

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

4. 急性神経毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 毒性-29)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD@BR 系ラット、1群雌雄各 12 匹、投与開始時約 48 日齢、
投与開始時の体重範囲 (雄：235.9～292.8g、雌：168.9～213.7g)

観察期間： 15 日間

投与方法： 検体を脱イオン水(Tween 80 を 0.5%含有)に懸濁させ、0、500、1000 及び
2000mg/kg の用量で強制単回経口投与した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率； 生死を毎日観察した。

投与期間を通じて死亡例は認められなかった。

一般状態； 一般状態を毎日観察した。

いずれの投与群においても検体投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。

体重変化； 投与 4 日前、試験 1 日目 (投与直前) 及び試験 2, 8, 15 日目に体重を測定した。試験 1～2 日、試験 2～8 日、試験 8～15 日の体重増加量を比較した。

雌ラットでは検体投与に関連した体重及び体重増加量に対する影響はみられなかった。雄ラットでは体重に有意差は認められなかったが、2000mg/kg 群において試験 1～2 日目の体重増加量が対照群の値に対して有意に減少した (65%)。この群では他の全ての測定時期において体重増加量は対照群と同程度であったが、同時期に摂餌量の減少がみられたことから、2000mg/kg 群における試験 1～2 日目の体重増加量減少は投与の影響と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

雄ラットの体重(平均±標準偏差 g)

投与量 (mg/kg)	試験 1 日目	試験 2 日目	試験 8 日目	試験 15 日目
0	267.1±11.6	274.6±11.2	316.6±13.9	358.3±17.8
500	260.8±12.1	267.7±11.9	305.3±17.3	344.3±22.7
1000	266.5±13.8	270.6±12.4	315.5±14.9	358.3±19.8
2000	263.8±16.1	266.3±15.4	309.3±19.2	351.6±26.8

Bartlett 検定、一元配置分散分析、Dunnett 検定

雄ラットの体重増加量(平均±標準偏差 g)

投与量 (mg/kg)	試験 1～2 日	試験 2～8 日	試験 8～15 日
0	7.4±4.2	42.0±4.7	41.7±5.6
500	6.9±4.1	37.6±7.6	39.0±6.5
1000	4.1±4.6	45.0±5.6	42.8±7.0
2000	2.6±3.4*	43.0±9.4	42.3±8.9

Bartlett 検定、一元配置分散分析、Dunnett 検定 * : p<0.05

摂餌量 ; 試験 1～2 日、試験 2～8 日及び試験 8～15 日の期間における 1 日当たりの摂餌量を測定した。

雄ラットでは 2000mg/kg 群の試験 1～2 日の間での摂餌量が対照群に比べ有意に減少した(13%)。他の測定時期において雄の摂餌量は全群で同様であった。雌では摂餌量に対する影響はみられなかった。1000mg/kg 群雌で試験 8～15 日の間において摂餌量の増加がみられたが、検体に関連したものとは考えられなかった。

雄ラットの 1 日当たりの摂餌量(平均±標準偏差 g)

投与量 (mg/kg)	試験 1～2 日	試験 2～8 日	試験 8～15 日
0	25.9±2.5	26.0±1.8	26.5±1.8
500	24.6±2.6	25.2±2.5	25.1±2.6
1000	23.5±2.6	26.8±1.8	27.2±1.6
2000	22.6±1.8*	26.6±2.7	27.1±2.7

Bartlett 検定、一元配置分散分析、Dunnett 検定 * : p<0.05

雌ラットの 1 日当たりの摂餌量(平均±標準偏差 g)

投与量 (mg/kg)	試験 1～2 日	試験 2～8 日	試験 8～15 日
0	17.4±2.1	18.5±1.3	18.9±1.9
500	16.5±2.9	18.6±1.6	19.6±1.2
1000	16.5±1.6	19.4±0.9	20.4±1.6*
2000	16.6±3.4	19.8±2.1	20.0±1.3

Bartlett 検定、一元配置分散分析、Dunnett 検定 * : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

機能検査；投与前（基準ライン）及び試験1（投与1～3時間後）、8、15日目に、全動物を対象として以下の項目について観察し、程度付けまたは測定をした。

<機能観察総合検査(FOB)>

ホームケージ内評価項目；眼瞼閉鎖、身もだえ、旋回、噛み付き、姿勢
ハンドリング評価項目；被毛状態、ケージからの取出し易さ、ハンドリングのし易さ、筋緊張、発声、立毛、尾や足の咬傷、眼瞼閉鎖、流涙、流涎

オープンフィールド内評価項目；活動性、身づくろい、協調性、運動性、
歩様、呼吸、正向反射、痙攣、排糞、排尿、眼瞼閉鎖、発声

オープンフィールド内評価によって判定する操作；接近反応と触覚反応、
聴覚反応、痛覚反応、前肢握力、後肢握力、開脚幅

自発運動量測定時評価項目；瞳孔反応、排便、排尿

<自発運動量検査>

自発運動量は自動計測装置を用いて、移動時間と移動回数を10分間隔の連続する6分画の合計60分間で評価した。

以下に、対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を中心に記述する。

機能観察総合検査 (FOB)

前肢及び後肢の握力、着地開脚幅については、いずれの用量群及び検査時期ともに検体による影響は認められなかった。

眼瞼閉鎖；雄ラットでは、試験1日目の2000mg/kg群で眼瞼閉鎖（ホームケージ及びオープンフィールド内）が対照群に比べて有意に増加した。これは、体重増加量の減少に伴う全身倦怠に起因したものと考えられた。

雄の眼瞼閉鎖/ホームケージ内（所見が認められた匹数、検査動物数12）

投与量 (mg/kg)	投与前	試験1日目	試験8日目	試験15日目
0	4	5	2	2
500	2	6	2	3
1000	3	9	3	3
2000	7	10*	1	3

Cochran-Armitage 検定 * : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

雄の眼瞼閉鎖/オープンフィールド内

(所見が認められた匹数 検査動物数 12)

投与量 (mg/kg)	投与前	試験 1 日目	試験 8 日目	試験 15 日目
0	0	1	0	2
500	0	2	3	1
1000	0	1	1	2
2000	0	6*	3	2

Cochran-Armitage 検定 * : p<0.05

排尿 ; 自発運動測定時の試験 1 日目における雌ラットの 1000mg/kg 以上の投与群で、排尿の頻度(3 及び 4)が対照群(0)に比べて高かったが、対照群の頻度が 0~7 の範囲にあることから、投与の影響とは考えられなかった。

雌の排尿/自発運動測定時 (所見が認められた匹数 検査動物数 12)

投与量 (mg/kg)	投与前	試験 1 日目	試験 8 日目	試験 15 日目
0	7	0	7	3
500	6	0	4	3
1000	5	3*	6	6
2000	5	4*	6	3

Cochran-Armitage 検定 * : p<0.05

自発運動量検査

いずれの検査時期及び用量群とも、10 分間の移動持続時間及び総移動持続時間には統計学的有意差が認められなかった。雄の 1000mg/kg 群では、試験 15 日目の 5 回目における 10 分間の移動回数が減少し、統計学的な有意差が認められた。しかしながら、用量相関性がみられなかったことから、この移動回数の減少は検体の影響ではないと考えられた。雌には自発運動量検査において、統計学的有意差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

雄ラットの平均移動回数

	投与量 (mg/kg)	動物数	10 分間分画						合計
			1	2	3	4	5	6	
投与 前	0	12	142	122	92	42	27	13	437
	500	12	143	125	90	59	37	12	467
	1000	12	129	124	87	36	38	24	438
	2000	12	128	120	94	36	17	10	405
試験 1 日	0	12	143	113	53	25	9	9	352
	500	12	132	97	45	12	8	15	307
	1000	12	129	85	36	14	8	5	275
	2000	12	127	86	35	13	5	7	272
試験 8 日	0	12	135	123	105	78	38	22	501
	500	12	138	117	78	41	21	10	405
	1000	12	131	117	79	32	7	13	380
	2000	12	132	114	88	39	22	8	403
試験 15 日	0	12	140	126	102	84	58	39	549
	500	12	140	128	74	38	36	26	442
	1000	12	134	121	74	33	11*	16	388
	2000	12	135	122	79	54	38	35	463

Kruskal-Wallis 検定、Dunn 検定 * : p<0.05

肉眼的病理検査； 各群から無作為に選抜した 6 匹を対象とした。

検体投与に関連する肉眼的病変は観察されなかった。

病理組織学的検査；最終計画殺時まで生き残った動物から各群 6 匹を無作為に選抜し、pentobarbital の腹腔内注射による麻酔後、放血により安楽死させ、全身灌流固定を行った。以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。対照群と 2000mg/kg 群の鏡検で検体投与に関連した病変がみられなかったため、500 と 1000mg/kg 群については検査を実施しなかった。

脳（前脳、大脳、中脳、橋、延髄、小脳）、脊髄（頸部及び腰部）、坐骨神経、脛骨神経、ガッセル神経節、頸部及び腰部の背根神経線維及び神経節、頸部及び腰部の腹根神経線維及び腓腹筋

脳、脊髄及び筋肉はパラフィン包埋後、常法に従ってヘマトキシリンエオジン染色を施し、脳と脊髄はルクソールファーストブルー・PAS 染色も実施した。坐骨神経、脛骨神経及びガッセル神経節はグリコールメタアクリレートに包埋後、ヘマトキシリンエオジン染色を施した。背根神経線維と神経節及び腹根神経線維は、1%オスミウムテトラオキシドで後固定し、エポキシ包埋後、トルイジンブルー染色を施した。

検体投与に関連する組織学的病変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デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

以上より、雌ラットでは検体投与に関連した影響は観察されなかったため、雌ラットにおける無毒性量は 2000mg/kg であると判断される。雄ラットでは 2000mg/kg 群で体重増加量ならびに摂取量の減少及び眼瞼閉鎖の頻度増加が観察された。従って、雄ラットにおける無毒性量は 1000mg/kg であると判断される。なお、雌雄ラットに対する検体投与に関連した神経毒性的な影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

5. 90日間反復経口投与毒性

(1) 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

(資料 毒性-14)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD@BR 系ラット、1群雌雄各20匹(細胞増殖活性試験群及び生化学検査群の雌雄各10匹を含む)

開始時約7週齢

投与期間： 13週間()

投与方法： 検体を飼料中に0、50、200、800及び1600ppmの濃度で混合し、13週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。なお、投与2週間後に各群から雌雄各10匹を選抜し、5匹を肝臓の細胞増殖活性測定に、残りの5匹を肝臓のP-450活性及びβ-酸化活性測定に供した。

用量設定根拠：

観察・検査項目：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。200ppm群で雄2匹が死亡したが、1例は事故死であり、他の1例の死因は敗血症であり検体投与の影響ではなかった。その他の投与群では死亡例はみられなかった。

体重変化；全ての生存動物について、毎週1回体重を測定した。

最終平均体重は1600ppm群雌雄(いずれも対照群比85%)、800ppm群雌(対照群比87%)で、有意に低値であった。また統計学的に有意ではないが800ppm群雄(対照群比91%)及び200ppm群雌(対照群比91%)で低値であった。試験期間を通した体重の総増加量(0~13週)は雄では800ppm群以上、雌では200ppm群以上で有意に減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

有意差のみられた体重変動及び総体重増加量を次表に示す。

性別		雄				雌			
週	投与量(ppm)	50	200	800	1600	50	200	800	1600
	1					90↓			
2				93↓	87↓			92↓	92↓
3				92↓	83↓				
4					84↓				
5				91↓	84↓				90↓
6					83↓				90↓
7				91↓	83↓				
8					84↓				
9					85↓				89↓
10					87↓				87↓
11					85↓			89↓	86↓
12					85↓			90↓	88↓
13				(91)	85↓		(91)	87↓	85↓
総増加量				85↓	75↓		81↓	71↓	66↓

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

()内は統計学的有意差無し

摂餌量及び食餌効率；試験期間中毎週各個体ごとの摂餌量を測定し、食餌効率も算出した。

総摂餌量は対照群と比べ、1600ppm 群では雄 86%及び雌 88%、800ppm 群では雄 92%及び雌 90%、200ppm 群雌では 95%であり体重低下と関連していた。食餌効率は投与 1 週目に 800 及び 1600 群雌雄で低値であったが、それ以降の週では変化がみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)	50	200	800	1600	
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	3.34	13.0	52.1	106.0
	雌	4.24	16.6	65.7	130.0

血液学的検査；投与 7 及び 13 週に、各群雌雄 10 匹について眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、白血球百分比

対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

検査項目	週	雄				雌			
		投与量 (ppm)							
		50	200	800	1600	50	200	800	1600
赤血球数	7		93↓	88↓	85↓		93↓	82↓	76↓
	13		92↓	83↓	78↓		89↓	77↓	72↓
Hb	7		94↓	93↓	94↓		95↓	88↓	87↓
	13		95↓	91↓	91↓		91↓	85↓	82↓
Ht	7			93↓	93↓			91↓	87↓
	13			91↓	89↓		91↓	85↓	81↓
MCV	7			105↑	109↑		105↑	110↑	116↑
	13			109↑	115↑		103↑	110↑	114↑
MCH	7			110↑	114↑			110↑	114↑
	13			110↑	115↑			110↑	114↑
網状赤球数	7			151↑	211↑			281↑	431↑
	13			193↑	271↑			688↑	716↑
白血球数	7				157↑				
	13								
好中球数	7				168↑				
	13								
リンパ球数	7								
	13				156↑				
異型リンパ球数	7								
	13				↑ ^{a)}				
単球	7								
	13								44↓

