において対照群よりも頻繁にみられた。

反射能については雌雄共に対照群と各投与群との間に差は認められなかった。定期的な体温測定では投与 7 週時にのみ雄で対照群と各投与群の間に統計学的有意な体温上昇がみられたが、用量に依存した変動ではなく、また他の測定時点では何らの差もみられなかったことから、検体投与に関連しない偶発的なものと判断した。心拍数については何らの変動も認められなかった。

尚、600ppm において投与開始 3 週に雄 1 例が死亡した。しかし検体投与によるものではなく他動物からの攻撃によるものであった。以降、代替動物*により試験を継続した。

*[申請者註：投与開始時から投与された動物は、検体を含む飼料を 185 日あるいは 186 日間毎日投与された。それに対して 3 週目に代替した動物は、検体を含む飼料を 165 日間毎日投与された。従って 20 日間投与期間が短かった。しかし、投与 4 週を含む全ての時点の測定項目に同群の他の動物と差を認めなかったことから、この 20 日間の短縮が結果に影響を及ぼさないものととらえ、全ての結果に反映させた（3 週までの体重及び摂餌量を除く）。]

体重：すべての生存動物について週 1 回測定した。

各群の平均体重の推移を次図に、また体重増加量を表 1 に示した。

図にみられるように雌の 600ppm 群で明らかな体重増加の抑制がみられた。

また表 1 に示したように雌 600ppm 群では対照群に比べ最大 9%減の体重を示

した。

体重増加量でみた場合、雌の 600ppm 群で 0～12 週と 0～26 週の増加量が各々対照群のそれに比べて統計学的有意に減少していた。

[申請者註: 本報告書においては雌雄合計からみて 200ppm で影響ありとしているが、雌雄別で評価した結果から、検体投与による体重増加抑制は雌の 600ppm のみと判断した。尚、短期間暴露による体重への影響はいずれの群においても無いものと考えられた。]

図 イヌの体重推移

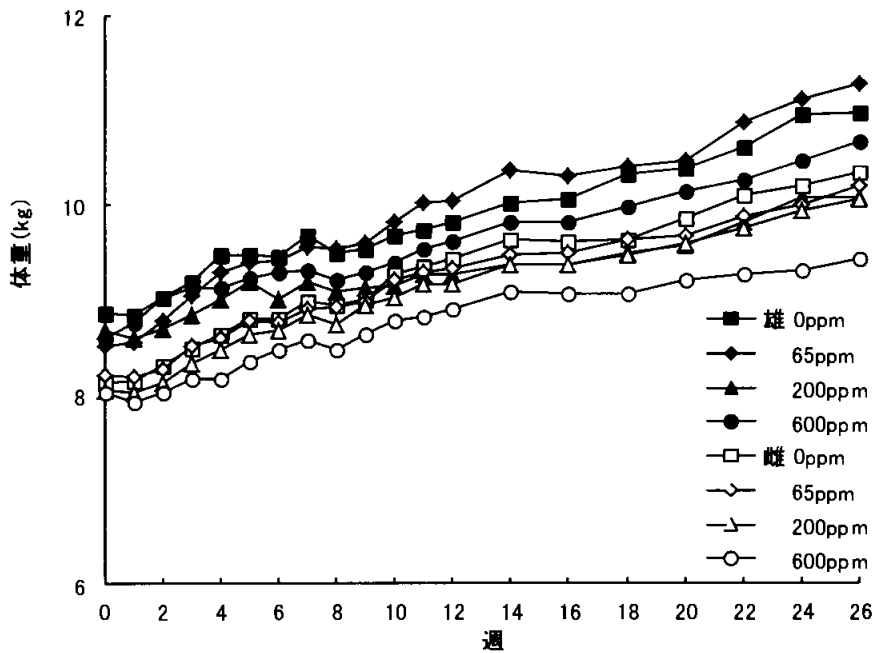


表 1. 平均体重及び体重増加量

性	雄				雌			
	0	65	200	600	0	65	200	600
平均体重 [対照群の値を 100 とした場合の数値(%)]								
投与開始時	100	96	98	97	100	101	99	98
1 週	100	97	97	99	100	104	99	97
4 週	100	98	95	96	100	100	98	95
7 週	100	99	95	96	100	99	99	95
13 週	100	102	94	97	100	99	98	94
26 週	100	103	92	97	100	99	97	↓91
体重増加量 (kg)								
0-12 週	1.15	1.25	0.80	1.07	0.92	0.87	0.90	↓0.53
12-26 週	0.97	↑1.53	0.62	1.02	1.30	1.13	1.12	0.88
全投与期間 0-26 週	2.12	2.78	1.42	2.08	2.22	2.00	2.02	↓1.42

