

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.3 マウスにおける発がん性試験 (資料 No.T-3.3)

試験機関

報告書作成年 2003年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ICR系 CD-1 (マウス)、主群：1群雌雄各60匹、衛星群：1群雌雄各10匹、
投与開始時6週齢。投与後26及び52週時に各群雌雄10匹ずつを中間屠殺した。

試験期間： 主群：78週間 (2000年4月13日～2001年10月19日)
衛星群：52週間 (2000年4月13日～2001年4月9日)
衛星群：26週間 (2000年4月13日～2000年10月9日)

投与方法： 検体を0, 250, 750及び2250 ppmとなるように飼料に混合し、78週間に亘って自由に
摂取させた。検体を混入した飼料は1週間に1回調製した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び生存率；一般状態及び生死を毎日観察した。その結果、脱毛、粗毛、進行性壊死性皮膚炎が対照群を含む全群にみられたが、いずれも検体投与によるものとは考えられなかった。試験終了時の生存率を下表に示す。

投与群 (ppm)		0	250	750	2250
生存率 (%)	雄	78	82	90	77
	雌	77	83	78	77

体重； 投与開始から13週間は週1回、その後は4週間に1回、全ての生存動物の体重を測定した。体重及び体重増加量に関する対照群との比較において、散発的に統計学的有意差を伴う変化が認められたが、影響が認められた群や週に一定の傾向はなかった。よって、投与に起因する影響とはみなされなかった。

摂餌量及び食餌効率；全動物の摂餌量を体重と同じ頻度で測定し、食餌効率も算出した。摂餌量の低下が、雄の最高投与群において投与第10週と第29週に認められた。雌の最高投与群では、投与第2-5週に摂餌量の低下が認められた。食餌効率に関しては、みられた変動には用量との関連性が明らかではなく、投与に起因する影響とは考えられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与群 (ppm)		250	750	2250
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	29	88	261
	雌	38	112	334

血液学的検査；衛星群に関しては投与 26 週および 52 週後に、主群に関しては投与 52 週及び 78 週後に各群雌雄の全生存動物について、眼窩静脈洞から採血し、白血球分類 (Diff-WBC) を検査した。その結果、検体投与に起因する白血球分類への影響は認められなかった。

臓器重量；主群の試験終了時に全生存動物の内、各群 10 匹の脳、肝臓、腎臓、副腎、心臓、脾臓、精巣、精巣上体、卵巣および子宮の重量を測定し、対体重比及び対脳重量比 (比脳重量) を算出した。尚、各衛星群および主群の全生存動物については肝臓、腎臓及び脾臓の重量を測定し、対体重比及び対脳重量比 (比脳重量) を算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄					雌					
	250	750	2250	2250	2250	250	750	2250	2250	2250	
投与群 (ppm)	250	750	2250	2250	2250	250	750	2250	2250	2250	
検査時期 (週)	78	78	26	52	78	78	78	26	52	78	
体重 (g)	41.6	40.8	41.2	41.6	40.6	37.7	35.7	32.8	35.9	35.0	
臓器											
肝臓	絶対重量			↑108					↑112	↑112	↑111
	対体重比										↑110
	比脳重量										
腎臓	絶対重量										
	対体重比										↓92
	比脳重量										

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%) を表わす。

統計解析法：Bartlett 検定 (↑、↓：p<0.05、↓、↑：p<0.01)

最終解剖では、最高投与群の雄マウスの腎臓の対体重比が対照群と比較して統計学的に有意に低下した。また、最高投与群の雌マウスの肝臓の絶対重量と対体重比が対照群と比べて有意に増加した。衛星群では、26 週間後の雌雄マウスともに、肝臓の絶対重量が有意に増加した。また、52 週間後の雌マウスの肝臓の絶対重量が有意に増加した。

肉眼病理学的検査；途中死亡、切迫屠殺、中間屠殺および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。その結果、主群において下表のごとく、検体投与群の雌雄において肺の結節の増加が認められた。その他の所見は、通常の長期試験において観察される所見で、対照群と同程度のものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

主群の肺の結節頻度 (担結節動物数/検査動物数)

投与群 (ppm)	0	250	750	2250
雄	2/60	7/60	15/60↑	15/60↑
雌	3/60	4/60	7/60	7/60

Fisher の直接確率計算法、↑ : p<0.01 (申請者実施)

