

5. 亜急性毒性

(1) フェリムゾンのラットを用いた混餌投与による3ヵ月亜急性毒性試験

(資料5-1)

試験機関 : 残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : Jcl:Wistar系ラット、1群雌雄各12匹

試験開始時5週齢(体重:雄123~149g、雌113~129g)

なお、雌雄別に1ケージ当り3匹収容し、飼育した。

投与期間 : 3ヵ月間(雄;1983年10月11日~1984年1月10日、雌;1983年10月18日~1984年1月17日)

投与方法 : 検体を基礎飼料に混合し、250、1000、4000及び8000ppmの濃度になるよう試験用飼料を調製した。

試験用飼料は週1回調製した。投与群には各試験用飼料を、対照群には基礎飼料のみを3ヵ月間ラットに自由摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間を通じて検体投与に関連した一般状態の異常は認められず、いずれの投与群においても死亡例は認められなかった。

体重変化 : 週1回、全生存動物の体重を個体別に測定した。

4000ppm以上の投与群雌雄で投与1週より試験終了時まで有意な体重増加抑制が認められた。1000ppm以下の投与群雌雄においては対照群との間に差は認められなかった。

飼料摂取量及び飼料効率 ; 週1回、ケージ別に飼料摂取量を測定し、飼料摂取量及び飼料効率を算出した。

8000ppm 投与群の雌雄では投与期間中を通じて有意に低い飼料摂取量を示した。4000ppm 投与群の雌雄の飼料摂取量は投与期間中対照群に比しおおむね低い値を示し、投与開始直後及び後期には有意差も認められた。1000ppm 投与群の雌では投与4週に飼料摂取量が有意に低下したが、他の時期には差が認められなかった。また、同投与群雄には対照群との間に差が認められなかった。飼料効率は、8000ppm 投与群の雌雄において投与期間中を通じおおむね対照群に比し低値を示し、特に雌において顕著であり、総平均値では対照群の25%であった。

検体摂取量 ; 飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量を下表に示す。

| 投与群 (ppm) | | 対照 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|----------------------|---|----|------|------|------|------|
| 検体摂取量 (mg/kg/day) | 雄 | — | 16.4 | 65.9 | 268 | 501 |
| | 雌 | — | 18.3 | 73.2 | 278 | 501 |

飲水量 ; 週1回、ケージ別に飲水量を測定し、1日1匹当りの飲水量を算出した。

8000ppm 投与群雄の飲水量は投与1週に減少し、雌では投与1, 6, 11及び12週に減少した。

血液学的検査 ; 13週間投与終了後に1群雌雄各10匹を対象に、後大静脈より採血し、次の項目について検査した。

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

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 投 与 量 (ppm) | | | | | | | |
|-------|-------------|------|---------|----------|---------|---------|----------|---------|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| 赤血球数 | | | | ↓ 95 | | ↓ 94 | ↓ 94 | ↓ 95 |
| Hb | | | ↓ 95 | ↓ 90 | | ↓ 96 | ↓ 95 | ↓ 94 |
| Ht | | | ↓ 95 | ↓ 91 | ↓ 97 | ↓ 96 | ↓ 94 | ↓ 95 |
| M C V | | | | ↓ 95 | | | | |
| M C H | | | | ↓ 94 | | | | |
| 血小板数 | | | | ↑ 112 | | | ↑ 111 | |

注) Dunnett の多重比較を実施した ↑ ↓ ; $p < 0.05$ 、↑ ↓ ; $p < 0.01$
 表中の数字は対照群に対する相対値 (%) を表す

1000ppm 以上の投与群雄及び 4000ppm 以上の投与群雌において、Ht 及び Hb の減少による軽度の貧血が認められた。250ppm 投与群雌において Ht が軽度に減少したが、生物学的に有意な減少とは考えられず、Hb 及び赤血球数は対照群との間に差が認められなかった。

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査を行った同一動物を対象に、血清中の次の項目について検査した。

総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G 比、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン、血糖、総コレステロール、GOT、GPT、総ビリルビン、Ca、P、Na、K

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 投 与 量 (ppm) | | | | | | | |
|---------|-------------|----------|----------|----------|-----|----------|----------|----------|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| 総 蛋 白 | | | | | | | | ↓ 95 |
| アルブミン | | ↑ 105 | ↑ 108 | ↑ 108 | | ↑ 107 | ↑ 105 | |
| グロブリン | | | ↓ 92 | ↓ 91 | | | | ↓ 91 |
| A / G 比 | | ↑ 106 | ↑ 117 | ↑ 118 | | ↑ 108 | ↑ 107 | ↑ 109 |
| A L P | | ↑ 160 | ↑ 151 | ↑ 174 | | | ↑ 157 | ↑ 186 |
| B U N | | | ↑ 116 | ↑ 133 | | | | ↑ 118 |
| 血 糖 | | | ↓ 70 | ↓ 63 | | | | ↓ 86 |
| コレステロール | | | | ↑ 125 | | | ↑ 143 | ↑ 113 |
| G O T | | | ↓ 74 | ↓ 65 | | | ↓ 81 | ↓ 70 |
| G P T | | | ↓ 38 | ↓ 38 | | ↓ 77 | ↓ 46 | ↓ 39 |
| 総ビリルビン | | | | | | ↑ 115 | | |
| C a | | | ↑ 102 | ↑ 103 | | | | |
| P | | | | ↑ 112 | | | | ↑ 115 |

注) Dunnett の多重比較を実施した ↑ ↓ ; p<0.05 、 ↑ ↓ ; p<0.01

表中の数字は対照群に対する相対値 (%) を表す

多くの検査項目が投与群の雌雄において対照群に比し有意に増減したが、ふたつ以上の投与群で同一方向に変動したのは以下のものであった。増加したものは1000ppm以上の投与群雄及び4000ppm以上の投与群雌におけるALP、4000ppm以上の投与群雄におけるBUN及びCa、4000ppm以上の投与群雌における総コレステロール、1000ppm以上の投与群雄及び1000並びに4000ppm投与群雌におけるアルブミン、1000ppm以上の投与群雌雄におけるA/G比であった。減少したのは4000ppm以上の投与群雄における血糖及びグロブリン、4000ppm以上の投与群雌雄におけるGOT、4000ppm以上の投与群雌雄及び1000ppm投与群雌におけるGPTであった。

上記のうちALPの上昇は病理組織学的検査所見である肝の小葉中心

性肝細胞肥大と関連していた。肝障害の指標である GOT 及び GPT は投与用量の増加に関連して減少していた。以上の結果から、肝障害とこれらの変動との関係は明白ではなかった。

尿 検 査 ; 試験 13 週に、各投与群の雌雄全例を対象に腰背部圧迫法により採尿し、次の項目について検査した。

比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

尿比重は 1000ppm 以上の投与群雄及び 4000ppm 投与群雌で減少した。pH は 4000ppm 以上の投与群雌において高かった。蛋白は 1000ppm 以上の投与群雄において陽性の程度を減じた。潜血では、8000ppm 投与群雄で陰性を示す動物が増加した。ウロビリノーゲンでは 4000 ppm 以上の投与群雄において低い値を示した。しかし、これらは検体投与による中毒性変化とは考えられなかった。

眼 検 査 ; 投与開始時と投与 13 週に対照群及び最高投与群の雌雄全例について、ハロゲン検眼鏡を用い眼検査を行った。

いずれの投与群の雌雄においても検体投与に関連した異常を認めなかった。

臓器重量 ; 13 週間投与終了後の全例について、剖検後、次の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣、
卵巢

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | | 投 与 量 (ppm) | | | | | | | |
|------|------|-------------|---------|----------|----------|-----|------|----------|----------|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| 脳 | 重 量 | | | | ↓ 96 | | | | ↓ 96 |
| | 対体重比 | | | ↑ 115 | ↑ 124 | | | ↑ 108 | ↑ 126 |
| 下垂体 | 重 量 | | | | ↓ 80 | | | ↓ 88 | ↓ 65 |
| | 対体重比 | | | | | | | | ↓ 84 |
| 甲状腺 | 対体重比 | | | | ↑ 126 | | | | ↑ 128 |
| 胸 腺 | 対体重比 | | | | | | | ↑ 119 | ↑ 117 |
| 心 | 重 量 | | | | ↓ 85 | | | ↓ 93 | ↓ 84 |
| | 対体重比 | | | | ↑ 109 | | | | ↑ 109 |
| 肝 | 対体重比 | | | ↑ 110 | ↑ 118 | | | ↑ 116 | ↑ 133 |
| 腎 | 重 量 | | | ↓ 89 | ↓ 78 | | | ↓ 96 | ↓ 87 |
| | 対体重比 | | | | | | | | ↑ 107 |
| 脾 | 重 量 | | | ↓ 85 | ↓ 79 | | | ↓ 92 | ↓ 78 |
| | 対体重比 | | ↓ 89 | | | | | | |
| 副 腎 | 重 量 | | | | ↓ 74 | | | ↓ 84 | ↓ 72 |
| 精 巢 | 対体重比 | | | ↑ 118 | ↑ 129 | | | | |
| 卵 巢 | 重 量 | | | | | | | | ↓ 63 |
| | 対体重比 | | | | | | | | ↓ 82 |

注) Dunnett の多重比較を実施した ↑ ↓ ; p<0.05 、 ↑ ↓ ; p<0.01

表中の数字は対照群に対する相対値 (%) を表す

4000ppm 以上の投与群雌雄において、多くの臓器の実重量が有意に減少したが、これらは体重増加抑制に付随した変化と考えられる。対体重比ではこれらの動物の肝が対照群に比し有意に増加し、これは病理組織学的変化と一致していた。1000ppm 以上の投与群雌雄で多くの臓器重量の対体重比が増減したが、その大部分は体重増加抑制に基づくものか、あるいは生物学的意義を持たない変動であった。

肉眼的病理検査 ; 供試動物全例について肉眼的病理検査を行った。

4000ppm 以上の投与群雌雄において肝の暗調化が有意に増加した。また、8000ppm 投与群雄では体型小型化が有意に増加した。1000ppm 以下の投与群に中毒性病変はなかった。

| 性別 | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|-----------|----------|----|-----|------|------|-------|----|-----|------|------|------|
| 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 肝臓 | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 8*** | 12*** | 0 | 0 | 0 | 4* | 9*** |
| その他 | 体型小型化 | 0 | 0 | 0 | 1 | 8*** | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

病理組織学的検査 ; 試験終了時の全屠殺動物を対象に、最低限次の組織について病理組織学的検査を実施した。

脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心、大動脈、唾液腺、食道、胃(前胃、腺胃)、肝、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊及び凝固腺、卵巣、子宮(角部、体部、頸管部)、眼球及び付属腺、骨格筋、皮膚、乳腺、肉眼的異常部位

また、鼻腔及び副鼻腔を含む頭部を Young の方法に従って組織切片を作製し、上記検査を行った。

雌雄とも 4000ppm 以上の投与群において、肝の小葉中心性肝細胞腫大が認められた。また、4000ppm 以上の投与群雄では肺の泡沫細胞集簇が減少した。1000 及び 8000ppm 投与群の雄において心の心筋炎が減少した。また、対照群及び全ての検体投与群のほとんどのラットに鼻涙管上皮のレベル 2 において扁平上皮化生がみられたが、全ての投与群雌雄の鼻部あるいは鼻涙管においても検体投与に関連した腫瘍性あるいは非腫瘍性病変は認められなかった。

有意差の認められた病理組織学的所見 (雄)

| 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|-----------|------------|----|-----|------|-------|-------|
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 肺 | 泡沫細胞集簇 | 9 | 5 | 6 | 2** | 2** |
| 心臓 | 心筋炎 | 7 | 8 | 2* | 7 | 2* |
| 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 10*** | 12*** |

有意差の認められた病理組織学的所見 (雌)

| 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|-----------|------------|----|-----|------|-------|-------|
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 10*** | 12*** |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

以上の結果より、フェリムゾンの3ヵ月間混餌投与によるラットの亜急性毒性試験における検体投与に関連した影響としては、4000ppm以上の投与群の体重増加抑制及び飼料摂取量の減少、1000ppm以上の投与群雌及び4000ppm以上の投与群雄における軽度の貧血、4000ppm以上の投与群の肝重量の対体重比増加、肝の小葉中心性肝細胞腫大等の病理組織学的変化が認められた。また、血液生化学的検査では、1000ppm以上の投与群で多くの項目が対照群に比し増減した。これらのうちALPの増加が認められたが、GOT、GPTはむしろ減少しているところから、ALPの上昇が真に肝障害を示しているのか疑問である。

本試験における無毒性量は250ppm (雄 16.4mg/kg/day、雌 18.3mg/kg/day) と判断される。

表 1. 病理組織学的所見 (雄)

| 投与群(ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|----------|------------|----|-----|------|-------|-------|
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 肺 | 泡沫細胞集簇 | 9 | 5 | 6 | 2** | 2** |
| | 動脈壁鈣質沈着 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | 動脈壁肥厚 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| 心臓 | 心筋炎 | 7 | 8 | 2* | 7 | 2* |
| | 心内膜線維化 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 10*** | 12*** |
| | 単核球浸潤 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | 小肉芽腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 胆管過形成 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 腎臓 | 腎盂拡張 | 5 | 1 | 4 | 4 | 1 |
| 副腎 | 肉芽腫 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 下垂体 | 前葉囊胞 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

表 2. 病理組織学的所見 (雌)

| 投与群(ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|----------|------------|----|-----|------|-------|-------|
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 肺 | 泡沫細胞集簇 | 5 | 5 | 4 | 6 | 5 |
| | 動脈壁鈣質沈着 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 脾臓 | 色素沈着増加 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 10*** | 12*** |
| | 単核球浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 小肉芽腫 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 腎臓 | 腎盂拡張 | 1 | 2 | 1 | 1 | 3 |
| | 皮髄境界部鈣質沈着 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 下垂体 | 後葉囊胞 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

(2) フェリムゾンのマウスを用いた混餌投与による3ヵ月亜急性毒性試験

(資料5-2)

試験機関 : 残留農業研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : Jcl : ICR系マウス、1群雌雄各12匹

試験開始時5週齢(体重;雄29.3~34.0g、雌24.8~29.8g)

なお、雌雄別に1ケージ当り3匹収容し、飼育した。

投与期間 : 3ヵ月間(雄;1983年10月12日~1984年1月11日、雌;1983年10月19日~1984年1月18日)

投与方法 : 検体を基礎飼料に混合し、250、1000、4000及び8000ppmの濃度になるよう試験用飼料を調製した。

試験用飼料は週1回調製した。投与群には各試験用飼料を、対照群には基礎飼料のみを3ヵ月間マウスに自由摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

8000ppm投与群の雄では全身状態の悪化を示すとみられる立毛、被毛の汚れなどの症状が散見された。また、同投与群の雄2例では歩行困難、跳躍あるいは登攀も観察されたが、その発現頻度は低く、これらの症状と検体投与との関連性は不明であった。8000ppm投与群の雄10匹、雌2匹及び4000ppm投与群の雄1匹が試験期間中に死亡あるいは切迫殺された。死亡動物の病理学的検査では、いずれも死因となるべき明白な変化は認められなかった。

| 投与群 (ppm) | | 対照 | 250 | 1000 | 2000 | 4000 |
|-----------|---|----|-----|------|------|------|
| 死亡率 (%) | 雄 | 0 | 0 | 0 | 8.33 | 83.3 |
| | 雌 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16.7 |

体重変化 ; 週1回、全生存動物の体重を個体別に測定した。

8000ppm 投与群雌雄では、投与2週まで体重が減少した。その後体重は増加に転じたが、全試験期間を通じて対照群に比し著しい体重増加抑制が認められた。4000ppm 投与群雄では、投与1, 2週に対照群に比して有意な体重増加抑制が認められたが、3週以降は統計学的有意差は認められなかった。雌では、投与1週に体重が減少し、その後はほぼ全試験期間を通じ、対照群に比し有意な体重増加抑制が認められた。1000ppm 以下の投与群の雌雄においては、対照群に比し有意差は認められなかった。

飼料摂取量及び飼料効率 ; 週1回、ケージ別に飼料摂取量を測定し、1日当りの飼料摂取量及び飼料効率を算出した。

8000ppm 投与群雌雄の飼料摂取量はほぼ全試験期間を通じて対照群に比して有意に低い値を示した。4000ppm 投与群雌雄の飼料摂取量は投与1週に対照群に比して有意に低い値を示したが、その後は投与8週の雌の値を除き対照群との間に有意差は認められなかった。1000ppm 以下の投与群の飼料摂取量は対照群と同様であった。

8000ppm 投与群雌雄の食餌効率は、投与1週に大きな負の値を示したため、その後は特に一定の変動傾向は認められなかったものの、総平均値は負の値となった。4000ppm 投与群雌雄の食餌効率は、投与1週に対照群に比し著しく低値を示し、雌では総平均値の低下(対照群の50%)も認められた。雄では総平均値は対照群と同様であった。

検体摂取量 ; 飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量を下表に示す。

| 投与群 (ppm) | | 対照 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|-------------------|---|----|------|------|------|------|
| 検体摂取量 (mg/kg/day) | 雄 | — | 30.6 | 124 | 445 | 792 |
| | 雌 | — | 33.3 | 143 | 521 | 910 |

飲水量 ; 週1回、ケージ別に飲水量を測定し、1日1匹当りの飲水量を算出した。

4000及び8000ppm 投与群の雄では、投与1週に対照群に比し飲水量

の有意な減少が認められたが、その後は 4000ppm 投与群で投与 2 週に逆に増加が認められた以外には、各週の値及び総平均値において対照群との間に著しい差は認められなかった。これらの投与群の雌及び 1000ppm 以下の投与群雌雄の飲水量は対照群とほぼ同様であった。

血液学的検査 ; 13 週間投与終了後に 1 群雌雄各 10 匹を対象に後大静脈より採血し、次の項目について検査した。

赤血球数、ヘモグロビン濃度 (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球数及び白血球百分比
いずれの投与群においても検体投与に関する異常は認められなかった。

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査を行った同一動物を対象に、血清中の次の項目について検査した。

総蛋白、アルカリホスファターゼ (ALP)、尿素窒素 (BUN)、血糖、総コレステロール、GOT、GPT、Ca

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 投 与 量 (ppm) | | | | | | | |
|----------|-------------|----------|----------|------|-----|------|----------|----------|
| | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| A L P | | | ↑ 207 | | | | | |
| B U N | | ↑ 123 | | | | | | |
| 総コレステロール | | | ↑ 131 | | | | ↑ 133 | ↑ 146 |
| G O T | | | | | | | | ↓ 63 |

注) Dunnett の多重比較を実施した ↑ ↓ ; p<0.05、↑ ↓ ; p<0.01

表中の数字は対照群に対する相対値 (%) を表す

4000 及び 8000ppm 投与群では、総コレステロールが雌雄ともに、ALP が雄においてそれぞれ対照群に比し有意な増加または増加傾向を示し、かつその変化の程度にはいずれも投与量に相関する傾向が認められた。さらに、8000ppm 投与群雌では GOT 値の有意な減少も認められた。1000ppm 以下の投与群では、検体投与に係る異常は認められなかった。

尿 検 査 ; 投与 13 週に各投与群の雌雄全例を対象に腰背部圧迫法により採尿し、次の項目について検査した。

比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体、潜血、ウロビリノーゲン

8000ppm 投与群雌雄及び 4000ppm 投与群雄では、対照群に比し尿比重の有意な低下あるいは低下傾向が認められた。また、これらの投与群では、雌雄ともウロビリノーゲンの準定量検査において低値を示す個体が対照群に比し増加した。

臓 器 重 量 ; 13 週間投与終了後の全例について、剖検後、次の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣、卵巢

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検 査 項 目 | | 投 与 量 (ppm) | | | | | | | |
|---------|------|-------------|----------|----------|----------|-----|------|----------|----------|
| | | 雄 | | | | 雌 | | | |
| | | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| 脳 | 対体重比 | | | | | | | ↑ 118 | ↑ 131 |
| | 重 量 | | | | | | | | ↓ 80 |
| 肝 | 重 量 | | | ↑ 120 | * 11* | | | | |
| | 対体重比 | | ↑ 109 | ↑ 129 | * 11* | | | ↑ 124 | ↑ 137 |
| 腎 | 重 量 | | | | | | | ↓ 88 | ↓ 82 |
| | 対体重比 | | | | | | | | ↑ 113 |
| 副 腎 | 対体重比 | | | | | | | ↑ 131 | |
| 卵 巢 | 重 量 | | | | | | | | ↓ 53 |

注) Dunnett の多重比較を実施した ↑ ↓ ; $p < 0.05$ 、↑ ↓ ; $p < 0.01$

||* 生存個体数 2/12 例

表中の数値は対照群に対する相対値(%)を表す

4000 及び 8000ppm 投与群において、雄で肝の実重量及び対体重比が、雌で対体重比がそれぞれ対照群に比し有意な増加あるいは増加傾向を示した。同投与群の雌では対照群に比し腎重量の減少、脳の対体重比の増加が認められた。さらに、8000ppm 投与群雌では心、卵巢重量の減少及び腎の対体重比の増加も認められた。4000ppm 投与群雌では、副腎の対体重比の増加も認められたが、8000ppm 投与群

では認められなかった。1000ppm 投与群では、雄において対照群に比し肝の対体重比の有意な増加が認められた。1000ppm 投与群の雌を除き、1000ppm 以上の投与群において認められた肝重量あるいは対体重比の増加には投与量との相関性が認められた。

肉眼的病理検査 ; 供試動物全例について肉眼的病理検査を行った。

8000ppm 投与群の雌雄及び 4000ppm 投与群の雄において肝の暗調化が高頻度に観察された。8000ppm 投与群雄では、膀胱尿うっ滞、肝腫大、削瘦及び肺うっ血が主に途中死亡・切迫殺動物においてしばしば観察された。

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | | 雌 | | | | |
|--------|-----------|----------|----|-----|------|-------|------|----|-----|------|------|-------|
| | 投与量 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
| 死亡・切迫殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 肺 | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 肝臓 | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 腫大 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 膀胱 | 尿うっ滞 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | その他 | 削瘦 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 最終屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 肝臓 | 暗調化 | 0 | 0 | 2 | 11 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 腫大 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 全動物 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| | 肝臓 | 暗調化 | 0 | 0 | 2 | 11*** | 4* | 0 | 0 | 0 | 0 | 10*** |
| | | 腫大 | 0 | 0 | 0 | 2 | 5* | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

病理組織学的検査 ; 試験途中の切迫殺動物及び試験終了時の全屠殺動物を対象に、次の組織について病理組織学的検査を実施した。

脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心、大動脈、唾液腺、食道、胃(前胃、腺胃)、肝、胆嚢、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊及び凝固腺、卵巣、子宮(角部、体部、頸管部)、眼球及び付属腺、骨格筋、皮膚、乳腺

また、鼻腔及び副鼻腔を含む頭部を Young の方法に従って組織切片を作製し、上記検査を行った。

8000ppm 投与群では、投与 2 週時に死亡した雄 1 例及び共食いのた

め検査不能であった雌1例を除く雌雄全ての個体において、肝に小葉中心性肝細胞腫大が認められた。加えて同投与群雌雄では、単一細胞性肝細胞壊死も散見され、雄では膀胱腔拡張及び肺うっ血が途中死亡動物において、また雌では卵巣の萎縮が高頻度に観察された。4000ppm 投与群では、肝の小葉中心性肝細胞腫大が雄のほぼ全例及び雌の1/3の個体において認められ、ごく少数ではあるが単一細胞性肝細胞壊死も雌雄ともに観察されたが、病変の程度は軽度なものが多かった。1000ppm 以下の投与群では、特記すべき病理組織学的所見は認められなかった。

肝臓の主な病理組織所見 (雄)

| 検査時期 | 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|------|-----------|------------|----|-----|------|-------|-------|
| 最終屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 全動物 | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 11*** | 11*** |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |

肝臓の主な病理組織所見 (雌)

| 検査時期 | 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|------|-----------|------------|----|-----|------|------|-------|
| 最終屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 4 | 10 |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 |
| 全動物 | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 4* | 11*** |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4* |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

また、いずれの投与群においても鼻部あるいは鼻涙管に腫瘍性病変は観察されなかった。一方、鼻部組織、レベル2における嗅上皮の変性は雌雄ともに明らかに検体投与に関連すると考えられた。鼻部組織、レベル2における嗅上皮の変性の発現数を下表に示した。

| 投与量 (ppm) | 雄 | 雌 |
|-----------|---------|----------|
| 0 | 0/12 | 1/12 |
| 250 | 0/12 | 6/12 * |
| 1000 | 0/12 | 5/12 |
| 4000 | 4/12 * | 0/12 |
| 8000 | 5/11 ** | 8/11 *** |

* ; p<0.05, ** ; p<0.01, *** ; p<0.005

Fischer の確率検定及び Cochran-Armitage 検定を実施した。

以上の結果より、フェリムゾンの3ヵ月間混餌投与によるマウスの亜急性毒性試験における検体投与に関連した影響としては、8000ppm 投与群の雌雄における体重減少及び同投与群雄における全身状態の悪化を示す諸症状がみられ、8000ppm 投与群の雄10匹、雌2匹及び4000ppm 投与群の雄1匹が試験期間中に死亡した。これらの動物の病理学的検査では肝に小葉中心性肝細胞腫大が認められ、かつ単一細胞性肝細胞壊死も散見されたことから、その死亡は検体投与に起因した肝障害及びその関連した全身の生理活性低下によるものと考えられた。4000ppm 以上の投与群雌雄における体重増加抑制は飼料摂取量及び飼料効率の低下とほぼ一致したことから、検体投与による中毒性変化であることを示していた。血液生化学的検査において、4000及び8000ppm 投与群雄で認められたALPの増加は病理組織学的検査において認められた検体投与に起因する肝障害に伴う変化と思われた。8000ppm 投与群雌で認められたGOTの減少は、一般的にGOT値に関しては高値のときのみ診断的意義が認められていることから、その減少と本試験で認められた肝障害との関連は明らかでなかった。1000ppm 投与群雄では、肝の対体重比の増加が認められたことから、病理組織学的変化を伴わなかったものの、軽度ながら検体投与による肝障害が生じているものと推察された。同時に行ったラットにおける試験においても同質の変化が肝において観察されており、本検体の標的器官が肝であることは明らかであった。

本試験における無毒性量は、雄 250ppm (30.6mg/kg/day)、雌 1000ppm (143mg/kg/day) と判断される。

表 1. 病理組織学的所見 (雄)

| 検査時期 | 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|------------|-----------|--------------|----|-----|------|------|------|
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | | | | | |
| 死亡・ 切迫殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 8 |
| | 肺 | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 1 | 9 |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | 限局性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 |
| | 腎臓 | 尿円柱 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 腎盂拡張 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 |
| | 脾臓 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 |
| | 膀胱 | 腔拡張 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| | | 出血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 最終 屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 |
| | 肺 | 肺胞上皮過形成 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 |
| | 心臓 | 心筋炎 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | | 限局性肝細胞壊死 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 小肉芽腫 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | 小葉中心性肝細胞脂肪変性 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | 限局性肝細胞脂肪変性 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 髓外造血亢進 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 |
| | 腎臓 | 限局性尿細管萎縮 | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | | 尿円柱 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | | 単核細胞浸潤 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 腎盂拡張 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 11 | 2 |
| | 精巣 | 精細管萎縮 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 11 | 11 | 2 | |
| 膀胱 | 腔拡張 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