↓ ↑ : p<0.05 (Dunnett 検定;申請者により実施)

摂餌量：すべての動物について毎日測定した。

その結果、600ppm 群の雄 1 例で投与開始週のみ、雌 1 例で投与 5 週にわたり摂餌量の明らかな減少を観察した。それ以降は給餌されたものを殆ど残すことなく摂取した。その他の動物については投与期間を通じて摂餌量の減少はみられなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

表 2. 検体摂取量

投与量 (ppm)		65	200	600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.00	6.57	19.2
	雌	2.15	6.74	20.8

(報告書では両性で求められていたため、雌雄別に申請者が算出。)

眼科学的検査：投与開始前、投与 4、7、13 週及び観察最終時(26 週)に全動物を対象に検眼鏡検査を行った。さらに投与開始前と観察最終時(26 週)に記録を目的として全動物を対象に眼底カメラにて眼底撮影が行われた。

その結果、投与に関連したと思われる異常所見は全く得られなかった。

血液学的検査：投与開始前、投与 4、7、13 週及び観察最終時(26 週)に全動物を対象に頸静脈から採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、網状赤血球数、血小板数(PLT)、トロンボプラスチン時間(TPT)及び赤血球沈降速度、白血球分画、

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 3 に示す。

雄の 600ppm 群では投与 7 週から 26 週において Ht、Hb、RBC の統計学的有意な減少またはその傾向がみられた。しかし、Ht では 13 週には統計学的有意差はみられず、Hb では 7 週のみ統計学的有意差がみられ、RBC については 26 週では減少傾向を示したものの、統計学的有意差は認められず、また赤血球恒数にも統計学的有意差はみられたものの、用量に依存した明らかな変動はみられなかった。

雌では 600ppm 群で投与 4 週と 13 週に TPT の統計学的有意な増加がみられたが、26 週では統計学的有意差は認められなかった。さらに投与 13 及び 26 週に WBC の統計学的有意な減少がみられたが、投与前の検査でも WBC 減少傾向にあり、その程度は対照群の値とほぼ同等であったことから投与との関連性は低いと考えられた。

白血球分画においては雌雄共に明らかな変動は認められなかった。

表 3. 血液学的検査

検査項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		65	200	600	65	200	600
Ht	7			↓93			
	26			↓90			
Hb	7			↓92			
RBC	7			↓91			
	13			↓92			
	26			(92)			
MCV	4				↓95		
MCHC	26	↑103	↑103	↑103	↑103		
WBC	0						(84)
	13						↓79
	26						↓76
PLT	7		↓75				
TPT	4				↑110		▲111
	13						▲112
	26						(107)

↓ ↑ : p<0.05、↓▲ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

(): 統計学的有意ではなかったが参考として記載。

[申請者註：本報告書においては雌雄合計からみて、血液への影響はなかったと記載されている。一方、雌雄別で評価した結果では、600ppm 群の雄で赤血球系への項目に統計学的に有意な変動が認められ、同群雌では TPT に統計学的に有意な変動がみられた。しかし、上述したように、経時的に一貫した変化ではなく、1年間反復経口毒性試験(毒性資料 No. 原体-27, 28)においても影響は認められていないことから、検体投与による血液系・凝固系への影響はないものと判断した。]

血液生化学検査

投与開始前、投与 4、7、13 週及び観察最終時 (26 週) に全動物を対象に頸静脈から得た血液について、以下の項目を測定した (電解質で血清を用いた以外はすべて血漿)。

血糖, 尿素窒素(BUN), クレアチニン(Cre), 総蛋白質, アルブミン(Alb), AG 比(算出), 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, アルカリホスファターゼ, 総コレステロール, 総ビリルビン(T. Bil), グルタミン酸デヒドロゲナーゼ(GLDH), カルシウム(Ca), ナトリウム(Na), カリウム(K), 塩素