病理組織学的検査；対照群と最高投与群の動物と、試験途中で死亡または切迫殺した全ての動物の下記組織を切り出し、包埋し、薄切してヘマトキシリン・エオジン染色を施し、病理組織学的検査を実施した。また、低投与群と中間投与群の肺、肝臓、脾臓、骨髄および肉眼的異常組織についても標本を作製し鏡検した。

脳、脊髄、坐骨神経、下垂体、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、骨及び骨髄、リンパ節、心臓、大動脈、唾液腺、舌、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、大腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、子宮頸部、陰、眼球、下腿二頭筋、皮膚、乳腺(雌のみ)、肉眼的異常部位

[非腫瘍性病変]

認められた主な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

主群の 750 及び 2250 ppm 群の雄の肺において、検体投与に起因する肺胞/終末細気管支上皮細胞の過形成が、また雌雄の全投与群において終末細気管支上皮細胞の肥大が用量との関連性をもって有意に増加した。又、主群の雄の全投与群と雌の 2250 ppm 群において、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。脾臓における髓外性造血の亢進や色素沈着の増加が、雄の全ての投与群と雌の 750 及び 2250 ppm 群で認められた。骨髄では、骨髄造血低下 (低形性)が、2250 ppm 群の雌雄で認められた。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

肺胞/気管支上皮腺腫が全ての投与群の雌雄で統計学的に有意に増加した。肺胞/気管支上皮癌は、750 ppm以上の群の雄と2250 ppm群の雌で統計学的に有意に増加した。しかし、これらの肺腫瘍のほとんどは最終解剖例で見られたものであり、マウスの寿命を短縮するものではなかった。認められたその他の腫瘍は、マウスに通常見られるものであり、その発生率には投与との関連性は認められなかった。

結論： 以上の結果から、本剤のマウスに対する 18 ヶ月間混餌投与による発がん性試験において肺腫瘍の増加が認められた。雌雄共に無毒性量 (NOAEL)は設定されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1-1[非腫瘍性病変]

時期	性別		雄				雌			
		投与群 (ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
死亡・切迫殺	肺	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		肺胞/細気管支上皮細胞過形成	0	0	0	1	0	0	0	0
		終末細気管支上皮細胞肥大	0	0	1	6*	0	2	5*	2
		肺胞内組織球浸潤	0	0	1	1	1	0	1	2
		気管支周囲単核細胞浸潤	2	0	0	1	1	1	2	1
		血管周囲単核細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	2	2
		間質性肺炎	0	0	0	1	0	0	2	3
	肝臓	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		小葉中心性肝細胞肥大	1	1	2	4	0	0	1	3
		多巣性慢性炎症	5	2	0	3	5	0	4	3
		局所壊死	2	1	0	1	0	3	0	3
		色素沈着	2	0	0	0	1	0	2	0
	腎臓	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		慢性腎症	8	8	4	7	10	7	10	12
		単核細胞浸潤	6	3	2	9	10	7	5	4
		尿管管鉍質物質沈着	0	0	1	0	0	0	1	0
	脾臓	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		髓外性造血亢進	6	2	0	9	6	5	5	11
		色素沈着	0	0	1	1	4	2	3	5
	胸骨髄	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		骨髓細胞低形成	0	0	0	3	1	0	2	4
色素沈着		0	0	0	1	2	0	0	1	
最終解剖	肺	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		肺胞/細気管支上皮過形成	2	5	11*	12**	5	3	6	11
		終末細気管支上皮細胞肥大	2	22**	45**	40**	4	18**	36**	40**
		肺胞内組織球浸潤	2	2	6	4	3	3	9	8
		気管支周囲単核細胞浸潤	10	16	21*	9	17	14	18	24
		血管周囲単核細胞浸潤	6	15*	13	5	5	7	17**	12
		間質性肺炎	10	10	4	6	5	8	5	7
	肝臓	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		小葉中心性肝細胞肥大	3	13**	34**	36**	0	0	0	8**
		多巣性慢性炎症	31	33	34	33	38	35	34	39
		局所壊死	0	2	2	2	2	2	3	1
		色素沈着	2	2	1	6	6	7	9	10
	腎臓	所見\検査例数	47	6	8	46	46	7	4	46
		慢性腎症	46	6	8	45	33	7	3	40
		単核細胞浸潤	39	4	7	35	38	6	3	36
		尿管管鉍質物質沈着	6	0	1	5	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		髓外性造血亢進	11	28**	28**	36**	27	29	38	35
		色素沈着	1	0	1	7*	11	7	12	23**
	胸骨髄	所見\検査例数	47	50	54	46	45	49	46	46
		骨髓細胞低形成	0	1	5*	19**	0	3	4	8**
色素沈着		0	7**	15**	30**	3	6	10*	23**	