Dunnett 検定または Mann-Whitney U 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

a)対照群の値が「0」であったため変動率は算出できなかった。

800 及び 1600ppm 群雌雄で検体投与に起因する軽度の溶血性貧血が網状赤血球増多症を伴ってみられた。800 及び 1600ppm 雌雄では 7 及び 13 週目の検査で赤血球数、Ht、Hb の循環赤血球関連項目の有意な低下がみられ、検体投与に起因する貧血と考えられた。この貧血は網状赤血球の有意な増加と、網状赤血球増多症を示唆する MCH、MCV の有意な増加の再生性の変化を伴っていた。臨床的あるいは病理組織学的検査で出血がみられないことから、溶血による貧血と考えられた。また、800 及び 1600ppm 群雌雄では病理組織学的検査で、脾臓のヘモジデリン沈着増加及び髄外造血亢進ならびに骨髓過形成などの溶血性貧血を示す変化がみられた。200ppm 群の雌雄でみられた赤血球数及び Hb の有意な低下、雌でみられた Ht の有意な減少及び MCV の有意な増加はいずれも背景データ値あるいは文献データ値(原文報告書 41 頁、参考文献 10(Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River CD® [CrI:CD®(SD)BR]Rats as a Function of Sex and Age, Charles River Laboratories Bulletin, 1984.))範囲内で、網状赤血球症及び脾臓や骨髓の造血組織の病理組織学的異常がみられないことから生物学的に重要な変化とは考えられなかった。1600ppm 群雄でみられた好中球とリンパ球の有意な増加は検体投与による溶血性貧血及び肝細胞障害に伴う変化と考え

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

られた。

試験実施機関における背景データ値、文献データ値と対照群との間に有意差のみられた 200ppm 群における実測値との比較

	雄			雌		
	背景データ値 (平均値±2SD)	文献データ値 (平均値±2SD)	実測値 (検査週)	背景データ値 (平均値±2SD)	文献データ値 (平均値±2SD)	実測値 (検査週)
赤血球数 ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8.51 (6.8~9.6)	6.21 (4.41~8.01)	7.13(7週) 7.49(13週)	8.40 (6.7~8.8)	5.56 (4.42~6.70)	7.13(7週) 7.22(13週)
Hb (g/dl)	15.5 (14.2~17.1)	18.0 (16.0~21.0)	15.1(7週) 15.0(13週)	15.38 (13.4~16.7)	16.1 (12.9~19.3)	15.2(7週) 15.2(13週)
Ht (%)			—	52 (36~61)	47 (42~52)	43(13週)
MCV (μ^3)			—	65 (52~72)	85 (67~103)	61(7週) 60(13週)

— : 対照群と比較し統計学的有意差はみられなかった

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

アルカリフォスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、ソルビトール脱水素酵素(SDH)、尿素窒素、総タンパク、アルブミン、グロブリン、クレアチニン、ビリルビン、総コレステロール、グルコース、カルシウム、ナトリウム、カリウム、無機リン、塩素

対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性別	検査項目	週	雄				雌			
			投与量 (ppm)							
			50	200	800	1600	50	200	800	1600
ALP	7				210↑	261↑				
	13				201↑	248↑				
ALT	7				348↑	624↑				
	13				308↑	492↑	78↓	78↓	78↓	
AST	7				212↑	346↑				
	13				178↑	268↑				
SDH	7				428↑	562↑			156↑	152↑
	13			119↑	316↑	390↑	125↑		157↑	173↑
グルコース	7									91↓
	13			91↓	85↓	78↓			90↓	83↓
尿素窒素	7				119↑	119↑				
	13									
ビリルビン	7				286↑	514↑				127↑
	13				169↑	223↑			133↑	173↑
カルシウム	7						96↓	96↓		
	13									
総 コレステロール	7			136↑	138↑				153↑	169↑
	13			135↑					133↑	144↑
総タンパク	7	93↓		93↓	93↓					
	13			93↓	92↓					
アルブミン	7								110↑	113↑
	13									
グロブリン	7	86↓		77↓	77↓			90↓	86↓	86↓
	13	89↓		78↓	74↓				83↓	83↓
塩素	7		102↑	101↑	102↑	102↑				102↑
	13			103↑	103↑					

Dunnett 検定または Mann-Whitney U 検定 ↑: p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

800 及び 1600ppm 群における雄の ALP、ALT、AST、SDH、ビリルビン及び雌の SDH、ビリルビンの有意な増加は肝臓障害を示唆する変化と考えられた。

200ppm 群雄の 13 週でみられた SDH の有意な増加は軽度であり、生物学的に意味のある変化とは考えられなかった。800 及び 1600ppm 群における雌の総コレステロールの有意な増加、雌雄のグルコース及びグロブリンの有意な減少、雄の総タンパクの有意な減少は肝細胞障害の二次的影響と考えられた。200ppm 群雄のグルコースの有意な減少は軽度であることから悪影響とは考えられなかった。雌でみられた総コレステロールの変化は肝細胞障害が強くみられた雄で変化がみられないことから、肝臓細胞障害よりむしろ脂肪代謝異常と考えられた。その他の有意な変化は用量増加に伴う変化ではないか、生物学的変動範囲内にあるか、あるいは変化に関連する病理組織学的変化がみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

尿検査； 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

尿量、浸透圧、pH、ウロビリノーゲン、pH、ヘモグロビンまたは潜血、グルコース、タンパク、ビリルビン、ケトン体、色調、尿沈渣

対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)							
検査項目	週	50	200	800	1600	50	200	800	1600
ウロビリノーゲン	7				225↑			233↑	
	13				300↑				

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの

1600ppm 群雄でみられたウロビリノーゲンの統計学的に有意な増加は肝細胞の障害に起因すると考えられた。800ppm 群雌でみられたウロビリノーゲンの有意な増加は 1600ppm 群でみられ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。その他の検査項目には検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

細胞増殖活性測定；投与 2 週間後に各投与群より雌雄各 5 匹を選び、0.5N の炭酸水素ナトリウム緩衝液に 20mg/mL 濃度で溶解した 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を皮下に処理し、3 日後に動物を屠殺し、肝臓における DNA への BrdU の取り込みを免疫組織学的分析により調べた。

結果を次表に示す。

性別		雄				雌			
		投与量 (ppm)							
検査項目		50	200	800	1600	50	200	800	1600
BrdU 標識率				1830↑	1864↑			237↑	503↑

Dunnett 検定、↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

細胞増殖を示唆する肝細胞の BrdU 標識率増加が 800 及び 1600ppm 群雄で認められた(対照群の約 18-19 倍)。雌においても同群で増加したが、その程度は対照群のそれぞれ約 2 及び 5 倍と、雄より軽度であった。

生化学検査；投与 2 週間後に各投与群から雌雄各 5 匹を屠殺し、肝臓を摘出して肝重量を測定後、ホモジナイズした。遠心後、ペルオキシゾーム画分は β -酸化活性を、ミクロソーム画分は P-450 濃度を測定した。また、両画分のタンパク量も測定した。

いずれの投与群でも総 P-450 活性に検体投与による影響はみられなかつ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

た。

β-酸化活性測定結果を次表に示す。

性 別	雄				雌			
	投 与 量 (ppm)							
検査項目	50	200	800	1600	50	200	800	1600
β-酸化活性			198↑	200↑		149↑	187↑	202↑

Dunnett 検定、 ↑↓ : p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの

800 及び 1600ppm 群雌雄及び 200ppm 群雌で有意な β-酸化活性の上昇がみられたことより、ペルオキシゾーム増殖が示唆された。これは薬理学的反応と考えられた。

眼科学的検査；投与開始前及び投与 12 週に、全ての生存動物について、その両眼を間接眼科学的検査法で検査した。

投与に関連した眼科学的異常所見は認められなかった。

臓器重量；投与終了時に、全ての生存動物を対象にして、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣

対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
		投 与 量 (ppm)							
臓器		50	200	800	1600	50	200	800	1600
肝臓	絶対重量				82↓			121↑	121↑
	対体重比						115↑	133↑	138↑
腎臓	絶対重量								
	対体重比							113↑	
脾臓	絶対重量				136↑			133↑	161↑
	対体重比			123↑	161↑			145↑	184↑
脳	絶対重量								
	対体重比				116↑				
精巣	絶対重量								
	対体重比				117↑				

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

1600ppm 投与群雄では肝臓の絶対重量の有意な減少がみられ、雌では800ppm 群以上で肝臓の絶対重量及び相対重量が有意に増加した。また、200ppm 群雌では肝臓の相対重量が有意に増加した。800及び1600ppm 群雌雄の脾臓の絶対重量及び相対重量が、800ppm 群雄の絶対重量以外有意に増加した。これらの臓器重量の変化は病理組織学的病変と関連しており、検体投与に起因する変化と考えられた。1600ppm 群の脳の相対重量が有意に増加したが、絶対重量で有意差がみられないこと及び病理組織学的変化がみられなかったことから検体投与の影響とは考えられなかった。

[申請者注] 1600ppm 群雄で精巣の相対重量が有意に増加したが、絶対重量で有意差がみられないこと及び病理組織学的変化がみられたことから検体投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡例及び投与終了時の全ての生存動物を対象に肉眼的病理検査を実施した。

対照群と比べ統計学的に有意差のみられた項目を下表に示す。

性別		雄				雌			
		投 与 量 (ppm)							
所見		50	200	800	1600	50	200	800	1600
検査例数		10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	退色				4↑				
皮膚	脱毛			1	2↑				

Fisher の直接確率検定 または Cochran-Armitage Test、↑↓:p<0.05

表中の数字は出現動物数(空欄は病変がみられなかったことを示す)

1600ppm 群雄でみられた肝臓の退色は小さな分散した白色巣で、病理組織学的検査での退行性変化と関連しており検体投与に起因する変化と考

えられた。その他検体投与に起因する所見はみられなかった。

病理組織学的検査；途中死亡例及び投与終了時の全ての生存動物について以下の臓器を保存した。最高投与群、対照群及び死亡動物については全ての組織について検査を実施し、その他の群については、肝臓、腎臓、肺、肉眼的病変を認めたすべての臓器を検査した。

皮膚、骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（腸間膜及び下顎）、脾臓、胸腺、大動脈、心臓、気管、肺、唾液腺、食道、胃、肝臓、膵臓、小腸（十二指腸、空腸及び回腸）、大腸（盲腸、結腸及び直腸）、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺—上皮小体、副腎、前立腺、精巣、精巣上体、精嚢、乳腺、卵巣、子宮、膈、脳、脊髄、坐骨神経、骨格筋、大腿骨、胸骨、眼球、外涙腺、ハーダー腺、その他肉眼的に異常のみられた病変部

統計学的に有意差のみられた病変について次表に示す。

性 別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	50	200	800	1600	0	50	200	800	1600
臓器	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	病変										
肝臓	胆汁色素増加					2↑					2↑
	限局性変性				4↑	10↑				1	1
	胆管過形成				2↑	7↑					
	小葉中心性肝細胞肥大				10↑	10↑				8↑	10↑
	細胞分裂像増加				7↑	4↑				3↑	5↑
	単細胞壊死 (アポトーシス)				9↑	10↑				6↑	4↑
骨髄	過形成				5↑	7↑				7↑	10↑
脾臓	うっ血	1			9↑	10↑				10↑	10↑
	髓外造血亢進				8↑	9↑				7↑	8↑
	ヘンジリン沉着増加				9↑	9↑				10↑	10↑

Fisher の直接確率検定または Cochran-Armitage Test、↑↓: p<0.05

表中の数値は出現動物数（空欄は病変がみられなかったことを示す）

検体投与に関連する変化が肝臓、脾臓及び骨髄でみられた。800及び1600ppm群雌雄の肝臓では肝細胞肥大がみられ、この変化は滑面小胞体(SER)の増加及びSER関連酵素/ペルオキシゾーム増殖が誘導されたことによると考えられた。このことは生化学検査においてβ酸化活性が増加したことからも支持された。また、限局性変性、単細胞壊死、細胞分裂像の増加がみられ、その頻度及び病変の程度は1600ppm群雄で高かった。雌に比べ雄で限局性変性の程度が高いことは肝臓の絶対重量が雄で減少し、雌で増加したことに関連すると考えられる。限局性変性及び単細胞壊死に対する反応として、胆管過形成及び細胞分裂像増加がみられ、雌より雄で著明であり、BrdU標識による細胞増殖測定結果とも関連し

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

ていた。肝臓の病理組織学的検査結果は血液生化学的検査結果と同様に、雄でより激しい傾向がみられた。800及び1600ppm群雌雄の脾臓ではうっ血、ヘモジデリン沈着増加、髄外造血亢進がみられた。同じ投与群では骨髄細胞の増加がみられた。脾臓の病変は脾臓重量の絶対重量及び相対重量の増加と関連していた。脾臓及び骨髄の病変は血液学的変化と関連していた。

以上の結果から、本剤のラットに対する90日間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影響として、800及び1600ppm投与群雄に、体重及び体重増加量の減少、摂餌量及び食餌効率の減少、臨床病理学及び組織学的な軽度の再生性・溶血性貧血ならびに臨床病理、肉眼観察及び組織学的な肝臓毒性が認められたため、雄の無毒性量は200ppm(13.0mg/kg/日)と判断される。また、雌では上記の所見に加え（肉眼観察を除く）、200ppm投与群雌に体重増加抑制がみられたため、雌の無毒性量は50ppm(4.24mg/kg/日)と判断される。

[申請者注]

原報告書では、200ppm群雄でみられた血液学的検査における赤血球数及びヘモグロビン値の有意な減少を、背景データ範囲内であり、網状赤血球症及び脾臓や骨髄の造血組織に病理組織学的異常がみられないことから生物学的に重要な変化ではないとして、無毒性量を200ppm(13.0mg/kg/日)と判断した。しかしながら、上記の変化は検体投与に起因すると考えられることから、申請者はこれらの変化がみられない50ppmを無毒性量と判断した。従って、本試験における無毒性量は雌雄いずれも50ppm(雄3.34mg/kg/日、雌4.24mg/kg/日)とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

(2) マウス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

(資料 毒性-15)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Crl:CD-1® BR 系マウス、1 群雌雄各 20 匹(細胞増殖活性試験群及び生化学検査群の雌雄各 10 匹を含む)
開始時約 7 週齢

投与期間： 13 週間()

投与方法： 検体を飼料中に 0、35、350、3500 及び 7000ppm の濃度で混合し、13 週間自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。なお、投与 2 週間後に各群から雌雄各 10 匹を殺し、5 匹を細胞増殖活性測定に、残りの 5 匹を P-450 活性及び β -酸化活性測定の生化学検査に供した。