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液生化学的検査

検査項目	検査 時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		65	200	600	65	200	600
BUN	0						(113)
	26						↑132
Cre	4		↓84		↓83	↓83	
	7	↓82	↓81	↓85			
	13		↓89				
	26	↓88	↓85	↓85	↓84	↓84	
AST	投与前						(120)
	7						↑125
	26						↑133
T. Bil	4		↓74	↓74			
GLDH	4		↓68				
Alb	4						↑110
	7		↓95				↑109
	26					↑105	
AG 比	4						↑122
	7						↑121
	26					↑113	
Na	7			↓98	↑103	↑103	
K	0						(104)
	4						↑111
	13						↑111
	26						↑108
Ca	7		↓93	↓93	↓96		↓92

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

(): 統計学的有意ではなかったが参考として記載。

表に示したように、最終時 26 週の検査で 600ppm 群の雌で BUN の増加と AST 活性の増加が統計学的有意に認められた。しかし、両所見共、投与前の検査でやや増加傾向にあること、また病理組織学的検査で関連した所見がみられなかったことから毒性影響とは捉えられなかった。

また同群の雌では投与 4 及び 7 週で Alb の増加とそれに関連して AG 比の増加が統計学的有意に認められた。ただ 13 週以降には両項目の増加がみられなかったこと、また変動巾が小さかったことから毒性影響とは捉えられなかった。その他の項目についても統計学的有意な変動を散見したが、用量に依存した変動ではない、また投与前検査においても同様の傾向がみられていることから、いずれも検体投与には関連しない所見と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

肝薬物代謝：試験終了後に得られた肝臓を用いて以下の酵素活性を測定した。

N-デメチラーゼ(N-DEM)、チトクローム P-450

その結果、両項目共、統計学的有意な変動は認められず、検体投与の影響はみられなかった。

尿検査：投与開始前、投与 4、7、13 週及び観察最終時（26 週）に全動物を対象に尿を採取し以下の項目について検査した。

外観、尿量、尿比重、pH、蛋白、糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、尿沈渣

尿検査の結果、各検査時期において検体に起因した変化は全く認められなかった。なお、潜血について検査時期によっては陽性反応が認められたが、再検査では大多数が陰性であったこと、また用量に依存した頻度の増加ではなかったことから、検体に起因した変化とは考えられなかった。

臓器重量：試験終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重から対体重比を算出した。

心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣/卵巣、甲状腺、副腎、胸腺、前立腺、脳、膵臓

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 5 に示す。

表 5. 臓器重量

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		65	200	600	65	200	600
最終体重			(90)				
腎臓	対体重比		↑ 111				
脾臓	実重量		↓ 85	↓ 86			
胸腺	実重量		↓ 65	↓ 66			

↓ ↑ : p<0.05 (Dunnett 検定、申請者実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

() : 統計学的有意ではなかったが参考として記載。

雄では 200ppm 群以上で胸腺および脾臓の実重量に統計学的に有意な低下がみられた。これらの低下は対体重比では有意ではなく、また用量に依存した明らかな変動でなく、病理組織学的検査において何ら関連する所見は認められなかったことから、投与には関連しないものと考えられた。

その他には検体に起因した変化は認められなかった。

雌では統計学的に有意な差はいずれの臓器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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

肉眼的病理検査：投与終了後に全動物を対象に剖検を行った。

600ppm 群の雌 2 例に明らかな胸腺の萎縮が認められた。しかし、病理組織学的検査において、関連する所見は認められなかった。
その他には検体に起因した変化は認められなかった。

病理組織学的検査：全動物から副腎、大動脈、骨、骨髄、脳、精巣上部、食道、眼胆嚢、心臓、腎臓、肺、肝臓、リンパ節、乳腺、骨格筋、神経（坐骨神経）、卵巣（卵管含む）、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺（耳下腺）、腸、脊髄、脾、胃、精巣、胸腺、甲状腺、膀胱、子宮、肉眼的異常部位を摘出、標本を作製して組織学的検索を行った。鏡検は対照群及び 600ppm 群のみ実施し、投与に関連した所見がみられた場合について、65 及び 200ppm 群についても実施した。

その結果、検体投与に関連したと思われる組織学的所見は観察されなかった。ゆえに 65 及び 200ppm 群については検索を実施しなかった。

本試験において認められた毒性影響を以下に要約した。

用量	雄	雌
600ppm	・歩行不安定、運動性低下 ・下痢、嘔吐 ・摂餌量減少(1 例、1 週)	・歩行不安定、運動性低下 ・下痢、嘔吐 ・体重増加抑制 ・摂餌量減少(1 例、1~5 週)
200ppm	毒性所見なし	毒性所見なし
65ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