表 1-2 [非腫瘍性病変]

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
全動物	肺	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60
		肺胞/細気管支上皮過形成	2	5	11**	13**	5	3	6	11
		終末細気管支上皮細胞肥大	2	22**	46**	46**	4	20**	41**	42**
		肺胞内組織球浸潤	2	2	7	5	4	3	10	10
		気管支周囲単核細胞浸潤	12	16	21	10	18	15	20	25
		血管周囲単核細胞浸潤	6	15*	13	5	5	7	19**	14*
		間質性肺炎	10	10	4	7	5	8	7	10
	肝臓	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60
		小葉中心性肝細胞肥大	4	14**	36**	40**	0	0	1	11**
		多巣性慢性炎症	36	35	34	36	43	35	38	42
		局所壊死	2	3	2	3	2	5	3	4
		色素沈着	4	2	1	6	7	7	11	10
	腎臓	所見\検査例数	60	16	14	60	60	18	18	60
		慢性腎症	54	14	12	52	43	14	13	52
		単核細胞浸潤	45	7	9	44	48	13	8	40
		尿細管鉍質物質沈着	6	0	2	5	0	0	1	0
	脾臓	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60
		髓外性造血亢進	17	30*	28*	45**	33	34	43	46
		色素沈着	1	0	2	8*	15	9	15	28*
	胸骨髄	所見\検査例数	60	60	60	60	59	60	60	60
		骨髄細胞低形成	0	1	5*	22**	1	3	6	12**
		色素沈着	0	7**	15**	31**	5	6	10	24**

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石原産業株式会社にある。

表 2-1 [腫瘍性病変；死亡・切迫殺]

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
死亡・切迫殺	副腎	所見\検査例数	12	10	6	14	14	11	14	14
		皮質腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	子宮頸部	所見\検査例数	-	-	-	-	13	11	14	14
		内膜腺癌(M)	-	-	-	-	0	1	1	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	0
		組織球肉腫(M)	-	-	-	-	0	0	0	1
	胸骨髄	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	2	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		肝細胞腺腫(B)	1	1	0	0	0	0	0	0
		肝細胞腺癌(M)	0	1	0	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		腺腫(B)	0	2	2	7**	1	2	7*	5
		腺癌(M)	0	1	1	1	0	0	1	0
	乳腺	所見\検査例数	-	-	-	-	13	9	10	9
		腺癌(M)	-	-	-	-	1	0	0	1
	卵巣	所見\検査例数	-	-	-	-	13	11	14	14
		乳頭状嚢胞腺腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
	下垂体	所見\検査例数	11	9	6	13	13	11	13	14
		腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	脾臓	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	精巣	所見\検査例数	13	10	6	14	-	-	-	-
		血管腫(B)	0	0	0	1	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	10	6	3	8	11	9	11	12
		悪性リンパ腫(M)	1	0	0	1	1	1	0	1
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	14	11	14	14
内膜腺癌(M)		-	-	-	-	0	1	1	0	
平滑筋肉腫(M)		-	-	-	-	0	1	0	0	
全身	所見\検査例数	13	10	6	14	14	11	14	14	
	悪性リンパ腫(M)	1	0	0	1	1	1	0	1	
	骨髄性白血病(M)	0	0	0	2	0	0	0	0	
	組織球肉腫(M)	1	1	1	0	0	1	0	1	

注) (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

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石原産業株式会社にある。

表 2-2 [腫瘍性病変：最終解剖]