用量設定根拠；

観察・検査項目：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。対照群雌 1 例が投与 56 日に死亡したが死因は特定できなかった。その他の投与群では死亡例はみられなかった。

体重変化；全ての生存動物について、毎週 1 回体重を測定した。

体重及び体重増加量に検体投与に起因する変化はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

摂餌量及び食餌効率；試験期間中各ケージごとの摂餌量を毎週1回測定し、食餌効率も算出した。

摂餌量及び食餌効率に検体投与による影響はみられなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		35	350	3500	7000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	5.89	62.4	534	1149
	雌	8.21	79.7	757	1552

血液学的検査；投与7及び13週に、各群雌雄10例について眼窩静脈叢から採血し、以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、白血球百分比、血漿タンパク。

統計的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)								
	週	35	350	3500	7000	35	350	3500	7000
赤血球数	7	109↑	110↑		93↓				83↓
	13	112↑	110↑						88↓
Hb	7			109↑	109↑			105↑	105↑
	13	107↑	107↑	(106)	108↑			(107)	112↑
Ht	7	109↑	109↑	107↑					94↓
	13	109↑	109↑						
網状赤球数	7			155↑	224↑			202↑	372↑
	13			168↑	211↑			181↑	335↑
MCV	7			(104)	108↑			106↑	114↑
	13			(102)	108↑			108↑	114↑
MCH	7			(106)	118↑			106↑	124↑
	13			106↑	112↑			119↑	131↑
MCHC	7			(100)	109↑			103↑	109↑
	13			103↑	106↑			103↑	112↑
血小板数	7	80↓	80↓	70↓	71↓				
	13					79↓	69↓	73↓	58↓
白血球数	7				217↑			156↑	583↑
	13	67↓	58↓						260↑
好中球数	7								520↑
	13		30↓						
桿状好中球数	7								
	13	8↓	7↓	0↓	14↓				
リンパ球数	7				234↑		123↑	167↑	608↑
	13		68↓						299↑

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性別	雄					雌				
	投与量 (ppm)									
好酸球数	7									
	13									0↓
単球数	7				257↑					
血漿タンパク	7	108↑	108↑							
	13	108↑	112↑							

Dunnett 検定または Mann-Whitney U 検定、 ↑↓ : p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

() 内は有意差なし

7000ppm 群雌雄で赤血球数の有意な減少、網状赤血球、ヘモグロビン、MCV、MCH 及び MCHC の有意な増加がみられた。3500ppm 雌雄では赤血球数以外で 7000ppm 群と同様の変化がみられた。これらの群では血液形態検査のための血液塗抹標本観察において溶血に関連するハインツ小体が見られた。7000ppm 群雌雄で見られた好中球及びリンパ球の有意な増加を特徴とする白血球の増加症は溶血の二次的変化として炎症が生じたことを示唆すると考えられた。

眼科学的検査；投与開始前及び投与 12 週に、全ての生存動物について、その両眼を間接眼科学的検査法で検査した。

投与に関連した眼科学的異常所見は認められなかった。

各群の投与 12 週の検査で見られた主な所見を次表に示す。

性別	雄					雌				
	投与量 (ppm)									
所見	0	35	350	3500	7000	0	35	350	3500	7000
検査動物数	10	10	10	10	10	9	10	10	10	10
眼球瘍/ 眼球萎縮(左眼)	2	1		2	1					1

空欄は「0」を示す。

眼球瘍／眼球萎縮が各群で散発的にみられたが、この病変は投与 7 週に血液学的検査のため眼窩静脈叢から採血した際に生じた傷が原因と考えられた。

臓器重量；投与終了時に、全ての生存動物を対象にして、以下の臓器重量を測定した。また、体重に対する相対重量も算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、脾臓、精巣

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

統計学的に有意であった検査項目を次表に示す。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)								
臓器	35	350	3500	7000	35	350	3500	7000	
肝臓	絶対体重			150↑	159↑		121↑	150↑	159↑
	対体重比			142↑	154↑		114↑	142↑	155↑
脾臓	絶対体重				139↑			147↑	161↑
	対体重比				134↑			139↑	156↑
腎臓	絶対体重								
	対体重比								88↓

Dunnnett 検定 ↑↓:p<0.05

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

雌では 350ppm 群以上、雄では 3500ppm 群以上で肝臓の絶対重量及び相対重量が有意に増加した。脾臓重量は雌の 3500ppm 以上の投与群及び雄の 7000ppm 群で絶対重量及び相対重量が有意に増加した。この肝臓及び脾臓重量増加は病理組織学的検査でも変化がみられることから、検体投与の影響と考えられた。350ppm 群雌の肝臓重量の有意な増加は軽度であり、関連する病理組織学的所見がみられないことから重要な変化とは考えられなかった。7000ppm 群雌では腎臓の相対重量が有意に減少したが、病理組織学的検査で変化がみられ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。

肉眼的病理検査；途中死亡例及び投与終了時の全ての生存動物を対象に肉眼的病理検査を実施した。

検体投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

病理組織学的検査；途中死亡例及び投与終了時の全ての生存動物について以下の臓器を保存した。最高投与群、対照群及び途中死亡例については全ての組織について検査を実施し、その他の群については、肝臓、胆嚢、腎臓、肺、肉眼的病変を認められたすべての臓器及び標的臓器を検査した。

皮膚、骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（腸間膜及び顎下）、脾臓、胸腺、大動脈、心臓、気管、肺、唾液腺、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、小腸（十二指腸、空腸及び回腸）、大腸（盲腸、結腸及び直腸）、腎臓、膀胱、下垂体、甲状腺—上皮小体、副腎、前立腺、精巣、精巣上体、精嚢、乳腺、卵巣、子宮、膣、脳、脊髄、坐骨神経、骨格筋（大腿）、眼球、外涙腺、ハーダー腺、その他肉眼的に異常のみられた病変部

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別		雄					雌				
投 与 量(ppm)		0	35	350	3500	7000	0	35	350	3500	7000
臓器	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	病変										
肝臓	単細胞壊死				1	1				2	7↑
	胆汁色素沈着増加				4	10				2	10↑
	小葉中心性肝細胞肥大			4	10↑	10↑				10↑	10↑
	び慢性脂肪変性	2	3	2	7	9↑	3	2	5	4	7
脾臓	赤脾髄増大	2			1	5				4	8↑
	ヘモジデリン沈着増加				10↑	10↑				10↑	10↑

統計学的検定法；Fisherの直接確率検定（申請者が実施） ↑↓：p<0.01

表中の数値は出現動物数（空欄は病変がみられなかったことを示す）

3500及び7000ppm群雌雄の肝臓に小葉中心性肥大、胆汁色素増加及び、単細胞壊死がみられ、検体投与に起因する変化と考えられた。3500及び7000ppm群でみられた単細胞壊死の程度は軽微であり、散発的に観察された。肝臓のび慢性脂肪変性が対照群を含む全ての群で観察されたが、3500ppm雄及び7000ppm群雌雄では明らかな増加がみられた。3500及び7000ppm群雌雄全例において肝臓に最小から軽度の小葉中心性肝細胞肥大がみられた。350ppm群雄4例でも軽微の小葉中心性肥大がみられた。この変化は化合物の代謝反応として正常な薬理学的適応と考えられる。脾臓にも検体投与に起因する変化がみられた。3500及び7000ppm群雌雄全例でヘモジデリン沈着が増加した。また、3500ppm群雌及び7000ppm群雌雄で髄外造血を示す赤脾髄の明らかな増大がみられた。ヘモジデリン沈着及び赤脾髄の増大は3500及び7000ppm群雌雄における溶血に関連する血液学的変化に対する二次的な変化と考えられた。

細胞増殖活性測定；投与2週に各投与群より雌雄各5匹を選び、0.5Nの炭酸水素ナトリウム緩衝液に20mg/mL濃度で溶解した5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を皮下に処理した。処理3日後に動物を殺し、肝臓のDNAに取り込まれたBrdUを免疫組織学分析を行って調べた。

結果を次表に示す。

性 別	雄				雌			
	投 与 量 (ppm)							
検査項目	35	350	3500	7000	35	350	3500	7000
BrdU標識率	167	56	156	72	72	243	603↑	190

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓：p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

雄の検体投与群では肝臓における細胞増殖の増加はみられなかった。雌では3500ppm群で有意な細胞増殖がみられ、350及び7000ppm群では有意ではないが同程度の細胞増殖がみられた。7000ppm群では肝臓の小葉中心性肝細胞肥大、び慢性脂肪変性、胆汁色素沈着増加、肝単細胞壊死ばかりでなく、肝臓重量、肝臓の総P-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

450 量及び β -酸化活性も増加していることから 7000ppm 群の細胞増殖活性は生物学的に意味のある変化と考えられた。一方、350ppm 群の細胞増殖は 7000ppm 群でみられたような変化がみられないことから、細胞増殖は検体投与の影響かもしれないが、毒性影響とは考えられなかった。

生化学検査；投与 2 週に各投与群から雌雄各 5 匹を殺し、肝臓を摘出して肝重量を測定後ホモジナイズした。遠心後、ペルオキシゾーム画分は β -酸化活性を、ミクロソーム画分は P-450 濃度を測定した。また、両画分のタンパク量も測定した。

次表に統計学的に有意であった肝臓重量について示す。

性 別		雄				雌			
		投 与 量 (ppm)							
臓 器		35	350	3500	7000	35	350	3500	7000
肝 臓	絶対重量			149↑	157↑		103	151↑	156↑
	対体重比			144↑	158↑		105	145↑	153↑

分散分析 または Dunnett 検定 $\uparrow\downarrow p<0.05$

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

次表に統計学的に有意であった β -酸化活性及び総 P-450 量を示す。

性 別		雄				雌			
		投 与 量 (ppm)							
検 査 項 目		35	350	3500	7000	35	350	3500	7000
β -酸化活性				138↑	136↑			154↑	143↑
総 P-450 量				179↑	184↑		185↑	208↑	215↑

分散分析 または Dunnett 検定 $\uparrow\downarrow : p<0.05$

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

3500ppm 群以上の雌雄で検体投与に起因する肝臓重量の有意な増加がみられ、また肝臓の β -酸化活性（ペルオキシゾーム増殖活性）及び総 P-450 量が有意に増加した。350ppm 群雌での総 P-450 量の有意な増加は、細胞障害性変化がみられないことから毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

以上より、3500 及び 7000ppm 群では、血液学的検査において、赤血球数の有意な減少（7000ppm 群のみ）、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の有意な増加がみられた。また、血液塗沫標本観察においてハイנטツ小体がみられた。これらは検体投与による溶血に起因する変化と考えられた。臓器重量では肝臓重量及び脾臓重量（雄では 7000ppm 群のみ）が有意に増加した。病理組織学的検査では、検体投与に起因する変化として、肝臓の小葉中心性細胞肥大、胆汁色素沈着増加及び単細胞壊死が増加した。また、脾臓では溶血に関連する変化として、ヘモジデリン沈着増加及び赤脾腫増大がみられた。細胞増殖活性測定では、雌で細胞増殖がみられた。生化学的検査では、 β -酸化活性及び P-450 量が有意に増加した。35 及び 350ppm 群では毒性学的に意味のある変化はみられなかった。

従って、本試験における無毒性量は雌雄いずれも 350ppm（雄 62.4mg/kg/日、雌 79.7mg/kg/

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

日) と考えられた。

[申請者注]

350ppm 群雌では、肝臓の絶対重量及び相対重量がいずれも有意に増加し、また、肝臓における総 P-450 量も有意に増加した。これらの変化について原報告書では、肝臓重量増加を、その程度が軽度であり、病理組織学的検査で変化がみられないことから重要な変化でないと判断し、総 P-450 量の増加についても病理組織学的検査で変化がみられないことから毒性学的に意味のある変化とは考えなかった。

しかしながら、いずれの変化も検体による変化であることから、申請者はこれらの変化がみられない 35ppm を雌における無毒性量と判断した。

従って、マウスの 90 日間反復経口投与毒性試験における無毒性量は雄では 350ppm (62.4mg/kg/日)、雌では 35ppm(8.21mg/kg/日)とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

(3) イヌ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

(資料 毒性-16)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始時約 7 か月齢

投与期間： 13 週間()

投与方法： 検体を 0、40、300 及び 1000ppm の濃度で混合した飼料 400g を 13 週間にわたり 1 日 1 回与えた。なお、1000ppm 投与群は筋緊張性の攣縮の発現時間の延長及び痙攣がみられたため、投与開始 6 週目(37 日目)から飼料中の検体濃度を 600ppm に下げた（以下 1000-600ppm と記載）。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。また、週に 1 度詳細な身体検査を実施した。さらに、投与 21、23、24 日の給餌約 4 時間後に、1000ppm 群の動物において筋緊張性攣縮がみられたので、投与 27 日から給餌約 4 時間後に全ての動物について毎日一般状態を観察した。

いずれの投与群でも死亡はみられなかった。

検体投与に起因する変化として 1000-600ppm 投与群雌雄の全例に筋緊張性攣縮がみられた。筋緊張性攣縮は 1000ppm 投与期間中の第 4 週目から発現した。また、この期間には雌 1 例に痙攣及び運動失調がみられた。筋緊張性攣縮は飼料中の検体濃度を 600ppm に低下しても雌雄全例に試験終了時までみられた。筋緊張性攣縮は給餌約 4 時間後に発現頻度及び程度がより高くなることから、血中の検体濃度と関連すると考えられた。その他検体投与に起因する変化として 1000-600ppm 群雌雄に軟便がみられた。

体重変化；全ての生存動物について、毎週 1 回体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

1000-600ppm 群雌雄で平均体重及び平均体重増加量の減少がみられた。1000ppm を投与した第 5 週の平均体重は対照群と比べ、雄及び雌でそれぞれ 17%及び 19%低かった。また、投与終了時の第 13 週でも対照群と比べ雄及び雌でそれぞれ 11%及び 14%低かった。投与期間を通じての平均体重増加量も有意に低かった。