表 1. 病理組織学的所見 (雄) (続き)

| 検査時期 | 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|------|-----------|--------------|----|-----|------|-------|-------|
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | | | | | |
| 全動物 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 肺 | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4* |
| | | 肺胞上皮過形成 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 心臓 | 心筋炎 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 11*** | 11*** |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| | | 限局性肝細胞壊死 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | | 小肉芽腫 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | | 小葉中心性肝細胞脂肪変性 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | 限局性肝細胞脂肪変性 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 髓外造血亢進 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 腎臓 | 限局性尿管萎縮 | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | | 尿円柱 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 |
| | | 単核細胞浸潤 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 腎盂拡張 | 1 | 0 | 0 | 3 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 脾臓 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 精巣 | 精細管萎縮 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 11 | 12 | 12 |
| 膀胱 | 腔拡張 | 0 | 0 | 0 | 1 | 6** | |
| | 出血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

表 2. 病理組織学的所見 (雌)

| 検査時期 | 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|------------|-----------|--------------|----|-----|------|------|------|
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | | | | | |
| 死亡・ 切迫殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 肺 | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 最終屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 11 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 肺 | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | | 泡沫細胞集簇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 心臓 | 心筋炎 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 4 | 10 |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 |
| | | 小肉芽腫 | 5 | 2 | 2 | 4 | 1 |
| | | 小葉中心性肝細胞脂肪変性 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | | 瀰漫性肝細胞脂肪変性 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | 髓外造血亢進 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 腎臓 | 尿円柱 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 単核細胞浸潤 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 卵巢 | 萎縮 | 1 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 |
| | 子宮 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 単核細胞浸潤 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 10 | |
| 膀胱 | 炎症細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |

注) Fisher の直接確率検定を実施した。*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

表 2. 病理組織学的所見 (雌) (続き)

| 検査時期 | 投与群 (ppm) | | 0 | 250 | 1000 | 4000 | 8000 |
|------|-----------|--------------|----|-----|------|------|-------|
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | | | | | |
| 全動物 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 11 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| | 肺 | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| | | 泡沫細胞集簇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| | 心臓 | 心筋炎 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 4* | 11*** |
| | | 単一細胞性肝細胞壊死 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4* |
| | | 小肉芽腫 | 5 | 2 | 2 | 4 | 1 |
| | | 小葉中心性肝細胞脂肪変性 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | | 瀰漫性肝細胞脂肪変性 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | 髓外造血亢進 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| | 腎臓 | 尿円柱 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | | 単核細胞浸潤 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| | 卵巢 | 萎縮 | 1 | 0 | 0 | 0 | 10*** |
| | 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 |
| 子宮 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | |
| 膀胱 | 炎症細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |

注) Fisher の直接確率検定を実施した * : p<0.05 , ** : p<0.01, *** : p<0.001

(3) フェリムゾンのイヌを用いた亜急性毒性試験

(資料5-3)

フェリムゾンのイヌを用いた亜急性経口毒性試験成績については、以下のとおり、慢性毒性試験の予備試験(4週間投与)成績及び慢性毒性試験成績で代替できるものと考えます。

フェリムゾンのイヌを用いた4週間亜急性毒性試験

試験機関 : International Research and
Development Corporation
(米 国) [GLP]
報告書作成年 : 1988年

検 体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供 試 動 物 : ビーグル犬 (試験開始時約5~6ヵ月齢)

(体重 ; 雄 8.3~10.3 kg、雌 5.9~8.5 kg) 1群雌雄各2匹

投 与 期 間 : 4週間 (1985年11月19日~1985年12月17、18日)

投 与 方 法 : 検体をカプセルに封入し、0、25、50、100及び200 mg/kg/dayの投与量で1日1回ビーグル犬に経口投与した。

尚、対照群の動物には空のカプセルを投与した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を1日2回観察し、少なくとも週1回、詳細な観察を行った。

投与期間中、死亡が認められなかった。

流涎、嘔吐、食欲不振、運動抑制、軟便/下痢及び四肢の冷えなどの症状が観察された。対照群においても嘔吐と軟便は観察された。最高用量である200 mg/kg/day投与群においては、雄の2例中1例に最終投与週に衰弱と脱水の症状が認められた。

体 重 変 化 ; 投与期間中、毎週1回各動物の体重を測定した。

50mg/kg/day以上の投与群雄および100mg/kg/day以上の投与群雌で体重の低値が認められた。25mg/kg/dayの投与群雄においては、投与開始直後に体重の減少が観察されたが、その後回復が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

飼料摂取量及び飼料効率；投与期間中、毎週1回各動物の飼料摂取量を測定した。

上記体重測定時に飼料摂取量を測定した。この測定値と体重から、飼料効率を算出した。

飼料摂取量は、体重の変化とほぼ同様の変動を示した。

飼料効率は、雌の50mg/kg/day以上の投与群で低値を示した。

身体検査；投与前及び投与終了前に、頭部、頸部、胸部、腹部、外部生殖器、皮膚及び四肢の一般症状観察を含めた身体検査を実施した。心音、肺音は打診及び聴診により検査した。

50mg/kg/day以上の投与群雄および100mg/kg/day以上の投与群雌で削痕が散見された。200mg/kg/dayの投与群雌雄で歯茎でのslow refill timeが認められた。

臓器重量；試験終了後、全生存動物を屠殺し、剖検の後、次の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、腎臓、肝臓、卵巣、精巣、甲状腺/上皮小体

対照群を100とした時の各投与群の相対値(%)は次のとおりであった。

| 臓器 | 投与群 (mg/kg/day) | | | | | | | | |
|--------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 雄 | | | | 雌 | | | | |
| | 25 | 50 | 100 | 200 | 25 | 50 | 100 | 200 | |
| 最終体重 | 92 | 78 | 85 | 59 | 90 | 89 | 79 | 65 | |
| 脳 | 絶対重量 | 101 | 107 | 104 | 99 | 95 | 90 | 91 | 101 |
| | 相対重量 | 110 | 140 | 126 | 183 | 105 | 102 | 117 | 155 |
| 腎臓 | 絶対重量 | 93 | 84 | 90 | 82 | 100 | 91 | 104 | 95 |
| | 相対重量 | 101 | 109 | 107 | 155 | 111 | 102 | 135 | 147 |
| 肝臓 | 絶対重量 | 98 | 80 | 91 | 72 | 90 | 98 | 118 | 87 |
| | 相対重量 | 107 | 104 | 110 | 129 | 99 | 109 | 157 | 134 |
| 卵巣 | 絶対重量 | — | — | — | — | 97 | 98 | 75 | 68 |
| | 相対重量 | — | — | — | — | 105 | 109 | 95 | 104 |
| 精巣 | 絶対重量 | 60 | 68 | 55 | 20 | — | — | — | — |
| | 相対重量 | 66 | 88 | 61 | 38 | — | — | — | — |
| 甲状腺/ 上皮小体 | 絶対重量 | 112 | 112 | 116 | 95 | 104 | 131 | 127 | 94 |
| | 相対重量 | 122 | 143 | 137 | 166 | 113 | 148 | 165 | 144 |

雄の場合、腎臓、肝臓及び精巣の絶対重量については、高用量群で低値を示した。雌の場合、高用量群で卵巣の絶対重量の低値が認められた。

一方、対体重の相対重量では各臓器とも高値を示したが、それは、体重の低値に関連した変化と考えられた。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物を対象に肉眼的病理検査を行った。

観察された所見を表1に示す。

200mg/kg/day 投与群の1例において、胃、結腸及び直腸で粘膜の糜爛及び顎下リンパ節の大型が認められた。

その他、検体投与による影響と考えられる所見は認められなかった。

以上の結果より、フェリムゾンのイヌにおける4週間経口投与による亜急性毒性試験における無毒性量は25mg/kg/day以下であると考えられる。90日間亜急性毒性試験については、以下に示すとおり、本試験成績およびイヌを用いた慢性毒性試験成績(資料7-3)から、その無毒性量は10~25mg/kg/dayの範囲内であると推定される(申請者注)。

申請者注：フェリムゾンのイヌにおける 90 日間亜急性毒性試験について

1. フェリムゾンのイヌを用いた 4 週間亜急性毒性試験(資料 5 - 3)および慢性毒性試験(資料 7 - 3)ともに体重の低値および飼料摂取量の低値が認められ、発現した毒性は質的に同等であり、無毒性量がそれぞれ 25 mg/kg/day 以下および 10 mg/kg/day であった。
2. 雌の飼料摂取量の低値に関しては、4 週間亜急性毒性試験では 50mg/kg 以上の投与群で認められたところ、慢性毒性(12 ヶ月投与)試験では 30mg/kg 以上の投与群で認められており、投与期間が 4 週間から 12 ヶ月に長期化することにより毒性が若干増強しているものと考えられる。
その他の変化は 4 週間亜急性毒性試験と慢性毒性(12 ヶ月投与)試験でほぼ同程度であった。
3. 従って、フェリムソンを 90 日間投与した場合においては、体重の低値および飼料摂取量の低値が認められるものと考えられ、無毒性量は上記 2 試験の無毒性量の間、すなわち 10~25mg/kg の範囲内で得られると推定される。
4. 尚、慢性毒性(12 ヶ月投与)試験において 100mg/kg 投与群で切迫殺例が認められたこと、4 週間亜急性毒性試験においてより高用量である 200mg/kg 投与群で衰弱と脱水の症状といった全身状態の悪化が認められたことから、90 日間投与した場合の毒性変化については前述した体重の低値および飼料摂取量の低値を含めて 4 週間亜急性毒性試験で発現した所見のいくつかが同様に認められると考えられる。
5. 以上のことから、フェリムゾンのイヌを用いた 90 日間亜急性毒性については 4 週間亜急性毒性試験成績(資料 5 - 3)および慢性毒性試験成績(資料 7 - 3)で代替可能であると考えられる。

6. 反復経口投与神経毒性

フェリムゾン原体の反復経口投与神経毒性

(資料6)

フェムリゾンの反復経口投与神経毒性試験について、関連する試験結果から考察した。

1 ラットの90日間反復経口投与毒性試験

現行の神経毒性試験ガイドラインにおいて、外観、体位、姿勢、自律神経機能、歩行の異常、動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応、神経系及び異常行動について、詳細な状態の観察が求められている。

一般毒性試験における一般症状観察では、本剤の投与によっていずれの観察項目にも影響はみられず、本剤に特異的な神経毒性を示唆する所見は得られていない。なお、機能検査の一環としての自発運動量、刺激に対する感覚運動反応および握力検査は実施されていない。

神経毒性に関わる坐骨神経、脳、下垂体、脊髄及び眼球及びその付属器における病理組織学的検査では、異常所見は認められていない。また、脳重量および眼科学的検査が実施されているが、本剤が関連したと思われる所見はない。

2 その他の試験(90日より長期の試験)

下記の長期の試験において、レポートの要約、考察及び結論の中に致死量以下の用量で本剤が関連したと思われる特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

- (1) 2年間慢性毒性・発がん性試験(ラット;1988年)
- (2) 18か月発がん性試験(マウス;1988年)
- (3) 1年間反復経口投与毒性試験(イヌ;1988年)
- (4) 2世代繁殖試験(ラット;1987年)

3 既知神経毒性物質との化学構造の相関

既知神経毒性物質との化学構造に相関はないものと考えられる。

4 考察・結論

ラット90日間反復経口投与毒性試験において致死用量以下の用量で神経症状を示唆する毒性症状および神経毒性に関わる病理組織学的異常所見は何ら認められていない。90日より長期の試験においても、致死用量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見は認められていない。また、本剤の化学構造も既知神経毒性物質と相関はない。従って、本剤には特異的な神経毒性作用はないものと判断される。

以上のことから、フェムリゾンの反復経口投与神経毒性試験実施の必要性はないものと考えられる。

28 日間反復投与遅発性神経毒性

フェリムゾン原体の 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験の省略理由

フェリムゾン原体の急性毒性試験等の結果から、コリンエステラーゼ阻害性を有さないと考えられ、急性遅発性神経毒性試験は省略できるため、フェリムゾン原体の 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験実施の必要性はないと考えられる。

7. 慢性毒性および発がん性

(1) フェリムゾンのラットを用いた混餌投与による慢性毒性・発がん性試験

(資料7-1)

試験機関 : 残留農業研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : Jcl:Wistar系ラット、主試験群は1群雌雄各50匹、サテライト群として1群雌雄各20匹を用いた。

試験開始時5週齢(体重;雄 91~118g、雌 80~116g)

投与開始後26及び52週時に1群雌雄各10匹を中間屠殺し各検査に用いた。104週時に主試験群の全生存動物を屠殺した。なお、試験開始時に雌雄別に1ケージ当り5匹のラットを収容した。

投与期間 : 発がん性群:104週間(1984年3月6日~1986年3月17日)

サテライト群:26および52週間

投与方法 : 検体を基礎飼料に混合して50、500及び3000ppmの濃度になるよう試験用飼料を週1回調製した。各試験用飼料を104週間ラットに自由摂取させた。なお、対照群には基礎飼料のみを自由摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察し、少なくとも週1回触診を含む詳細な観察を行った。

3000ppm投与群雌雄で頭部の腫脹を示す動物が対照群に比較し有意に増加し、同投与群雄で赤色眼脂、削瘦、呼吸異常、呼吸緩徐、行動不活発、過長歯が増加した。また、3000ppm投与群雄で眼球白濁、後肢皮膚の胼胝が減少し、同投与群雌で皮膚の結節・腫瘤が減少した。

50ppm投与群雄で眼球突出の発生頻度が減少した。

主試験群の試験終了時における死亡率は次の通りであった。

| 性 別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 投与量 (ppm) | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 供試動物数 | 49 | 50 | 50 | 50 | 49 | 48 | 49 | 50 |
| 死亡率 (%) | 16.3 | 18.0 | 14.0 | 40.0 | 30.6 | 27.1 | 28.6 | 28.0 |

3000ppm 投与群雄の死亡率は高い値を示した。これは鼻腔部の腫瘍による死亡・切迫動物数の増加に起因するものであった。

体重変化 ; 投与開始時から 13 週時までは週 1 回、その後は 4 週に 1 回、全生存動物の体重を個体別に測定した。

3000ppm 投与群雌雄の体重は全投与期間を通じ対照群に比較して低い値を示し、500ppm 投与群雄で投与 1 及び 3 週時に有意に低い値を示した。また、50ppm 投与群雄では投与 1 から 3 週及び 6 から 24 週にかけて有意に低い値を示したが、その他の週では対照群との間に差は認められなかった。

飼料摂取量 ; 投与 1 週時から 13 週時までは週 1 回、その後は、4 週に 1 回、全生存動物の飼料摂取量をケージ別に測定し、1 日 1 匹当りの飼料摂取量を算出した。

3000ppm 投与群雌雄でほぼ全期間を通じて飼料摂取量の減少が認められ、有意差が散見された。総平均値では対照群に比較して、雄で 5%、雌で 13%低い値を示した。500ppm 投与群雄で投与 2 及び 12 週時に有意な減少を示し、雌で 1 週時に有意に増加した。また、50ppm 投与群雄で投与 12, 13 及び 44 週に有意に減少し、雌で投与 1 週時に有意な増加を示した。

飼料効率 ; 投与 1 週時から 13 週時までは週 1 回、その後は 4 週に 1 回、測定した。各用量群雌雄の平均飼料摂取量と平均増体重より飼料効率を算出した。

3000ppm 投与群雌雄で軽度の低下が認められた。

検体摂取量 ; 飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した 1 日当りの平均検体摂取量を下表に示す。

| 投与群 (ppm) | | 対照 | 50 | 500 | 3000 |
|----------------------|---|----|------|------|-------|
| 検体摂取量 (mg/kg/day) | 雄 | — | 1.94 | 19.2 | 123.2 |
| | 雌 | — | 2.26 | 23.0 | 144.5 |

眼 検 査 ; 投与開始時及び 104 週時に、対照群及び 3000ppm 投与群の全生存動物について眼検査を行った。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査 ; 投与 13, 26, 52, 78 及び 104 週間投与終了時に各投与群雌雄各 10 匹を対象に、眼窩静脈叢より採血し、次の項目について検査した。ヘマトクリット値(Ht)、ヘモグロビン量(Hb)、赤血球数、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、血小板数、白血球数及び白血球百分比。

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|------|-------------|-------------|-----|---------|----|---------|---------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| H t | 13 | | | ↓ 92 | | | ↓ 95 |
| | 26 | | | | | | ↓ 93 |
| | 52 | | | ↓ 94 | | | ↓ 92 |
| | 78 | | | ↓ 95 | | | ↓ 92 |
| H b | 13 | | | ↓ 94 | | | ↓ 94 |
| | 26 | | | ↓ 94 | | | ↓ 92 |
| | 52 | | | ↓ 95 | | | ↓ 93 |
| | 78 | | | ↓ 96 | | | ↓ 92 |
| 赤血球数 | 13 | | | ↓ 93 | | ↓ 96 | ↓ 94 |
| | 26 | | | ↓ 92 | | | ↓ 90 |
| | 52 | | | | | | ↓ 91 |
| | 78 | | | ↓ 95 | | | ↓ 92 |

注) Dunnett 多重比較、↑ ↓ : p<0.05、↑ ↓ ↓ : p<0.01
表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

(前頁表の続き)

| 検査項目 | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|-------|-------------|-------------|----------|----------|---------|-----|----------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| 白血球数 | 13 | | | | | | ↑ 122 |
| | 52 | | | | | | ↑ 129 |
| | 78 | | | | | | ↑ 125 |
| リンパ球数 | 13 | | | | | | ↑ 128 |
| | 52 | | | ↑ 123 | | | ↑ 139 |
| | 78 | | | | | | ↑ 137 |
| 血小板数 | 52 | | | | | | ↑ 121 |
| | 78 | | ↑ 117 | | | | |
| | 104 | | | | ↓ 74 | | |
| MCV | 52 | ↓ 97 | | | | | |
| MCH | 52 | ↓ 97 | | | | | |

注) Dunnett 多重比較、↑↓: $p < 0.05$ 、↑ ↓: $p < 0.01$
表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

3000ppm 投与群雌雄でほぼ全期間を通じて Ht、Hb 及び赤血球数の有意な減少が認められた。これらの変化はフェリムソンのラットにおける 3 ヶ月亜急性経口毒性試験の高用量群雌雄でみられた貧血症状と一致し、検体投与の影響と考えられた。

また、3000ppm 投与群雌雄でリンパ球の増加が認められた。しかし、病理組織学的検査ではこれに対応する変化は認められず、その原因は不明であった。

血液生化学的検査 ; 上記血液学的検査と同時期に、同じ動物を対象に血清を採取し、次の項目について検査した。総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G 比、尿素窒素(BUN)、クレアチニン、血糖、総コレステロール、アルカリホスファターゼ(ALP)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、総ビリルビン、Na、K、Ca、P。

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|--------|-------------|-------------|---------|----------|----------|-----|----------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| A L P | 26 | | | ↑ 122 | | | ↑ 164 |
| | 52 | | | ↑ 124 | | | ↑ 210 |
| | 78 | | | | | | ↑ 182 |
| | 104 | | | | | | ↑ 180 |
| アルブミン | 26 | | | ↑ 106 | | | |
| | 78 | | | | ↑ 104 | | ↑ 107 |
| A/G比 | 26 | | | ↑ 109 | | | |
| | 52 | | | ↑ 106 | | | ↑ 107 |
| | 78 | | | | | | ↑ 107 |
| G O T | 26 | ↑ 136 | | | | | |
| | 52 | | | ↓ 68 | | | ↓ 45 |
| | 78 | | | | | | ↓ 47 |
| | 104 | | | ↓ 66 | | | ↓ 62 |
| G P T | 26 | | | ↓ 55 | | | ↓ 65 |
| | 52 | | | ↓ 60 | | | ↓ 32 |
| | 78 | | | ↓ 54 | | | ↓ 35 |
| | 104 | | | ↓ 63 | | | ↓ 50 |
| 総ビリルビン | 52 | | ↓ 85 | ↓ 74 | | | |
| | 78 | | | ↓ 77 | | | ↓ 52 |
| | 104 | | | | | | ↓ 51 |

注) Dunnett 多重比較、↑↓: p<0.05、↑ ↓: p<0.01

表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

(前頁表の続き)

| 検査項目 | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|----------|-------------|-------------|-----|----------|----|-----|----------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| 総コレステロール | 78 | | | ↓ 81 | | | |
| 血 糖 | 52 | | | | | | ↓ 86 |
| | 78 | | | | | | ↓ 80 |
| | 104 | | | | | | ↓ 85 |
| P | 52 | | | ↑ 111 | | | |
| | 78 | | | ↑ 115 | | | ↑ 118 |

注) Dunnett 多重比較、↑↓: p<0.05、↑ ↓: p<0.01
表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

3000ppm 投与群雌雄で ALP 及び A/G 比の増加、並びに GOT、GPT 及び総ビリルビンの減少が認められ、同投与群雌で血糖の減少が認められた。ALP の増加は病理組織学的検査で肝病変が認められたことから、肝機能障害によるものと推察された。GOT、GPT、総コレステロール及び総ビリルビンの減少は他の検査において対応する変化は認められず、いずれも生物学的あるいは毒性学的意義は不明であった。3000ppm 投与群雌における血糖の減少は動物の低栄養状態による二次的变化と考えられた。以上の他、いくつかの項目に増減が散見されたが、検体投与によるものではないと考えられた。

尿 検 査 : 投与 26, 52, 78 及び 104 週時に各投与群雌雄各 10 匹を対象に、個別採尿ケージを用いて採尿し、尿量、尿色及び尿沈渣を検査し、また腰背部圧迫法により採尿してその比重、pH、蛋白、ブドウ糖、ケトン体及び潜血について検査した。

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|------|-------------|-------------|-----|------|---------|----------|----------|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| 尿 量 | 78 | ↑ 105 | | | | | |
| | 104 | | | | | | ↓ 61 |
| 比 重 | 78 | | | | ↓ 98 | ↓ 98 | |
| | 104 | | | | | ↑ 101 | ↑ 102 |
| pH | 78 | ↓ a) | | | | | |
| 蛋 白 | 78 | | | | | | ↓ a) |

注) Mann-Whitney の U 検定、↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は対照群に対する相対値 (%) を表す。

a) pH、蛋白は尿検査試験紙を用いた定性的な検査であるため、対照群に対する相対値は算出していない。

3000ppm 投与群雌で蛋白及び尿量の減少がみられ、尿比重の上昇が認められたが、いずれも散発的であり検体投与による変化ではないと考えられた。

臓器重量 ; 投与 26, 52 及び 104 週間投与終了時の 1 群雌雄各 10 匹を対象に、剖検後、次の臓器重量を測定した。

脳、甲状腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣及び卵巣。

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|------|------|-------------|-------------|-----|----------|----|-----|----------|
| | | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| 脳 | 対体重比 | 26 | | | ↑ 115 | | | ↑ 117 |
| | | 52 | | | ↑ 111 | | | ↑ 117 |
| | | 104 | | | ↑ 117 | | | ↑ 119 |
| 心 | 重 量 | 104 | | | | | | ↓ 88 |
| | 対体重比 | 52 | | | | | | ↑ 113 |

注) Dunnett 多重比較、↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は対照群に対する相対値 (%) を表す。

(前頁表の続き)

| 検査項目 | | 検査時期 (週) | 投 与 量 (ppm) | | | | | |
|------|------|-------------|-------------|----------|----------|----|-----|----------|
| | | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| 肝 | 対体重比 | 26 | ↑ 111 | | ↑ 118 | | | ↑ 110 |
| | | 52 | | ↑ 113 | ↑ 121 | | | |
| | | 104 | | | ↑ 115 | | | |
| 脾 | 重 量 | 26 | | | ↓ 83 | | | |
| | | 52 | | | ↓ 88 | | | ↓ 79 |
| | | 104 | | | ↓ 62 | | | |
| 腎 | 重 量 | 52 | | | | | | ↓ 86 |
| | 対体重比 | 26 | | ↑ 111 | ↑ 118 | | | |
| | | 52 | | | ↑ 162 | | | |
| 甲状腺 | 対体重比 | 26 | | | ↑ 111 | | | ↑ 123 |
| 副 腎 | 重 量 | 26 | | | | | | ↓ 83 |
| | | 52 | | | | | | ↓ 79 |
| | | 104 | | | | | | ↓ 69 |
| 精 巢 | 重 量 | 52 | ↓ 88 | | | | | |
| | 対体重比 | 26 | | | ↑ 115 | | | |
| | | 104 | | | ↑ 125 | | | |
| 卵 巢 | 重 量 | 26 | | | | | | ↓ 80 |

注) Dunnett 多重比較、↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

表中の数値は対照群に対する相対値 (%)を表す。

3000ppm 投与群雄で脾重量の減少が、また雌で副腎重量の減少が認められ、同投与群雌雄で脳重量対体重比の増加及び雄で肝重量対体重比の増加が認められた。

3000ppm 投与群雄における肝重量対体重比の増加は病理組織学的検査結果と平行した。

肉眼的病理検査 ; 投与 26 及び 52 週時の中間屠殺動物、試験終了時の全屠殺動物及び途中死亡・切迫動物を対象に、肉眼的病理検査を行った。

認められた主要な肉眼的異常部位は表 1 に示す。

3000ppm 投与群雄で眼脂、削瘦、頭部腫脹、胃・腸のガス貯留、肝の暗調化及び総胆管腔拡張が対照群に比較して有意に増加した。同投与群雄の 52 週時に総胆管結石の増加が認められた。上記の削瘦、頭部腫脹及び胃・腸のガス貯留は主に死亡・切迫動物において観察された。

3000ppm 投与群雌で体型小型化及び肝の暗調化の発生頻度が対照群に比較し有意に増加した。一方、対照群に比較して発生頻度が減少した項目は 3000ppm 投与群雌における眼球白濁及び皮膚の結節・腫瘍並びに同投与群雌における下垂体結節・腫瘍であった。

500ppm 投与群雄で総胆管結石の発生頻度が対照群に比較し有意に増加した。一方、同投与群雌では皮膚の結節・腫瘍及び脾の腫大の発生頻度が有意に減少した。

病理組織学的検査 ; 投与 26 及び 52 週時の中間屠殺動物、試験終了時の全屠殺動物及び途中切迫動物を対象に、次の組織について病理組織学的検査を実施した。脳（大脳、小脳、脳幹）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾、骨・骨髄（胸骨、大腿骨）、リンパ節（頸部、腸間膜）、心、大動脈、唾液腺、食道、胃（前胃、腺胃）、肝、脾、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、頭部（鼻腔、副鼻腔及び中耳を含む）、気管、肺、腎、膀胱、精巣、精巣上部、前立腺、精囊及び凝固腺、卵巢、子宮（角部、体部、頸管部）、眼球及びハーダー腺、骨格筋（下腿三頭筋）、皮膚（腰背部）、腹部乳腺及び肉眼的異常部位。