以上、シフルトリンのイヌに対する 6 ヶ月混餌投与毒性試験において、600ppm の雌雄に一般観察で歩行不安定や運動性低下などがみられ、摂餌量の減少を伴った。さらに同群の雌で体重増加抑制を認めた。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄ともに 200ppm (雄: 6.57mg/kg/日, 雌: 6.74mg/kg/日) と判断した。

(8) 90 日間反復吸入毒性

ラットに対する 13 週間反復吸入毒性試験

毒性資料 No. 原体-18

試験機関：

報告書作成年：1984 年

検体の純度：94.9%

供試動物：Wistar ラット (Bor:WISW (SPF-Cpb))、6 週齢 (暴露開始時体重：雄 169～203g、雌 149～179g)、1 群雌雄各 10 匹

投与期間：13 週間 [1983 年 4 月～7 月]

暴露方法：流動式吸入装置を用い、検体をエタノール・ポリエチレングリコール #400 (PEG 400) 混液 (1:1) に溶解したものを噴霧し、頭部一鼻部暴露を行った。暴露濃度は 0 (空気対照, 溶媒対照)、0.09、0.71 および 4.5 mg/m³ (分析値) とした。1 回の吸入暴露は 6 時間とし、週 5 日の割合で 13 週間にわたり実施した (計 63 回暴露)。併せて気中の検体濃度および粒子径を測定した。溶媒対照群には溶媒混液のみを同様に暴露した。空気対照群には空気のみを同様に暴露した。

用量設定根拠：同施設で実施した 3 週間吸入暴露の予備試験 (0, 0.4, 1.4, 2.3, 10.5, 11.5, 69.6 mg/m³) の結果、1.4 mg/m³ で一般行動の変化や体重増加抑制がみられた。2.3 mg/m³ では臓器重量への影響がみられ、69.6 mg/m³ で雌 10 例中 1 例が死亡した。この結果を参考に上記の暴露濃度を設定した。

観察・検査項目および結果：

気中濃度および粒子径：暴露日の毎日、各暴露について気中濃度を測定した。また粒子径は週 1 回の割合で測定した。その結果を表 1 に示した。

表 1. 気中濃度および粒子径

設定濃度 (mg/m ³)	空気対照	溶媒対照	0.5	3.0	20.0
分析濃度 (mg/m ³)	—	—	0.09	0.71	4.5
チャンバー内通気量 (L/min)	10	10	10	10	10
チャンバー容積	20	20	20	20	20
MMAD (μm)	—	2.65	2.58	2.52	2.51
暴露条件	エアロゾル(ミスト) 6時間/日(5日/週) 頭部 - 鼻部暴露暴露				

MMAD : 空気力学的質量中位径、チャンバー内温度：20～26°C

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

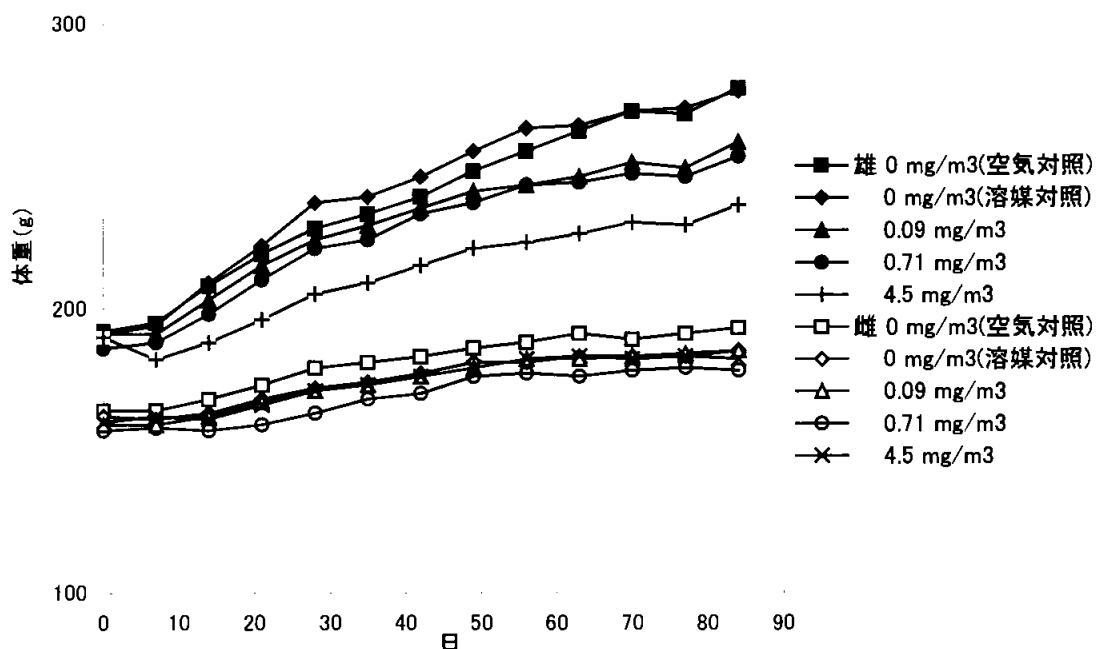
実際の気中濃度は理論濃度の 19~24%にあった。また、粒子径は各濃度群で殆ど差はみられず、また十分に吸入可能なサイズであった。