統計学的に有意差のみられた体重変動及び総体重増加量を次表に示す。

性別 投与量(ppm)	雄				雌			
	0	40	300	1000-600	0	40	300	1000-600
週								
1				(97)				(91)
2				(89)				85↓
3				(84)				82 ↓
4				83↓				80 ↓
5				83↓				81 ↓
6				83↓				81↓
7				85↓				(83)
8				86↓				84↓
9				87↓				(84)
10				87↓				(85)
11				87↓				(85)
12				88↓				(85)
13				(89)				(86)
総体重増加量				49↓				35↓

Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↓ : p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

摂餌量及び食餌効率；試験期間中個体ごとに毎日摂餌量を測定し、週ごとの平均摂餌量を算出した。また、個体ごとに食餌効率も算出した。

統計学的に有意差がみられた 1000-600ppm 群の摂餌量及び食餌効率を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性別	雄		雌		
投与量(ppm)	1000-600		1000-600		
週	項目	摂餌量	食餌効率	摂餌量	食餌効率
1		52↓	-438 ↓	40 ↓	-551 ↓
2		49 ↓	-222 ↓	47 ↓	-249 ↓
3		53 ↓	(-107)	58 ↓	37 ↓
4		65 ↓		63 ↓	
5		73 ↓		71 ↓	
6		84↓			
7			212↑		
8					
9					
10					
11					
12					
13					

Dunnett 検定 ↑↓ : p<0.05、↑↑ : p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

() 内は有意差なし

1000-600ppm 群雄では投与開始後 6 週間、雌では 5 週間は摂餌量の有意な低下がみられた。食餌効率は 1000-600ppm 群では雄は投与開始後 3 週間(2 週目まで有意に低下)、雌では 2 週間マイナス(3 週目まで有意に低下)となった。

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。

投与量 (ppm)		40	300	1000-600
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.3	10.0	23.8-21.2
	雌	1.4	10.1	23.3-20.1

血液学的検査；投与前 2 週、投与開始後 5 及び 12 週に、各群のすべての動物の頸静脈から採血して以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、白血球百分比、赤血球形態検査、プロトロンビン時間、活性トロンボプラスチン時間、網状赤血球数、ハイツ小体

統計学的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性別	週	雄			雌		
		投与量 (ppm)					
検査項目		40	300	1000-600	40	300	1000-600
赤血球数	5			74 ↓	90 ↓	89 ↓	82 ↓
	12			79 ↓	88 ↓	85 ↓	83 ↓
Hb	5			79 ↓	90 ↓	89 ↓	85 ↓
	12		86 ↓	81 ↓	91 ↓	88 ↓	85 ↓
Ht	5						
	12			83 ↓	89 ↓	88 ↓	86 ↓
MCV	5			112 ↑			108 ↑
	12					104 ↑	104 ↑
MCH	5			107 ↑			
	12						
MCHC	5			95 ↓			95 ↓
	12						
網状赤血球数	5			660 ↑			480 ↑
	12						
ハイツ小体	5			a ↑			a ↑
	12			a ↑			a ↑
血小板数	5			(132)	137 ↑		193 ↑
	12			(128)			165 ↑
好中球数 (百分比)	5			127 ↑			
	12			123 ↑			
好中球数 (/ul)	5			138 ↑			
	12						
リンパ球 (百分比)	5			71 ↓			
	12						

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

a) 対照群の値が「0」であったため変動率は算出できなかった。

() 内は有意差なし

1000-600ppm 群雌雄で 5 及び 12 週の検査において、次のような赤血球検査項目に検体投与の影響がみられた。赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット及び MCHC が有意に減少し、MCV、網状赤血球数、ハイツ小体及び MCH (雄のみ) が有意に増加した。これらの変化は 1000ppm を投与した 5 週目の検査においてより明白であった。さらに、1000-600ppm 群雌雄で血小板数の増加がみられ、雌では有意であった。血小板数、網状赤血球及び MCV の増加は赤血球数低下に対する生理的な反応と考えられた。また、1000-600ppm 群雄では好中球の割合及び数が有意に増加したが、雌ではみられないこと、総白血球数に変化がみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。1000-600ppm 群雄では 5 週目にリンパ球の割合が有意に減少したが、これは同群における好中球の割合が増加したことによる相対的な減少であり、リンパ数の絶対数は対照群と同程度であった。40 及び 300ppm 雌雄でみられた赤血球検査項目の変化については、そのいずれも次表に示すように、試験機関における背景対照データ値の範囲内であること、また、300ppm 雄におけるヘモグロビンの値は検体投与前の測定値と同じであること、ハイ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

ンツ小体数及び網状赤血球数の増加がみられないことから、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。40ppm 群雌の 5 週にみられた血小板数の有意な増加は、同群では検体投与前の測定でも血小板数が有意な高値を示していたことから、検体投与の影響とは考えられなかった。

試験実施機関における血液学的検査項目の背景対照データと対照群との間に有意差のみられた 40 及び 300ppm 群における実測値との比較

検査項目	雄		雌	
	背景データ (平均値±2SD)	実測値 (群及び検査週)	背景データ (平均値±2SD)	実測値 (群及び検査週)
赤血球数 ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	6.76 (5.47~8.05)	—	6.92 (5.48~8.36)	5.78(40ppm 5 週) 6.15(40ppm 12 週) 5.71(300ppm 5 週) 5.91(300ppm 12 週)
Hb (g/dl)	15.6 (12.90~18.30)	13.9 (300ppm 12 週)	16.0 (12.48~19.52)	13.4(40ppm 5 週) 14.6(40ppm 12 週) 13.3(300ppm 5 週) 14.1(300ppm 12 週)
Ht (%)	47.9 (38.58~57.22)	—	49.6 (38.90~60.30)	43.9(40ppm 12 週) 43.3(300ppm 12 週)
MCV (μ^3)	70.9 (65.92~75.88)	—	71.7 (66.28~77.12)	73.2(300ppm 12 週)

—：対照群と比較し統計学的有意差はみられなかった

血液生化学的検査；投与前 2 週、投与開始後 5 及び 12 週に、給餌前に頸静脈から採血して、以下の項目を測定した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性、アスパレイトアミノトランスフェラーゼ(AST)活性、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、グロブリン、アルブミン、A/G 比、総ビリルビン、総コレステロール、総タンパク、無機リン、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ(γ -GTP)

また、最高投与群でみられた筋緊張攣縮の原因を調査するため、1000ppm 投与最終日(投与 36 日)に採血し、以下の項目について測定した。

グルコース、カルシウム、塩素、ナトリウム、カリウム、無機リン

統計学的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

投与 5 及び 12 週での検査結果

検査項目	週	雄			雌		
		投 与 量 (ppm)					
		40	300	1000-600	40	300	1000-600
AST	5						
	12						132↑
尿素窒素	5			167↑			
	12						
カリウム	5			113↑			116↑
	12						115↑
クレアチニン	5						
	12				71↓		
総ビリルビン	5						
	12						200↑
γ-GTP	5						133↑
	12						

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

投与 36 日での検査結果 (カリウムのみ全群記載)

検査項目	雄			雌		
	投 与 量 (ppm)					
	40	300	1000	40	300	1000
ナトリウム			103↑			
カリウム	93	100	133↑	97	89	119
塩素						104↑

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

いくつかの検査項目で統計学的に有意差のある変化がみられたが、投与期間をを通じて一貫性のある変化は、カリウム濃度の増加であった。1000ppm 投与最終日 (36 日目) の給餌 4 時間後に採血した検査結果では、雌雄いずれも対照群と比べカリウム濃度が増加し、雄では有意であった。これらの結果より 1000-600ppm 群のイヌで認められた筋緊張性痙攣及び同群の雌の一例で認められた痙攣及び運動失調は血清カリウムの上昇 (高カリウム症) による二次的なものと考えられた。1000-600ppm 群雄における 5 週目の尿素窒素の有意な増加、雌の 12 週目の AST の有意な増加は、片性で 1 回のみみられたこと、病理組織学的検査で変化がみられ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。1000-600ppm 群雌の 5 週目の γ-GTP と 12 週目の総ビリルビンの有意な増加は、検体投与前の測定値と同等であることから、検体投与による影響とは考えられなかった。40ppm 群雌の 12 週目でクレアチニンの有意な減少がみられたが、高濃度投与群でみられておらず、また、クレアチニンの減少は毒性学的に意味がない変化である。投与 36 日に行った給餌 4 時間後の検査でみられた 1000ppm 群の雄のナトリウム及び雌の塩素の有意

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

な増加は、1回の検査のみでしかみられないこと、また、片性のみでしかみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

尿検査；投与前2週、投与開始後5及び12週に、各群の全ての動物について以下の項目を検査した。

尿量、色調、外観、比重、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ビリルビン、潜血、亜硝酸塩、白血球、尿沈渣

統計学的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

性別		雄			雌		
検査項目	週	投与量 (ppm)					
		40	300	1000-600	40	300	1000-600
比重	5						
	12				102↑		

Dunnett 検定 ↓↑ : p<0.05

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの

40ppm 群雌の12週で尿比重の有意な増加がみられたが、高用量群で見られないことから検体投与の影響とは考えられない。

眼科学的検査；投与前及び投与12週に、対照群及び投与群の全ての動物を検査した。

300及び1000-600ppm 群雌雄に白内障がみられた。その発生例数及び病変の程度を次表に示す。

性別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	40	300	1000-600	0	40	300	1000-600
検査動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
白内障発現例数		0	0	2	2	0	0	1	2
程度	軽微			2	2			1	2

300及び1000-600ppm 群雌雄で見られた白内障は検体投与の影響と考えられるが、いずれの個体でも軽微であった。また、白内障のみられた個体に視覚異常はみられなかった。

臓器重量；投与終了時に全ての生存動物を対象にして、以下の臓器重量を測定した。また、体重に対する相対重量も算出した。

副腎、脳、精巣上体、腎臓、肝臓、卵巣、精巣、甲状腺及び上皮小体

統計学的に有意であった検査項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性 別		雄			雌		
		投 与 量 (ppm)					
臓 器		40	300	1000-600	40	300	1000-600
脳	絶対重量						87↓
	対体重比						
副腎	絶対重量						70↓
	対体重比						
精巣	絶対重量			60 ↓			
	対体重比						
精巣上体	絶対重量			61 ↓			
	対体重比			70↓			

Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05, ↓↑: p<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

1000-600ppm 群雄では精巣及び精巣上体の絶対重量が有意に低値であった。また、精巣上体の相対重量も有意に減少した。これらの変化は体重と良く一致しており、体重に最も影響を受けた動物は精巣及び精巣上体重量が最も低値であった。病理組織学的検査において細胞に対する障害がみられないことから、精巣及び精巣上体に対する影響は病的よりもむしろ発育遅延によると考えられた。1000-600ppm 群雌では脳及び副腎の絶対重量が有意に低値であった。しかし、同群の雄では影響がみられないこと、相対重量は対照群と同等であること、さらに、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査で検体に起因する変化がみられないことから、1000-600ppm 群雌でみられた脳及び副腎絶対重量の低値は体重減少によるものと考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了時の全ての生存動物を対象に肉眼的病理検査を実施した。
検体投与に起因する変化はみられなかった。

病理組織学的検査；投与終了時の全ての生存動物について、以下の臓器について病理標本を作製して検査した。

副腎、大動脈、皮膚、骨及び骨髄（胸骨及び肋軟骨間接部）、骨髄塗末標本、脳（前脳、中脳、後脳）、眼球（視神経を含む）、大腿骨、胆嚢、消化管（食道、胃、十二指腸、回腸、空腸、盲腸、結腸及び直腸）、心臓、腎臓、肝臓、肺（気管支を含む）、リンパ節（腸管膜及び咽頭）、卵巣、膵臓、坐骨神経、脳下垂体、前立腺、唾液腺、骨格筋、乳腺を伴う皮膚、脊髄（胸部、頸部、腰部）、脾臓、精巣（精巣上体を含む）、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）、気管、膀胱、子宮（膈を含む）、その他肉眼的に異常のみられた病変部

検体投与の影響と考えられる病変について次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性 別		雄				雌			
投与量(ppm)		0	40	300	1000 -600	0	40	300	1000 -600
臓器	検査動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
	病変								
眼球	1つ以上の水晶体病変を有する動物数			4↑	3		1	4↑	4↑
	水晶体線維腫脹/モルガニー球(水晶体後部)			2	3		1	3	3
	水晶体線維の破壊/腫大(核弓)				1				1
	後縫合の線維の不規則性			2	2			3	2
	好酸性小体増加(水晶体前部)			1	2			1	1
	好酸性小体増加(水晶体後部)			3				2	2
肝臓	クッパー細胞の色素沈着増加			1	3				2
骨髄	マクロファージの色素沈着増加				4↑	1	1	2	3
腎臓	尿細管拡張/結晶物	1	1	2	1		1	1	3
巣精	精細管成熟不全(片側)	1	1	1	1				
	精細管成熟不全(両側)				2				

Fisherの直接確率検定(申請者が実施) ↑↓: p<0.05

表中の数値は出現動物数(空欄は病変がみられなかったことを示す)

雄では300ppm群で4/4例、1000-600ppm群で3/4例、雌では40ppm群で1/4例、300ppm群で4/4例、1000-600ppm群で4/4例に、軽度から中程度の検体投与に起因する病変が眼球水晶体にみられた。最も明瞭な変化は、後水晶体嚢のY字縫合における腫大した水晶体線維の小病巣であった。幾つかの個体では、これらの線維に断裂及び腫大に起因するタンパク状の球体であるモルガニー球を形成していた。さらに、1000-600ppm群の雌雄各1例に、核弓での水晶体線維断裂及び腫大がみられた。小さい変化として後縫合の線維の不規則性がみられ、後水晶体終末線維の断裂を伴い線維縫合線が不明瞭であった。水晶体線維内に、様々な大きさ(1-4ミクロン)の球状の好酸性物が、対照群及び検体投与群でみられ、線維の腫大もしくは不規則性がみられた300ppm群以上の動物では、前及び後水晶体嚢のY字縫合付近で、これらの変性物の数が増加していた。ただ、これらの変性物の増加の重要性は不明であった。