〔非腫瘍性病変〕

全試験期間中、検体投与群に増加の認められた病変は次の通りであった。

| 性 別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------|----|----|-----------------|------------------|----|----|-----|------------------|
| | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 投与量 (ppm) | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 検査動物数 | 69 | 70 | 70 | 70 | 69 | 68 | 69 | 70 |
| 脾 萎 縮 | 0 | 0 | 1 | 8 ^{**} | 2 | 2 | 2 | 7 |
| 鼻 炎 | 1 | 2 | 4 | 8 [*] | 2 | 2 | 7 | 4 |
| 前胃びらん・潰瘍 | 2 | 3 | 2 | 15 ^{**} | 3 | 4 | 2 | 9 |
| びまん性肝細胞脂肪化 | 1 | 0 | 0 | 14 ^{**} | 0 | 0 | 4 | 26 ^{**} |
| 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 41 ^{**} | 0 | 0 | 0 | 41 ^{**} |
| 肝細胞萎縮 | 2 | 2 | 1 | 12 ^{**} | 3 | 5 | 5 | 6 |
| 総胆管腔拡張 | 21 | 29 | 35 [*] | 36 ^{**} | 4 | 3 | 5 | 13 [*] |
| 鼻涙管粘膜上皮過形成 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 [*] |
| 下 腿 筋 萎 縮 | 20 | 23 | 27 | 25 | 4 | 6 | 8 | 14 [*] |

注) Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

3000ppm 投与群雌雄で肝における小葉中心性肝細胞腫大、びまん性肝細胞脂肪化及び総胆管腔拡張の発生頻度が対照群に比較し有意に増加した。同投与群雄で脾の萎縮、鼻炎、前胃びらん・潰瘍及び肝細胞萎縮の発生頻度が増加し、雌で鼻涙管粘膜上皮過形成及び下腿筋萎縮の発生頻度が増加した。これらの変化及び前述の血液生化学的検査成績より肝が本検体の標的臓器のひとつであると判断された。

一方、3000ppm 投与群雄で肝臓小肉芽腫、慢性腎症、眼球白内障及び心内膜線維化の発生頻度が減少し、同投与群雌で肺泡沫集簇、胆管増生、初期慢性腎症、慢性腎炎、甲状腺大型小胞増加、脊髄神経線維変性、副腎皮質過形成及び脾臓髓外造血亢進の発生頻度が有意に減少した。

〔腫瘍性病変〕

全試験期間中、検体投与群に増加の認められた腫瘍性病変は次の通りであった。

| 性 別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------|----|----|-----|------------------|----|----|----------------|------------------|
| | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 投与量 (ppm) | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 検査動物数 | 69 | 70 | 70 | 70 | 69 | 68 | 69 | 70 |
| 鼻腔扁平上皮癌 | 0 | 1 | 1 | 23 ^{**} | 0 | 0 | 1 | 13 ^{**} |
| 甲状腺 C-細胞腺腫 | 4 | 3 | 3 | 4 | 1 | 2 | 7 [*] | 3 |
| 腺 腫 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 |

注) Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

3000ppm 投与群雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度が増加した。なお、その程度の軽度なものは鼻涙管に限局しており、雌では鼻涙管粘膜上皮過形成も有意に増加していたことから、鼻腔に観察されたこれらの扁平上皮癌は、鼻涙管由来のものと考えられた。一般にこの腫瘍の発生はまれであるといわれているが、同一系統を用い、ほぼ同時期に、同試験機関で行ったラットにおける長期毒性試験において同一腫瘍の発生が認められている。従って、同腫瘍の発生は必ずしも本系統のラットにおいてまれではないと考えられたが、高用量群でのみ多発していることから、同腫瘍の発生に対する検体投与の影響が示唆された。

各投与群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表の通りであった。

Jcl:Wistar ラットにおける鼻腔原発上皮性腫瘍発生頻度 (): %

| 試験群 | 対照群 | | | フェリムゾン投与群 (ppm) | | | |
|-----|-------|----|---------|-----------------|---------|---------|-------------|
| | A | B | 計 | 50 | 500 | 3000 | |
| 雄 | 検査動物数 | 69 | 70 | 139 | 70 | 70 | 70 |
| | 腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 (2.9) | 2 (2.9) |
| | 扁平上皮癌 | 0 | 4 (5.7) | 4 (2.9) | 1 (1.4) | 1 (1.4) | 23 (32.9)** |
| 雌 | 検査動物数 | 69 | 69 | 138 | 68 | 69 | 70 |
| | 腺腫 | 0 | 0 | 0 | 1 (1.5) | 0 | 0 |
| | 扁平上皮癌 | 0 | 2 (2.9) | 2 (1.4) | 0 | 1 (1.4) | 13 (18.6)** |

A : 1984年2月生のラット (フェリムゾンの対照群- concurrent control)

B : 1984年5月生のラット (他の試験の対照群)

統計検定は対照群Aとの比較で、Fisherの直接確率計算法を用いて行った。

** : $p < 0.01$ ()

3000ppm 投与群雌雄にみられた鼻腔扁平上皮癌以外に本試験で認められた腫瘍性病変はいずれも本系統のラットに認められる自然発生病変であり、検体投与群におけるそれらの発生頻度の増加もみられず、腫瘍発生頻度及び性状に関して検体投与による影響は認められなかった。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | | |
|-----------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|----|
| | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 | |
| 投与量 (ppm) | | | | | | | | | |
| 検査動物数 | 69 | 70 | 70 | 70 | 69 | 68 | 69 | 70 | |
| 腫瘍数 | 良性 | 41 | 41 | 35 | 32 | 72 | 70 | 78 | 46 |
| | 悪性 | 8 | 9 | 9 | 28 | 11 | 7 | 9 | 18 |
| 腫瘍総数 | 49 | 50 | 44 | 60 | 83 | 77 | 87 | 64 | |
| 腫瘍動物数 | 32 | 31 | 31 | 39 | 47 | 43 | 44 | 38 | |

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

以上の結果より、フェリムソンの 104 週間混餌投与によるラットの慢性毒性・発がん性試験における検体投与に関連した影響として、500ppm 以上の投与群における体重増加抑制及び飼料摂取量の低下、3000ppm 投与群における死亡率の増加、Ht、Hb 及び赤血球数の低下、ALP の増加、肝重量対体重比の増加、びまん性肝細胞脂肪化及び小葉中心性肝細胞腫大等の発生頻度の増加がみられたことから無毒性量は、雄 50ppm (1.94mg/kg/day)、雌 500ppm (23.0mg/kg/day) と判断された。さらに、3000ppm 投与群雌雄で鼻腔の扁平上皮癌の発生頻度が増加した。本系統のラットにおける鼻腔内扁平上皮癌の自然発生は稀であるとは考えられない。

申請者注：鼻腔で認められた扁平上皮癌の由来について

フェリムソンのラット亜急性毒性試験において、鼻涙管上皮の扁平上皮化生は対照群を含むほとんどの動物に認められ、発現頻度に顕著な差はなかったが、E 異性体のラット亜急性毒性試験では雌の最高用量 4000ppm 群で鼻涙管に扁平上皮化生の増加が認められた。

更に、立方上皮細胞から成る鼻涙管は刺激性物質に感受性が高く、扁平上皮化生の好発部位であるといわれている^{*)}。

これらの点は、鼻腔で認められた扁平上皮癌は鼻涙管由来であるという考察を支持するものと考えられた。

引用文献 a) : Uraih, L. C., Maronpot, R. R. Normal Histology of the Nasal Cavity and Application of Special Techniques.

Environ. Health Perspect., vol. 85, pp. 187-208, 1990.

表 1. 肉眼的病理学検査成績

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | | |
|----------|-------|----------|-----------|----|-----|-----|----|-----|------|------|---|
| | | | 投与群 (ppm) | | | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 |
| 切迫屠殺・死亡例 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 8 | 8 | 7 | 20 | 15 | 13 | 14 | 14 | |
| | 外観 | 眼脂 | 2 | 3 | 1 | 7 | 5 | 5 | 3 | 5 | |
| | | 削瘦 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | 2 | 4 | 6 | |
| | | 頭部腫脹 | 0 | 0 | 0 | 9** | 0 | 0 | 0 | 2 | |
| | 脾 | 腫大 | 3 | 1 | 1 | 1 | 6 | 4 | 0* | 0* | |
| | 胃 | ガス貯留 | 0 | 1 | 0 | 8* | 0 | 1 | 0 | 3 | |
| | 腸 | ガス貯留 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 1 | 0 | 4* | |
| | 肝 | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| | | 褪色 | 4 | 1 | 1 | 0** | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| | 胆管 | 総胆管結石 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| | | 総胆管腔拡張 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| | 眼球 | 白濁 | 1 | 2 | 0 | 7 | 2 | 2 | 4 | 5 | |
| | 皮膚 | 結節/腫瘤 | 1 | 3 | 2 | 2 | 9 | 5 | 6 | 6 | |
| 26週 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 肝 | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 6** | |
| 52週 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | |
| | 外観 | 眼脂 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 体型小型化 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | |
| | 肝 | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 8** | 0 | 0 | 0 | 4* | |
| | 胆管 | 総胆管結石 | 0 | 0 | 1 | 6** | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 総胆管腔拡張 | | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 最終屠殺例 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 41 | 41 | 43 | 30 | 34 | 35 | 35 | 36 | |
| | 外観 | 眼脂 | 3 | 2 | 0 | 7 | 2 | 2 | 0 | 4 | |
| | | 削瘦 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 1 | 5 | |
| | | 体型小型化 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | |
| | | 頭部腫脹 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 2 | |
| | 脾 | 腫大 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 肝 | 暗調化 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5* | |
| | | 褪色 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | 胆管 | 総胆管結石 | 2 | 3 | 8 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| | | 総胆管腔拡張 | 9 | 9 | 15 | 15* | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| | 眼球 | 白濁 | 22 | 18 | 19 | 4** | 7 | 6 | 4 | 8 | |
| 皮膚 | 結節/腫瘤 | 10 | 4 | 9 | 0** | 23 | 18 | 14* | 11** | | |

注) Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

| 検査 時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|----------|-----------|----------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|
| | 投与群 (ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 全 例 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 69 | 69 | 70 | 70 | 69 | 68 | 69 | 70 |
| | 外観 | 眼脂 | 6 | 5 | 1 | 14* | 7 | 7 | 3 | 9 |
| | | 削瘦 | 0 | 0 | 0 | 5* | 5 | 6 | 5 | 11 |
| | | 体型小型化 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 8** |
| | | 頭部腫脹 | 0 | 0 | 0 | 11** | 0 | 0 | 1 | 4 |
| | 脾 | 腫大 | 5 | 2 | 2 | 3 | 6 | 4 | 0* | 0* |
| | 胃 | ガス貯留 | 0 | 1 | 0 | 8** | 0 | 1 | 0 | 3 |
| | 腸 | ガス貯留 | 0 | 0 | 0 | 7** | 0 | 1 | 0 | 4 |
| | 肝 | 暗調化 | 0 | 0 | 1 | 12** | 0 | 0 | 0 | 16** |
| | | 褪色 | 4 | 1 | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 2 |
| | 胆管 | 総胆管結石 | 2 | 3 | 9* | 8 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | | 総胆管腔拡張 | 9 | 10 | 16 | 18* | 1 | 2 | 4 | 4 |
| | 眼球 | 白濁 | 23 | 21 | 19 | 11* | 9 | 8 | 8 | 13 |
| | 皮膚 | 結節/腫瘤 | 11 | 7 | 11 | 2** | 32 | 23 | 20* | 18** |

注) Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

表2 主な腫瘍性病変

| 検査時期 | 所見名 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------|-------------|-------------|----------|----|------|------|----|----|-----|------|
| | 投与群 (ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 52週 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | 副腎 | 褐色細胞腫 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 乳腺 | 線維腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 途中死亡動物 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 8 | 9 | 7 | 20 | 15 | 13 | 14 | 14 |
| | 鼻腔 | 扁平上皮癌 (M) | 0 | 1 | 1 | 12** | 0 | 0 | 0 | 5* |
| | 肝臓 | 腫瘍性結節 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 精巣 | 間細胞腺腫 | 0 | 0 | 0 | 1 | — | — | — | — |
| | 子宮角 | 子宮内膜間質性*リーフ | — | — | — | — | 2 | 0 | 2 | 0 |
| | 下垂体 | 前葉腺腫 | 2 | 3 | 2 | 4 | 8 | 9 | 11 | 3 |
| | | 前葉腺癌 (M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| | 甲状腺 | 乳頭状腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | C-細胞腺腫 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| | 副腎 | 皮質腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| | | 褐色細胞腫 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 大脳 | 髄膜腫 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 線維腫 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 皮膚 | 扁平上皮癌 (M) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | | 腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | 乳腺 | 線維腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | 4 | 2 |
| | | 臓器 | 所見\検査動物数 | 41 | 41 | 43 | 30 | 34 | 35 | 35 |
| 鼻腔 | 腺腫 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| | 扁平上皮癌 (M) | 0 | 0 | 0 | 11** | 0 | 0 | 1 | 8** | |
| 肺 | 腺腫 | 0 | 4 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| 肝臓 | 腫瘍性結節 | 5 | 5 | 3 | 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | |
| 精巣 | 間細胞腺腫 | 3 | 1 | 1 | 2 | — | — | — | — | |
| 子宮角 | 子宮内膜間質性*リーフ | — | — | — | — | 2 | 3 | 3 | 0 | |
| 下垂体 | 前葉腺腫 | 11 | 8 | 6 | 4 | 22 | 18 | 21 | 16 | |
| | 前葉腺癌 (M) | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | |
| 甲状腺 | 乳頭状腺腫 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| | 濾胞状腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | |
| | C-細胞腺腫 | 4 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 5 | 3 | |
| 副腎 | 皮質腺腫 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | |
| | 褐色細胞腫 | 2 | 4 | 4 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | |
| 大脳 | 髄膜腫 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | |
| 皮膚 | 線維腫 | 6 | 1 | 3 | 0* | 1 | 3 | 1 | 3 | |
| | 扁平上皮癌 (M) | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | |
| 乳腺 | 腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 3 | 6 | |
| | 線維腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 15 | 11 | 2** | |

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

表2 主な腫瘍性病変 (つづき)

| 検査時期 | 所見名 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------|-----------|------------------------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|
| | 投与群 (ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 全例 | 臓器 | 所見\検査動物数 ^{a)} | 69 | 70 | 70 | 70 | 69 | 68 | 69 | 70 |
| | 鼻腔 | 腺腫 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | 扁平上皮癌 (M) | 0 | 1 | 1 | 23** | 0 | 0 | 1 | 13** |
| | 肺 | 腺腫 | 0 | 4 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 肝臓 | 腫瘍性結節 | 5 | 5 | 3 | 5 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| | 精巣 | 間細胞腺腫 | 3 | 1 | 1 | 3 | — | — | — | — |
| | 子宮角 | 子宮内膜間質性* リーブ | — | — | — | — | 4 | 3 | 5 | 0 |
| | 下垂体 | 前葉腺腫 | 13 | 11 | 8 | 8 | 30 | 27 | 32 | 19* |
| | | 前葉腺癌 (M) | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 2 |
| | 甲状腺 | 乳頭状腺腫 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| | | 濾胞状腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| | | C-細胞腺腫 | 4 | 3 | 3 | 4 | 1 | 2 | 7* | 3 |
| | 副腎 | 皮質腺腫 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | 2 |
| | | 褐色細胞腫 | 2 | 5 | 4 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| | 大脳 | 髄膜腫 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | 皮膚 | 線維腫 | 7 | 3 | 3 | 0** | 1 | 4 | 1 | 3 |
| | | 扁平上皮癌 (M) | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 |
| | 乳腺 | 腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 4 | 7 |
| | | 線維腺腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 19 | 15 | 5** |

a) : 事故による死亡例は除いた。

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

表3 主な非腫瘍性病変

| 検査時期 | 所見名 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------|----------|------------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|
| | 投与群(ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 26週 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | 鼻腔 | 鼻炎 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 肺 | 泡沫細胞集簇 | 2 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 8** | 0 | 0 | 0 | 10** |
| | | 小肉芽腫 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | 胆管 | 総胆管腔拡張 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 腎臓 | 初期慢性腎症 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| 精巣 | 精細管萎縮 | 0 | 1 | 2 | 0 | — | — | — | — | |
| 52週 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | 鼻腔 | 鼻炎 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | 肺 | 泡沫細胞集簇 | 2 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 肝臓 | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 8** | 0 | 0 | 0 | 10** |
| | | 小肉芽腫 | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| | 胆管 | 総胆管腔拡張 | 0 | 0 | 1 | 6** | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 腎臓 | 初期慢性腎症 | 6 | 5 | 8 | 3 | 3 | 4 | 4 | 0 |
| | 精巣 | 精細管萎縮 | 0 | 1 | 1 | 0 | — | — | — | — |
| | 甲状腺 | 大型小胞増加 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| | | 嚢嚢遺残 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 脊髓(腰部) | 神経根神経線維変性 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 眼球 | 白内障 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 途中死亡動物 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 8 | 9 | 7 | 20 | 15 | 13 | 14 | 14 |
| | 脾臓 | 萎縮 | 0 | 0 | 1 | 8* | 2 | 1 | 0 | 6 |
| | | 褐色色素沈着増加 | 1 | 0 | 1 | 1 | 4 | 6 | 3 | 7 |
| | 鼻腔 | 鼻炎 | 0 | 1 | 0 | 6 | 1 | 1 | 3 | 4 |
| | 肺 | 泡沫細胞集簇 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 3 | 2 | 0 |
| | 胃 | 糜爛/潰瘍 | 2 | 3 | 2 | 15* | 3 | 4 | 1 | 8* |
| | 肝臓 | び慢性肝細胞脂肪化 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 1 | 3 |
| | | 肝細胞萎縮 | 2 | 2 | 1 | 11 | 3 | 3 | 3 | 6 |
| | | 小肉芽腫 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | 胆管増生 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| | 胆管 | 総胆管腔拡張 | 1 | 5 | 4 | 7 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | 腎臓 | 初期慢性腎症 | 2 | 4 | 3 | 8 | 3 | 5 | 4 | 2 |
| | | 慢性腎症 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 |
| | 精巣 | 精細管萎縮 | 1 | 2 | 1 | 3 | — | — | — | — |
| | 甲状腺 | 大型小胞増加 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 0 |
| | | 嚢嚢遺残 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | 脊髓(腰部) | 神経根神経線維変性 | 3 | 6 | 4 | 8 | 6 | 4 | 4 | 3 |
| | 下腿筋 | 筋萎縮 | 4 | 6 | 5 | 10 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| | 眼球 | 白内障 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| 全眼球炎 | | 1 | 2 | 2 | 4 | 1 | 1 | 4 | 2 | |

Fisherの直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

表3 主な非腫瘍性病変(つづき)

| 検査時期 | 所見名 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------|----------|------------|------------------------|------|------|------|----|----|------|------|
| | 投与群(ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 最終屠殺例 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 41 | 41 | 43 | 30 | 34 | 35 | 35 | 36 |
| | 脾臓 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| | | 褐色色素沈着増加 | 0 | 7** | 2 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 |
| | 鼻腔 | 鼻涙管粘膜上皮過形成 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5* |
| | | 鼻炎 | 1 | 0 | 3 | 1 | 1 | 1 | 3 | 0 |
| | 肺 | 泡沫細胞集簇 | 5 | 9 | 8 | 4 | 6 | 5 | 4 | 1* |
| | 胃 | 糜爛/潰瘍 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | 肝臓 | び慢性肝細胞脂肪化 | 0 | 0 | 0 | 11** | 0 | 0 | 3 | 23** |
| | | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 25** | 0 | 0 | 0 | 21** |
| | | 肝細胞萎縮 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| | | 小肉芽腫 | 4 | 4 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| | | 胆管増生 | 0 | 3 | 2 | 0 | 7 | 7 | 3 | 0** |
| | 胆管 | 総胆管腔拡張 | 19 | 23 | 30* | 23** | 4 | 3 | 4 | 12* |
| | 腎臓 | 初期慢性腎症 | 20 | 23 | 23 | 20 | 21 | 23 | 31** | 8** |
| | | 慢性腎症 | 19 | 16 | 15 | 4** | 7 | 5 | 3 | 0** |
| | 精巣 | 精細管萎縮 | 0 | 8** | 8** | 0 | - | - | - | - |
| | 甲状腺 | 大型小胞増加 | 2 | 0 | 0 | 0 | 9 | 4 | 5 | 1** |
| | | 錐囊遺残 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| | 脊髓(腰部) | 神経根神経線維変性 | 40 | 39 | 43 | 27 | 30 | 28 | 27 | 12** |
| | 下腿筋 | 筋萎縮 | 16 | 17 | 22 | 15 | 2 | 5 | 6 | 11** |
| | 眼球 | 白内障 | 9 | 11 | 10 | 2 | 1 | 3 | 2 | 4 |
| | | 全眼球炎 | 14 | 11 | 8 | 4* | 8 | 4 | 5 | 8 |
| | 全例 | 臓器 | 所見\検査動物数 ^{a)} | 69 | 70 | 70 | 70 | 69 | 68 | 69 |
| 脾臓 | | 萎縮 | 0 | 0 | 1 | 8** | 2 | 2 | 2 | 7 |
| | | 褐色色素沈着増加 | 1 | 7* | 3 | 1 | 4 | 10 | 4 | 7 |
| 鼻腔 | | 鼻涙管粘膜上皮過形成 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5* |
| | | 鼻炎 | 1 | 2 | 4 | 8* | 2 | 2 | 7 | 4 |
| 肺 | | 泡沫細胞集簇 | 9 | 15 | 13 | 6 | 7 | 8 | 7 | 1* |
| 胃 | | 糜爛/潰瘍 | 2 | 3 | 2 | 15** | 3 | 4 | 2 | 9 |
| 肝臓 | | び慢性肝細胞脂肪化 | 1 | 0 | 0 | 14** | 0 | 0 | 4 | 26** |
| | | 小葉中心性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 1 | 41** | 0 | 0 | 0 | 41** |
| | | 肝細胞萎縮 | 2 | 2 | 1 | 12** | 3 | 5 | 5 | 6 |
| | | 小肉芽腫 | 7 | 7 | 4 | 1* | 1 | 1 | 4 | 3 |
| | | 胆管増生 | 1 | 3 | 2 | 0 | 9 | 9 | 5 | 1** |
| 胆管 | | 総胆管腔拡張 | 21 | 29 | 35* | 36** | 4 | 3 | 5 | 13* |
| 腎臓 | | 初期慢性腎症 | 29 | 32 | 34 | 31 | 27 | 33 | 40* | 10** |
| | | 慢性腎症 | 20 | 17 | 16 | 5** | 9 | 7 | 4 | 0** |
| 精巣 | | 精細管萎縮 | 1 | 12** | 12** | 3 | - | - | - | - |
| 甲状腺 | | 大型小胞増加 | 2 | 0 | 0 | 0 | 10 | 9 | 7 | 1** |
| | | 錐囊遺残 | 0 | 0 | 5* | 2 | 2 | 0 | 2 | 1 |
| 脊髓(腰部) | | 神経根神経線維変性 | 44 | 45 | 48 | 35 | 36 | 32 | 31 | 15** |
| 下腿筋 | | 筋萎縮 | 20 | 23 | 27 | 25 | 4 | 6 | 8 | 14* |
| 眼球 | | 白内障 | 11 | 13 | 11 | 4* | 2 | 4 | 2 | 6 |
| | | 全眼球炎 | 15 | 13 | 10 | 8 | 9 | 5 | 9 | 10 |

a) : 事故による死亡例は除いた。

Fisher の直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

(2) フェリムゾンのマウスを用いた混飼投与による発がん性試験

(資料7-2)

試験機関 : 残留農薬研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1988年

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : ICR系 (Crj:CD-1) マウス、1群雌雄各50匹を用いた。

試験開始時5週齢 (体重; 雄 26.3~33.0g、雌 19.3~27.3g)

投与開始後18ヵ月時に全生存動物を屠殺した。

投与期間 : 18ヶ月間 (1984年3月22日~1985年9月30日)

投与方法 : 検体を基礎飼料に混合して 50, 500 及び 3000ppm の濃度になるよう試験用飼料を週1回調製した。各試験用飼料を18ヵ月間マウスに自由摂取させた。なお、対照群には基礎飼料のみを自由摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中、検体投与に関連すると考えられる一般状態の異常は認められなかった。試験終了時における死亡率は次の通りであった。

| 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 投与量 (ppm) | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 供試動物数 | 49* | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| 死亡率 (%) | 34.7 | 20.0 | 26.0 | 18.0 | 34.0 | 24.0 | 14.0 | 14.0 |

注) *; 試験14週時に1匹事故死

3000及び500ppm投与群雌で投与71週時以後試験終了時まで対照群に比較して有意に低い死亡率を示した。

体重変化 ; 投与開始時から13週時までは週1回、その後は4週間に1回、全生存動物の体重を個体別に測定した。

3000及び500ppm投与群雄で投与4週時以後、同投与群雌で全投与期間にわたり対照群に比較して有意に低い値を示した。また、500ppm投与群雌雄で全投与期間にわたり対照群に比較して低い値で推移し、有意差を示す週が散見された。

飼料摂取量 ; 投与1週時から13週時までは週1回、その後は4週間に1回、全生存動物の飼料摂取量をケージ別に測定し、1日1匹当りの飼料摂取量を

算出した。

3000ppm 投与群雌雄で総飼料摂取量が軽度に減少し、有意に低い値を示す週が散見された。500ppm 投与群雌で対照群に比較して低い値を示す週が散見された。

飼料効率 : 投与1週時から13週時までは週1回、全生存動物の飼料効率を飼料摂取量と増体重より算出した。

各投与群の飼料効率は雌雄とも対照群に比較して低い傾向を示し、3000ppm 投与群雌雄及び500ppm 投与群雌で顕著であった。

検体摂取量 : 飼料摂取量及び飼料中の検体濃度から算出した1日当りの平均検体摂取量を下表に示す。

| 投与群 (ppm) | | 対照 | 50 | 500 | 3000 |
|----------------------|---|----|------|------|------|
| 検体摂取量 (mg/kg/day) | 雄 | — | 4.75 | 48.4 | 302 |
| | 雌 | — | 5.16 | 52.7 | 354 |

血液学的検査 : 投与52週時及び78週間投与終了時(18ヵ月時)に1群雌雄各10匹を対象に、尾端部より採血し、白血球百分比を測定した。

3000及び500ppm 投与群雌で、投与52週時に好酸球の百分比の有意な増加が認められた。

臓器重量 : 試験終了時(78週時)の1群雌雄各10匹を対象に、剖検の後、次の臓器重量を測定した、対体重比も算出した。脳、甲状腺、心、肝、脾、腎、副腎、精巣及び卵巣。

対照群に比較し、統計学的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 性 別 | | 雄 | | | 雌 | | |
|-------------|------|----------|-----|----------|----|-----|----------|
| 投 与 量 (ppm) | | 50 | 500 | 3000 | 50 | 500 | 3000 |
| 脳 | 対体重比 | | | ↑ 121 | | | ↑ 134 |
| | 重 量 | ↑ 138 | | | | | |
| 甲状腺 | 対体重比 | ↑ 144 | | ↑ 144 | | | |
| | 重 量 | | | | | | |
| 肝 | 対体重比 | | | | | | ↑ 135 |
| 腎 | 重 量 | | | | | | ↓ 83 |
| 精 巢 | 対体重比 | | | ↑ 162 | | | |