一般状態および死亡率：中毒症状および死亡の有無を毎日観察した。但し暴露中の観察は困難であった。

雌雄共に 4.5 mg/m³群の全例に暴露開始 2~5 週に活動低下がみられ、以降試験終了まで挙尾を伴った興奮状態を観察した。0.71mg/m³群の雌でも活動低下がみられたが、暴露を行わない週末には正常となった。0.09 mg/m³群では動物の外観と行動に変化は認められなかった。

また本試験において死亡は認められなかった。

体重：試験期間中は週に 1 回、すべての動物について体重を測定した。体重の推移を次図に示す。



雄では 4.5mg/m³群で全期間を通じて対照群に比べ低体重を示し、統計学的に有意であった (U 検定 ; p<0.01)。また 0.71mg/m³群でも対照群に比べ統計学的有意な低体重がみられた (U 検定 ; p<0.01/投与 2 週~3 週, 8 週~12 週)。0.09mg/m³群の体重には検体に起因した変化は認められなかった。雌では各暴露群共、明らかな体重増加抑制はみられなかった。また全動物について体重増加の伸びが少ないが、これは吸入試験で一般的にみられるように頭部-鼻部暴露によるストレスの影響によるものと考えられた。

血液学的検査：暴露 6 週時および暴露 12 週時にすべての生存動物を対象に眼窩静脈叢から採血し、赤血球数、白血球数 (WBC)、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、平均赤血球容積、血小板数 (PLT)、白血球百分比について検査した。空気対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 2 に示す。

表 2. 血液学的検査 (暴露 12 週)

性	雄				雌			
	0*	0.09	0.71	4.5	0*	0.09	0.71	4.5
Ht								↑ 102
MCHC	↑ 102		↑ 102					
WBC				↓ 76 [73]				
PLT	↑ 121	↑ 117						↓ 88 [82]

*; 溶媒対照群

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 /U 検定、

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

[]内の数値は溶媒対照群を 100 とした場合の値。

暴露 6 週時の検査では血液学検査の各項目に統計学的有意な変動は認められなかった。

暴露 12 週時の検査では 4.5mg/m³ 群の雄で WBC の有意な低下、雌で PLT の有意な低下がみられた。しかし、背景データ範囲内*にあり、検体投与との関連性はないものと判断された。その他の変動についても暴露に関連しないものと考えられた。また白血球百分比については明らかな変化は認められなかった。

*申請者註) 背景データ範囲

WBC (10⁹/L) 雄/2.7~8.3 [対照群(空気-7.87, 溶媒-8.13), 4.5mg/m³-5.96]

PLT (10⁹/L) 雌/477~1333 [対照群(空気-855, 溶媒-908), 4.5mg/m³-749]

生化学的検査：暴露 6 週時および暴露 12 週時に得られた血漿を用い、以下の項目を測定した。

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)、尿素窒素 (BUN)、グルコース (Glu)、総ビリルビン (T. Bil)

空気対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 3-1 および 3-2 に示す。

表 3-1. 生化学的検査 (暴露 6 週)