肝臓におけるクッパー細胞の色素(ヘモジデリン)沈着増加及び骨髄におけるマクロファージの色素沈着増加は赤血球減少による二次的な変化と考えられた。腎臓にみられた変化は対照群でもみられる変化であり、腎障害を示す臨床症状や尿検査における異常を伴っていなかった。巣精でみられた精細管の成熟不全は動物が性的に未成熟であった投与初期における体重の顕著な減少によると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

以上のように、1000-600ppm 群雄では、一般状態の変化として筋緊張性攣がみられた。体重及び体重増加量が有意に減少し、摂餌量も有意に減少した。血液学的検査において赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素濃度が有意に減少し、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、網状赤血球数、ハインツ小体が有意に増加した。これらは検体投与による溶血に起因する変化と考えられた。血液生化学的検査においてカリウムの有意な増加がみられた。眼科学的検査で白内障が観察された。病理組織学的検査において眼球の水晶体に白内障の発現に伴う変化がみられた。

300ppm 群雄では、眼科学的検査で白内障が観察され、病理組織学的検査でも眼球の水晶体に白内障発現に伴う変化がみられた。

40ppm 群雄では検体投与に起因する毒性学的に重要な変化はみられなかった。

1000-600ppm 群及び 300ppm 群雌では雄の同投与群と同様の変化がみられた。

40ppm 群雌の 1/4 例に病理組織学的検査において眼球の水晶体に白内障の発現に伴う変化がみられた。

従って、本試験条件下における検体の無毒性量は雄では 40ppm (1.3mg/kg/日) と判断される。雌では最低投与量の 40ppm において 1/4 例に眼球水晶体に異常がみられたことより無毒性量は設定できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

6. 反復経口投与神経毒性

ラットを用いた反復経口投与神経毒性試験

(資料 毒性-30)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： CrI:CD®BR 系ラット、1群雌雄各12匹、投与開始時約34日齢、
投与開始時の体重範囲 (雄：213.0～254.3g、雌：133.6～177.2g)

観察期間： 90日間

投与方法： 検体を0、50、200及び800ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたって随時
摂食させた。検体を混入した飼料は2週間おきに調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率；生死を毎日観察した。

投与期間を通じて死亡例は認められなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。

いずれの投与群においても検体投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。

体重変化；試験期間中は毎週1回体重を測定し、さらに機能観察総合検査(FOB)及び自発運動量(MA)の評価日にも測定した。

800ppm群の雌雄ラットにおいて、体重及び体重増加量の減少が認められた。
200ppm以下の投与群では、体重及び体重増加量に対する影響はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

統計学的有意差のみられた体重及び体重増加量を次表に示す。

体重 (数値は対照群に対する割合)

検査日	雄			雌		
	50ppm	200ppm	800ppm	50ppm	200ppm	800ppm
21			94↓			
42						91↓
49						90↓
56						92↓
70						90↓
77						91↓
84						89↓

一元配置分散分析、Dunnett 検定 ↓:p<0.05

体重増加量 (数値は対照群に対する割合)

検査期間(日)	雄			雌		
	50ppm	200ppm	800ppm	50ppm	200ppm	800ppm
0-7			81↓			70↓
0-49						79↓
0-91						80↓

一元配置分散分析、Dunnett 検定 ↓:p<0.05

摂餌量；試験期間中、各動物の摂餌量を毎週 1 回測定した。飼料摂取量及び体重増加量から食餌効率を算出した。

800ppm群の雌雄ラットにおいて、摂餌量及び食餌効率の減少が認められた。200ppm群雄の試験63～70日において認められた摂餌量の減少は、用量相関性がみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

統計学的有意差のみられた摂餌量及び食餌効率を次表に示す。

摂餌量 (数値は対照群に対する割合)

検査期間(日)	雄			雌		
	50ppm	200ppm	800ppm	50ppm	200ppm	800ppm
0-7			88↓			86↓
63-70		90↓				

一元配置分散分析、Dunnett 検定 ↓:p<0.05

食餌効率 (数値は対照群に対する割合)

検査期間(日)	雄			雌		
	50ppm	200ppm	800ppm	50ppm	200ppm	800ppm
14-21			84↓			
0-49						84↓
0-91						84↓

一元配置分散分析、Dunnett 検定 ↓:p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量		50ppm	200ppm	800ppm
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2.9	11.7	46.9
	雌	3.7	14.4	59.3

機能検査；投与前（基準ライン）及び試験 4、8、13 週目に、全動物を対象として以下の項目について観察し、程度付けまたは測定をした。

<機能観察総合検査(FOB)>

ホームケージ内評価項目；姿勢、眼瞼閉鎖、身もだえ、旋回、噛み付き

ハンドリング評価項目；外観、ケージからの取り出し易さ、ハンドリングのし易さ、発声、立毛、尾や足の咬傷、眼瞼閉鎖、流涙、流涎

オープンフィールド内評価項目；活動性、発声、身づくろい、協調性、運動性、覚醒状態、歩様、呼吸、正向反射、痙攣、排糞、排尿、眼瞼閉鎖

オープンフィールド内評価によって判定する操作；接近反応と触覚反応、聴覚反応、痛覚反応、前肢握力、後肢握力、開脚幅

自発運動量測定時評価項目；瞳孔反応、排便、排尿

<自発運動量検査>

自発運動量は自動計測装置を用いて、移動時間と移動回数を 10 分間隔の連続する 6 分画の合計 60 分間で評価した。

以下に、対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を中心に記述する。

機能観察総合検査 (FOB)

いずれの用量群及び検査時期ともに検体による影響は認められなかった。

雄ラットの 800ppm 群では、低覚醒が試験 4 週目に、高覚醒が試験 13 週目に認められたが、相反する所見であること、自発運動検査に変化がみられなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。雌ラットでは、試験 4 週目の 50ppm 投与群の開脚幅の増加がみられたが、用量相関性がみられなかったことから、投与の影響とは考えられなかった。

自発運動量検査

いずれの検査時期及び用量群とも、検体投与に関連した自発運動への影響は認められなかった。

雌の 200ppm 群では、試験 4 週目の 2、3 及び 6 回目における 10 分間の移動回数が増加し、統計学的な有意差が認められた。しかしながら、用量相関性がみられなかったことから、この移動回数の増加は検体投与の影響ではないと考えられた。雄には移動持続時間及び移動回数において、統計学的有意差は認められなかった。

雌ラットの平均移動回数

	投与量 (mg/kg)	10 分間分画						合計
		1	2	3	4	5	6	
投与 前	0	333	233	215	152	41	21	996
	50	347	251	198	142	64	28	1029
	200	350	274	196	124	45	19	1006
	800	339	243	149	98	80	12	920
試験 4 週	0	392	236	110	171	80	30	1018
	50	411	300	165	130	86	54	1146
	200	425	356*	253*	246	197	150*	1626*
	800	404	304	173	149	109	86	1224
試験 8 週	0	393	259	150	99	90	124	1115
	50	364	247	143	109	148	82	1093
	200	399	266	196	140	142	118	1261
	800	380	261	186	166	171	149	1313
試験 13 週	0	377	272	207	155	108	92	1211
	50	364	232	203	93	132	124	1149
	200	382	253	193	111	100	89	1130
	800	374	234	186	149	175	128	1246

Kruskal-Wallis 検定、Dunn 検定 * : p < 0.05

肉眼的病理検査；各群から無作為に選抜した 6 匹を対象とした。

検体投与に関連する肉眼的病変は観察されなかった。

病理組織学的検査；最終計画殺時まで生き残った動物から各群 6 匹を無作為に選抜し、pentobarbital の腹腔内注射による麻酔後、放血により安楽死させ、全身灌流固定を行った。以下の組織について病理標本作製し、鏡検した。0 mg/kg 群と 800 mg/kg 群の組織鏡検で検体投与に関連した病変がみられなかったため、50 と 200 mg/kg 群については検査を実施しなかった。

脳（前脳、大脳、中脳、橋、延髄、小脳）、脊髄（頸部及び腰部）、坐骨神経、脛骨神経、ガッセル神経節、頸部及び腰部の背根神経線維及び神経節、頸部及び腰部の腹根神経線維及び腓腹筋

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

脳、脊髄及び筋肉はパラフィン包埋後、常法に従ってヘマトキシリンエオジン染色を施し、中枢神経系はルクソールファーストブルー・PAS 染色も実施した。坐骨神経、脛骨神経及びガッセル神経節はグリコールメタアクリレートに包埋後、ヘマトキシリンエオジン染色を施した。背根神経線維と神経節及び腹根神経線維は、1%オスミウムテトラオキシドで後固定し、エポキシ包埋後、トルイジンブルー染色を施した。

検体投与に関連する組織学的病変は観察されなかった。

以上、雌雄ラットの 800ppm 投与群で体重、体重増加量、摂取量及び食餌効率の減少が観察されたため、雌雄ラットにおける無毒性量は 200ppm (雄 ; 11.7mg/kg/日、雌 ; 14.4mg/kg/日) であると判断される。なお、雌雄ラットに対する検体投与に関連した神経毒性的な影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

7. 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

(1) ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(資料 毒性-17)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試生物： Crl:CD@BR 系ラット、1群雌雄各 92 匹(投与後 2 週間及び 12 か月に実施した細胞増殖活性試験及び生化学検査に使用した 1 群雌雄各 10 匹を含む)

開始時約 6 週齢

投与期間： 雄 23 か月(投与期間)

雌 24 か月(投与期間)

投与方法： 検体を飼料中に 0、10、40、200 及び 400ppm の濃度で混合し、23 か月間(雄)あるいは 24 か月間(雌)自由摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。投与後 2 週間及び 12 か月に各群から雌雄各 10 匹を選び、5 匹を細胞増殖測定に、残りの 5 匹を P-450 活性及びペルオキシゾーム増殖などの生化学検査に供した。なお、雄の投与期間については対照群及び高用量群の生存率が 25%に近づいたため 23 か月で終了した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

検体投与に関連した一般状態の変化はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

検体投与終了時点の生存率を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	10	40	200	400
生存率 (%)	雄	32	34	44	43	31
	雌	38	40	26	34	37

検体投与による生存率への影響は認められなかった。

体重変化；全ての生存動物について、試験開始3か月は毎週1回、それ以後は2週間に1回体重を測定した。

体重変動を次表に示す。

性別 投与量(ppm)	雄				雌			
	10	40	200	400	10	40	200	400
週								
1								96↓
2								95↓
3								94↓
4								95↓
5								95↓
6								94↓
7				96↓				93↓
8								94↓
9				96↓				95↓
10								93↓
11				97↓				93↓
12		103↑						93↓
13								94↓
14								93↓
16				96↓				93↓
18								93↓
20								92↓
22								92↓
24								93↓
26								92↓
28								93↓
30		105↑						92↓
32								92↓

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓:p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

(続き)

性別 投与量(ppm)	雄				雌			
	10	40	200	400	10	40	200	400
週								
34								93↓
36								93↓
38								93↓
40		104↑						93↓
42								93↓
44		105↑						93↓
46		105↑						93↓
48		105↑						92↓
50								92↓
52								92↓
54								
56								
58								
60								
62								
64								
66								
68								
70								
72								
74								
76								
78								
80								
82								90↓
84								
86								88↓
88								87↓
90								85↓
92								87↓
94								85↓
96		112↑						85↓
97								86↓
98								86↓
100								81↓
102								82↓

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

総体重増加量を次表に示す。

性別 投与量(ppm)	雄				雌			
	10	40	200	400	10	40	200	400
週 1		107↑						77↓
2					89↓	82↓	87↓	80↓
3		111↑						86↓
4						124↑		
5		117↑	120↑					
6								
7				78↓				62↓
8			121↑					
9			82↓	72↓				
10				129↑				16↓
11		126↑						
12		136↑	145↑					
13		80↓	55↓		338↑	408↑		
14								37↓
16				52↓		65↓		
18						168↑		
20							58↓	
22								
24	172↑	181↑			144↑	165↑	151↑	
26								
28				156↑			219↑	
30	320↑	330↑	330↑				61↓	67↓
32	31↓	21↓	32↓					
34		138↑						
36				64↓				
38								
40					544↑			
42						49↓	30↓	43↓
44								
46								
48						32↓		65↓
50							414↑	
52								
54								
56								
58					257↑			
60								
62								
64								
66								
68								
70								
72								
74								
76								
78								

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

(続き)

性別 投与量(ppm)	雄				雌			
	10	40	200	400	10	40	200	400
週								
80								
82								
84		↑ ^{a)}						
86								
88								
90								
92								
94								
96								
97								
98								
100								
102								

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

a)対照群の増加量がマイナスで40ppm群の増加量がプラスであったため、変動率を算出できず

次表に各群の最終平均体重及び平均体重増加量を示す。

投与量 (ppm)		10	40	200	400
平均体重	雄	105	112	104	96
	雌	98	103	93	82↓
平均体重増加量	雄	105	115	104	94
	雌	99	106	90	75↓

分散分析及び Dunnett の検定 ↑↓: p<0.05

表中の数字は対照群に対する変動値(%)

雄では試験期間中全ての検体投与群で散発的に体重及び体重増加量の有意な増加あるいは減少がみられたが、投与期間や用量との関連性がみられず毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。雌では400ppm群の最終平均体重及び体重増加量はそれぞれ対照群の82及び75%と有意に低値であった。

摂餌量及び食餌効率；試験開始3か月は毎週1回、それ以後は2週間に1回測定し、1日1匹当たりの平均飼料摂取量及び食餌効率を算出した。

次表に試験期間を通しての摂餌量及び食餌効率を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

投与量 (ppm)		10	40	200	400	
平均飼料摂取量	雄	0-13 週	103	102	101	98
		0-52 週	103	102	101	99
		0-97 週	104	105	104	102
	雌	0-13 週	101	101	99	95↓
		0-52 週	102	102	100	98
		0-102 週	103	101	99	99
平均飼料効率	雄	0-13 週	101	102	101	99
		0-52 週	100	102	100	96
		0-97 週	100	107	100	90
	雌	0-13 週	104↑	102	101	91↓
		0-52 週	106	103	100	89↓
		0-102 週	100	104	92	75↓