注) Dunnett 多重比較、↑↓; p<0.05、↑↓; p<0.01
表中の数値は対照群に対する相対値(%)を表す。

3000ppm 投与群雄で脳、甲状腺及び精巣の対体重比の増加がみられ、同投与群雌で脳及び肝の対体重比の増加が認められた。

肉眼的病理検査 ; 試験終了時の全屠殺動物及び途中死亡動物を対象に、肉眼的病理検査を行った。

下表に示す通り、3000ppm 投与群雄で肝の結節及び腫瘍発生頻度が有意に増加した。

また、肝の色調混濁あるいは暗調化の頻度が増加した。雌では検体投与に関連する所見は認められなかった。

| 検査時期 | 性別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------|-----------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|
| | 投与群 (ppm) | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 切迫死亡 | 所見\検査動物数 | 18 | 10 | 13 | 9 | 17 | 12 | 7 | 6 |
| | 色調混濁 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 4** | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | 結節/腫瘍 | 3 | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 78週 | 所見\検査動物数 | 32 | 40 | 37 | 41 | 33 | 38 | 43 | 43 |
| | 色調混濁 | 0 | 0 | 0 | 5* | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 結節/腫瘍 | 12 | 16 | 8 | 24 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 全例 | 所見\検査動物数 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | 色調混濁 | 0 | 0 | 0 | 5* | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 暗調化 | 0 | 0 | 0 | 5* | 0 | 0 | 1 | 2 |
| | 結節/腫瘍 | 15 | 17 | 9 | 27* | 1 | 0 | 1 | 1 |

注) Fisher の直接確率計算法 * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$

病理組織学的検査 ; 試験終了時の全屠殺動物及び途中死亡動物を対象に、次の組織について病理組織学的検査を実施した。脳、脊髄(頸部、胸部、腰部)、末梢神経(坐骨神経)、下垂体、胸腺、甲状腺・上皮小体、副腎、脾、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部、腸間膜)、心、大動脈、唾液腺、食道、胃(前胃、腺胃)、肝、胆嚢、膵、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、気管、肺、腎、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢及び凝固腺、卵巣、子宮(角部、体部、頸管部)、眼球及び付属腺、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部; 雌のみ)及び肉眼的異常部位(正常組織との境界部も含め、また腫瘍の場合には近傍リンパ節を含む)。

また、鼻腔及び副鼻腔を含む頭部を Young の方法に従って組織切片を作製し、上記検査を行った。

[非腫瘍性病変]

3000ppm 投与群雄の途中死亡・切迫殺動物に副腎被膜下細胞増生がみられ、雌では検体投与に関連した変化は認められなかったことから、

偶発性病変と考えられた。

また、500ppm 投与群雄及び 3000ppm 投与群雌雄マウスの鼻部組織レベル 2 における鼻腔内に管腔内分泌物、全投与群雌のレベル 3 における固有層の慢性炎症、50ppm を除く全ての投与群雌の鼻涙管レベル 2 において管腔内に細胞碎片が有意に増加した。これらの非腫瘍性病変はいずれも増殖性あるいは前腫瘍性所見とは考えられず吸入した検体の刺激性に対する反応を示唆している。

| 性 別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|----------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|
| 投与群 (ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 鼻の部位 | 所見\検査動物数 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 47 | 50 |
| 鼻部Ⅱ | 鼻腔内分泌物 | 12 | 13 | 23 | 32 | 4 | 9 | 10 | 21 |
| 鼻部Ⅲ | 固有層の慢性炎症 | 3 | 0 | 2 | 4 | 1 | 20 | 12 | 36 |
| 鼻涙管Ⅱ | 管腔内細胞碎片 | 0 | 6 | 8 | 9 | 10 | 16 | 21 | 19 |

〔腫瘍性病変〕

各投与群のマウスの各種臓器及び組織に腫瘍の発生が認められたが、腫瘍の発生時期及び発生頻度において投与群と対照群との間に検体投与に関連づけられる差は認められなかった。

各投与群における腫瘍動物数、腫瘍総数、悪性及び良性腫瘍数は下表の通りであった。

| 性 別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|-----------|----|----|----|-----|------|----|----|-----|------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 50 | 500 | 3000 | 0 | 50 | 500 | 3000 |
| 検査動物数 | | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 49 |
| 腫瘍数 | 良性 | 45 | 39 | 25 | 48 | 12 | 16 | 17 | 21 |
| | 悪性 | 11 | 9 | 17 | 17 | 17 | 17 | 13 | 14 |
| 腫瘍総数 | | 56 | 48 | 42 | 65 | 29 | 33 | 30 | 35 |
| 腫瘍動物数 | | 35 | 32 | 29 | 40 | 26 | 28 | 22 | 28 |

また、いずれの投与群雌雄においても鼻あるいは鼻涙管にフェリムソンの投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果より、フェリムソンの 78 週間混餌投与によるマウスの発がん性試験における検体投与に関連した影響として、500ppm 以上の投与群における体重増加抑制、3000ppm 投与群における飼料摂取量及び飼料効率の低下、肝の色調混濁あるいは暗調化の頻度の増加などがみられたことから、本試験における無毒性量は 50ppm (雄 4.75mg/kg/day、雌 5.16mg/kg/day) と判断される。また、発がん性はないものと判断される。

腫瘍性病変発生分布表 [動物：マウス]

| 良性・悪性 | 臓器 | 腫瘍性病変 | 雄 | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | |
|-------|------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---|----|---|----|---|---|
| | | | 0ppm | | 500ppm | | 3000ppm | | 0ppm | | 500ppm | | 3000ppm | | | | | | | |
| | | | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | 78w 切迫死 | | | | | | |
| 良性 | 肺 | 腫 | 3 | 11 | 1 | 8 | 1 | 5* | 1 | 12 | 1 | 12 | 3 | 6 | 2 | 6 | 0 | 9 | | |
| | | 肝細胞腫 | 4 | 16 | 1 | 16 | 3 | 7** | 3 | 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| | 精巣 | 間細胞腫 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | | 腺 | 2 | 5 | 1 | 8 | 1 | 5 | 1 | 4 | 0 | 4 | 0 | 0* | 0 | 2 | 0 | 0 | 5 | |
| | 子宮 | 子宮内臓間質性リネオ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | |
| | | 血管腫 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| | 子宮頸管 | 平滑筋腫 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| | | 骨髄性白血病 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| | 悪性 | 造血・リンパ系 | 悪性リンパ腫 | 2 | 1 | 2 | 1 | 5 | 2 | 5 | 2 | 2 | 5 | 9 | 3 | 2 | 4 | 3 | 6 | 1 |
| | | | 腺癌 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 5 | 1 | 5 | 1 | 2 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 肝 | | 肝細胞癌 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 平滑筋肉腫 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 子宮腺 | | 腺 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 腺 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 検査動物数 | | | 18 | 32 | 10 | 40 | 13 | 37 | 9 | 41 | 17 | 33 | 12 | 38 | 7 | 43 | 6 | 43 | | |

註) Fisherの直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

一は、検査対象組織がないことを示す。

非腫瘍性病変発生分布表 [動物：マウス]

| 臓器 | 腫瘍性病変 | 雄 | | | | | | | | | | | | 雌 | | | | | | | | | | | |
|----|-----------|------|-----|-------|-----|--------|-----|---------|-----|------|-----|-------|-----|--------|-----|---------|-----|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | 0ppm | | 50ppm | | 500ppm | | 3000ppm | | 0ppm | | 50ppm | | 500ppm | | 3000ppm | | | | | | | | | |
| | | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | 切迫死 | 78w | | | | | | | | |
| 脾 | 褐色色素沈着増加 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 10 | 3 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| | 細網細胞過形成 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| | 肺超上皮過形成 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| 前腺 | 粘膜炎 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| | 粘膜炎 | 0 | 3 | 1 | 3 | 0 | 4 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| | びまん性肝細胞腫大 | 2 | 7 | 1 | 9 | 0 | 2* | 1 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| 肝 | 限局性肝細胞腫大 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 2 | 8 | 0 | 0 | 0 | 1* | | | | | | | | |
| | 小肉芽腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 2 | | | | | | | | |
| | 粘膜炎 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| 膀胱 | 被膜下細胞増生 | 0 | 11 | 3* | 14 | 1 | 8 | 3* | 11 | 8 | 19 | 6 | 23 | 1 | 27 | 3 | 13* | | | | | | | | |
| | 白血球 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | |
| | 検査動物数 | 18 | 32 | 10 | 40 | 13 | 37 | 9 | 41 | 17 | 33 | 12 | 38 | 7 | 43 | 6 | 43 | | | | | | | | |

註) Fisherの直接確率計算法 * : p<0.05, ** : p<0.01

(3) フェリムゾンのイヌを用いた慢性毒性試験

(資料7-3)

試験機関 : International Research and
Development Corporation
(米 国) (GLP対応)
報告書作成年 : 1988年

検 体 : フェリムゾン原体
 検体の純度 :
 供試動物 : ビーグル犬 (試験開始時約6ヵ月齢)
 (体重; 雄7.2~11.3 kg、雌6.3~8.7 kg) 1群雌雄各 4匹
 投与期間 : 52週間 (1986年1月9日~1987年1月9日)
 投与方法 : 検体をカプセルに封入し、0, 10, 30 及び 100 mg/kg/day の投与量で、
 1日1回イヌに経口投与した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を少なくとも1日2回観察した。

100 mg/kg/day 投与群に削瘦、脱水、食欲欠乏、不活発、下痢または軟便、虚脱、跳躍及び鼻汁などの症状を呈する動物が認められた。また、30 及び 100 mg/kg/day 投与群の全動物でときおり嘔吐が認められた。試験終了時における死亡率は次の通りであった。

| 性 別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|----------------------|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 投 与 量 (mg/kg/day) | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 供試動物数 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 死亡率 (%) | 0 | 0 | 0 | 25 | 0 | 0 | 0 | 50 |

体 重 変 化 ; 投与開始時、投与1週目から14週目までは週1回、その後は4週に1回、52週目及び試験終了時に個体別に体重を測定した。30 mg/kg/day 投与群雄及び100 mg/kg/day 投与群雌雄の平均体重は対照群と比較して低い値を示したが、統計学的有意差は認められなかった。

飼料摂取量及び飼料効率 ; 上記体重測定時に飼料摂取量を測定した。この測定値と体重から、1週目から14週目までの飼料効率を算出した。

各投与群と対照群の平均飼料摂取量を比較すると、各投与群とも測定したほとんどの週で対照群より低い値を示していたが、バラツキが大きく、統計学的に有意差のみられたのは30 mg/kg/day 投与群雌の11週目、100 mg/kg/day 投与群雌の11及び26週目のみであった。飼料効率は変動が大きく、100 mg/kg/day 投与群ではほとんどの週で対照群より低い値を示していたが統計的有意差は認められなかった。

眼 検 査 ; 試験前及び試験開始52週目に検眼鏡検査を行い、必要があると判断された動物について、さらに直接検査あるいはスリットランプを用いる検査を行った。

検体投与に関連する所見は全く認められなかった。

血液学的検査 ; 試験開始前、試験開始6及び12ヵ月目に全生存動物の血液学的検査を行った。

1晩絶水絶食後、頸静脈より採血し、次の項目を調べた。白血球数、赤血球数、ヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット値 (Ht)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、平均赤血球容積 (MCV)、血小板数、網赤血球、プロトロンビン時間、凝固時間及び白血球百分比。

対照群に比較して統計的に有意差の認められた項目は、次の通りであった。

| 検 査 項 目 | 検 査 時 期 (月) | 投 与 量 (mg/kg/day) | | | | | |
|---------|------------------|-------------------|----------|----------|----|----|-----|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 10 | 30 | 100 | 10 | 30 | 100 |
| 白血球数 | 12 | ↑ 141 | | | | | |
| 赤血球数 | 12 | | ↓ 78 | | | | |
| Hb | 12 | ↓ 88 | ↓ 79 | | | | |
| Ht | 6 | | | ↓ 80 | | | |
| | 12 | | ↓ 78 | ↓ 83 | | | |
| 凝固時間 | 6 | ↑ 131 | ↑ 140 | | | | |
| リンパ球数 | 12 | ↑ 138 | | ↑ 150 | | | |

註) Dunnett 多重比較、↑↓: p<0.05、↑ ↓: p<0.01

表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

6及び12ヵ月目の検査で、30及び100 mg/kg/day 投与群雄に赤血球

数あるいは Hb、Ht の有意な減少が認められたが、この変化は検体投与に関連するものではなかった。凝固時間及びリンパ球数にみられた有意な変化は検体投与に関連するものではなかった。

血液生化学的検査 ; 上記の血液学的検査と同一時期に、その血清を用いて次の項目について検査した。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)、乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH)、クレアチニンホスフォキナーゼ (CPK)、グルコース、尿素窒素 (BUN)、総ビリルビン、総コレステロール、アルブミン、グロブリン、A/G 比、総蛋白、蛋白泳動パターン、クレアチニン、トリグリセリド、リン脂質、赤血球グルタチオン、尿酸、Na⁺、K⁺、Cl⁻、Ca²⁺及び無機リン。
統計的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 検査項目 | 検査時期 (月) | 投与量 (mg/kg/day) | | | | | |
|------------------|-------------|-----------------|----------|----------|----------|----------|-----|
| | | 雄 | | | 雌 | | |
| | | 10 | 30 | 100 | 10 | 30 | 100 |
| Ca ²⁺ | 12 | | | ↓ 86 | | | |
| BUN | 6 | | | | | ↑ 144 | |
| ALP | 6 | ↑ 139 | ↑ 218 | | | | |
| | 12 | ↑ 154 | | | | | |
| AST | 6 | | | | ↑ 113 | | |
| ALT | 12 | | | | ↓ 64 | | |
| LDH | 12 | | ↓ 14 | | | ↓ 38 | |
| コレステロール | 6 | | | | | ↓ 69 | |
| リン脂質 | 6 | | | | | ↓ 75 | |
| 蛋白泳動 | ピーク 1 | 6 | | | ↓ 83 | | |
| | ピーク 3 | 12 | | | ↑ 133 | | |
| | ピーク 5 | 12 | | | ↑ 129 | | |
| | ピーク 6 | 12 | ↑ 109 | ↑ 116 | | | |
| | ピーク 7 | 6 | | | ↑ 149 | | |

註) Dunnett 多重比較、↑↓ : p<0.05、↑ ↓ : p<0.01
表中の数字は対照群に対する相対値 (%)

10 及び 30 mg/kg/day 投与群の雄でアルカリホスファターゼの増加傾向が認められ、また 100 mg/kg/day 投与群雌雄ではアラニンアミノトランスフェラーゼも増加傾向を示した。しかし、この傾向は全動物に一貫して認められる傾向ではなく、従って標準偏差が大きく、また 6 ヶ月時に高値を示した動物のうちかなりの動物が 12 ヶ月後には回復または回復の兆しをみせた。この他、リン脂質、コレステロール、LDH 及び蛋白泳動パターンなどに変化がみられたが、検体投与との関連は明白でなかった。

尿 検 査 ; 前記の血液学的検査と同一時期に採尿し、次の項目について検査した。量、色調及び外観、pH、浸透圧、比重、蛋白、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩、ビリルビン、潜血及び沈査。全項目とも統計学的有意差は認められず、検体投与の影響は認められなかった。

臓 器 重 量 ; 試験終了後、全生存動物を屠殺し、剖検の後、次の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。途中屠殺動物については、その都度検査、秤量した。肝、腎、心、脾、精巣、脳、卵巣、下垂体、甲状腺／上皮小体複合体、副腎、胸腺、肺、子宮、精巣上体、前立腺及び右顎下唾液腺。

肝臓の絶対及び相対重量の群平均値が雌雄 100mg/kg/day 投与群で、統計学的有意差は認められないものの、若干増加を示した。肝臓における検体投与に関連した肉眼的及び組織学的変化を考慮すると、同群の肝重量の増加はわずかではあるが、検体投与に関連した変化であると思われた。

| 性 別 | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 投与量 (mg/kg/day) | | | | | | | | |
| 体 重 | 100 | 107 | 93 | 92 | 100 | 106 | 102 | 95 |
| 肝 重 量 | 100 | 114 | 103 | 115 | 100 | 108 | 116 | 131 |
| 体 重 比 | 100 | 105 | 111 | 123 | 100 | 102 | 111 | 139 |

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。

その他、統計学的に有意差の認められた項目は、30 mg/kg/day 投与群雌における脾の減少のみであり、検体投与に関連していると考えられる変化は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 切迫屠殺動物及び試験終了時の全生存動物を対象に肉眼的病理検査を行った。

検体投与に関連する肉眼的変化としては 100 mg/kg/day 投与群の切迫屠殺動物に顕著にみられた肝の褐色、回腸あるいは胃の粘膜糜爛及

び瘡瘍などの変化が認められた。これ以外の変化は全てビーグル犬における自然発生の変化あるいは死亡時の変化であると考えられた。

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------|-----------------|-----------|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 死亡・切迫殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 肝臓 | 褪色 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 胃 | 粘膜糜爛および潰瘍 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 回腸 | 粘膜糜爛 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | その他 | 削痕 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |

病理組織学的検査 ; 上記の肉眼的病理検査を行った後、次の組織について病理組織標本を作製し、その検査を行った。

副腎、大動脈、骨(肋骨)、骨髓(肋骨)、脳(前脳、中脳、後脳)、眼球及び視神経、胆嚢、食道、胃(噴門、底、幽門)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、卵巣、精巣及び精巣上体、心、腎、喉頭、肝、リンパ節(縦隔リンパ節、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、必要が認められた場合は末梢リンパ節)、乳腺(雌のみ)、脾、下垂体、前立腺、唾液腺[下顎腺(耳下腺)、舌下腺]、坐骨神経、骨格筋(大腿)、皮膚、脊髄(頸髄、胸髄、腰髄)、脾、胸骨、胸腺、甲状腺/上皮小体複合体、舌、気管、膀胱、子宮、膈、各組織の腫瘍及び肉眼的に認められた病変。

100 mg/kg/day 投与群の雌雄全例の肝細胞及びクッパー細胞に、また、対照群の雌1例のクッパー細胞に緑色から緑灰色の色素沈着が認められた。そのため、当該色素を胆汁及び鉄で染色したところ、胆汁染色では全例陰性であったが、鉄染色では、陽性が投与群の雌雄各1例、陰性が雌雄各1例であった。また、対照群では両染色とも全て陰性であった。

| | | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|----|-----------|-----------------|---|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | | 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 臓器 | 所見\検査動物数 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 肝臓 | 緑色色素沈着 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 4 | |
| | 特殊染色 * | 所見\検査動物数 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | 胆汁染色陽性 | 0 | - | - | 0 | 0 | - | - | 0 | |
| | | 鉄染色陽性 | 0 | - | - | 1 | 0 | - | - | 1 | |

* : 特殊染色(胆汁及び鉄染色)は、100mg/kg/day 群雌雄各2例(緑色色素を持つ動物)と対照群雌雄各2例(うち、雌1例は緑色色素を持つ動物)について実施された。

従って、当該色素は、胆汁に起因したものではなく、また、全てが赤血球等に由来するものではないと考えられ、本剤の代謝物の可能性も考えられた。

また、切迫屠殺した動物に骨髓細胞充実不全、回腸の炎症、胃幽門部の潰瘍性炎症、骨格筋萎縮及び胸腺／縦隔リンパ節のリンパ球枯渇などが認められたが、これらは必ずしも切迫屠殺動物全例に認められた変化ではなく、最終屠殺動物には認められなかったことから検体投与のストレスによる二次的变化であることも考えられた。

腫瘍性病変としては、100 mg/kg/day 投与群雌途中屠殺例 1 例にみられた口腔内組織の乳頭腫のみで、他の動物には全く認められなかったことより、検体との関連はないものと考えられた。

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------------|-----------------|----------|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 死亡 切迫屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 肝臓 | 緑色色素沈着 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 胃 | 幽門部潰瘍性炎症 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 回腸 | 炎症 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 縦隔リンパ節 | リンパ球枯渇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 胸腺 | リンパ球枯渇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 骨格筋 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 骨髓 | 骨髓細胞充実不全 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 口腔内組織 | 乳頭腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 最終屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 2 |
| | 肝臓 | 緑色色素沈着 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 2 |

以上の結果より、フェリムゾンのイヌに対する 1 年間経口投与による慢性毒性試験における影響として、30 及び 100 mg/kg/day 投与群の雄で体重の低値および雌で食欲不振が、100 mg/kg/day 投与群の雌雄で肝臓の色素沈着が認められたことから、無毒性量は 10 mg/kg/day であると判断される。

申請者注：肝臓で認められた緑色および緑灰色の色素沈着について

報告書では、当該色素沈着について、「本検体あるいはその代謝物であると思われる」と考察されているが、本検体は白色であることから、沈着物は検体そのものではないと考えられた。試験機関から肝臓パラフィンブロックを取り寄せ、当該色素に関する病理組織学的検査並びに電子顕微鏡的検査をあらためて実施した結果、肝細胞及びクッパー細胞に加えて毛細胆管にも色素沈着が認められた。加えて、各種特殊染色についても実施した結果、ベルリン青染色、シュモール反応、フォンタナ・マッソン染色において陽性であった。以上の結果と 100mg/kg/day 投与群の全動物でアルカリフォスファターゼの高値が認められたことを鑑み（胆管系への影響が示唆されることから）、本色素沈着については胆汁色素である可能性が最も高いと考えられた。

表 1. 病理組織学的検査成績

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|---------|-----------------|---------------|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 死亡・切迫殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 肺 | 気管支肺炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 肝臓 | 鉄陽性* | 0 | - | - | 1 | 0 | - | - | 1 |
| | | 緑色色素沈着 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 腎臓 | 鉍質沈着 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 胃 | 幽門部潰瘍性炎症 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 回腸 | 炎症 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 顎下リンパ節 | 色素性マクロファージ | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 縦隔リンパ節 | 出血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | リンパ球枯渇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 胸腺 | リンパ球枯渇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 副腎 | 皮質鉍質沈着 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 下垂体 | 嚢胞 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 骨格筋 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 骨髄 | 骨髄細胞充実不全 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 口腔内組織 | 乳頭腫 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 最終屠殺 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 2 |
| | 肺 | 細気管支炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 間質性肺炎 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 心臓 | 脂肪浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 肝臓 | 鉄陽性* | 0 | - | - | 0 | 1 | - | - | 0 |
| | | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | | 緑色色素沈着 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| | 腎臓 | リンパ球様細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 鉍質沈着 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 2 |
| | | 慢性腎炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 胃 | 噴門部リンパ球系細胞過形成 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 基部鉍質沈着 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 幽門部リンパ球系細胞過形成 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 十二指腸 | うっ血 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 腺の嚢胞状拡張 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 脾臓 | うっ血 | 4 | 4 | 4 | 2 | 4 | 3 | 2 | 2 |
| | | 出血 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 顎下リンパ節 | 出血 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 色素性マクロファージ | 3 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| | 縦隔リンパ節 | 出血 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 腸間膜リンパ節 | 浮腫 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | 出血 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | |
| | 色素性マクロファージ | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |

- : 対象臓器なし

* : 0 および 100mg/kg/day 群の各 2 匹について鉄染色を実施

表1. 病理組織学的検査成績 (続き)

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|--------|-----------------|---------------|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 最終屠殺 | 副腎 | 皮質炎症 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 皮質出血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 下垂体 | 嚢胞 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| | 甲状腺 | 傍濾胞細胞過形成 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | | 甲状腺炎 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 精巣 | 炎症 | 0 | 0 | 1 | 0 | - | - | - | - | |
| 全動物 | 臓器 | 所見\検査動物数 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 肺 | 気管支肺炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | 細気管支炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 間質性肺炎 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 心臓 | 脂肪浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 肝臓 | 鉄陽性* | 0 | - | - | 1 | 1 | - | - | 1 |
| | | 単核細胞浸潤 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | | 緑色色素沈着 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| | 腎臓 | リンパ球様細胞浸潤 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 鉍質沈着 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 |
| | | 慢性腎炎 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | 胃 | 噴門部リンパ球様細胞過形成 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 基底部鉍質沈着 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 幽門部潰瘍性炎症 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | 幽門部リンパ球系細胞過形成 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 十二指腸 | うっ血 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 腺の嚢胞状拡張 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 回腸 | 炎症 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 脾臓 | うっ血 | 4 | 4 | 4 | 2 | 4 | 3 | 2 | 2 |
| | | 出血 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 顎下リンパ節 | 出血 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 色素性マクロファージ | 3 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| | 縦隔リンパ節 | 出血 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| | | リンパ球枯渇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 腸間膜リンパ節 | 浮腫 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 出血 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | | 色素性マクロファージ | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | 胸腺 | リンパ球枯渇 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 副腎 | 皮質炎症 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 皮質出血 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| 皮質鉍質沈着 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 下垂体 | 嚢胞 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | |

- : 対象臓器なし

* : 0 および 100mg/kg/day 群の各 2 匹について鉄染色を実施

表2. 病理組織学的検査成績(非腫瘍性)

| 検査時期 | 性別 | | 雄 | | | | 雌 | | | |
|------|-----------------|----------|---|----|----|-----|---|----|----|-----|
| | 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 10 | 30 | 100 | 0 | 10 | 30 | 100 |
| 全動物 | 甲状腺 | 傍濾胞細胞過形成 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | | 甲状腺炎 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| | 精巣 | 炎症 | 0 | 0 | 1 | 0 | - | - | - | - |
| | 骨格筋 | 萎縮 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 骨髓 | 骨髓細胞充実不全 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | | | | | | | | | | |

- : 対象臓器なし

8. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

(1) フェリムゾンのラットを用いた繁殖試験

(資料8-1)

試験機関 : International Research and
Development Corporation

(米 国) [GLP]

報告書作成年 : 1987年

検 体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

試験動物 : SD (COBS^①CD^①) 系ラット、1群雌雄各26匹
投与開始時5週齢 (体重 ; 雄167g、雌105g)

試験期間 : 1986年9月17日~1987年5月22日

投与期間 : F₀およびF₁世代 ; 交配前8週間から交配期間を経て、雄動物は
雌動物の出産後まで、雌動物は児動物が離乳するまで各々投与した。

投与方法 : 検体を一定量の基礎飼料と混合してプレミックスを調製した。これ
を所定量の基礎飼料と混合し、200、600及び1800 ppmの濃度の試
験用飼料を調製した。試験用飼料は週1回調製した。
投与群には各試験用飼料を、対照群には基礎飼料のみをラットに自
由摂取させた。

試験方法及び試験項目 : 概要を表にまとめた。

一般症状及び死亡率 ; 全動物について毎日観察した。親動物及び離乳後の児動物
の詳細な観察を週1回行った。

体 重 ; 親動物については週1回測定し、雌親動物については妊娠0、6、15
及び20日時に、また児動物については哺育0、7、14及び21日時に
測定した。

摂餌量、摂水量及び摂餌効率 ; 摂餌量及び摂水量は交配時を除く各世代の投与開始から終了時まで週1回測定し、g/ラット/day 及び g/kg/day を計算し、また摂餌効率を算出した。