性	雄				雌			
	0*	0.09	0.71	4.5	0*	0.09	0.71	4.5
投与量(mg/m ³)								
ALT					↓94			
BUN					(92)		↓89	↓83

表 3-2. 生化学的検査 (暴露 12 週)

性	雄				雌			
	0*	0.09	0.71	4.5	0*	0.09	0.71	4.5
投与量(mg/m ³)								
AST			↑121				↑110	
ALT								↑112
ALP		↓86						↑122
T. Bil	(116)			↑132				
Glu					↓89			
BUN	(92)	↓89	↓88	↓86	(95)		↓90	↓82

*; 溶媒対照群

↓ ↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 / U 検定,

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

() ; 統計学的に有意ではなかったが参考として記載

BUN の統計学的有意な減少が雌の 0.71mg/m³ 以上の暴露群で両測定時に観察された。しかし、溶媒対照群でもやや減少傾向がみられ、また低値となる随伴病変は認められず、毒性影響とは捉えられなかった。暴露 12 週時の雄でも統計学的有意な BUN の低値がみられたが用量に依存した明らかな変化ではなく、溶媒対照でもその傾向がみられていることから検体暴露との関連はないと考えられた。

4.5mg/m³ 群では雄で T. Bil の増加、雌で ALP の増加が統計学的有意に認められたが他の検査結果との関連がみられず毒性影響とは捉えられなかった。その他の項目でみられた有意な変動については用量に依存したのではなく偶発的なものと判断した。

以上に示すように、測定した項目には毒性学的に有意な変化は認められなかった。

*申請者註) 最高用量で有意差の認められた項目は全て背景データ範囲内にあった。

6 週: BUN (mmol/L) - 雌/4.75~9.11, [対照群(空気-8.33, 溶媒-7.65), 4.5mg/m³-6.90]

12 週: ALT (U/L) - 雌 34.6~73.8, [対照群(空気-47.77, 溶媒-46.43), 4.5mg/m³-53.63]

12 週: ALP (U/L) - 雌 109~264U/L, [対照群(空気-194, 溶媒-188), 4.5mg/m³-236]

12 週: BIL (μmol/L) - 雄/1.5~4.5, [対照群(空気-3.50, 溶媒-4.06), 4.5mg/m³-4.62]

12 週: BUN (mmol/L) - 雄/5.28~10.4, [対照群(空気-8.52, 溶媒-7.88), 4.5mg/m³-7.31]

12 週: BUN (mmol/L) - 雌/5.82~9.88, [対照群(空気-8.25, 溶媒-7.85), 4.5mg/m³-6.76]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

肝薬物代謝：試験終了後に得られた肝臓を用いて以下の酵素活性を測定した。

N-デメチラーゼ (N-DEM)、O-デメチラーゼ (O-DEM)、チトクローム P-450

溶媒対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目について表 4 に示す。

表 4. 肝薬物代謝 (試験終了時)

性	雄				雌			
	0*	0.09	0.71	4.5	0*	0.09	0.71	4.5
投与量(mg/m ³)	0*				0*			
N-DEM				↓77				↑122
O-DEM	↑133							
P-450			↓84					

*: 溶媒対照群

↓↑: p<0.05、↓↑: p<0.01 /U 検定

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

表に示したように 4.5mg/m³ 群において N-DEM 活性が雄で減少、雌で増加を示した。他に関連した所見がみられないこと、また雌雄で相反した結果であることから、本所見の毒性学的意義が乏しいと考えられた。

その他の項目にみられた変動については用量に依存しておらず暴露との関連はないと判断した。

尿検査: 暴露 6 週時および試験終了前 (12 週時) に全動物を対象として尿を採取 (一晚) し、以下の項目を測定・検査した。

pH、グルコース、潜血、蛋白、ビリルビン、ウロビリノゲン [以上、半定量的検査]、沈渣 [鏡検]