分散分析 及び Dunnett の検定 ↑↓: p<0.05

表中の数字は対照群に対する変動値(%)

400ppm 群雌では試験 0-13 週の期間の飼料摂取量が有意に減少したが、同群の全試験期間(0-102 週)の平均飼料摂取量は対照群の 99%であり、有意差はみられないことから、各投与群の飼料摂取量に差はないと考えられた。400ppm 群雌では試験期間を通じ飼料効率の有意な減少がみられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		10	40	200	400
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.422	1.62	8.37	16.8
	雌	0.528	2.15	10.7	23.0

血液学的検査；投与 3、6、12、18 及び 22（雌は 23）か月目に各群雌雄 10 例について約 16 時間絶食させた後、眼窩静脈叢から採血し以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(Ht)、平均赤血球色素量(MCH)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球色素濃度(MCHC)、白血球百分比、網状赤血球数

統計学的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性別		雄				雌			
検査項目	月	投与量 (ppm)							
		10	40	200	400	10	40	200	400
赤血球数	3				86↓			92↓	91↓
	6				90↓		96↓		92↓
	12				86↓				89↓
	18							90↓	83↓
	22/23		127↑						
Hb	3							95↓	93↓
	6							94↓	93↓
	12								91↓
	18								89↓
	22/23		115↑						
Ht	3				91↓				91↓
	6							92↓	90↓
	12								91↓
	18								89↓
	22/23		115↑						
MCV	3				106↑			104↑	
	6				105↑				
	12				111↑				
	18								105↑
	22/23		92↓	92↓	93↓				
MCH	3				111↑				
	6				105↑				
	12				111↑				
	18								
	22/23		95↓	95↓				95↓	
網状赤血球数	3			154↑	167↑				157↑
	6		176↑	207↑	193↑				
	12				197↑				
	18								
	22/23								
リンパ球(%)	3								
	6								
	12								
	18								
	22/23			144↑					
好酸球数(%)	3								
	6								
	12								
	18								
	22/23		358↑						
単球数(%)	3								51↓
	6								
	12								
	18								
	22/23								

Dunnett 検定または Mann-Whitney U 検定、 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

400ppm 雌雄でみられた赤血球数、Ht、Hb（雌のみ）の有意な減少及び MCV、網状赤血球、MCH（雄のみ）の有意な増加は検体投与による溶血に起因する変化と考えられた。網状赤血球数の増加は赤血球数減少に対する反応性の造血亢進と考えられる。その他の有意な変化については以下のように考察した。

40 及び 200ppm 群雄でみられた網状赤血球数の有意な増加は赤血球数、Hb、Ht に変化がみられないことから重要な変化ではないと考えられた。200ppm 群雌でみられた赤血球数、Hb、Ht の有意な減少及び MCV の有意な増加はその程度が軽度であり、網状赤血球数の増加がみられないことから重要な変化でないと考えられた。その他の有意差のみられた変化も投与量増加に伴う増加がみられないこと、その程度が軽度であることから検体投与に起因する影響ではないか、生物学的意味がないため重要な変化ではないと考えられた。

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

アルカリフォスファターゼ(ALP)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、ソルビトール脱水素酵素(SDH)、尿素窒素、総タンパク、クレアチニン、アルブミン、グロブリン、ビリルビン、総コレステロール、グルコース、カルシウム、ナトリウム、カリウム、無機リン、塩素

統計学的に有意差のみられた検査項目を次表に示す。

検査項目	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)							
		10	40	200	400	10	40	200	400
ALT	3				148↑			64↓	68↓
	6						55↓		
	12								
	18								77↓
	22/23	72↓							
AST	3							79↓	
	6							68↓	
	12								
	18				49↓		69↓	66↓	68↓
	22/23								
SDH	3							71↓	68↓
	6							72↓	
	12	80↓		82↓					
	18				47↓			78↓	79↓
	22/23							66↓	67↓
ビリルビン	3				147↑				
	6				119↑				
	12								
	18								
	22/23								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

(続き)

検査項目	性別	雄				雌			
		投与量 (ppm)							
月		10	40	200	400	10	40	200	400
総コレステロール	3			125↑					
	6				123↑				
	12								
	18								131↑
	22/23								132↑
グルコース	3								115↑
	6								
	12								
	18			124↑	131↑				
	22/23								
尿酸窒素	3								
	6								
	12								
	18								
	22/23				140↑				
クレアチニン	3				86↓				
	6								
	12								
	18	80↓			80↓				
	22/23			27↓					133↑
無機リン	3								88↓
	6								
	12								
	18								
	22/23								
カルシウム	3					96↓		96↓	
	6								
	12								
	18								
	22/23			89↓			94↓	96↓	96↓
ナトリウム	3	98↓	98↓		98↓			98↓	99↓
	6								97↓
	12								
	18			98↓	98↓				
	22/23								
塩素	3				102↑				
	6			103↑	103↑				
	12			103↑	103↑	102↑	103↑	105↑	105↑
	18								
	22/23								

Dunnett 検定または Mann-Whitney U 検定、 ↑↓ : p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

いくつかの検査項目で対照と比べ有意差がみられたがいずれも以下に示す理由により毒性学的に重要な変化とは考えられなかった。

各投与群でみられた肝臓関連酵素 ALT、AST、SDH の有意な減少がみられたが、肝臓酵素活性の軽度の減少は生物学的に意味がない。400ppm 群雄の3か月目の検査でみられた ALT の増加はその程度が軽度であること、他の肝臓関連酵素が増加していないことから重要な変化とは考えられなかった。その他の検査項目の有意な変化についても、全てが軽度であり、また、投与量増加に伴う増加がみられないこと、1回の検査のみで有意であり、他の検査時期では有意ではないなどの理由により重要な変化とは考えられなかった。

尿検査； 血液学的検査に用いた動物から、血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目を検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

尿量、浸透圧、ウロビリノーゲン、pH、血色素、潜血、ブドウ糖タンパク、ビリルビン、ケトン、色調、透明度、沈渣

いずれの検査項目にも検体投与に起因する変化はみられなかった。

眼科学的検査；投与開始前、投与 346 日(50 週) 及び 666 日(96 週) に、対照群及び投与群の全ての生存動物について、その両眼を斜照法及び倒像検眼鏡を用いて検査した。

各群の投与 50 及び 96 週の検査でみられた主な所見を次表に示す。

時 期 査	性 別	雄					雌				
		投 与 量 (ppm)									
		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
50 週	検査動物数	82	79	76	76	78	79	82	77	81	78
	角膜混濁					1		1			
	白内障					1		1	2		2
	網膜変性	1	1	1				2	2		
	シュルンゲン小体	1				1			1		
96 週	検査動物数	24	22	31	27	21	31	29	23	27	32
	角膜混濁	1		1	1	1					
	白内障			1		1	1		1		2
	シュルンゲン小体			1							

表中の数値は出現動物数(空欄は病変がみられなかったことを示す)

白内障を含む幾つかの病変が観察されたが、いずれの病変も投与量増加に伴う増加がみられず検体投与の影響とは考えられなかった。すべての病変は加齢に伴う病変と考えられた。

臓器重量；12 か月後及び最終計画殺（雄；23 か月後、雌；24 か月後）の動物を対象にして、以下の臓器重量を測定した。また、体重及び脳に対する相対重量も算出した。

肝臓、腎臓、心臓、脾臓、副腎、精巣、卵巣、脳

統計学的に有意であった検査項目を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性別		雄				雌						
臓器	月	投与量 (ppm)										
		10	40	200	400	10	40	200	400			
最終体重	12		111↑									
	23/24								83↓			
肝臓	絶対重量	12	116↑									
		23/24										
	対体重比	12										
		23/24										
対脳重比	12											
	23/24											
腎臓	絶対重量	12										
		23/24										
	対体重比	12							124↑			
		23/24										
対脳重比	12											
	23/24											
心臓	絶対重量	12										
		23/24										
	対体重比	12							113↑			
		23/24							119↑			
対脳重比	12											
	23/24					114↑						
卵巣	絶対重量	12	/									
		23/24										
	対体重比	12									193↑	
		23/24										
	対脳重比	12										
		23/24										196↑

分散分析 または Dunnett 検定、 ↑: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

いくつかの臓器で統計学的に有意な変化がみられたが、いずれの臓器でも変化に関連する肉眼的及び組織学的変化はみられないことから体重の増減に起因する二次的な変化であり、検体投与に起因する変化とは考えられなかった。雌でみられた卵巣重量の有意な増加は自然発生性病変（嚢胞）による見かけ上の変化と考えられた。また、この変化には投与量増加に伴う増加もみられなかった。

肉眼的病理検査；途中死亡例、試験開始 12 か月後の各群雌雄各 10 匹及び試験終了時の全ての生存動物を対象に肉眼的病理検査を実施した。

12 か月目の検査では 400ppm 群雄 1 例の肝臓に検体投与の影響と考えられるび慢性暗色巣がみられた。その他の動物では検体投与に起因する変化はみられなかった。

途中死亡例及び試験終了時の生存例では次表に示すように 400ppm 群雌雄に脾臓肥大の発生頻度が軽度に増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

性 別		雄					雌				
投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
臓器	検査動物数	62	62	62	62	62	61	62	62	62	62
	所見										
脾臓	肥大	2	2	3	4	9	1	1	2	2	7

病理組織学的検査；途中死亡例、途中計画殺及び投与終了時の全ての生存動物について以下の臓器を保存した。最高投与群、対照群及び途中死亡例については全ての組織について検査を実施した。10、40及び200ppm群の途中計画屠殺動物及び最終生存動物については肝臓、腎臓、肺、標的の可能性のある臓器及び肉眼的病変を検査した。

皮膚、骨髄（胸骨及び大腿骨）、リンパ節（腸管膜及び下顎）、脾臓、胸腺、大動脈、心臓、気管、肺、唾液腺、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、小腸（十二指腸、回腸及び空腸）、大腸（盲腸、結腸及び直腸）、腎臓、膀胱、脳下垂体、甲状腺-上皮小体、副腎、前立腺、精巣、精巣上体、精嚢、乳腺、卵巣、子宮（頸部、体部、角部）、膈、脳（大脳、中脳、小脳、延髄/橋）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、骨格筋、大腿骨、胸骨、眼球、外涙腺、ハーダー腺、その他肉眼的に異常のみられた病変部

[非腫瘍性病変]

主要な非腫瘍性病変を表1に示す。

また、以下に検体投与に関連した非腫瘍性病変を要約した。

12か月途中計画殺；雄

投 与 量(ppm)		0	10	40	200	400
臓 器	検査動物数	10	10	10	10	10
	所見					
肝 臓	限局性嚢胞状変性					2↑
	限局性肝細胞変性					4↑
	好酸性変異細胞巣	2	6	2	4	10↑
	小葉中心性肝細胞肥大					6↑
脾 臓	髓外造血亢進	1	4	5	4	7↑
	大食細胞色素沈着		3	6↑	8↑	4↑
骨 髄	混合細胞型過形成					2↑

Cochran-Armitage の傾向検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は出現動物数（空欄は病変がみられなかったことを示す）

12か月途中計画殺；雌

投 与 量(ppm)		0	10	40	200	400
臓 器	検査動物数	10	10	10	10	10
	所見					
肝 臓	色素沈着クッパー細胞増加	1			1	4↑
	小葉中心性肝細胞肥大				2	6↑

Cochran-Armitage の傾向検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は出現動物数（空欄は病変がみられなかったことを示す）

途中死亡及び最終計画殺；雄

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

投与量(ppm)		0	10	40	200	400
臓器	検査動物数					
	所見	62	62	62	62	62
肝臓	好酸性変異細胞巢	16	15	18	22	24↑
	小葉中心性肝細胞肥大				3↑	19↑

Cochran-Armitage の傾向検定 ↓↑ : p<0.05

表中の数値は出現動物数 (空欄は病変がみられなかったことを示す)

途中死亡及び最終計画殺 ; 雌

投与量(ppm)		0	10	40	200	400
臓器	検査動物数					
	所見	61	62	62	62	62
肝臓	アポトーシス	2	2	1	3	7↑
	限局性肝細胞変性		2	3	2	9↑
	小葉中心性肝細胞肥大	1	1		1	22↑

Cochran-Armitage の傾向検定 ↓↑ : p<0.05

表中の数値は出現動物数 (空欄は病変がみられなかったことを示す)

400ppm 群でみられた骨髄の混合細胞型過形成 (雄)、脾臓の髓外造血亢進及び色素沈着大食細胞 (雄)、肝臓の色素沈着クッパー細胞 (雌) が有意に増加した。クッパー細胞にみられた色素はマロリー法による染色の結果、ヘモジデリンないしはその他の鉄の酸化物あるいは塩であることが判明した。

また、色素沈着大食細胞の増加は検体投与に起因する溶血により生じたヘモジデリン及びその他のヘモグロビンの異化物の蓄積によるものと考えられた。以上の変化は血液学的検査でみられた溶血に対する二次的な反応であり、有害な作用とは考えられなかった。400ppm 群雌雄でみられた小葉中心性肝細胞肥大の有意な増加は滑面小胞体の増生及びそれに関連した酵素が誘導される肝臓の非特異的な薬理学的反応であり、有害な作用とは考えられなかった。400ppm 群雄の 12 か月計画屠殺群でみられた肝臓の限局性嚢胞状変性及び 400ppm 群雌雄でみられた肝臓の限局性肝細胞変性の有意な増加は検体投与による肝細胞毒性を示す所見と考えられた。400ppm 群雄でみられた好酸性変異細胞巢の発生頻度の増加は検体投与に起因する変化と考えられるが、その生物学的意義は不明である。400ppm 群雌でみられたアポトーシスの有意な増加は、薬理学的な肥大を示す肝臓でアポトーシスがみられる場合には、肝細胞障害よりも、過剰の細胞を除去するための制御機構と考えられるので、有害でない薬理学的変化と考えられた (申請者注 ; 400ppm 群雌の肝細胞におけるアポトーシスの有意な増加は、肝細胞肥大ならびに肝細胞増殖と関連づけることはできず、その原因については不明であった。しかし、アポトーシスの病変程度は軽微～軽度と弱く、その発生の大部分 (7 例中 6 例) は途中死亡ないし切迫殺動物に認められ、計画殺動物での発生は 1 例のみであったことから、本病変は二次的変化である可能性が考えられた。よって、アポトーシスの増加は毒性学的に重要な変化とは考えられなかった。) 。その他、12 か月後の 400ppm 群雄で脾臓のうっ血が有意に増加したが、うっ血には特異的な原因がなく、最終計画殺群では有意差がみられないことから、検体投与に起因する変化とは考えられなかつ