交配及び妊娠の確認 ; 雌雄1対1で同居させ、膣栓及び膣垢中の精子の存在により交尾を確認し、妊娠は分娩により確認した。

繁殖性に関する項目 ; 交尾率、妊娠率、授胎率、分娩率、交尾期間、妊娠期間、同腹児数、生存児数、死亡児数、生存率、児体重などにより評価した。算出方法は次の通りである。

交尾率 = (交尾を確認した雌数 / 交配に用いた雌数) × 100

妊娠率 = (妊娠雌数 / 交配に用いた雌数) × 100

授胎率 = (妊娠させた雄数 / 交配に用いた雄数) × 100

分娩率 = (生存児を出産した雌数 / 妊娠した雌数) × 100

交尾までの期間 = 雌雄同居から交尾確認までの期間

妊娠期間 = 交尾確認から分娩までの期間

剖検 ; F₀ 及び F₁ 雄親動物は雌親動物の分娩後、屠殺、剖検した。F₀ 雌親動物は F₁ 児の離乳後に、また F₁ 親動物は F₂ 児の離乳時に屠殺、剖検し、F₂ 児動物は3週間哺育後、屠殺、剖検した。死亡動物及び瀕死の動物は発見後直ちに剖検した。

臓器重量 ; F₀ 及び F₁ 雄の精巣重量を測定し、対体重比を算出した。

病理組織学的検査 ; F₀ 及び F₁ 親動物と F₂ 児動物雌雄、試験中に死亡した動物及び瀕死状態のため屠殺した動物について下記の組織の病理標本を複製し、病理組織学的検査を行った。

卵巣(2)、下垂体、前立腺、精囊(2)、精巣上体を含む精巣、膣、子宮及び全ての肉眼的病変部。

| 世代 | 期間 (週間) | 作業手順 | 試験項目 |
|----------------|-----------|---|---|
| F ₀ | 育成期間 (8) | 5 週齢より投与開始 | 一般症状、生死を毎日観察、体重、飼料摂取量を週 1 回測定 |
| | 交配 (20 日) | 雌雄 1 対 1 で交配、交尾は膣栓及び膣垢中の精子で確認 (妊娠 0 日) | 交尾の観察 (20 日間) 雄の交尾能も観察 |
| | 妊 娠 (3) | | 体重を 0, 6, 15 及び 20 日に測定 |
| | 出 産 --- | (F ₁) ----- | 妊娠率、新生児数、死産児数、外形異常、性別、児体重測定 F ₀ 雄動物を屠殺、剖検 |
| | 哺 育 (3) | 4 日齢時に可能な限り雌雄同数の合計 8 匹に調整 | 一般症状、生死を毎日観察、0, 4, 7, 14 及び 21 日齢時に体重測定、死亡動物は剖検 |
| F ₁ | 離 乳 --- | 21 日齢時に離乳、1 腹当り雌雄各 1 匹計雌雄各 26 匹を F ₁ 親用として無作為に選抜 | 雌親動物を剖検、病理学的検査 |
| | 育成期間 (8) | 離乳時より投与開始 | F ₀ に準ずる |
| | 交配 (20 日) | F ₀ 交配に準ずる | F ₀ 交配に準ずる |
| F ₂ | 妊 娠 (3) | | F ₀ 交配に準ずる |
| | 出 産 --- | (F ₂) ----- | F ₁ に準ずる |
| | 哺 育 (3) | F ₁ に準ずる | F ₁ に準ずる |
| | 離 乳 --- | 21 日齢時に離乳 | 雌親動物を剖検、病理学的検査 |

試験結果:

| 世代 | | 親 : F ₀ (児 : F ₁) | | | | |
|--------------------------------------|-----------|--|--------------------|--------------------|--------------------|-------|
| 投与量 (ppm) | | 0 | 200 | 600 | 1800 | |
| 動物数 | 雄 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| | 雌 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| 死亡数 | 雄 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| | 雌 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 一般症状 (発現例数) | 雄 | 脱毛 4 上顎切歯不正歯列 2 | 脱毛 2 上顎切歯不正歯列 1 | 脱毛 3 上顎切歯不正歯列 5 | 脱毛 4 上顎切歯不正歯列 3 | |
| | 雌 | 脱毛 6 上顎不正歯列 1 | 脱毛 6 上顎不正歯列 2 | 脱毛 7 上顎不正歯列 0 | 脱毛 6 上顎不正歯列 0 | |
| 平均体重 (g) | 試験 0 週 | 雄 | 167 | 168 | 163 | 168 |
| | | 雌 | 105 | 106 | 105 | 105 |
| | 試験 8 週 | 雄 | 443 | 458 | 455 | 425 |
| | | 雌 | 245 | 237 | 243 | 223** |
| | 試験 11 週 | 雄 | 482 | 509 | 501 | 479 |
| | | 雌 | 335 | 324 | 318 | 288** |
| | 試験 15 週 | 雄 | 542 | 559 | 553 | 522 |
| | | 雌 | 281 | 278 | 281 | 266 |
| 体重 増加量 (g) | 妊娠 0-20 日 | 121 | 120 | 115 | 93 | |
| | 哺育 0-21 日 | 2 | 1 | 20 | 31 | |
| 平均摂取量 (g/動物/日) ¹⁾ | 雄 | 24.2~26.0 | 24.8~27.1 | 21.3**~27.9 | 22.1**~25.8 | |
| | 雌 | 17.3~19.0 | 16.5~24.1 | 16.8~18.6 | 14.9**~17.3 | |
| 平均検体摂取量 (mg/kg/day) ²⁾ | 雄 | 0 | 15.1 | 45.0 | 136.8 | |
| | 雌 | 0 | 19.3 | 55.5 | 158.6 | |
| 平均摂水量 (g/動物/日) ¹⁾ | 雄 | 30.6~38.7 | 29.5~39.0 | 28.6~40.0 | 30.0~42.1 | |
| | 雌 | 23.1~33.5 | 22.1~34.9 | 24.1~36.5 | 27.2~37.3 | |
| 肉眼的病理検査 | 雄 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| | 雌 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| 病理組織学的検査 | 雄 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| | 雌 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| 精巣重量 (g) | 雄 | 3.23 | 3.58 | 3.62 | 3.50 | |
| 交尾率 (%) | 雌 | 26/26 (100) | 25/26 (96.2) | 24/26 (92.3) | 25/26 (96.2) | |
| 授胎率 (%) | 雄 | 24/25 ³⁾ (96.0) | 24/26 (92.3) | 21/26 (80.8) | 24/26 (92.3) | |
| 妊娠率 (%) | 雌 | 25/26 (96.2) | 24/25 (96.0) | 21/24 (87.5) | 24/25 (96.0) | |
| 分娩率 (%) | 雌 | 25/25 (100) | 24/24 (100) | 21/21 (100) | 22/24 (91.7) | |
| 交尾までの所要 日数 (日) | 雌 | 3.2 | 3.3 | 2.8 | 3.6 | |
| 妊娠期間 (日) | 雌 | 22.1 | 22.0 | 22.2 | 22.4 | |

註) Dunnett 多重比較、** : p<0.01

¹⁾試験 1~8 週時の最低値~最高値

²⁾試験 1~8 週時の平均値

³⁾交配前に 1 例死亡

| 世 代 | | (親 : F ₀) 児 : F ₁ | | | | |
|---------------|-----------------------------|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 投 与 量 (ppm) | | 0 | 200 | 600 | 1800 | |
| 児 | 生 存 児 数 及 び 生 存 率 (%) | 出生時 | 325/328 (99.1) | 296/300 (98.7) | 254/255 (99.6) | 220/223 (98.7) |
| | | 4 日 齢 | 314/325 (96.6) | 296/296 (100) | 251/254 (98.8) | 218/220 (99.1) |
| | | 7 日 齢 | 194/194 (100) | 191/191 (100) | 160/163 (98.2) | 164/166 (98.8) |
| | | 14 日 齢 | 194/194 (100) | 191/191 (100) | 160/160 (100) | 164/164 (100) |
| | | 21 日 齢 | 194/194 (100) | 190/191 (99.5) | 159/163 (97.5) | 160/166 (96.4) |
| 動 | 出生時同腹児数 | 13.0 | 12.3 | 12.1 | 10.0'' | |
| | 死産児数 (1 腹 当 り) | 0.1 | 0.2 | 0.0 | 0.1 | |
| 物 | 平均児体重 (g) | 出生時 | 6.4 | 6.1 | 6.2 | 6.1 |
| | | 4 日 齢 | 10.3 | 10.0 | 9.5 | 9.2' |
| | | 7 日 齢 | 16.8 | 16.3 | 15.2' | 13.5'' |
| | | 14 日 齢 | 33.2 | 32.6 | 29.5' | 24.3'' |
| | | 21 日 齢 | 雄 | 50.8 | 49.3 | 44.4'' |
| | 雌 | | 48.0 | 47.0 | 42.9' | 34.8'' |
| 一般症状 (哺育期) | 雄 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| | 雌 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |

注) Dunnett 多重比較、' : p<0.05、'' : p<0.01

| 世 代 | | 親 : F ₁ (児 : F ₂) | | | | |
|--|----------|--|------------------|------------------------|--|-------------------|
| 投 与 量 (ppm) | | 0 | 200 | 600 | 1800 | |
| 動 物 数 | 雄 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| | 雌 | 26 | 26 | 26 | 26 | |
| 死 亡 数 | 雄 | 0 | 0 | 1 | 3 | |
| | 雌 | 0 | 0 | 1 | 0 | |
| 一 般 症 状 (発現例数) | 雄 | 痲皮形成 1 脱毛 1 | 痲皮形成 1 脱毛 2 | 痲皮形成 1 脱毛 1 | 痲皮形成 0 脱毛 4 | |
| | 雌 | 痲皮形成 0 脱毛 11 | 痲皮形成 4 脱毛 13 | 痲皮形成 1 脱毛 6 | 痲皮形成 4 脱毛 10 | |
| 親 平均体重 (g) | 試験4週 | 雄 | 91 | 87 | 80 ^{''} | 65 ^{''} |
| | | 雌 | 83 | 77 | 74 ['] | 62 ['] |
| | 試験10週 | 雄 | 397 | 398 | 380 | 336 ^{''} |
| | | 雌 | 236 | 235 | 230 | 206 ^{''} |
| | 試験15週 | 雄 | 488 | 489 | 474 | 422 ^{''} |
| | | 雌 | 280 | 281 | 267 | 245 ^{''} |
| | 試験21週 | 雄 | 563 | 571 | 533 | 468 ^{''} |
| | | 雌 | 294 | 308 | 308 | 275 |
| 動物 体重増 加量(g) | 妊娠 0-20日 | 131 | 118 | 120 | 97 | |
| | 哺育 0-21日 | -11 | -7 | 10 | 16 | |
| 動物 平均摂餌量 (g/動物/日) ¹⁾ | 雄 | 16.5~27.6 | 14.7~27.8 | 15.7~27.9 | 12.8 ^{''} ~27.7 | |
| | 雌 | 13.6~19.3 | 13.7~19.6 | 13.0~23.4 ['] | 11.9~18.4 | |
| 動物 平均検体採取量 (mg/kg/day) ²⁾ | 雄 | 0 | 19.7 | 62.9 | 196.6 | |
| | 雌 | 0 | 21.1 | 66.9 | 201.7 | |
| 動物 平均摂水量 (g/動物/日) ¹⁾ | 雄 | 16.6~41.8 | 16.9~41.7 | 17.5~42.5 | 14.4~43.4 | |
| | 雌 | 16.0~33.7 | 15.4~34.9 | 15.8~37.7 | 14.2~34.3 | |
| 動物 肉眼的病理検査 | 雄 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| | 雌 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| 動物 病理組織学的検査 | 雄 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| | 雌 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| 動物 精巣重量(g) | 雄 | 3.79 | 3.68 | 3.63 | 3.26 | |
| 動物 交尾率(%) | 雌 | 25/26 (96.2) | 25/26 (96.2) | 24/25 (96.0) | 24/25 (96.0) | |
| 動物 授胎率(%) | 雄 | 24/26 (92.3) | 25/26 (96.2) | 22/25 (88.0) | 24/25 (96.0) | |
| 動物 妊娠率(%) | 雌 | 24/26 (92.3) | 25/26 (96.2) | 22/25 (88.0) | 24/25 (96.0) | |
| 動物 分娩率(%) | 雌 | 24/24 (100) | 25/25 (100) | 22/22 (100) | 24/24 (100) | |
| 動物 交尾までの所要日数 (日) | 雌 | 2.2 | 4.2 | 3.9 | 2.8 | |
| 動物 妊娠期間(日) | 雌 | 22.0 | 21.9 | 22.2 | 22.0 | |
| 児 生存児数生存率 | 出産時 | 341/342 (99.7) | 335/341 (98.2) | 284/286 (99.3) | 265/268 (98.9) | |
| | 4日齢 | 336/344 (98.5) | 326/335 (97.3) | 279/284 (98.8) | 258/265 (97.4) | |
| | 7日齢 | 190/191 (99.5) | 197/199 (99.0) | 173/173 (100) | 184/184 (100) | |
| | 14日齢 | 189/190 (99.5) | 197/197 (100) | 173/173 (100) | 182/184 (98.9) | |
| | 21日齢 | 189/191 (99.0) | 197/199 (99.0) | 173/173 (100) | 182/184 (98.9) | |
| 動物 出産時同腹児数 | | 14.2 | 13.4 | 12.9 | 11.0 ^{''} | |
| 動物 死産児数(1腹当り) | | 0 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | |
| 動物 平均児体重 (g) | 出生時 | 6.3 | 6.0 | 6.3 | 5.9 | |
| | 4日齢 | 9.9 | 9.7 | 9.9 | 9.6 | |
| | 7日齢 | 16.7 | 16.5 | 16.0 | 14.3 ^{''} | |
| | 14日齢 | 32.2 | 32.0 | 29.6 ['] | 25.8 ^{''} | |
| | 21日齢 | 雄 50.1 雌 47.8 | 雄 51.7 雌 49.1 | 雄 47.1 雌 45.3 | 雄 37.8 ^{''} 雌 37.0 ^{''} | |
| 動物 一般症状 (哺育期) | 雄 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |
| | 雌 | 異常なし | 異常なし | 異常なし | 異常なし | |

註) Dunnett 多重比較、[']; p<0.05、^{''}; p<0.01

¹⁾試験4~12週時の最低値~最高値

²⁾試験4~12週時の平均値

フェリムゾン投与群における検体投与による影響と考えられる所見は次の通りである。

親動物に対しては、600 ppm 以上の群において F_0 世代の雌動物のみであるが摂水量の増加がみられ、1800 ppm 群においては F_0 及び F_1 世代を通じて、体重増加抑制および摂餌抑制が認められた。児動物に対しては、600 ppm 以上の群において体重の低値、1800ppm 群において出産児数の減少が認められた。

以上のように、フェリムゾン飼料に混入してラットの3世代にわたって投与した場合、無毒性量は親動物、児動物共に 200 ppm (雄 15.1 mg/kg/day、雌 19.3 mg/kg/day) であり、繁殖能に及ぼす影響はないと判断された。

(2) フェリムゾンのラットにおける催奇形性試験

(資料8-2)

試験機関 : International Research and
Development Corporation

(米 国) [GLP]

報告書作成年 : 1988年

検体の純度 :

試験動物 : SD (COBS[®]CD[®]) 系妊娠ラット (入荷時10週齢、1群25匹)
(妊娠0日体重:206~237g)

試験期間 : 1986年3月17日~1986年4月10日 (交配開始より帝王切開終了まで)

投与方法 : 検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、2, 6, 18及び54
mg/kg/dayの投与レベルで妊娠6日から15日までの10日間、毎日1
回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみ
を同様に投与した。投与容量は5 mL/kgとし、投与液は毎日調製し
た。

試験項目 :

母動物 : 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0, 6, 9, 12, 16及び20日に
体重を測定した。妊娠20日に帝王切開し、生存胎児数、死亡胎児数
及びそれらの位置、早期及び後期吸収胎児数、着床数、及び黄体数
を検査した。

胎児 : 全生存胎児について、体重を測定し、外表異常及び性比を検査した。
同腹胎児の半数についてブアン固定液で固定、内蔵異常の有無を検
査し、残りの胎児についてはアルコール固定後、KOHで浸軟しアリ
ザリンレッドSで染色して骨格異常の有無を検査した。

試験結果：母動物及び胎児動物に関するデータを別表に示した。なお、母動物当りの平均着床前死亡率(%)及び平均着床後死亡率(%)は次の式により算出した。

$$\text{着床前死亡率 (\%)} = \frac{\text{黄体数} - \text{着床数}}{\text{黄体数}} \times 100$$

$$\text{着床後死亡率 (\%)} = \frac{\text{着床数} - \text{生存胎児数}}{\text{着床数}} \times 100$$

母動物の 54 mg/kg/day 投与群において、軽度な脱毛、体重増加抑制及び摂餌抑制がみられた。いずれの投与群にも胚及び胎児に対しては、検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果より、フェリムゾンを経験ラットに投与した場合、最高用量の 54 mg/kg/day においても胚児致死作用および催奇形作用を及ぼさなかった。従って、母動物に対する無毒性量は 18 mg/kg/day、次世代に対する無毒性量は 54 mg/kg/day と判断された。

試験結果:

| 投与量 (mg/kg/day) | | 0 | 2 | 6 | 18 | 54 | | |
|-----------------|-----------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|---------|---------|
| 1群当りの動物数 | | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | | |
| 母 | 一般症状 | | | | | 脱毛 | | |
| | 死亡数 | 0/25 | 0/25 | 0/25 | 0/25 | 0/25 | | |
| | 体重変化 | 妊娠6~9日 (g) | 10 | 8 | 9 | 10 | 3** | |
| | | 妊娠6~15日 (g) | 50 | 51 | 52 | 53 | 45 | |
| | | 妊娠0~20日 (g) | 141 | 140 | 146 | 145 | 135 | |
| | 摂餌量 妊娠9日 (g) | 22.9 | 23.8 | 23.9 | 22.2 | 20.2 | | |
| | 妊娠数 (%) | 22/25 (88) | 24/25 (96) | 23/25 (92) | 22/25 (88) | 22/25 (88) | | |
| | 肉眼的病理検査 | | | | | | | |
| | 子 宮 内 所 見 | 黄体数 | 16.8 | 16.5 | 16.3 | 16.1 | 16.5 | |
| | | 着床数 | 14.8 | 14.8 | 15.0 | 15.1 | 14.6 | |
| 着床前死亡率 (%) | | 11.7 | 10.6 | 8.5 | 6.5 | 11.0 | | |
| 着床後死亡胚児数 | | 0.9 | 1.0 | 1.3 | 1.0 | 1.4 | | |
| 着床後死亡率 (%) | | 5.8 | 7.0 | 8.4 | 6.9 | 9.6 | | |
| 生存胎児数 | | 14.0 | 13.8 | 13.7 | 14.0 | 13.2 | | |
| 胎 児 | 体 重 (g) | | 3.7 | 3.6 | 3.7 | 3.6 | 3.6 | |
| | 性 比 (雄%) | | 51.8 | 46.1 | 47.0 | 49.5 | 48.1 | |
| | 奇 形 | 奇形胎児総数 | | 2 (2) | 2 (2) | 2 (2) | 0 (0) | 1 (1) |
| | | 水 頭 症 | | 0 | 0 | 1 (1) | 0 | 0 |
| | | 頭 骨 癒 合 | | 0 | 1 (1) | 0 | 0 | 0 |
| | | 小 眼 症 | | 0 | 1 (1) | 1 (1) | 0 | 0 |
| | | 胃 破 裂 | | 0 | 0 | 1 (1) | 0 | 0 |
| | | 胸 骨 裂 | | 2 (2) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 膈 疝 ヘルニア | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (1) |
| | 動 物 異 | 変異胎児総数 | | 45 (16) | 44 (19) | 32 (16) | 50 (16) | 40 (15) |
| | | 頭骨化骨不全 | | 7 (5) | 5 (4) | 5 (4) | 11 (5) | 4 (3) |
| | | 舌骨未化骨 | | 4 (3) | 0 | 2 (2) | 9 (4) | 2 (2) |
| | | 1 4 肋骨 | | 5 (4) | 5 (4) | 4 (3) | 5 (5) | 4 (3) |
| | | 胸骨分節の癒合 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (1) |
| | | 胸骨分節の配列異常 | | 1 (1) | 2 (2) | 0 | 0 | 1 (1) |
| 第5/6胸骨分節の未化骨 | | 24 (13) | 25 (12) | 16 (11) | 26 (12) | 27 (9) | | |
| 腎乳頭形成不全及び尿管拡張 | | 3 (3) | 6 (4) | 4 (4) | 4 (3) | 6 (4) | | |

Dunnett 多重比較, **: p<0.01 (申請者が統計検定を行った.)

註) 空欄は特記すべき変化がないことを示す。

胎児の観察結果中に記載した数値は異常児数を示し、()に記載した数値は頭数を示す。

(3) フェリムゾンのウサギにおける催奇形性試験

(資料8-3)

試験機関 : International Research and
Development Corporation
(米 国) [GLP]
報告書作成年 : 1986年

検体の純度 :
試験動物 : ニュージーランドホワイトウサギ雌 (4~5ヵ月齢)
1群16~22頭 (妊娠0日、体重3498~3650g)
試験期間 : 1986年7月1日~1986年7月31日 (交配開始より帝王切開終了まで)
投与方法 : 検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0, 8, 25及び75 mg/kg/dayの投与レベルで妊娠7日から19日までの13日間、毎日1回強制経口投与した。対照群には0.5%メチルセルロース水溶液のみを同様に投与した。投与容量は5 mL/kgとし、投与液は毎日調製した。

試験項目 :
母動物 : 一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠0, 7, 12, 19, 24及び29日に、体重を測定した。摂餌量及び摂水量は妊娠7日から29日まで毎日測定した。妊娠29日に帝王切開し、内臓の肉眼的病理検査後、子宮内胎児の位置及び胎児数、生存胎児数、黄体数、着床数及び早期あるいは後期吸収胎児数を検査した。

胎児 : 全生存胎児について体重を測定し、性別、外表異常、内臓異常及び骨格異常の有無を検査した。

試験結果 : 母動物及び胎児に関するデータを別表に示した。
75 mg/kg/day投与群において、排便量の減少もしくは無排便等の糞便の異常及び体重増加抑制等の母動物毒性が認められた。次世代に対しては、25 mg/kg/day以上の投与群で着床後死亡が有意に増加し、それに伴い75 mg/kg/day投与群では生存胎児数が有意に減少した。胎児観察の結果では、検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、フェリムゾンを妊娠ウサギに投与した場合における母動物に対する無毒性量は 25 mg/kg/day、次世代に対する無毒性量は 8 mg/kg/day であった。また、最高用量の 75 mg/kg/day においても胎児に対し催奇形作用は認められなかった。

試験結果:

| 投与量 (mg/kg/day) | 0 | 8 | 25 | 75 | | |
|-----------------|---------------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------|
| 1群当りの動物数 | 22 | 16 | 16 | 22 | | |
| 母動物 | 一般症状 | | | 排便量減少 無排便 | | |
| | 死亡数 | 2/22 | 0/16 | 0/16 | 1/22 | |
| | 体重変化 | 妊娠7~19日(g) | 177 | 194 | 158 | 39 *a) |
| | | 妊娠0~29日(g) | 531 | 326 | 418 | 308 |
| | 授乳量 妊娠7~19日 (g/day) | 155 | 173 | 169 | 146 | |
| | 摂水量 | | | | | |
| | 妊娠数 (%) | 17/22 (77.3) | 16/16 (100) | 16/16 (100) | 18/22 (81.8) | |
| | 肉眼的病理検査 | | | | | |
| | 子宮内所見 | 實体数 | 14.5 | 11.1' | 13.3 | 14.5 |
| | | 着床数 | 9.5 | 6.6 | 7.4 | 7.6 |
| 着床前死亡率 (%) | | 34.4 | 36.5 | 40.2 | 39.9 | |
| 着床後死亡胚数 (%) | | 1.2 (12.9) | 0.6 (8.5) | 1.9 (25.2)* | 2.9 (38.5)** | |
| 生存胎児数 | | 8.3 | 6.1 | 5.6 | 4.7* | |
| 胎盤重量 (g) | | 4.8 | 4.5 | 5.2 | 5.2 | |
| 胎児 | 体重 (g) | 39.8 | 38.8 | 40.8 | 41.8 | |
| | 性比 (雄%) | 49.1 | 47.4 | 51.7 | 48.0 | |
| | 畸形 | 奇形胎児数 | 5 (5) | 2 (2) | 4 (3) | 6 (5) |
| | | 無頭蓋 | 0 | 0 | 0 | 1 (1) |
| | | 口蓋裂 | 0 | 0 | 0 | 1 (1) |
| | | 水頭症 | 0 | 0 | 0 | 1 (1) |
| | | 大動脈弓球 | 1 (1) | 0 | 0 | 1 (1) |
| | | 胃壁破裂 | 0 | 0 | 0 | 2 (2) |
| | | 脊椎の異常 | 1 (1) | 1 (1) | 3 (3) | 4 (4) |
| | | 手根骨屈曲 | 0 | 0 | 0 | 2 (2) |
| 欠指症 | | 0 | 0 | 0 | 1 (1) | |
| 合指症 | | 0 | 0 | 0 | 1 (1) | |
| 巨舌症 | 0 | 0 | 0 | 1 (1) | | |
| 動物変異 | 変異胎児数 | 63 (13) | 66 (13) | 64 (15) | 67 (14) | |
| | 舌骨未化骨 | 2 (1) | 2 (1) | 1 (1) | 1 (1) | |
| | 舌骨弓屈曲 | 10 (3) | 1 (1) | 0 | 3 (2) | |
| | 肺葉欠損 | 1 (1) | 5 (3) | 4 (3) | 1 (1) | |
| | 仙椎前椎骨数 27 | 14 (6) | 30 (6) | 12 (7) | 18 (8) | |
| | 第13肋骨 | 20 (9) | 14 (7) | 15 (8) | 14 (9) | |
| | 胸骨分節過剰 | 0 | 0 | 2 (1) | 2 (2) | |
| | 第5/6胸骨分節未化骨 | 10 (6) | 8 (3) | 15 (6) | 14 (7) | |
| | 第5/6以外の胸骨分節の未骨化 | 1 (1) | 0 | 0 | 1 (1) | |
| | 胸骨分節の記列異常 | 1 (1) | 0 | 3 (3) | 1 (1) | |
| 動物変異 | 恥骨の未化骨 | 0 | 2 (1) | 0 | 1 (1) | |
| | 距骨の未化骨 | 0 | 2 (1) | 0 | 4 (2) | |

註) Dunnett 多重比較、' : p<0.05、'' : p<0.01 (但し、a) は申請者が統計検定を行った。)

空欄は特記すべき変化がないことを示す。

胎児の観察結果中に記載した数値は異常胎児数を示し、() に記載した数値は腹数を示す。

9. 変異原性

(1) フェリムゾン原体の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料9-1)