その結果、雌雄各暴露群において検体暴露に関連すると思われる所見は全く認められなかった。

臓器重量: 試験終了時 (13 週時) にすべての生存動物を対象として以下の臓器重量を測定した。また最終体重から対体重比を算出した。

甲状腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、精巣/卵巣、副腎

空気対照群と比較して統計学的有意差を認めた項目を表 5 に示す。

表 5. 臓器重量

検査項目		雄				雌			
投与量(mg/m ³)		0*	0.09	0.71	4.5	0*	0.09	0.71	4.5
最終体重			↓93	↓92	↓85			↓92	↓94
甲状腺	実重量				↓82				↓90
心臓	実重量			↓92	↓88	↓94	↓94		↓93
肺	実重量		↓92						
	対体重比				↑112				
肝臓	実重量			↓84	↓79			↓88	↓87
	対体重比			↓89	↓93				↓92
脾臓	実重量			↓85	↓73				↓87
	対体重比				↓86				
腎臓	実重量			↓93	↓88				
副腎	実重量					↓84			
	対体重比			↑117	↑117				
精巣	対体重比				↑116				
卵巣	実重量					↓87		↓82	↓83
	対体重比								↓87

*; 溶媒対照群

↓↑ : p<0.05、↓↑ : p<0.01 /U検定

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

雌雄共に 0.71mg/m³ 以上の暴露群において各臓器実重量あるいは対体重比の統計学的有意な減少が認められた。しかし、病理組織学的検査を含む各種検査で関連する所見はみられず、いずれの変動ともに、対照群に比し低体重に起因した二次的な変動と考えられた。

肉眼的病理検査：試験終了時にすべての生存動物を対象として剖検を行った。

その結果、雌雄各暴露群において投与に関連したと思われる肉眼的異常所見は観察されなかった。

病理組織学的検査：全ての動物について以下の臓器/組織を摘出し固定した。そして常法に従い標本作製した。

副腎、大動脈、脳、食道、頭蓋（眼、鼻腔含む）、頭皮、筋肉、心臓、十二指腸、空腸、回腸、結腸、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（肺、頸部）、卵巣、膵臓、坐骨神経、脾臓、胃、精巣、甲状腺（上皮小体を含む）、気管（喉頭含む）、膀胱、肉眼的異常部位

主要な所見を表6に示した。

表6. 病理組織学的検査

臓器	性別	雄					雌				
	投与量 (mg/m ³)	0	0*	0.09	0.71	4.5	0	0*	0.09	0.71	4.5
	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	所見										
鼻腔	腔内細胞残屑	1	1	2	1	1	0	3	3	4	0
	腔内粘液	0	1	1	0	0	0	2	3	4	1
リンパ節	活性化(顎下)	7	10	6	6	7	5	7	3(9)	6	6
	(肺付随)	8	8	8	4(7)	↓2	6(9)	9	4	3	4(8)
気管	腔内細胞残屑	0	4	↑6	◆7	↑5	2	4	6	6	4
肺	充血	2	4	4	5	1	3	3	5	1	2
	中隔肥厚	9	7	10	6	10	8	10	10	10	10
	辺縁性気腫	5	7	3	6	8	7	5	8	6	9
	脈管の石灰化	4	2	3	6	5	1	3	1	0	0
空腸	リンパ過形成	2	3	4	2	4(9)	2	1	1	2	2
回腸	リンパ過形成	3	4	3	4	4	3	1	5	5	5
結腸	リンパ過形成	0	1	↑6	2	2	6	6	3	5	1
腎臓	充血	2	0	5	1	1	4	2	1	0	0

↓↑ : p<0.05、◆◆ : p<0.01 Fisher 直接確率計算法, 0; 空気対照群, 0*; 溶媒対照群
(): 検査動物数

雌の溶媒対照および各検体暴露群で鼻腔内に細胞残屑や粘液所見の頻度が無処理群に比べて増加傾向を示した。また気管内にも細胞残屑所見の頻度の増加が空気対照群以外の暴露群で観察された。これらの変化はいずれも軽度であり、検体による全身的作用によって生じたものではなく、吸入暴露による局所刺激による影響と考えられた。

この他に自然発生性の変化が散見されたが、いずれも暴露濃度に依存した頻度の増加はみられず、検体暴露に起因したと思われる形態学的変化は観察されなかった。

以上、シフルトリンのラットに対する 13 週間反復吸入毒性試験において、毒性影響として雌雄共に 4.5mg/m³ で活動低下や挙尾を、また雌では 0.71mg/m³ でも活動低下を観察した。また雄の 4.5mg/m³ では暴露期間を通じて体重増加抑制を、また 0.71mg/m³ でもその傾向がみられた。従って本試験での無毒性量は雌雄共に 0.09mg/m³ (分析値) であった。