た。また同群雌で肺の組織球症が有意に増加したが、肺の組織球症は成熟ラットでよくみられる変化であり、最終計画殺群で有意差がみられないことから、生物学的に重要な変化とは考えられなかった。

[腫瘍性病変]本試験でみられた腫瘍性病変を表2に示した。種々の腫瘍がみられたが、いずれも試験に使用した系統の同週齢の動物にみられるものであり、検体投与に起因する腫瘍の発生はみられなかった。400ppm 群雄で12か月目の途中計画殺動物において下垂体の前葉腺腫が有意に増加したが同腫瘍の2年間投与では対照群と比べ発生率に差がないことから検体投与の影響とは考えられなかった。次表に示すように400ppm 群雄で精巣の間細胞腫（ライディツヒ細胞腫）の増加が有意に増加した。

投与量(ppm)		0	10	40	200	400
臓器	検査動物数	62	62	62	62	62
	所見					
精巣	間細胞腫			1	1	3 [†]
	間細胞過形成	23	21	15	20	19
	間細胞腫を有する動物の割合(%)			1.6	1.6	4.8

Cochran-Armitage の傾向検定 †↓: p<0.05

表中の数値は出現動物数（空欄は病変がみられなかったことを示す）

400ppm 雄でみられた間細胞腫については以下のような理由により検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

- ・ 間細胞腫は間細胞過形成より生じるが、過形成の発生頻度に投与量増加に伴う増加はみられなかった。
- ・ 本試験における400ppm 群雄の間細胞腫発生頻度4.8%(3/62)は試験機関における背景データ(0~4.9%)の範囲内であった。
- ・ 本試験における400ppm 群雄の間細胞腫発生頻度4.8%は試験機関における背景データの発生率(9/351)に対する検定(Fisherの直接確立法)で統計学的に有意ではなかった。

[申請者注]

200ppm 群雌の途中死亡例及び全動物で副腎の褐色細胞腫が有意に増加したが、雄ではみられないこと及び最高投与群の400ppm 群では有意な増加がみられないことから検体投与の影響とは考えられなかった。

細胞増殖活性測定；投与後2週間及び12か月に各投与群より雌雄各5匹を選び、0.5Nの炭酸水素ナトリウム緩衝液に20mg/mL濃度に溶解した5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を皮下に処理した。処理3日後に動物を殺し、組織を摘出して中性緩衝ホルマリン固定した。肝臓との病理組織標本作製し、DNAに取り込まれたBrdUを免疫組織学分析を行い調べた。なお、雄は全群について測定し、雌については対照群及び最高投与群のみを測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

結果を次表に示す。

性 別		雄				雌
検 査 項 目	週	投 与 量 (ppm)				400
		10	40	200	400	
BrdU 標識率	2	209	123	286	964↑	80
	52	100	106	109	209	103

分散分析または Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

400ppm 群雄で投与 2 週目の検査においてのみ標識率の有意な増加がみられた。しかしながら 1 年目の検査では有意な増加がみられず、病理組織学的検査においても肝臓の細胞分裂像増加がみられないことから、検体による細胞増殖亢進に持続性がないと考えられた。

生化学的検査；投与後 2 週間及び 12 か月に各投与群より雌雄各 5 匹を殺して肝臓を摘出し、肝臓重量を測定後ホモジナイズした。肝ホモジネートを遠心してペルオキシゾーム画分及びミクロソーム画分に分画した。ペルオキシゾーム画分は β-酸化活性を、ミクロソーム画分は P-450 濃度を測定した。また、両画分のタンパク量も測定した。

統計学的に有意であった検査項目を次表に示す。

性 別		雄				雌			
検 査 項 目	週	投 与 量 (ppm)							
		10	40	200	400	10	40	200	400
肝 臓 重 量	絶対重量								
	対体重比								121↑
	絶対重量								
	対体重比								
β-酸化活性	2								
	52				169↑				
P-450 量	2								
	52								144↑

分散分析 または Dunnett 検定 ↑↓ p<0.05

表中の数値は対照群に対する変動率(%)

400ppm 群雄では肝ペルオキシゾーム β-酸化活性を軽度に誘導されたと考えられたが、血液生化学的検査においてコレステロールやトリグリセライドの減少はみられず、病理組織学的検査において肝腫瘍の増加がみられないことから有害な作用ではないと考えられた。雌では P-450 を軽度に誘導すると考えられるが、この変化は薬理学的反応である肝細胞肥大の発生頻度の増加と対応しており有害な作用とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

以上のように、400ppm 群雄では、血液学的検査において赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の有意な減少及び平均赤血球血色素量、平均赤血球容積、網状赤血球の有意な増加がみられ、これらは検体投与による溶血に起因する変化と考えられた。また、病理組織学的検査において、肝臓の限局性肝細胞変性、好酸性変異細胞巣、小葉中心性肝細胞肥大、骨髄の混合細胞型過形成などの変化が有意に増加した。肝臓の生化学的検査においてペルオキシゾーム活性が有意に増加した。

400ppm 群雌では最終平均体重及び平均体重増加量が有意に減少した。また、飼料効率の有意な減少がみられた。血液学的検査では 400ppm 群雄と同様の変化がみられた。病理組織学的検査において、肝臓のアポトーシス、限局性肝細胞変性、小葉中心性肝細胞肥大、色素沈着クッパー細胞などの変化が有意に増加した。肝臓の生化学的検査において P-450 活性が有意に増加した。

200ppm 以下の投与群では検体投与に起因する毒性学的に重要な変化はみられなかった。従って、本試験条件における検体の無毒性量は雌雄いずれも 200ppm (雄 8.37mg/kg/日、雌 10.7mg/kg/日) と判断された。また、検体の発がん性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 1-1 主要非腫瘍性病変【計画殺(53週)】

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
	臓器	所見名	剖検動物数									
				10	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	アポトーシス										1	
	限局性嚢胞状変性						2↑					
	限局性肝細胞変性						4↑					
	小葉周辺性肝細胞脂肪化		4	4	5	5	4	2		2	1	
	好酸性変異細胞巣		2	6	2	4	10↑		1	2	2	3
	胆管過形成		6	3	7	4	6	8	5	7	6	5
	小葉中心性肝細胞肥大						6↑				2	6↑
	胆管炎症		10	8	8	6	10	9	10	10	10	8
	亜急性/慢性炎症		10	10	9	7	6	9	8	8	6	7
	色素沈着クッパー細胞増加							1			1	4↑
心臓	検査動物数		10	0	0	0	10	10	0	0	0	10
	心筋症		9				2	5				4
肺	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	組織球症、肺泡			2		1	1				1	2↑
腎臓	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	結石		2	4	4	4	5	9	10	9	9	10
	移行上皮細胞過形成		2	4	3	4	5	9	10	8	9	9
	慢性進行性腎症		10	10	9	10	10	7	9	1	6	8
脾臓	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	うっ血		6	8	9	8	10↑	10	9	8	10	9
	髓外造血亢進		1	4	5	4	7↑	6	5	5	8	8
	大食細胞色素増加			3	6↑	8↑	4↑	10	10	9	10	10
骨髄	検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	混合細胞型過形成						2↑					
精巣	検査動物数		10	2	0	0	10					
	精細管変性/萎縮		2	2								
眼球	検査動物数		10	0	0	0	10	10	1	0	0	10
	眼球外の炎症(採血手技による)		2				4	5				2

Cochran-Armitage 傾向検定 ↑↓: p<0.05

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 1-2 主要非腫瘍性病変【途中死亡】

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
	臓器	剖検動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
途中死亡		肝臓	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41
	アポトーシス		3	1	2	1	3	2	1	1	3	6
	限局性嚢胞状変性		16	12	7	9	9		1		1	2
	中央裂肝細胞脂肪化		6	10	11	9	9	13	12	15	11	5↓
	小葉周辺性脂肪変化		16	15	20	10	11	10	15	19	11	8
	好酸性変異細胞巣		6	8	3	6	11	7	8	9	7	9
	髓外造血亢進		4	5		4	2	8	9	7	19	13
	胆管過形成		30	26	21	17	32	9	16	11	21↑	15
	小葉中心性肝細胞肥大						10	1	1		1	14
	胆管炎症		31	29	27	22	29	9	16	19	27↑	19
	亜急性/慢性炎症		16	12	11	10	12	13	10	12	17	13
	細胞分裂像増加			2				4	7	2	1	4
	色素沈着クッパー細胞増加		4	8	9	4	7	6	5	10	8	6
途中死亡	心臓	検査動物数	45	43	36	37	45	38	37	46	41	39
		心筋症	33	38	24	26	27	21	22	21	24	13
		筋線維鈣質沈着	2	6	4	1	5	1		1		1
		血管鈣質沈着	3	3	4	2	5				1	
途中死亡	肺	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		肺泡組織球症	8	6	5	6	6	6	6	5	5	9
		亜急性/慢性炎症	13	16	16	18	18	16	19	19	16	17
途中死亡	腎臓	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		結石	16	16	17	15	19	36	36	44	37	37
		水腎症	9	10	4	8	6	7	5	11	7	4
		移行上皮細胞過形成	30	31	24	28	30	37	37	44	39	36
		慢性進行性腎症	42	42	31	35	43	30	27	33	33	31
		尿管色素沈着	17	16	9	13	13	9	12	7	12	11
		腎盂腎炎	12	8	7	4	11	7	2	4	8	8
途中死亡	脾臓	検査動物数	45	43	36	38	45	38	36	46	41	39
		髓外造血亢進	17	16	7	20	16	18	22	11	26	23
		大食細胞色素増加	22	25	24	24	26	33	29	40	37	32
途中死亡	骨髄	検査動物数	45	43	36	38	45	38	36	46	41	39
		顆粒球細胞過形成	10	11	8	8	12	8	9	5	12	16
		混合細胞型過形成	10	6	5	14	7	9	8	5	11	7

Fisherの直接確率検定(申請者が実施) ↑↑: p<0.05 ↓↓: p<0.01

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 1-2 主要非腫瘍性病変【途中死亡】—続き—

検査時期	性別		雄					雌														
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400										
臓器	剖検動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39										
	所見名																					
途中死亡	精巣	検査動物数	45	43	36	38	45	/														
		精細管変性/萎縮	23	26	12	20	20															
		間細胞過形成	15	11	7	9	9															
	卵巢	検査動物数	/										38	37	45	41	39					
		萎縮											33	31	37	39	28					
		嚢胞											22	6↓	10↓	9↓	7↓					
		ヘルトリ様細胞過形成											17	23	22	24	15					
	眼球	検査動物数											45	43	34	38	45	38	36	46	41	38
		白内障											1		1	1	3	2	1		1	1
		角膜のびらん/潰瘍											2	1	3		1					2
急性炎症		3						4	2	1	2				2	1						
角膜症		7						5	2	3	5	3	1	1	4	3						

Fisherの直接確率検定(申請者が実施) †↓:p<0.01

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 1-3 主要非腫瘍性病変【全動物】

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
	臓器	所見名	剖検動物数									
全動物	肝臓	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
		アポトーシス	4	1	3	1	4	2	2	1	4	7↑
		限局性嚢胞状変性	23	21	20	23	22	3	1	1	3	6
		限局性肝細胞変性	3	4	1	4	12		2	3	2	9↑
		中央裂肝細胞脂肪化	20	21	26	19	14	29	24	25	23	20
		小葉周辺性肝細胞脂肪化	27	24	31	22	19	14	24	27	18	13
		好酸性変異細胞巣	18	21	20	26	34↑	15	18	19	20	23
		髓外造血増加	8	7	6	10	5	16	21	9	26	20
		胆管過形成	50	45	37	35	52	34	33	29	40	37
		小葉中心性肝細胞肥大				3	25↑	1	1		3	28↑
		胆管炎症	54	53	53	48	52	37	41	40	47	43
		亜急性/慢性炎症	35	29	35	26	23	35	35	30	34	32
		細胞分裂像増加		2	3	1	1	4	9	2	3	7
		色素沈着クッパー細胞増加	6	8	9	4	7	9	6	11	10	11
	心臓	検査動物数	72	43	36	38	72	71	37	46	41	72
		心筋症	58	38	24	27	45	42	22	21	24	33
		亜急性/慢性炎症	5	4	3	2	5		3	5	3	3
		筋線維鈣質沈着	2	6	4	1	5	1		1		1
		血管鈣質沈着	3	3	4	2	5				1	
	肺	検査動物数	72	43	36	38	72	71	37	46	41	72
		肺胞組織球症	11	8	5	7	9	10	8	7	6	14
		亜急性/慢性炎症	31	34	43	40	36	37	41	34	36	43
	腎臓	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	71
		結石	28	28	33	26	26	67	71	69	67	68
		水腎症	14	13	4	12	13	9	8	13	10	8
		移行上皮細胞過形成	49	53	49	54	51	69	72	68	69	66
		慢性進行性腎症	69	70	66	69	70	59	58	49	58	61
		尿管色素沈着	25	24	18	23	23	21	26	13	17	28
		腎盂腎炎	15	13	7	7	13	9	4	7	9	10
	脾臓	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
		うっ血	7	9	10	11	12	11	9	9	11	10
		髓外造血抗進	29	34	34	41	40	45	48	30	51	53
		色素貧食細胞増加	29	44	42	46	40	65	63	65	68	65
		萎縮									3↑	2↑