試験機関 : 残留農業研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1986年

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*, TA100, TA1535, TA98, TA1537 株及びトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP2uvrA) 株を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果 : 結果の概要を次頁に示した。

検体は代謝活性化を含め、最高濃度である 5000 μ g/プレートにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AP-2、BNNG 及び 9-AA では S-9 Mix の添加なしで、また 2-AA では S-9 Mix の添加により全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、フェリムゾン原体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性はないものと判断される。

| 薬 剂 | 濃 度 (μ g/ Plate) | S-9 Mix の 有 無 | 復帰変異コロニー数/Plate | | | | |
|---------------|-----------------------------|------------------------|-----------------|--------|---------|-----------------|--------|
| | | | 塩 基 対 置 換 型 | | | フ レ ー ム シ フ ト 型 | |
| | | | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 |
| 対照 (DMSO) | | - | 150 | 9 | 24 | 27 | 14 |
| フェリムゾン 原 体 | 50 | - | 144 | 6 | 18 | 26 | 7 |
| | 100 | - | 120 | 12 | 26 | 19 | 16 |
| | 500 | - | 130 | 10 | 16 | 25 | 20 |
| | 1000 | - | 164 | 8 | 20 | 22 | 16 |
| | 2000 | - | 157 | 12 | 15 | 27 | 12 |
| | 5000 | - | 134 | 10 | 22 | 25 | 6 |
| 対照 (DMSO) | | + | 149 | 9 | 20 | 28 | 12 |
| フェリムゾン 原 体 | 50 | + | 153 | 7 | 21 | 40 | 14 |
| | 100 | + | 155 | 7 | 25 | 48 | 14 |
| | 500 | + | 176 | 8 | 13 | 47 | 18 |
| | 1000 | + | 170 | 8 | 23 | 45 | 14 |
| | 2000 | + | 185 | 13 | 17 | 38 | 17 |
| | 5000 | + | 122 | 6 | 14 | 43 | 4 |
| 陽 性 対 照 | S-9 Mix の 有 無 | 名 称 | AF-2 | ENNG | AF-2 | AF-2 | 9-AA |
| | | μ g/Plate | 0.01 | 10 | 0.04 | 0.1 | 80 |
| | - | コ ロ ニ ー 数 /Plate | 374 | 432 | 233 | 558 | 2007 |
| | S-9 Mix の 有 無 | 名 称 | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA |
| | | μ g/Plate | 0.5 | 2 | 40 | 0.5 | 2 |
| | + | コ ロ ニ ー 数 /Plate | 683 | 414 | 670 | 383 | 238 |

註) 表中の数値は2反復の平均値を示す。

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

9-AA: 9-aminoacridine

2-AA: 2-aminoanthracene

(2) フェリムゾン原体のチャイニーズハムスター肺 CHL 細胞を用いた
in vitro細胞染色体異常試験

(資料9-2)

試験機関 : 化学品検査協会

[GLP対応]

報告書作成年 : 1987年

検体の純度 :

試験方法 : 継代培養したチャイニーズハムスターの肺由来の CHL 細胞を用い、直接法及び活性化法によって染色体異常誘発性を検定した。
各濃度当りプレート 2 枚を用い染色体分析としては、1 枚のシャーレにつき 100 個の細胞の分裂中期像を観察し、染色体または染色分体にみられる構造的異常 (ギャップ、切断、交換型異常、非特定型) 及び数的異常 (倍数性、核内倍化) を調べた。構造的異常については、上記の各異常のいずれかを 1 個以上持つ細胞を異常細胞とし、各群 200 個の細胞を観察して異常細胞の出現率を求めた。異常出現率が 5%未満を (-)、5%以上 10%未満を (±)、10%以上 20%未満を (+)、20%以上 50%未満を (++)、50%以上を (+++) とした。
陽性対照としては、直接法では Mitomycin C (MMC)、活性化法では dinitrosoamine (DMN) を用いた。
なお、検体はジメチルスルホキシドに、また陽性対照物質は純水に溶解し、試験液は用時調製した。

試験結果 :

(1) 直接法 (表 1) ; 検体添加 24 及び 48 時間後に作成した標本のいずれにおいても、染色体異常を有する細胞の出現率は 5%未満で陰性 (-) を示した。

一方、陽性対照 (MMC) では明らかに染色体異常の誘発が認められた。なお、倍数体の出現率は全ての濃度で陰性であった。

(2) 直接法追加試験 (表 2) ; 検体濃度 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 24 時間処理群で分裂細胞が 2 枚のシャーレで 33 個しか観察できなかつたため、150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で追加試験を行った。追加試験では、分裂細胞は 2 枚シャーレで計 165 個観察できたが、染色体の構造的異常を有する細胞の出現率は 0.6% で陰性 (-) であった。倍数体の出現率も陰性を示し、陽性対照 (MMC) では明らかに染色体異常の誘発が認められた。

(3) 代謝活性化法 (表 1) ; 染色体異常を有する細胞の出現率は、全ての濃度で陰性を示した。一方、陽性対照 (DNM) では明らかに染色体異常の誘発が認められた。なお、倍数体の出現率は全ての濃度で陰性であった。代謝活性化法の対照として S-9 Mix を除去した培地で、検体濃度及び処理時間を同一にした群では、構造異常を有する細胞の出現率は全ての濃度で陰性を示した。一方、無処理対照群、溶媒対照群及び陽性対照群での出現率は 2.0、3.0 及び 0.5 と正常であった。以上の結果から、代謝活性化系は有効に作用していること及び検体は代謝を受けても染色体異常誘発性を有する物質に変化することはないことが明らかになった。

本試験条件下において直接法、代謝活性化法のいずれにおいてもフェリムゾン原体処理群での染色体異常を有する細胞の出現率は 5% を超えなかつた。

以上の結果より、フェリムゾン原体のチャイニーズハムスター肺 CHL 細胞を用いた in vitro 染色体異常誘発性試験における変異原性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

表1 フェリムゾン原体の染色体異常試験結果

| | S-9 Mix | 時間' | 濃度(μg/mL) | 観察細胞数 | 構造的異常(%) ^{**} | | | | | | TAG (%) | TA (%) | 判定 | 倍数体細胞(%) | 判定 | |
|-------|---------|------------------|-----------------|-------|------------------------|------|------|------|-----|-------|---------|--------|-----|----------|-----|---|
| | | | | | ctg | cib | csb | cte | cse | other | | | | | | |
| 直接法 | - | 24-0 | 無処理 | 200 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.5 | 1.0 | 0.0 | 2.0 | 2.0 | - | 0.0 | - | |
| | | | 0(DMSO) | 200 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | - | 0.5 | - | |
| | | | 50 | 200 | 1.0 | 0.5 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.0 | 0.0 | - | 0.0 | - | |
| | | | 100 | 200 | 1.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.5 | 0.5 | - | 0.5 | - | |
| | | | 200 | 33 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | - | 0.0 | - | |
| | | | MNC(0.05 μg/mL) | 200 | 2.0 | 13.5 | 1.5 | 22.0 | 2.5 | 0.0 | 28.5 | 27.5 | ++ | 0.0 | - | |
| | | - | 48-0 | 無処理 | 200 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | - | 0.0 | - |
| | 0(DMSO) | | | 200 | 1.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.5 | 0.5 | - | 0.0 | - | |
| | 12.5 | | | 200 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | - | 0.0 | - | |
| | 25 | | | 200 | 2.0 | 1.5 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 4.0 | 2.5 | - | 0.0 | - | |
| 50 | 200 | | | 0.5 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.5 | - | 0.0 | - | | |
| | | MNC(0.025 μg/mL) | 200 | 4.0 | 10.5 | 0.5 | 22.5 | 0.0 | 0.0 | 27.5 | 25.0 | ++ | 0.0 | - | | |
| 代謝活性化 | + | 6-18 | 無処理 | 200 | 1.5 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 2.5 | 1.0 | - | 0.0 | - | |
| | | | 0(DMSO) | 200 | 1.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.5 | 0.5 | - | 0.0 | - | |
| | | | 50 | 200 | 1.5 | 1.5 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 3.0 | 1.5 | - | 2.5 | - | |
| | | | 100 | 200 | 1.5 | 0.5 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.5 | 1.0 | - | 1.0 | - | |
| | | | 200 | 200 | 1.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.5 | 0.5 | - | 1.5 | - | |
| | | | DMN(1000 μg/mL) | 200 | 22.5 | 5.0 | 3.5 | 5.5 | 0.0 | 0.0 | 26.5 | 12.5 | ++ | 0.0 | - | |
| | | - | 6-18 | 無処理 | 200 | 2.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.0 | 0.0 | - | 0.0 | - |
| | 0(DMSO) | | | 200 | 2.0 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.0 | 0.0 | - | 0.0 | - | |
| | 50 | | | 200 | 1.5 | 2.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.5 | 2.0 | - | 0.0 | - | |
| | 100 | | | 200 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 1.0 | - | 0.5 | - | |
| 200 | 200 | | | 2.5 | 0.5 | 1.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 3.5 | 1.5 | - | 0.0 | - | | |
| | | DMN(1000 μg/mL) | 200 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | - | 0.0 | - | | |

表2 フェリムゾン原体の染色体異常試験結果

| | S-9 Mix | 時間' | 濃度(μg/mL) | 観察細胞数 | 構造的異常(%) ^{**} | | | | | | TAG (%) | TA (%) | 判定 | 倍数体細胞(%) | 判定 |
|-----|---------|------|-----------------|-------|------------------------|------|-----|------|-----|-------|---------|--------|----|----------|----|
| | | | | | ctg | cib | csb | cte | cse | other | | | | | |
| 直接法 | - | 24-0 | 無処理 | 200 | 1.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.0 | 0.0 | - | 0.0 | - |
| | | | 0(DMSO) | 200 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.5 | 0.5 | - | 0.0 | - |
| | | | 150 | 165 | 0.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 0.0 | - | 0.0 | - |
| | | | MNC(0.05 μg/mL) | 200 | 3.5 | 19.5 | 0.0 | 22.0 | 0.0 | 0.0 | 33.0 | 30.0 | ++ | 0.0 | - |

註) *: [被験物質を含む培地で処理した時間] - [被験物質を除いた後、新鮮な培地に換えて培養した時間]

** : 異常細胞の頻度 (%)

ctg : 染色体型ギャップ (csg : 染色体型ギャップも含む), cib : 染色体型切断, cte : 染色体型交換, csb : 染色体型切断, cse : 染色体型交換 (二動原体、環状染色体等), other : その他 (断片化等),

TAG : ギャップを含めた構造的異常を有する細胞の出現率, TA : ギャップを除いた構造的異常を有する細胞の出現率

(3) フェリムゾン原体のマウスを用いた小核試験

(資料 9-3)

試験機関: Safepharm Laboratories Ltd

(英国) [GLP 対応]

報告書作成年: 1994年

検 体: フェリムゾン原体

検体の純度:

試験動物: CD-1 系マウス (約 5~7 週齢、体重 雄 21~30g、雌 20~26g)

1 群雌雄各 5 匹

試験方法: 検体を落花生油に懸濁させ、10ml/kg の容量で 100、200 及び 400mg/kg の投与レベルにより腹腔内注射により単回投与した。なお対照群には落花生油を同様に投与した。

投与 24、48 及び 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上にメタノールで固定後、メイグリュンワルド/ギムザ染色し骨髓標本を作製した。

陽性対照 (シクロホスファミド) 群は投与 24 時間後に動物を屠殺し、検体投与群と同様に検査した。

各標本について、1000 個の多染性赤血球を観察する間に出現する正染性赤血球を計数し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。また 1000 個の多染性赤血球を観察してその中の小核を有する多染性赤血球を算出した。

試験結果: 骨髓標本の観察結果を次表に示した。

400mg/kg 投与群において雌 1 例の死亡が認められた。また検体投与群の全動物において正向反射の消失、呼吸数の減少、呼吸困難、眼瞼下垂、円背位、嗜眠、歩行失調及び立毛が認められた。

いずれの投与群においても対照群と比較して、全赤血球に占める多染性赤血球の割合に差は認められなかったが、上記死亡例や一般症状所見は全身性の吸収を示したものと考えられた。

また、雌雄いずれの標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

なお、陽性対照であるシクロホスファミドでは小核を有する多染性赤血球の出現頻度に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

表：観察結果

| 採取時間 (hr) | 薬物 | 投与量 (mg/kg) | 観察動物数 | MNPCE (平均値±SD) | PCE/NCE 比 (平均値±SD) |
|--------------|-------------------|----------------|------------|-------------------|-----------------------|
| 24 | 陰性対照 (落花生油) | - | 雌雄各 5 匹 | 1.3±0.8 | 1.85±0.77 |
| | フェリムゾン 原 体 | 100 | 雌雄各 5 匹 | 0.9±0.7 | 1.58±0.75 |
| | | 200 | | 0.8±1.5 | 1.49±0.78 |
| | | 400 | 雌 4 匹雄 5 匹 | 1.7±1.5 | 1.83±0.37 |
| | 陽性対照 (シロキファミド) | 50 | 雌雄各 5 匹 | 31.5±10.1*** | 1.69±0.48 |
| 48 | 陰性対照 (落花生油) | - | 雌雄各 5 匹 | 1.2±1.4 | 1.6±0.42 |
| | フェリムゾン 原 体 | 100 | 雌雄各 5 匹 | 0.7±0.9 | 2.16±0.53* |
| | | 200 | | 0.7±0.9 | 2.30±0.53** |
| | | 400 | | 1.8±2.0 | 1.46±0.39 |
| 72 | 陰性対照 (落花生油) | - | 雌雄各 5 匹 | 0.9±0.9 | 2.16±0.74 |
| | フェリムゾン 原 体 | 100 | 雌雄各 5 匹 | 0.9±0.7 | 2.16±0.18 |
| | | 200 | | 1.0±1.2 | 2.90±2.69 |
| | | 400 | | 0.6±0.5 | 2.33±1.23 |

Kastenbaum Tables : * : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001、値は平均値、SD : 標準偏差

PCE : 多染性赤血球、NCE : 正染性赤血球、

MNPCE : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数の割合

以上の結果より、本試験条件下において、フェリムゾン原体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、陰性と判断される。

(4) フェリムゾン原体の細菌を用いたDNA修復試験

(資料9-1)

試験機関： 残留農業研究所

[GLP対応]

報告書作成年： 1986年

検体の純度：

試験方法： 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、代謝活性化及び非活性化法により DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し調製した。

試験結果： 結果の概要を以下の表に示した。

| 薬 剤 | 濃 度 ($\mu\text{g}/\text{disk}$) | S-9 Mix (-) | | | S-9 Mix (+) | | |
|------------------------|--------------------------------------|-------------|-----|-----------|-------------|-----|-----------|
| | | 阻止帯(mm)* | | 差 (mm) | 阻止帯(mm)* | | 差 (mm) |
| | | M45 | H17 | | M45 | H17 | |
| 溶媒対照 (DMSO) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| フェリムゾン 原 体 | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 100 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 |
| | 200 | 4 | 1 | 3 | 3 | 3 | 0 |
| | 500 | 6 | 3 | 3 | 4 | 1 | 3 |
| | 1000 | 5 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| Kanamycin | 0.05 | 13 | 10 | 3 | | | |
| | 0.2 | 19 | 15 | 4 | | | |
| Mitomycin C | 0.005 | 22 | 4 | 18 | | | |
| | 0.01 | 28 | 9 | 19 | | | |
| 2-amino- anthracene | 5 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 8 |
| | 20 | 0 | 0 | 0 | 7 | 0 | 7 |

註)*： 生育阻止帯の直径からディスクの直径 (8mm) を引いた値

検体は代謝活性化を行わない場合には 200 μg /ディスク、代謝活性化を行う場合には 100 μg /ディスク以上の用量において、陰性対照として用いた Kanamycin と同様に両株に同程度の生育阻止帯を誘起した。また、陽性対照として用いた Mitomycin C は代謝活性化系の非存在下で、2-aminoanthracene は代謝活性化により、両株間に明らかな生育阻止の差がみられた。

以上の結果より、フェリムゾン原体は DNA 損傷の誘発性はないものと判断される。

10. 生体機能に及ぼす影響

(1) フェリムゾンの薬理試験 1

(資料10-1)

試験機関 : 臨床医科学研究所

報告書作成年 : 1986年

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

1. 中枢神経系に対する作用

1-1. 筋弛緩作用

1-1-1. 斜板法

試験動物 : Slc:ICR系マウス(5週齢)、1群雄11匹

試験方法 : 検体 30、120 及び 480 mg/kgをマウスに強制経口投与し、その 15、30、60、120 及び 180 分後に 35 度に傾斜したスリガラス板上にのせ 10 秒間以内に落下する動物数を観察した。無投与対照群及び陽性対照としてクロルプロマジン 10 mg/kg投与群を設けた。

試験結果 : 120mg/kg で投与 15 分後に 11 例中 4 例の落下を、480mg/kg で全例の落下を認めた。陽性対照群(クロルプロマジン)では投与 30 分以降に全例に落下を認めた。

1-1-2. Rota-rod 法

試験動物 : Slc:ICR系マウス(5週齢)、1群雄11匹

試験方法 : 検体 30、120 及び 480 mg/kgをマウスに強制経口投与し、その 15、30、60、120 及び 180 分後に rota-rod にのせ 1 分以内に落下する動物数を観察した。無投与対照群及び陽性対照としてクロルプロマジン 10 mg/kg投与群を設けた。

試験結果 : 120mg/kg で投与 15 分後に 11 例中 8 例の落下を、480mg/kg で全例の落下を認めた。陽性対照群(クロルプロマジン)は投与 30 分後に全例の落下を認めた。

1-2. ヘキソバルビタール麻酔に及ぼす影響

試験動物 : Slc:ICR系マウス(5週齢)、1群雄10~11匹

試験方法 : 検体 7.5、30 及び 120 mg/kgをマウスに強制経口投与し、30 分後にヘキソバルビタール 75 mg/kgを腹腔内投与し、正向反射が消失してから回復するまでの時間を測定した。無投与対照群及

び陽性対照としてクロルプロマジン 10 mg/kg投与群を設けた。

試験結果 : フェリムゾン 120 mg/kg投与群に明らかな麻酔延長が認められた。陽性対照 (クロルプロマジン) にも明らかな麻酔時間の延長が認められた。結果を次表に示した。

| 検 体 | 投 与 量 (mg/kg) | 動 物 数 | 睡眠時間 (min) |
|----------|------------------|-------|---------------|
| 対 照 | - | 10 | 31 |
| フェリムゾン | 7.5 | 11 | 31 |
| | 30 | 11 | 34 |
| | 120 | 10 | 107 |
| クロルプロマジン | 10 | 11 | 118 |

2. 呼吸・循環器系に対する作用

イヌ呼吸、血圧、心電図、心拍数及び血流量に及ぼす影響

試験動物 : イヌ、雌雄9頭 (体重 8.0~13.0 kg)

試験方法 : ペントバルビタール 30 mg/kg静脈内注射により麻酔し背位に固定したイヌを用い、検体 800 mg/kgを腹腔内に投与し、その後 180分間、呼吸は気管カニューレに接続したサーミスタ呼吸ピックアップにより、心電図は四肢第Ⅱ誘導法により、血圧は右大腿動脈カニューレに接続した圧カトランスジューサーにより、心拍数は心電図のR波を瞬時タコメーターにより、また血流量は左大腿動脈に設置したプローブを介した電磁血流量計により、各々測定し、ポログラフに記録した。さらに ACh 1 μg/kg静脈内投与による降圧反応及びノルエピネフリン 1 μg/kg静脈内投与による昇圧反応に及ぼす影響についても併せて観察した。

試験結果 : フェリムゾン 800 mg/kg腹腔内投与により投与後 20分 で 9例中 3例死亡した。死亡例では、投与後まもなく呼吸抑制がみられ、5~15分後に心拍数 (19%)、血圧 (23%)、血流量 (15%) の一過性の増大がみられ、その後いずれも急速に低下して 20分後に呼吸が停止した。生存例では、呼吸、心拍数及び血圧の変化はみられず、投与 15~30分後に血流量が一過性の増加を示し、15~60分後に心電図におけるT波の増大が認められ180分後においても持続した。ノルエピネフリン 1 μg/kg投与による昇圧反応はフェリムゾン投与 30分後に 25%増加し、180分後においても 22%の増加を示した。ACh 1 μg/kg投与による降圧反応はフェリムゾン投与 180分後に 42%低下が認められた。フェリムゾ

ン 2500 mg/kgを腹腔内投与し、呼吸停止する直前にペンテトラゾール 50 mg/kgを静脈内に投与したところ、自発呼吸の回復が認められ約 80 分持続した。この効果はペンテトラゾール 50 mg/kgの追加投与によりさらに持続した。

3. 自律神経系に対する作用

ネコ瞬膜に及ぼす影響

試験動物 : ネコ、雌雄 9 頭 (体重 2.0~4.5 kg)

試験方法 : ウレタン 1.5g/kg腹腔内注入により麻酔し、背位に固定したネコを用いた。上頸神経節前線維及び節後線維を露出させ、節前線維を切断し、節前線維末端及び節後線維に刺激電極を設置した。刺激はデジタルスティミュレーターにより上頸神経節前及び節後線維に与えた。検体の 1000 mg/kgを腹腔内に投与し、ノルエピネフリンは 10 mg/kgを舌動脈内に投与した。刺激による瞬膜の収縮を FD ピックアップを介してポリグラフ上に記録した。

試験結果 : フェリムゾン 1000 mg/kg投与により投与 140 分後から 180 分後までに 9 例中 2 例が死亡した。生存例では投与 10~120 分後にノルエピネフリン 10 μ g/kg投与による瞬膜の収縮増大がみられ、60 分後に最大の増大 (67%) を示した。節前線維及び節後線維刺激による瞬膜の収縮はそれぞれ約 77%および 71%抑制された。

4. 消化器系に対する作用

4-1. 腸管輸送能に及ぼす影響

試験動物 : Slc:ICR系マウス (5週齢)、1群雄 11匹

試験方法 : 検体の 30, 120 及び 480 mg/kgを強制経口投与し、その 30 分後に 5%炭素末懸濁液 0.2mlを経口投与し、腸管内の炭素末輸送距離を測定し、腸管の全長に対する炭素末の移動率を算出した。なお、対照薬剤として硫酸アトロピン (50mg/kg) を用いた。

試験結果 : フェリムゾン 120 mg/kg以下の投与群では腸管の輸送能に変化はみられなかったが、480 mg/kg投与群において明らかな輸送能の抑制が認められた。一方、対照薬剤の硫酸アトロピンにより、腸管の輸送能は抑制された。結果は次表に示した。

| 検 体 | 投 与 量 (mg/kg) | 動 物 数 | 炭素末移動率 (腸管全長に 対する%) |
|---------|------------------|-------|---------------------------|
| 対 照 | — | 11 | 66 |
| フェリムゾン | 30 | 11 | 73 |
| | 120 | 11 | 70 |
| | 480 | 11 | 29 |
| 硫酸アトロピン | 50 | 11 | 50 |

4-2. 摘出平滑筋に対する作用

4-2-1. 摘出モルモット腸管に対する作用

試験動物 : Hartley系モルモット (8週齢以上)、1群雄4匹

試験方法 : モルモットの摘出回腸片を通気したタイロード液槽中に懸垂し、検体の 1×10^{-4} 、 3×10^{-6} 、 1×10^{-8} 及び 1×10^{-8} g/mlを加え、検体のみの腸管に及ぼす影響とアセチルコリン及びヒスタミンによる腸管の収縮に対する影響をトランスジューサーを介して記録した。

試験結果 : フェリムゾン 1×10^{-4} g/mlにおいても摘出回腸に対する影響は認められなかった。フェリムゾンはアセチルコリンによる回腸の収縮を抑制し、またヒスタミンによる回腸の収縮をも抑制した。

4-2-2. 摘出ウサギ腸管に対する作用

試験動物 : 日本白色種ウサギ (4か月齢以上)、1群雄6頭

試験方法 : ウサギの摘出回腸片を通気したタイロード液槽中に懸垂し、検体の 1×10^{-4} 、 1×10^{-6} 及び 1×10^{-8} g/mlを加え、腸管の自動運動に及ぼす影響についてトランスジューサーを介して記録した。

試験結果 : フェリムゾン 1×10^{-8} g/mlでは摘出腸管の自動運動に対する影響はみられなかったが、 1×10^{-4} g/mlでは自動運動を軽度抑制した。

5. 骨格筋に対する作用

試験動物 : 日本白色種ウサギ (4か月齢以上)

試験方法 : ウレタン 1.5g/kg腹腔内注入により麻酔し、右側腓骨神経-前脛骨筋標本を作成して、腓骨神経末梢側及び前脛骨筋に刺激電極を設置した。スティミュレーターにより神経及び筋に対し交互に電気刺激を加え、誘発された前脛骨筋の収縮をFDピックアップを介して記録した。検体は腹腔内に投与した。

試験結果 : フェリムゾン 1000 mg/kg投与において投与後 65~270 分の間に 6 例中 5 例の死亡が認められたが、神経筋接合部に対しては何

ら影響を与えなかった。

6. 血液凝固に対する作用

試験動物 : Slc:Wistar系ラット (8週齢)、1群雄6匹

試験方法 : 検体の30、120及び480 mg/kgを経口投与し、30分後にエーテル麻酔下で腹大動脈から採血し、Lee-Whiteの方法により血液凝固時間を測定した。

試験結果 : フェリムゾン 480 mg/kg投与においても、血液凝固時間に何ら影響を与えなかった。

7. 急性毒性及び解毒試験

試験動物 : Slc:ICR系マウス (5週齢)

急性毒性試験1群雄10匹、解毒試験1群雄5~15匹

試験方法 : 検体の355、462、600、780、1014及び1318 mg/kgを経口投与し、投与3日後までの毒性症状と3日間の死亡率からLD₅₀値を算出した。次に検体462、600、780及び1014 mg/kgを投与し、時間をおいて計3回、SH-化合物であるL-システイン、グルタチオン、中枢興奮薬であるペンテトラゾール、あるいは一般に解毒剤として使われているストロンガー ネオミノファーゲンC (SNMC)、ベメグライドを単独投与した。また、同様に併用効果試験としてストロンガー ネオミノファーゲンCとベメグライド、ストロンガー ネオミノファーゲンCとペンテトラゾール及びベメグライドとペンテトラゾールを投与した。

試験結果 : フェリムゾンの急性経口毒性LD₅₀値は617 mg/kgであり、毒性症状としては自発運動の低下及び正向反射の消失が認められた。これらの症状は投与30分までに発現し、2時間後から3日後までに回復した。解毒剤を投与した場合における3日後の生存数(率%)を次表に示した。ベメグライド 10 mg/kgとストロンガー ネオミノファーゲンC 10ml/kgを腹腔内に併用投与した場合、フェリムゾン 462 mg/kg投与群において毒性症状の軽減及び死亡率のやや低下が認められた。

| フェリムゾン 経口投与量 | 解 毒 剤 | | | 投与3日後の 生存数(率%) |
|-----------------|----------|------|--------|-------------------|
| | 剤 名 | 投与量 | 投与方法 | |
| 780 | - | - | - | 3/15(20) |
| 780 | L-システイン | 100* | 3回, iv | 0/10(0) |
| 780 | グルタチオン | 100* | 3回, iv | 0/10(0) |
| 780 | ペンテトラゾール | 50* | 1回, ip | 0/5(0) |