Fisher の直接確率検定 (申請者が実施) †↓ : p<0.05

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 1-3 主要非腫瘍性病変【全動物】－続き－

検査時期	性別		雄					雌														
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400										
臓器	剖検動物数		72	72	72	72	72	71	72	72	72	72										
	所見名																					
全動物	骨髓	検査動物数	72	72	71	72	72	71	71	72	72	72										
		顆粒球細胞過形成	16	19	25	15	21	11	15	6	15	18										
		混合細胞型過形成	16	9	6	21	14	14	15	9	12	14										
	精巣	検査動物数	72	64	62	62	72	/														
		精細管変性/萎縮	25	26	14	20	22															
		浮腫	8	10	10	13	8															
		間細胞過形成	23	21	15	20	19															
		多発性動脈炎	44	37	42	47	41															
	卵巣	検査動物数	/										71	39	52	42	72					
		萎縮											54	33	42	40	51					
		嚢胞											5	7	13	9	12					
		セルトリ様細胞過形成											29	25	27	25	33					
	眼球	検査動物数											72	36	34	38	72	71	37	46	41	71
		白内障											3		1	1	7	2	1		1	3
		角膜のびらん/潰瘍											2	1	3		2					3
		急性炎症											3	4	2	1	2				2	1
		眼球外の炎症											2	1			4	5	1			2
		角膜症											11	5	2	3	5	4	1	1	4	3

Fisher の直接確率検定 (申請者が実施)

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-1 腫瘍性病変【計画殺（53 週）】

検査時期	性別		雄					雌					
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400	
	臓器	剖検動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
計画殺53週		下垂体	検査動物数	10	0	0	2	10	10	4	3	0	10
	B 前葉腺腫		1			2	4↑	5	4	3		3	
	甲状腺	検査動物数	10	0	0	0	10	10	0	0	0	10	
		B C細胞腺腫	1					2					
		B 濾胞細胞腺腫										1	
	副腎	検査動物数	10	0	0	0	10	10	0	1	0	10	
		B 良性褐色細胞腫						1					
	脳	検査動物数	10	0	0	1	10	10	3	0	0	10	
		M 星状膠細胞腫					1						
	子宮	検査動物数	/					10	0	0	0	10	
		B 子宮内膜間質ホリリア											
	乳腺	検査動物数	/					9	4	3	1	10	
		B 腺腫									1		
		B 線維腺腫							1		1	1	
		B 脂肪腫											1
		M 癌						2					1
	皮膚	検査動物数	10	0	0	1	10	10	1	1	0	10	
		B 角化棘細胞種	1				1						
		M 線維肉腫					1						

M：悪性 B：良性

Cochran-Armitage 傾向検定 ↑↓： p<0.05

空欄は「0」を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変【途中死亡】

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
臓器	剖検動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
	所見名											
途中死亡	肝臓	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		B 肝細胞腺腫	2	2		3	1	1	1	1		1
		B 胆管腫					1					
		M 血管肉腫									1	
	胃	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		M 扁平上皮癌				1						
	十二指腸	検査動物数	43	41	34	38	45	38	37	46	41	38
		M 癌								2		
	唾液腺	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		M 腺癌						2				
	膵臓	検査動物数	45	43	35	38	45	38	37	46	41	39
		B 島細胞腺腫	2	3	4	5	5	3	3	1	1	
		M 島細胞癌										1
	心臓	検査動物数	45	43	36	37	45	38	37	40	41	39
		M 血管肉腫		1								
	腎臓	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
B 尿細管腺腫		1									1	
M 尿細管癌		1								1		
脾臓	検査動物数	45	43	36	38	45	38	37	46	41	39	
	M 血管肉腫				1							
	M LGL 性白血病	1	1	1	3	3						
胸腺	検査動物数	40	38	29	34	41	33	33	41	37	34	
	M 悪性胸腺腫					1						
腸間膜リンパ節	検査動物数	41	43	36	38	45	37	37	46	41	39	
	B 血管腫			1								
骨髄	検査動物数	45	43	36	38	45	38	36	46	41	39	
	M 顆粒球性白血病	1					1					
	M 赤血球性白血病						1				1	
下垂体	検査動物数	45	43	36	37	45	38	37	46	41	39	
	B 前葉腺腫	35	35	25	27	30	34	36	41	35	29	
	B 後葉細胞腫					1						
	M 前葉癌			1							1	

M : 悪性 B : 良性

空欄は「0」を示す

Fisher の直接確率検定 (申請者が実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変【途中死亡】 - 続き -

検査時期	性 別		雄					雌					
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400	
	臓 器	剖検動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
所見名													
途中死亡	甲状腺	検査動物数		45	43	34	38	45	38	37	46	40	39
		B	C細胞腺腫	2	3	1	5	3	2	2	3	3	6
		B	濾胞上皮細胞腫	2	1			3			1		
		B	神経節細胞腫							1	1		
		M	C細胞癌				1						
		M	濾胞上皮細胞癌		2	1					1		
	上皮小体	検査動物数		39	39	32	33	42	37	33	41	35	32
		B	腺腫		1	2	2		1				
	副腎	検査動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		B	皮質細胞腺腫		1			1	1				1
		B	良性褐色細胞腫	6	3	2	5	8		3	1	6†	1
		M	血管肉腫		1								
		M	悪性褐色細胞腫			2		1					1
	脳	検査動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		B	顆粒細胞腫	1									
		M	星状膠細胞腫			2	1	1	1				
	骨格筋	検査動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
		M	骨肉腫				1						
	精巣	検査動物数		45	43	36	38	45					
		B	間細胞腺腫					2					
	卵巣	検査動物数							38	37	45	41	39
		B	腺腫								1		
		B	性索/間質腺腫						2	1			1
	子宮	検査動物数							38	37	46	41	39
		B	子宮内膜間質ホリブ*						2			3	1
		M	平滑筋肉腫						1				
		M	組織球性肉腫									1	1
	乳腺	検査動物数							38	37	46	41	39
B		腺腫	2						1	3	3	2	
B		線維腺腫	12						13	8	14	11	
B		線維腫									1		
M		癌	8						10	8	16	13	

M : 悪性 B : 良性

空欄は「0」を示す

Fisherの直接確率検定(申請者が実施)

† : p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-2 腫瘍性病変【途中死亡】—続き—

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
臓器	剖検動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
	所見名											
途中死亡	検査動物数		45	43	36	38	45	38	37	46	41	39
	B	基底細胞腺腫	1				3					
	B	腺維腫	1					1				
	B	角化棘細胞腫	5	4	1	3	3					1
	B	移行上皮乳頭腫				1						
	B	脂肪腫								1		
	B	毛嚢上皮腫		1	1							
	M	移行上皮癌		1								
	M	ジンバル腺癌		1	3	2	1				1	
	M	線維肉腫	1	1		1				1		
	M	平滑筋肉腫			1							1
	M	組織球性肉腫						1			1	
	その他	検査動物数		35	31	25	27	34	7	3	1	3
B		乳腺 線維線腫	1									
B		乳腺 線維腫			1							
B		腸間膜/腹膜 脂肪腫						2	1			
M		鼻涙管 扁平上皮癌					1					
M		NPT 扁平上皮癌					1					
M		口腔 歯牙腫		1								
全身性	M	原発部位不明 平滑筋肉腫						1		1		
	M	悪性リンパ腫				1						
	M	組織球性肉腫	1	1	2		1	1				1

M：悪性 B：良性

空欄は「0」を示す

NPT：プロトコールによって採取が定められていない部位

Fisherの直接確率検定（申請者が実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
	臓器	剖検動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
所見名												
全動物	肝臓	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
		B 肝細胞腺腫	3	3		4	2	3	2	1		1
		B 胆管腫					1					
		M 肝細胞癌				1						
		M 血管肉腫										1
	胃	検査動物数	72	44	36	40	72	71	37	46	44	72
		M 扁平上皮癌	1			1						
		M 腺癌									1	
	十二指腸	検査動物数	70	41	34	38	72	71	38	46	41	71
		M 癌								2		
	唾液腺	検査動物数	72	43	36	38	72	71	37	46	41	72
		M 腺癌						2				
	膵臓	検査動物数	72	45	39	40	72	71	39	48	41	72
		B 島細胞腺腫	6	5	6	5	9	7	4	3	1	1
		M 膵管癌					1					
		M 島細胞癌										1
	心臓	検査動物数	72	43	36	38	72	71	37	46	41	72
		M 血管肉腫		1								
	肺	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
		B 乳頭腫	1			1					2	
	腎臓	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
		B 尿細管腺腫	1				1					1
		B 移行上皮乳頭腫		1								
		B 脂肪腫							1			
		M 尿細管癌	1									1
	膀胱	検査動物数	72	43	33	38	72	70	37	46	41	71
		B 移行上皮乳頭腫						1				
	脾臓	検査動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
		M 血管肉腫				1			1			
		M LGL 性白血病	1	1	1	3	3					
胸腺	検査動物数	66	38	29	34	67	64	33	41	37	64	
	M 悪性胸腺腫					1						
腸間膜リンパ節	検査動物数	68	43	37	41	72	70	38	46	41	71	
	B 血管腫			1								
	M 血管肉腫			1	2							

M：悪性 B：良性

空欄は「0」を示す

Fisher の直接確率検定（申請者が実施）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】—続き—

検査時期	性 別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
	臓器	剖検動物数	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
全動物		骨髓	検査動物数	72	72	71	72	72	71	71	72	72
	M 顆粒球性白血病		1					1				
	M 赤血球性白血病							1				1
	下垂体	検査動物数	72	50	48	50	72	71	65	58	59	72
		B 前葉腺腫	50	42	37	39	45	61	64	53	53	54
		B 後葉細胞腫					1					
		M 前葉癌			1							1
	甲状腺	検査動物数	72	45	37	38	72	71	38	47	41	72
		B C細胞腺腫	4	4	2	5	7	8	3	4	4	8
		B 濾胞上皮細胞腺腫	2	1			3			1		2
		B 神経節細胞腫							1	1		
		M C細胞癌				1		1				
		M 濾胞上皮細胞癌		3	2		1	2		1		2
	上皮小体	検査動物数	65	40	32	33	68	68	33	41	35	64
		B 腺腫	2	1	2	2		2				
	副腎	検査動物数	72	45	37	40	72	71	41	49	45	72
		B 皮質細胞腺腫		1	1		1	1	1		2	1
		B 良性褐色細胞腫	8	4	3	6	12	1	4	1	6†	4
		M 血管肉腫		1								
		M 悪性褐色細胞腫			2		1	1				1
		M 皮質細胞癌								1	1	1
	脳	検査動物数	72	46	40	42	72	71	50	47	43	72
		B 顆粒細胞腫	1									
		M 星状膠細胞腫	1		2	2	2	2				
		M 悪性細網症						1				
	骨格筋	検査動物数	72	43	36	38	72	71	37	46	41	72
		M 骨肉腫				1						
	精巣	検査動物数	72	64	62	62	72					
B 間質細胞腺腫				1	1	3†						
M 中皮腫			1		1							
卵巣	検査動物数						71	39	52	42	72	
	B 腺腫								1			
	B 性索/間質腺腫						2	2	1		1	

M：悪性 B：良性

空欄は「0」を示す

Fisher の直接確率検定（申請者が実施）

†： p<0.05

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】—続き—

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
	臓器	所見名	72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
全動物	子宮	検査動物数	/					71	39	48	44	72
		B 子宮内膜間質ポリープ						2		1	3	5
		M 平滑筋肉腫						1				
		M 組織球性肉腫									1	1
	膣	検査動物数	/					71	37	46	40	72
		M 平滑筋肉腫										1
	乳腺	検査動物数	/					70	66	65	63	72
		B 腺腫						3	1	4	4	3
		B 線維腺腫						26	29	18	24	21
		B 線維腫									1	
		B 脂肪腫										1
		M 癌						14	21	9	19	24
	皮膚	検査動物数	72	48	45	47	72	71	38	50	45	72
		B 基底細胞腺腫	1			1	3					
		B 線維腫	2		1				1		1	
		B 角化棘細胞腫	6	7	6	8	5	1				1
		B 扁平上皮乳頭腫				1						
		B 脂肪腫	1							2		
		B 毛嚢上皮腫			1	1						
		M 移行上皮癌		1								
		M ジンバル腺癌		1	3	2	1				1	1
		M 線維肉腫	1	1	1	1	1			1	1	
	M 平滑筋肉腫			1							1	

M : 悪性 B : 良性

空欄は「0」を示す

Fisher の直接確率検定 (申請者が実施)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社にある。

表 2-3 腫瘍性病変【全動物】—続き—

検査時期	性別		雄					雌				
	投与量(ppm)		0	10	40	200	400	0	10	40	200	400
臓器	剖検動物数		72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
	臓器	所見名										
全動物	検査動物数		49	38	32	34	48	7	8	2	7	6
	B	乳腺 線維線腫	1				1					
	B	乳腺 線維腫		1	1							
	B	舌 乳頭腫				1						
	M	鼻涙管 扁平上皮癌			1							
	M	NPT 扁平上皮癌					1					
	M	NPT 血管肉腫		1								
	M	腹腔 中皮腫				1			1			
	M	口腔 歯牙腫		1								
	M	原発部位不明 平滑筋肉腫						1				
	B	腸間膜／腹膜 脂肪腫						2	1		1	
	B	口腔 歯芽腫									1	
	全身性	M	白血病	1					2			
M		悪性リンパ腫	1	1	2	4	3	2		1		
M		組織球性肉腫	1	1	3		2	1			2	3
合計	検査動物数		72	72	72	72	72	71	72	72	72	72
	腫瘍数	良 性	88	70	61	73	93	118	112	89	101	103
		悪 性	57	32	44	90	84	66	26	40	31	68
	担腫瘍動物数	良 性	57	46	45	49	57	63	67	64	58	64
		悪 性	7	12	15	17	14	26	21	15	26	32
担腫瘍動物数合計			59	49	49	57	61	68	67	64	58	64

M：悪性 B：良性

空欄は「0」を示す

Fisherの直接確率検定（申請者が実施）

NPT：プロトコールによって採取が定められていない部位