(前頁からの表の続き)

| フェリムゾン 経口投与量 | 解毒剤 | | | 投与3日後の 生存数(率%) |
|-----------------|----------|------------------|--------|-------------------|
| | 剤名 | 投与量 | 投与方法 | |
| 780 | - | - | - | 1/5 (20) |
| 780 | S N M C | 10 ^{**} | 3回, ip | 0/5 (0) |
| 780 | ベメグライド | 10 [*] | 3回, iv | 0/5 (0) |
| 780 | - | - | - | 0/5 (0) |
| 780 | ペンテトラゾール | 50 [*] | 3回, ip | 0/5 (0) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 780 | ベメグライド | 10 [*] | 3回, ip | 0/5 (0) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 780 | ペンテトラゾール | 50 [*] | 3回, ip | 0/6 (0) |
| | ベメグライド | 10 [*] | | |
| 462 | - | - | - | 6/10 (60) |
| 600 | - | - | - | 3/10 (30) |
| 780 | - | - | - | 1/10 (10) |
| 1014 | - | - | - | 1/10 (10) |
| 462 | ペンテトラゾール | 50 [*] | 3回, ip | 7/10 (70) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 600 | ペンテトラゾール | 50 [*] | 3回, ip | 1/10 (10) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 780 | ペンテトラゾール | 50 [*] | 3回, ip | 0/10 (0) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 1014 | ペンテトラゾール | 50 ^{**} | 3回, ip | 0/10 (0) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 462 | ベメグライド | 10 [*] | 3回, ip | 10/10 (100) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 600 | ベメグライド | 10 [*] | 3回, ip | 1/10 (10) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 780 | ベメグライド | 10 [*] | 3回, ip | 0/10 (0) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |
| 1014 | ベメグライド | 10 [*] | 3回, ip | 0/10 (0) |
| | S N M C | 10 ^{**} | | |

*: mg/kg (1回)、** : ml/kg (1回)

iv: 静脈内投与、ip: 腹腔内投与

SNMC: ストロンガー ネオミノファーゲンC

以上の結果より、フェリムゾンは中枢神経系及び副交感神経系に抑制作用を示し、平滑筋に直接作用して自動運動を抑制した。また、交感神経末端におけるノルエピネフリンの放出を阻害した。

解毒剤としては呼吸中枢に作用する中枢興奮薬が有効であると考えられる。

フェリムゾンの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 1

| 試験項目 | | 動物種 | 投与経路 (溶媒) | 投与量 | 動物数 | 作用量 | 無作用量 | 結果の概要 |
|---------|-----------------|-----|--------------|-----------------------------|----------------|-----------------|---------------|---|
| 筋弛緩作用 | 斜板法 | マウス | 経口 (CMC) | 0、30、120、 480 (mg/kg) | 雄 11 匹/群 | 120 (mg/kg) | 30 (mg/kg) | 120mg/kg 以上で落下、 480mg/kg で全例落下 |
| | Rota-rod 法 | マウス | 経口 (CMC) | 0、30、120、 480 (mg/kg) | 雄 11 匹/群 | 120 (mg/kg) | 30 (mg/kg) | 120mg/kg 以上で落下、 480mg/kg で全例落下 |
| 麻酔作用 | ヘキソバルビ タール麻酔 | マウス | 経口 (CMC) | 0、7.5、30、 120 (mg/kg) | 雄 10~11 匹/群 | 120 (mg/kg) | 30 (mg/kg) | 120mg/kg で麻酔時間の延長 |
| 呼吸・循環器系 | 麻酔下 | イヌ | 腹腔内 (CMC) | 800、2500 (mg/kg) | 雄雌 9 頭 | 800 (mg/kg) | — | 3/9 例で投与後まもなく呼 吸抑制、5~15 分で心拍数、 血圧、血流量の一過性増大、 その後急速に低下、20 分後 に呼吸停止 6/9 例で投与 15~30 分後に 血流量の一過性増大、15~60 分後に心電図 T 波増大 NE による昇圧反応を増大 ACh による降圧反応を低下 2500mg/kg 投与後ペンテト ラゾール 50mg/kg(i.v.) に より自発呼吸の回復 |
| 膀胱 | 麻酔下 | ネコ | 腹腔内 (CMC) | 1000 (mg/kg) | 雄雌 9 頭 | 1000 (mg/kg) | — | 2/9 例死亡 NE による収縮を増強 節前線維および節後線維刺 激による収縮は抑制 |

フェリムゾンの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 1 (つづき)

| 試験項目 | | 動物種 | 投与経路 (溶媒) | 投与量 | 動物数 | 作用量 | 無作用量 | 結果の概要 |
|---------------|---------------------------|-------|------------------------|--|------------|---------------------|---------------------|--|
| 腸管輸送能 | | マウス | 経口 (CMC) | 0, 30, 120, 480 (mg/kg) | 雄 11 匹/群 | 480 (mg/kg) | 120 (mg/kg) | 480mg/kg で明らかな腸管輸送能の抑制 |
| 摘出腸管 | マグヌス法 | モルモット | In vitro (Tween 80) | 10^{-4} ~ 10^{-1} (g/ml) | 雄 4 匹/群 | 10^{-5} (g/ml) | 10^{-3} (g/ml) | 検体自体による影響なし 10^{-4} g/ml 以上で ACh による収縮を抑制 3×10^{-4} g/ml 以上でヒスタミンによる収縮を抑制 |
| 摘出腸管 | マグヌス法 | ウサギ | In vitro (Tween 80) | 10^{-4} ~ 10^{-1} (g/ml) | 雄 6 頭/群 | 10^{-1} (g/ml) | 10^{-5} (g/ml) | 10^{-4} g/ml で自発運動を軽度抑制 |
| 骨格筋 神経筋接合部 | 腓骨神経-脛骨標本 | ウサギ | 腹腔内 (CMC) | 1000 (mg/kg) | 雄 6 頭 | 1000 (mg/kg) | - | 5/6 例死亡 神経筋接合部に影響なし |
| 血液凝固 | Lee-White 法 | ラット | 経口 (CMC) | 0, 30, 120, 480 (mg/kg) | 雄 6 匹/群 | - | 480 (mg/kg) | 影響なし |
| 急性毒性 | 症状観察 (3 日間) LD50 算出 | マウス | 経口 (CMC) | 0, 355, 462, 600, 780, 1014, 1318 (mg/kg) | 雄 10 匹/群 | 355 (mg/kg) | - | 自発運動低下、正向反射消失 462mg/kg 以上で死亡 生存例では 3 日後までに症状の回復 LD50 (mg/kg): 547.2 ~ 694.3 |
| 解毒試験 | 検体投与後の各種薬物による効果 | マウス | 経口 (CMC) | 462, 600, 780, 1014 (mg/kg) | 雄 5~15 匹/群 | | | 462mg/kg 投与後、ベメグライド 10mg/kg+ストロンガーネオミノファーゲン C10ml/kg (i.p.) で症状の軽減、死亡率やや低下 |

(2) フェリムゾンの薬理試験 2

(資料10-2)

試験機関 : 臨床医科学研究所

報告書作成年 : 1991年

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

1. マウスの一般状態に及ぼす影響

試験動物 : Slc:ICR系マウス(5週齢)、1群雄11~12匹、
試験開始時体重25.0~31.2g

試験方法 : フェリムゾンの0, 30, 120及び480 mg/kgを0.5%CMC水溶液に懸濁し、経口投与した。投与前、投与後15, 30, 60, 120, 180, 240及び300分後と、24時間後における一般状態をIrwinの多次元観察法に準じた方法で観察した。なお、対照群のマウスには0.5%CMC水溶液のみを経口投与した。

試験結果 : 結果の要約を次表に示した。フェリムゾン30 mg/kg投与群では、対照群に比較して一般状態の変化は認められなかった。120 mg/kg投与群では、15分後に受動性の低下、身づくろい回数の減少または消失、反応性の低下、身体のやや弛緩した状態、歩行異常、宙返り試験での着地失敗及び握力低下が認められた。これらの所見は投与30分後より軽減または消失し、60分後にはいずれの所見も消失して正常となった。480 mg/kg投与群では、投与15分後より、上記所見の他、位置視覚の異常、触反応及び疼痛反応の低下、四肢筋ならびに軀体筋の緊張低下、屈曲反射の抑制がみられ、30分後から呼吸抑制及び散瞳がみられた。更に、60分後より眼瞼下垂ならびに体温下降、240分後には耳介反射及び角膜反射の抑制も認められ、これらの所見は300分後においてもみられた。しかし、24時間後の生存動物では上記所見が消失し、正常に回復していた。死亡は480 mg/kg投与群の24時間後に3/11例認められた。

| 一般状態 | 投与量 mg/kg | 一般状態の変化 (投与後*分、**時間) | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | 15* | 30 | 60 | 120 | 180 | 240 | 300 | 24** |
| 認知力 受動性・位置 視覚の低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 気分 身づくろいの 低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 運動活性 触覚・疼痛 反応の低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | + | + | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 体姿勢 身体の弛緩し た状態 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 運動協調性 運動失調、 宙返り着地失敗 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | + | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 筋緊張 筋緊張・握力 低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 反応性 屈曲反射抑制、 耳介・角膜反射低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + | - |
| 自律神経系 呼吸数低下・ 散瞳・目瞼下垂 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | - | + | + | + | + | + | + | - |
| 体温 体温低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | - | - | + | + | + | + | + | - |
| 死亡数 | 30 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 |
| | 120 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 | 0/12 |
| | 480 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 0/11 | 3/11 |

+: 認められた

-: 変化なし

2. ウサギの一般状態に及ぼす影響

試験動物 : 日本白色種ウサギ (11週齢)、1群雄3匹

試験開始時体重 2.12~2.46g

試験方法 : フェリムゾンの0, 30, 120及び480 mg/kgを0.5%CMC水溶液に懸濁し経口投与した。投与前、投与後30, 60, 120, 180, 240及び300分後と、24時間後における一般状態を吐山らの一般症状観察法に準じた方法で観察した。なお、対照群のウサギには0.5%CMC水溶液のみを経口投与した。

試験結果 : 結果の要約を次表に示した。

フェリムゾン30 mg/kg投与群では、対照群に比較して一般状態の変化は認められなかった。120 mg/kg投与群では、投与30分後より跳び反応の抑制、60分後から自発運動の低下が認められたが、180分後にはこれらの所見は消失した。480 mg/kg投与群では、投与30分後より自発運動の低下、軀体筋ならびに四肢筋の緊張低下、跳び反応の抑制及び運動失調がみられ、60分後からは呼吸抑制、散瞳及び体温下降も認められた。また120分後より皮膚反射の抑制もみられた。これらの所見は240分後より消失しはじめ、24時間後には自発運動の低下が残存したが他の所見は認められなかった。

| 一般状態 | 投与量 mg/kg | 一般状態の変化 (投与後*分、**時間) | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------|----------------------|----|-----|-----|-----|-----|------|
| | | 30* | 60 | 120 | 180 | 240 | 300 | 24** |
| 行動 自発運動低下 | 30 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | - | + | + | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | + |
| 体性神経系 筋緊張低下、皮膚反射抑制、飛び反応抑制、運動失調 | 30 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | + | + | + | - | - | - | - |
| | 480 | + | + | + | + | + | + | - |
| 自律神経系 散瞳 | 30 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | - | + | + | + | + | - | - |
| その他 呼吸抑制 体温下降 | 30 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 120 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 480 | - | + | + | + | - | - | - |

+ : 認められた

- : 変化なし

以上の結果から、フェリムゾンは神経筋接合部への影響はなく、中枢神経系ならびに副交感神経系に対する抑制作用を有することが認められた。

フェリムソンの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表 2

| 試験項目 | | 動物種 | 投与経路 (溶媒) | 投与量 (ng/kg) | 動物数 /群 | 作用量 (ng/kg) | 無作用量 (ng/kg) | 結果の概要 |
|------|---------------------|-----|--------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|--|
| 一般状態 | Irwinの 多次元観察法 | マウス | 経口 (CMC) | 0、30、120、 480 | 雄、 11-12 匹/群 | 120 | 30 | 120mg/kg:受動性の低下、身づくろい回数の減少または消失、反応性の低下、身体のやや弛緩した状態、歩行異常、宙返り試験での着地失敗、握力低下、 30~60分後に回復 480mg/kg:15分後から位置視覚の異常、受動性の低下、身づくろいの消失、触反応の低下、疼痛反応の低下、反応性の低下、身体の弛緩した状態、歩行異常、宙返り試験での着地失敗、握力の低下、軀体筋・四肢筋の緊張低下、屈曲反射の抑制 30分後から呼吸抑制、散瞳、60分後から眼瞼下垂、体温下降、240分後に耳介反射および角膜反射の抑制、24時間後に3/11例が死亡、生存例では回復 |
| 一般状態 | 吐山らの 一般症状 観察法 | ウサギ | 経口 (CMC) | 0、30、120、 480 | 雄 3 匹/群 | 120 | 30 | 120mg/kg:30分後から跳び反応の抑制、60分後から自発運動の低下、180分後に回復 480 mg/kg:30分後から自発運動の低下、軀体筋・四肢筋の緊張低下、跳び反応の抑制、運動失調、60分後から呼吸抑制、散瞳、体温下降、120分後から皮膚反射の抑制、240分後から回復傾向、24時間後にほぼ回復、自発運動の低下は残存死亡例なし |

11. 補足試験

(1) フェリムゾンのラット鼻粘膜に対する連続暴露試験 (1)

(資料11-1)

試験機関 : 残留農業研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1990年

試験の実施目的 : フェリムゾンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められ、鼻部および皮膚に対する発癌性が懸念された。そのため、フェリムゾンを用いたWistar系雄ラットの鼻粘膜に対し連続13週間曝露し、鼻粘膜の組織学的変化を観察した。

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : Wistar系ラット、1群雄各24匹、試験開始時5週齢(体重:94~107g)

投与期間 : 3ヵ月間(1989年8月31日~1989年11月29日)

投与方法 : 第1群には0.1%CMC水溶液中にフェリムゾン原体を5%(W/V)の濃度にて懸濁した投与液を1日2回(午前及び午後各1回投与)、第2群には同一投与液を1日1回(午前1回投与)マイクロピペッターを用いてラットの右側鼻腔内に点鼻投与した。第3群には0.1%CMC水溶液中にフェリムゾン原体1%(W/V)懸濁液を、第4群には陰性対照群として0.1%CMC水溶液を、また、第5群には陽性対照物質として10%ホルムアルデヒド水溶液を、いずれも1日1回上記同様に投与した。
投与容量は1回当たり20 μ L/匹とした。

飼料は市販飼料を、飲水は水道水を自由に摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

フェリムゾン投与群及びホルムアルデヒド投与陽性対照群と陰性対照群の間に一般状態の差はみられなかった。いずれの群においても、死亡は認められなかった。

体重変化 : 週1回、体重を個体別に測定した。

各群間に統計学的な有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査 : 4及び8週時に各群6匹を中間屠殺し、また13週間後に各群12匹を最終屠殺して、肉眼的病理検査を実施した。

各群間に差はみられなかった。

病理組織学的検査 ; 上記の肉眼的病理検査を行った同一動物を対象に、頭部について病理組織学的検査を実施した。なお、採取した頭部組織は脱灰後、Youngの方法に従って4ヵ所(鼻部先端より1、2、3、4)の鼻腔横断組織切片を作製した。

フェリムゾン投与群(第1、第2及び第3群)のラットの極少数例に呼吸上皮の炎症、嗅上皮の変性、杯細胞の増生などがみられたが、陰性対照群との間に有意な差は認められなかった。一方、ホルムアルデヒド投与陽性対照群のラットでは、鼻粘膜上皮層及び粘膜固有層に好中球などの細胞浸潤が多くみられ、嗅上皮の壊死、嗅上皮の呼吸上皮化生あるいはまた呼吸上皮の扁平上皮化生がほとんど全例に認められた。また、エオジン好性細胞及び粘液を充満した活性杯細胞が呼吸上皮にみられた。

観察された鼻腔内の主な病理組織学的検査所見とその発動物数を次表に示す。

| 観察部位 | フェリムゾン投与群 | | | | | | 陰性対照群 | | 陽性対照群 ホルムアルデヒド 10% | |
|---------------|-----------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-----------------------|---|
| | 5%・2回 | | 5%・1回 | | 1%・1回 | | 右 | 左 | 右 | 左 |
| 嗅上皮の変性・壊死 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15** | 0 |
| 嗅上皮の呼吸上皮化生 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14** | 0 |
| 呼吸上皮の炎症 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24** | 1 |
| 呼吸上皮の変性・壊死 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22** | 1 |
| 呼吸上皮の扁平化生 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 24** | 0 |
| 呼吸上皮のエオジン好性変化 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 10** | 0 |
| 呼吸上皮の杯細胞増生 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 12** | 5 |
| 検査動物数 | 24 | | 24 | | 24 | | 24 | | 24 | |

** : Fisherの直接確率計算法 p<0.01

以上の結果より、フェリムゾン5%あるいは1%の懸濁液を20μL/匹の投与量で13週間連続点鼻投与した本試験条件下では、起炎症性および腫瘍性変化ともに認められなかった。

(2) フェリムゾンのラット鼻粘膜に対する連続暴露試験 (2)

(資料11-2)

試験機関 : 臨床医科学研究所

札幌総合病理研究所

報告書作成年 : 1990年

試験の実施目的 : フェリムゾンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められ、鼻部および皮膚に対する発癌性が懸念された。そのため、フェリムゾンを用いたWistar系雄ラットの鼻粘膜に対し連続13週間曝露(投与量:1%~5%液、20 μ L/匹)し、鼻粘膜の組織学的変化を観察した結果、起炎症性の変化は認められなかった(資料11-1)。今回、投与量を増加させた2回目の試験(投与量:1%~5%液、20~30 μ L/匹)を実施し、フェリムゾンの鼻粘膜の組織学的変化について検討した。

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : Wistar系ラット、陰性及び陽性対照群は1群雄各20匹

また、検体投与群は1群雄各25匹

試験開始時6週齢(体重138~160g)

投与期間 : 3ヵ月間(1989年9月1日~1989年11月30日)

投与方法 : 第1群には陰性対照群として0.1%CMC水溶液を1日1回(午前1回投与)、第2群には0.1%CMC水溶液中フェリムゾン原体1%(W/V)懸濁液を1日1回(午前1回投与)、第3群には同フェリムゾン原体5%(W/V)懸濁液を1日1回、第4群には同フェリムゾン原体5%(W/V)懸濁液を1日2回(午前及び午後各1回投与)マイクロピペッターを用いてラットの左側鼻腔内に点鼻投与した。また、第5群には陽性対照物質として5%(投与開始より8週間)あるいは10%(9週より試験終了時まで)ホルムアルデヒド水溶液を1日1回上記同様に投与した。

投与容量は投与開始より8週間は各々20 μ L/匹とし、9週より試験終了時まで各々30 μ L/匹とした。

飼料は市販飼料を、飲水は水道水を自由に摂取させた。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

全群に点鼻投与した溶液によると思われる外鼻孔周囲の汚れ及び

一過性の眼周囲の分泌物がみられたが、フェリムゾン投与群及びホルムアルデヒド投与陽性対照群と陰性対照群の間に一般状態の差はみられなかった。いずれの群においても、死亡は認められなかった。

体重変化、飼料摂取量及び飲水量 ; 週1回、個体別に測定した。

各群間に統計学的な有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 4及び8週時に各群5匹を中間屠殺し、また13週間後には生存動物全例を最終屠殺して、肉眼的病理検査を実施した。

投与4週間後の所見では、対照群に肝の黒色及び黄色斑が1例認められ、投与8週間後の所見では、フェリムゾン5%・2回投与群に肺の点状出血が1例認められた。また、投与13週間後の所見では、フェリムゾン1%投与群に右側水腎症2例、フェリムゾン5%・1回投与群に右側水腎症1例がみられた。

病理組織学的検査 ; 上記の肉眼的病理検査を行った同一動物を対象に、頭部について病理組織学的検査を実施した。なお、採取した頭部組織は脱灰後、Youngの方法に従って4ヵ所(鼻部先端よりI、II、III、IV)の鼻腔横断組織切片を作製した。

フェリムゾン投与群(第2、第3及び第4群)のラットの鼻腔内に粘液分泌亢進や好中球等の細胞の浸出が陰性対照に比較してやや多く発現したが、統計学的に有意な差はみられなかった。

一方、ホルムアルデヒド投与陽性対照群のラットでは鼻腔内の粘液分泌亢進、細胞の浸出、好中球の存在、粘膜剥離、粘膜及び粘膜下織に細胞の浸潤、及びうっ血が認められた。

試験終了後(13週)までに観察された鼻腔内の主な病理組織学的検査所見とその発生動物数を次表に示す。

| 組織切片 レベル | 組織検査所見 | フェリムゾン投与群 | | | 陰性 対照群 | 陽性対照群 ホルムアルデヒド 5(10)% |
|-------------|--------|-----------|-------|-------|-----------|--------------------------|
| | | 5%・2回 | 5%・1回 | 1%・1回 | | |
| I | 粘液分泌亢進 | 5 | 10 | 8 | 3 | 4 |
| | 細胞の浸出 | 0 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| II | 粘液分泌亢進 | 5 | 7 | 4 | 2 | 4 |
| | 細胞の浸出 | 2 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| | 粘膜剥離 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | うっ血 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| III | 粘液分泌亢進 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 細胞の浸出 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| IV | 粘液分泌亢進 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| 検査動物数 | | 25 | 25 | 25 | 20 | 20 |

なお、同一の病理組織標本を株式会社札幌総合病理研究所において病理組織学的に再検査した。その結果を以下に追加した。すなわち、フェリムゾン投与群（第2、第3及び第4群）のラットの鼻腔内に呼吸上皮の杯細胞増生が陰性対照に比較してやや多く発現したが、大差はみられなかった。

一方、ホルムアルデヒド投与陽性対照群のラットでは鼻腔内嗅上皮の変性、嗅上皮の呼吸上皮化生、呼吸上皮の扁平化生、呼吸上皮の炎症などの明らかな炎症像が認められた。

試験終了時（13週）までに観察された鼻腔内の主な病理組織学的検査所見とその発生動物数を次表に示す。

| 観察部位 | フェリムゾン投与群 | | | | | | 陰性 対照群 | | 陽性対照群 ホルムアルデヒド 5(10)% | |
|--------------|-----------|---|-------|---|-------|---|-----------|---|--------------------------|----|
| | 5%・2回 | | 5%・1回 | | 1%・1回 | | 右 | 左 | 右 | 左 |
| 嗅上皮の炎症 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| 嗅上皮の変性・壊死 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| 嗅上皮の呼吸上皮化生 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 |
| 嗅上皮の扁平上皮化生 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| 嗅上皮のイオン好性変化 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 8 |
| 呼吸上皮の炎症 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| 呼吸上皮の変性・壊死 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 |
| 呼吸上皮の扁平化生 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| 呼吸上皮のイオン好性変化 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 8 |
| 呼吸上皮の杯細胞増生 | 1 | 1 | 2 | 1 | 4 | 4 | 1 | 1 | 5 | 7 |
| 検査動物数 | 25 | | 25 | | 25 | | 20 | | 20 | |

以上の結果より、フェリムゾン 5%あるいは 1%の懸濁液を 20~30 μ L/匹の投与量で 13 週間連続点鼻投与した本試験条件下では、起炎症性および腫瘍性変化ともに認められなかった。

申請者注：フェリムゾン 5%あるいは 1%の懸濁液を 20 μ L/匹、13 週間連続点鼻投与した試験(資料 1 1-1、残留農薬研究所 1990 年)では、起炎症性は認められなかったが、本試験では、点鼻投与液量を投与 9 週目より 30 μ L/匹とし、曝露量を増やした結果、炎症に関連する変化として好中球等の細胞浸出の発現頻度が増加した。顕著な起炎症性は認められないものの、好中球等の細胞浸出は、極く初期的な炎症性変化と考えられた。従って、フェリムゾンは、鼻粘膜に対して影響を及ぼすと考えられた。

(3) フェリムゾンのラット鼻腔発癌に及ぼす修飾作用試験

(資料11-3)

試験機関 : 大雄会医科学研究所

[GLP対応]

報告書作成年 : 1991年

試験の実施目的 : フェリムゾンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められ、鼻部および皮膚に対する発癌性が懸念された。そのため、フェリムゾンの鼻腔に対する発癌促進効果の有無を検討する目的で1,4-dinitrosopiperazine(DNP)のイニシエーション処置によるラット鼻腔二段階発癌法試験を実施した。

検体 : フェリムゾン原体

検体の純度 :

供試動物 : F344/DuCrj系ラット、1群雄20あるいは40匹

試験開始時6週齢(体重;103~126g)、1ケージ当り5匹収容

投与期間 : 24週間(1990年6月14日~1990年11月29日)

試験方法 : 2段階発癌試験法を用いた。すなわち、イニシエーション処置としてDNPを0.02%の用量で飲水に混ぜて4週間投与し、5週目よりフェリムゾンの0、500、1,500及び3,000ppmを含有する飼料を24週間連続投与した。陽性対照群としてフェナセチン20,000ppmを含有する飼料を同様に投与した。さらに、DNP無処置でフェリムゾン3,000ppm含有飼料投与群、フェナセチン20,000ppm含有飼料投与群及び基礎飼料のみの投与群を設けた。試験計画を以下に示した。

| 群 | 動物数 | 0週 | | 4週 | | 24週 |
|---|-----|-----|--------|-----------|--|-----|
| | | | | | | |
| 1 | 40 | DNP | フェリムゾン | 3,000ppm | | |
| 2 | 40 | DNP | フェリムゾン | 1,500ppm | | |
| 3 | 40 | DNP | フェリムゾン | 500ppm | | |
| 4 | 40 | DNP | フェナセチン | 20,000ppm | | |
| 5 | 40 | DNP | 基礎飼料 | | | |
| 6 | 20 | - | フェリムゾン | 3,000ppm | | |
| 7 | 20 | - | フェナセチン | 20,000ppm | | |
| 8 | 20 | - | 基礎飼料 | | | |

DNP : 1,4-dinitrosopiperazine 0.02% (飲水中)

- : 無処置

DNP含有飲水の調製は2~4日毎に行い、フェリムゾン及びフェナセチン含有飼料の調製は各検体の飼料中安定性試験結果に基づき5週間に1回とした。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 ; 一般状態及び生死を毎日観察した。

DNP 処置後フェリムゾン 500ppm 投与群 (3 群) の 1 例に口腔内出血及び衰弱が認められたが、これはラットがケージに切歯を挟んだ事故によるもので、これ以外に検体投与に起因する一般状態の変化は認められなかった。

試験終了時における死亡率は DNP 処置後フェリムゾン 500ppm 投与群 (3 群) の 2 例 (2/40) のみであり、原因は事故死であった。

体重変化 ; 試験開始時から 14 週までは週 1 回、その後は 2 週に 1 回全生存動物について個体別体重を測定した。

DNP 処置の有無を問わず、フェリムゾン 3,000ppm 投与群 (1,6 群) 及びフェナセチン投与群 (4,7 群) で 5 週時より試験終了の 24 週時まで、対照群に比較して有意な体重増加抑制が認められた。

飼料摂取量 ; 試験開始時から 14 週まで毎週、その後は 2 週に 1 回、2 日間の飼料摂取量をケージ毎に測定し、平均飼料摂取量を算出した。

DNP 処置のフェナセチン 20,000ppm 投与群 (4 群) の 6 週時に高値がみられ、DNP 無処置のフェリムゾン 3,000ppm 投与群 (6 群) の 6 週時に高値、DNP 無処置のフェナセチン 20,000ppm 投与群 (7 群) の 5 週時に低値、また同投与群の 6~9、20 及び 24 週時に各々高値を示した。

飲水量 ; 試験開始時から 14 週まで毎週、その後は 2 週に 1 回、2 日間の飲水量をケージ毎に測定し、平均飲水量を測定した。

DNP 無処置のフェリムゾン 3,000ppm 投与群 (6 群) では 5 及び 6 週時に高値がみられ、DNP 無処置のフェナセチン 20,000ppm 投与群 (7 群) では 6~12 週時に高値を示した。

検体摂取量 ; DNP 摂取量は飲水量に濃度を乗じ、その週の平均体重で除して算出し、フェリムゾン及びフェナセチンの摂取量は飼料摂取量に濃度を乗じ、その週の平均体重で除して算出した。

投与期間中における各検体の摂取量の範囲を次表に示した。

| 群 | 検体投与量 | | | 検体摂取量 (mg/kg/day) | | |
|---|---------|--------------|--------------|-------------------|-------------|----------|
| | DNP (%) | フェリムゾン (ppm) | フェナセチン (ppm) | DNP | フェリムゾン | フェナセチン |
| 1 | 0.02 | 3,000 | — | 17.4~21.7 | 109.4~204.1 | — |
| 2 | 0.02 | 1,500 | — | 17.9~22.1 | 50.9~101.1 | — |
| 3 | 0.02 | 500 | — | 17.5~22.4 | 18.1~34.3 | — |
| 4 | 0.02 | — | 20,000 | 17.6~22.4 | — | 839~1673 |
| 5 | 0.02 | — | — | 17.4~22.4 | — | — |
| 6 | — | 3,000 | — | — | 108.5~224.1 | — |
| 7 | — | — | 20,000 | — | — | 969~1535 |
| 8 | — | — | — | — | — | — |

臓器重量 ; 試験終了時 (24週時) に各投与群半数 (1~5群は各20匹、6~8群は各10匹) を対象に剖検の後、肝、腎の重量を測定し、対体重比を算出した。無投与対照群 (8群) に比較し統計的に有意差の認められた項目は次の通りであった。

| 群 | DNP | 検体投与量 | | 検査動物数 | 肝 | | 腎 |
|---|-----|--------|-----------|-------|-------|-------|-------|
| | | | | | 重量 | 対体重比 | 対体重比 |
| 1 | + | フェリムゾン | 3,000ppm | 20 | ↑ 118 | ↑ 130 | ↑ 111 |
| 2 | + | フェリムゾン | 1,500ppm | 20 | ↑ 113 | ↑ 116 | |
| 3 | + | フェリムゾン | 500ppm | 20 | | | |
| 4 | + | フェナセチン | 20,000ppm | 20 | ↑ 121 | ↑ 155 | ↑ 131 |
| 5 | + | — | — | 20 | | | |
| 6 | — | フェリムゾン | 3,000ppm | 10 | ↑ 109 | ↑ 120 | ↑ 106 |
| 7 | — | フェナセチン | 20,000ppm | 10 | ↑ 116 | ↑ 150 | ↑ 123 |
| 8 | — | — | — | 10 | (100) | (100) | (100) |

注) Student t検定、↑ ↓ ; p<0.05、↑ ↓ ; p<0.01

表中の数値は無投与対照群に対する相対値 (%) を表す。

DNP 処置に拘らず肝重量及びその対体重比はフェリムゾン 1,500 及び 3,000ppm 投与群とフェナセチン 20,000ppm 投与群で統計学的に有意に増加し、また腎重量対体重比は DNP 処置の有無に拘らずフェリムゾン 3,000ppm 投与群及びフェナセチン 20,000ppm 投与群で有意に増加した。

肉眼的病理検査 ; 試験終了時に各投与群半数 (1~5群は各20匹、6~8群は各10匹) を対象に、肉眼的病理検査を行った。フェリムゾン及びフェナセチン投与群ともに鼻腔に腫瘤形成は認められなかった。

DNP 処置のフェリムゾン投与群 (1~3群) の肝に単発性から多発性の白色点あるいは白色域が 20 匹中 11~20 例にみられ、その出現頻度及び程度には用量相関性が認められた。結節性病変が 1~3 群の 1

～3例に認められた。

DNP 処置の有無を問わず、フェナセチン投与群（4,7 群）の全動物に脾の肥大がみられ、かつ表面の粗造化が 2～3 例に観察された。

DNP 処置のフェリムゾン 500ppm 投与群（3 群）の 2 例に肺の変色がみられ、フェナセチン 20,000ppm 投与群（4 群）の 1 例に唾液腺の肥大及び耳介の結節性病変が認められた。

病理組織学的検査 ; 肉眼的病理検査を行った動物を対象に鼻腔、肝及び肉眼的病変部について病理組織学的検査を実施した。鼻腔については急速脱灰後、切歯前端、切歯後端、第一切歯乳頭前端及び第一臼歯前端的の 4 レベルについて組織切片を作成し、検査を行った。鼻腔各部位及び肝における過形成及び腫瘍の発現した動物数を次表に示した。

| 臓器及び 病理組織学的所見 | D N P 処 置 | | | | | DNP無処置 | | | |
|--------------------|-----------|------|------|-------|------|--------|-------|------|---|
| | 群 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | 検体 | F | F | F | P | — | F | P | — |
| ppm | 3000 | 1500 | 500 | 20000 | 0 | 3000 | 20000 | 0 | |
| 鼻 腔 (検査動物数) | (20) | (20) | (20) | (20) | (20) | (10) | (10) | (10) | |
| 扁平上皮過形成 | 19** | 8** | 1 | 6* | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| 移行上皮過形成 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 呼吸上皮過形成 | 2 | 3 | 1 | 17** | 1 | 0 | 1 | 0 | |
| 嗅上皮過形成 | 15 | 14 | 16 | 16 | 17 | 0 | 0 | 0 | |
| 鼻涙管過形成 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 移行細胞乳頭腫 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 移行細胞癌 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 肝 (検査動物数) | (20) | (20) | (20) | (20) | (20) | (10) | (10) | (10) | |
| 小増殖巣 | 20 | 20 | 20 | 19 | 18 | 0 | 0 | 0 | |
| 過形成(腫瘍性)結節 | 17** | 9* | 6 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| 肝細胞癌 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 耳 介 (検査動物数) | (0) | (0) | (0) | (1) | (0) | (0) | (0) | (0) | |
| 平滑筋腫 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

注) Fischer 正確確率検定 *; p<0.05, **; p<0.01

F; フェリムゾン、P; フェナセチン

1) DNP イニシエーション処置群

鼻腔では過形成病変として鼻前庭の扁平上皮とそれ以外の部位における移行上皮及び嗅上皮の過形成が認められた。扁平上皮過形成の発生頻度はフェリムゾン 3,000ppm 投与群で 19/20 例 (95%)、1,500ppm 投与群で 8/20 例 (40%) 及び 500ppm 投与群で 1/20 例 (5%) を示し、用量依存的に増加した。フェナセチン 20,000ppm 投与群では扁平上皮及び呼吸上皮に過形成の頻度が増加した。移行上皮及び嗅上皮過形成も認められたが各投与群間に差はみられなかった。

これらの病変を合計し、ラット1匹当りの平均発生個数を算出した値を次表に示した。

| 群 | DNP | 検体投与量 | | 検査動物数 | ラット1匹当りの鼻腔内病変数 | | |
|---|-----|--------|-----------|-------|----------------|-----|-----|
| | | | | | 過形成 | 乳頭腫 | 癌 |
| 1 | + | フェリムゾン | 3,000ppm | 20 | 2.8** | 0 | 0 |
| 2 | + | フェリムゾン | 1,500ppm | 20 | 2.1* | 0 | 0 |
| 3 | + | フェリムゾン | 500ppm | 20 | 1.7 | 0.1 | 0.1 |
| 4 | + | フェナセチン | 20,000ppm | 20 | 3.9** | 0.1 | 0 |
| 5 | + | - | - | 20 | 1.3 | 0 | 0 |
| 6 | - | フェリムゾン | 3,000ppm | 10 | 0.1 | 0 | 0 |
| 7 | - | フェナセチン | 20,000ppm | 10 | 0.1 | 0 | 0 |
| 8 | - | - | - | 10 | 0 | 0 | 0 |

注) Fischer 正確確率検定 *; p<0.05、**; p<0.01

フェリムゾン1,500及び3,000ppm投与群とフェナセチン20,000ppm投与群で有意な過形成病変個数の増加が認められた。

また、過形成病変を単純性過形成、結節性過形成及び乳頭状過形成に分類すると次表の通りである。

| 病変部位及び所見 | 群 | D N P 処 置 | | | | | DNP無処置 | | |
|-------------|------|-----------|-----|-------|------|------|--------|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | | 検体 | F | F | F | P | - | F | P |
| ppm | 3000 | 1500 | 500 | 20000 | 0 | 3000 | 20000 | 0 | |
| 扁平上皮 | | | | | | | | | |
| 単純性過形成 | | 19** | 8** | 1 | 6* | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 呼吸上皮 | | | | | | | | | |
| 単純性過形成 | | 0 | 0 | 0 | 11** | 1 | 0 | 1 | 0 |
| 結節性過形成 | | 2 | 1 | 0 | 7* | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 乳頭状過形成 | | 0 | 2 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 移行上皮 | | | | | | | | | |
| 単純性過形成 | | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 結節性過形成 | | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 乳頭状過形成 | | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 嗅上皮 | | | | | | | | | |
| 単純性過形成 | | 2 | 2 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 結節性過形成 | | 14 | 14 | 14 | 15 | 15 | 0 | 0 | 0 |
| 乳頭状過形成 | | 2 | 2 | 3 | 4 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| 鼻涙管 | | | | | | | | | |
| 単純性過形成 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

注) Fischer 正確確率検定 *; p<0.05、**; p<0.01

F; フェリムゾン、P; フェナセチン

フェリムゾン投与群における扁平上皮過形成は全て単純性過形成であり、フェナセチン 20,000ppm 投与群の呼吸上皮では単純性及び結節性過形成が有意に増加した。

肝ではフェリムゾンの 1,500 及び 3,000ppm 投与群で過形成結節が有意に増加し、用量依存性があった。小増殖巣は全ての DNP 処群に発現した。

2) DNP イニシエーション無処置群

鼻腔ではフェリムゾン 3,000ppm 投与群 (6 群) の 1 例に扁平上皮過形成及びフェナセチン 20,000ppm 投与群 (7 群) の 1 例に呼吸上皮の単純性過形成がみられた。

3) 以上の他、DNP のイニシエーション処置の有無に拘らず、フェナセチン 20,000ppm 投与群 (4,7 群) の脾にうっ血、ヘモジデリン沈着、白脾髄の萎縮及び中皮の肥厚が観察された。

以上の結果より、フェリムゾンはラット鼻前庭の扁平上皮過形成の発生頻度を用量依存的に増加させ、検査した鼻腔の全ての部位におけるラット 1 匹当りの平均過形成病変数を増加させたことから、DNP による鼻腔発癌を促進させることが明らかになった。また、フェリムゾンによる鼻腔上皮の過形成は、特に鼻前底部に発現したことから、その促進作用機序はフェリムゾンの鼻粘膜に対する直接接触による可能性が示唆された。

その他、肝において過形成結節が DNP 処置群にみられ、フェリムゾン投与によりそれらの発生が有意に増加したことは DNP が鼻腔以外の肝にも腫瘍を発生させることが知られていることから、DNP による強いイニシエーションの後、フェリムゾンによる肝プロモーター作用のみが示されたものと考えられた。

なお、フェリムゾン、フェリムゾン原体混在物及び代謝分解物には変異原性が認められず、フェリムゾンのラットを用いた 24 ヶ月経口毒性・発癌性試験において肝に対する発癌性は認められなかった。

(4) フェリムゾンのマウス皮膚に対する2段階法を用いた発癌性試験

(資料11-4)

試験機関 : 臨床医科学研究所
[GLP対応]
報告書作成年 : 1991年

試験の実施目的 : フェリムゾンのラットに対する慢性毒性・発癌性試験(資料7-1)において、3000ppm投与群の雌雄で鼻腔扁平上皮癌の発生頻度の増加が認められ、鼻部および皮膚に対する発癌性が懸念された。そのため、2段階皮膚発癌試験法を用い、フェリムゾンの雌マウスの皮膚に対するイニシエーション作用およびプロモーション作用の有無を検討した。

検体 : フェリムゾン原体
検体の純度 :
供試動物 : Crj:CD-1系マウス、1群雌20匹
試験開始時5週齢(体重;19.8~27.5g)、1ケージ当り5匹収容

投与期間 : 30週間(1990年5月25日~1990年12月18日)
試験方法 : 除毛したマウスの背部皮膚(約2×3cm)に対しアセトンに溶解した7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)50μg、フェリムゾン6,000μgあるいはアセトンのみを1回(投与容量:各200μL)塗布し、その後1週間放置した後、アセトンに溶解した12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)5μg、フェリムゾン6,000μgあるいはアセトンのみを週2回(投与容量:各200μL)、連続29週間塗布した。
試験計画を以下に示した。

| 群 | 動物数 | 処置 | | |
|---|-----|---------------|----|---------------|
| | | 0週 | 1週 | 30週 |
| | | 前処置↑ | ↑ | プロモーション処置↑ |
| 1 | 20 | アセトン(200μL) | | T P A 5μg |
| 2 | 20 | フェリムゾン6,000μg | + | アセトン(200μL) |
| 3 | 20 | フェリムゾン6,000μg | + | T P A 5μg |
| 4 | 20 | DMBA 50μg | + | アセトン(200μL) |
| 5 | 20 | DMBA 50μg | + | フェリムゾン6,000μg |
| 6 | 20 | DMBA 50μg | + | T P A 5μg |

注) 前処置↑ : 背部皮膚に1回塗布

↑プロモーション処置↑ : 前処置1週間後より週2回連続塗布

フェリムゾンのアセトン溶液は溶解限度の3%液を用時調製して使用した。DMBAは0.025%アセトン溶液、TPAは0.0025%アセトン溶液とし、試験開始時に調製して-20℃で保存後、用時に取出して使用した。

観察・検査項目及び結果 :

一般状態及び死亡率 : 一般状態及び生死を毎日観察した。

アセトン+TPA(1群) : 5~6週時より約半数のマウスの投与部皮膚に発赤がみられたが7週時に消失した。15週時より少数例に痂皮形成がみられ、22週時には一部に浮腫が認められ、その後皮膚の角化や潰瘍が観察された。

フェリムゾン+アセトン(2群) : 一般状態に異常は認められなかった。

フェリムゾン+TPA(3群) : 4週時より少数例に皮膚の発赤がみられ、

6週時に痂皮形成1例、10及び12週時に皮膚の浮腫1例がみられ、このマウスは潰瘍を発現して衰弱死した。

DMBA+アセトン (4群) : 皮膚の異常はみられなかったが、25週時より1例が歩行異常を示した。

DMBA+フェリムゾン (5群) : 一般状態及び皮膚に異常は認められなかった。

DMBA+TPA (6群) : 2週時より投与部皮膚に発赤がみられ、7~8週時より痂皮形成が認められたが、9週時にこれらは消失した。その後、少数例に浮腫が観察された。

試験終了時における死亡率は次表の通りであった。

| 群 | 処置 | 動物数 | 死亡率 (%) |
|---|-------------|-----|---------|
| 1 | アセトン+TPA | 20 | 0 |
| 2 | フェリムゾン+アセトン | 20 | 0 |
| 3 | フェリムゾン+TPA | 20 | 0 |
| 4 | DMBA+アセトン | 20 | 10 |
| 5 | DMBA+フェリムゾン | 20 | 5 |
| 6 | DMBA+TPA | 20 | 5 |

体重変化 ; 試験開始時から20週までは週1回、その後は2週に1回全生存動物について個体別体重を測定し、同時に行った試験におけるアセトン200 μ L皮膚連続塗布群(20匹使用)の体重を対照として比較した。DMBA+TPA(6群)のみに、17週時より試験終了時まで体重増加抑制が認められた。その他の投与群には有意な差はみられなかった。

皮膚腫瘍の発生状況 ; 全生存動物を対象として週1回、皮膚の腫瘍発生数を乳頭腫及び扁平上皮癌に分類して観察した。

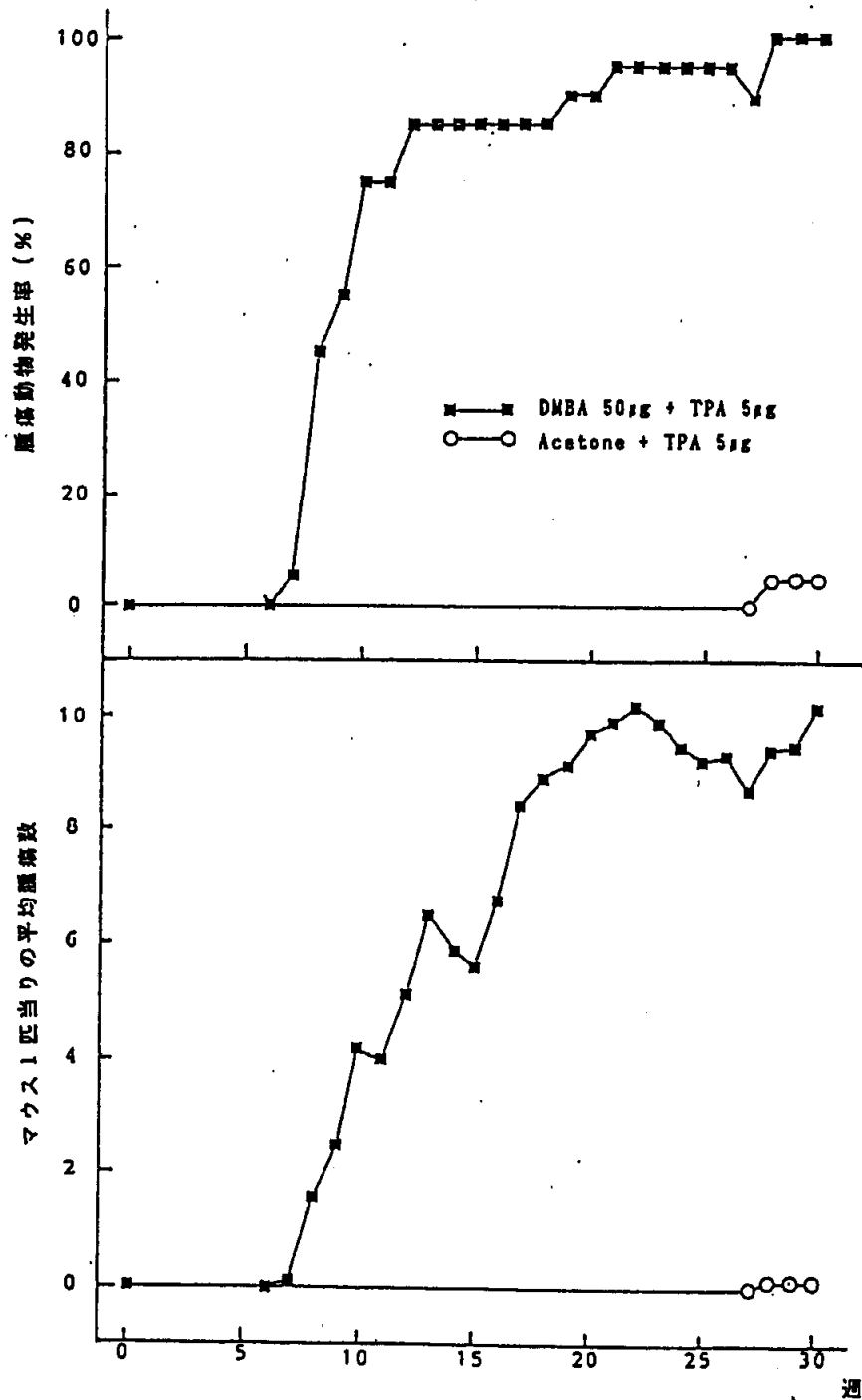
フェリムゾン+アセトン(2群)、フェリムゾン+TPA(3群)、DMBA+アセトン(4群)、DMBA+フェリムゾン(5群)には皮膚腫瘍の発生は全く認められなかった。

アセトン+TPA(1群)では27週時に20匹中1例(5%)に2個の皮膚腫瘍の発生が認められ、その後試験終了時まで腫瘍発生数の増加はみられなかった。

一方、陽性対照であるDMBA+TPA(6群)では、7週時から皮膚腫瘍が発現しその後徐々に腫瘍動物数及び総腫瘍数は増加し、17週時には20匹中17例(85%)、計168個となり、22週時には19例(95%)計204個を示し、腫瘍動物数及び総腫瘍数がプラトーに達した。さらに28週時には生存動物全例(19匹)に腫瘍の発生がみられ総腫瘍数が178、試験終了時(30週)には19匹、194個となった。生存動物1匹当りの平均腫瘍数は7、17、22、28及び30週時に各々、

0.1、8.4、10.2 及び 10.2 個を示した。

腫瘍発生のみられたアセトン+TPA (1群) と DMBA+TPA (6群) の腫瘍動物発生率及びマウス1匹当りの平均腫瘍数の経時的推移を下图に示した。



肉眼的病理検査 ; 試験終了時に各群次表の動物について、頭蓋、胸腔及び腹腔の器官・組織の肉眼的病理検査を行った。即ち、フェリムゾン+アセトン(2群)、DMBA+アセトン(4群)及びDMBA+フェリムゾン(5群)の各群については無作為に選抜した5例と途中死亡例を対象に、アセトン+TPA(1群)及びフェリムゾン+TPA(3群)については無作為に選抜した5例と一般状態の悪化した2例を加えた7例、またDMBA+TPA(6群)については腫瘍の発生した全生存例と死亡1例を対象に検査を行った。

異常所見を次表に示した。

| 群 | 処置 | 検査動物数 | 肉眼的病理検査所見 [発生動物数] |
|---|-------------|-------|-------------------------------------|
| 1 | アセトン+TPA | 7 | 皮膚潰瘍 [1] |
| 2 | フェリムゾン+アセトン | 5 | 異常なし |
| 3 | フェリムゾン+TPA | 7 | 脾肥大[2]、腺胃出血[1] 腋下リンパ節肥大[1] |
| 4 | DMBA+アセトン | 5(2)* | 腺胃出血[1]、胸水、肺水腫[1] 各リンパ節肥大[2] |
| 5 | DMBA+フェリムゾン | 5(1) | 各リンパ節と脾の肥大[1]、腎臓の白斑[1] |
| 6 | DMBA+TPA | 19(1) | 脾肥大[9]、液化リンパ節肥大[2]、各リンパ節肥大[1]、腹水[1] |

注) () 内の数値は死亡動物数

病理組織学的検査 ; 肉眼的病理検査を行った動物を対象に、皮膚の腫瘍は採取可能な全ての腫瘍について、また腫瘍の発生のみられない皮膚については検体を塗布した部位の皮膚について病理組織学的検査を実施した。

[腫瘍性病変]

皮膚の腫瘍性病変の発生数を次表に示した。

| 群 | 処置 | 検査動物数 | 腫瘍動物数 | 腫瘍総数 | 腫瘍の形態別数 | |
|---|-------------|-------|-------|--------|-------------------------|-----------|
| | | | | | 乳頭腫 [%] | 扁平上皮癌 [%] |
| 1 | アセトン+TPA | 7 | 1 | 2 | 2 [100] | 0 [0] |
| 2 | フェリムゾン+アセトン | 5 | 0 | 0 | 0 [0] | 0 [0] |
| 3 | フェリムゾン+TPA | 7 | 0 | 0 | 0 [0] | 0 [0] |
| 4 | DMBA+アセトン | 5(2)* | 0(0) | 0(0) | 0 [0] | 0 [0] |
| 5 | DMBA+フェリムゾン | 5(1) | 0(0) | 0(0) | 0 [0] | 0 [0] |
| 6 | DMBA+TPA | 19(1) | 19(1) | 206(8) | 205 [99.5] (8) [100] | 1 [0.5] |

注) () 内の数値は死亡動物数

アセトン+TPA (1群) の7匹中1例に皮膚腫瘍2個がみられ、これらは角化亢進を伴う乳頭腫であった。

DMBA+TPA (6群) の19匹全例に乳頭腫がみられ、その内1例に扁平上皮癌が認められた。総腫瘍数206個中乳頭腫は205個(99.5%)、扁平上皮癌は1個(0.5%)であった。

その他の投与群のマウス皮膚には腫瘍性変化は認められなかった。

[非腫瘍性病変]

皮膚の非腫瘍性病変をもつ動物を次表に示した。

| 皮膚、皮下組織の病理組織学的検査所見 | 群 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------------|---------|------|--------|--------|-------|--------|-------|
| | 前処置 | アセトン | フェリムゾン | フェリムゾン | DMBA | DMBA | DMBA |
| | プロモーション | TPA | アセトン | TPA | アセトン | フェリムゾン | TPA |
| 検査動物数 | 7 | 5 | 7 | 5(2)* | 5(1)* | 19(1)* | |
| 表皮の増生 | | 2 | 0 | 3 | 0(0) | 0(0) | 7(1) |
| 細胞浸潤 | | 2 | 0 | 3 | 0(0) | 0(1) | 5(0) |
| 潰瘍 | | 1 | 0 | 2 | 0(0) | 0(0) | 1(0) |
| 痂皮 | | 1 | 0 | 0 | 0(0) | 0(0) | 1(0) |
| 角化亢進 | | 2 | 0 | 2 | 0(0) | 0(0) | 18(1) |

注) () 内の数値は死亡動物数

アセトン+TPA(1群)の皮膚及び皮下組織に表皮の増生、細胞浸潤、潰瘍及び角化亢進が認められ、フェリムゾン+TPA(3群)には表皮の増生、細胞浸潤、潰瘍及び角化亢進が認められた。

DMBA+フェリムゾン(5群)の死亡例1匹に皮下組織の細胞浸潤が認められた。また、DMBA+TPA(6群)の腫瘍の周囲皮膚に表皮増生、細胞浸潤、潰瘍、痂皮及び角化亢進が認められた。

以上の結果より、フェリムゾンはマウス皮膚に対してDMBAの前処置にも拘らず、皮膚発癌の促進作用を示さなかった。

また、フェリムゾンはTPAのプロモーション処置にも拘らず皮膚発癌イニシエーション作用を示さなかった。