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
最終解剖	副腎	所見\検査例数	47	2	2	46	46	0	0	46
		皮質腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫(B)	3	1	0	1	0	0	0	0
	子宮頸部	所見\検査例数	-	-	-	-	44	1	1	45
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	2	0	1	1
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	0	1	0	0
	眼	所見\検査例数	47	7	6	46	46	5	4	46
		ハダ-腺腺腫(B)	0	0	0	2	0	0	0	0
		ハダ-腺腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性黒色腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	所見\検査例数	47	6	8	46	46	7	4	46
		尿管管上皮細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	3	0	0	2	0	1
		肝細胞腺腫(B)	7	5	12	2	2	0	4	5
		肝細胞腺癌(M)	2	0	5	1	0	0	0	0
	肺	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		腺腫(B)	7	23**	23**	26**	8	18*	23**	19*
		腺癌(M)	4	5	11	11*	0	3	3	7**
	乳腺	所見\検査例数	7	0	0	4	41	0	1	43
		腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	1	0
	卵巢	所見\検査例数	-	-	-	-	45	33	35	46
		乳頭状嚢胞腺腫(B)	-	-	-	-	1	0	0	0
顆粒膜細胞腫(B)		-	-	-	-	0	0	1	0	
セルトリ-細胞腫(B)		-	-	-	-	0	0	0	1	

注) (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

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石原産業株式会社にある。

表 2-2 [腫瘍性病変：最終解剖 (続き)]

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
最終解剖	下垂体	所見\検査例数	45	0	0	45	40	0	1	46
		腺腫(B)	0	0	0	0	2	0	1	0
	脾臓	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	2	1	2	1
	精巣	所見\検査例数	47	0	1	46	-	-	-	-
		間細胞腫(B)	3	0	0	1	-	-	-	-
	胸腺	所見\検査例数	41	0	0	40	40	2	2	41
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	3	1	1	0
	甲状腺	所見\検査例数	47	0	0	45	46	0	0	45
		濾胞細胞腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	46	31	28	46
		内膜腺腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	1
		血管腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	1
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	1	2	0
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	0	1	1	0
	全身	所見\検査例数	47	50	54	46	46	49	46	46
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	0	5	3	4	1
		組織球肉腫(M)	0	0	0	0	2	0	1	0

注) (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 [腫瘍性病変：全動物]

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群 (ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
全動物	副腎	所見\検査例数	59	12	8	60	60	11	14	60
		皮質腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0
		被膜下細胞腺腫(B)	3	1	0	1	0	1	0	0
	胸骨髄	所見\検査例数	60	60	60	60	59	60	60	60
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	2	0	0	0	0
		悪性リンパ腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮頸部	所見\検査例数	-	-	-	-	57	12	15	59
		内膜腺癌(M)	-	-	-	-	0	1	1	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	2	0	1	1
		扁平上皮癌(M)	-	-	-	-	0	1	0	0
	眼	所見\検査例数	60	17	12	60	60	16	18	60
		ハート腺腺腫(B)	0	0	0	2	0	0	0	0
		ハート腺腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性黒色腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎臓	所見\検査例数	60	16	14	60	60	18	18	60
		尿細管上皮細胞腺腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60
		血管腫(B)	1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	3	0	0	2	0	2
		肝細胞腺腫(B)	8	6	12	2	2	0	4	5
		肝細胞腺癌(M)	2	1	5	2	0	0	0	0
	肺	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60
		腺腫(B)	7	25**	25**	33**	9	20*	30**	24**
		腺癌(M)	4	6	12*	12*	0	3	3	7**
	乳腺	所見\検査例数	10	2	1	5	54	9	11	52
		腺癌(M)	1	0	0	0	1	0	1	1
	卵巢	所見\検査例数	-	-	-	-	58	44	49	60
		乳頭状嚢胞腺腫(B)	-	-	-	-	2	0	0	0
		顆粒膜細胞腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	0
		黄体細胞腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	1
下垂体	所見\検査例数	56	9	6	58	53	11	14	60	
	腺腫(B)	1	0	0	0	2	0	1	0	
脾臓	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60	
	血管腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	

注) (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

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石原産業株式会社にある。

表 2-3 [腫瘍性病変：全動物 (続き)]

検査時期	性別		雄				雌			
	臓器	投与群(ppm)	0	250	750	2250	0	250	750	2250
全動物	精巣	所見\検査例数	60	10	7	60	-	-	-	-
		間細胞腫(B)	3	0	0	1	-	-	-	-
	甲状腺	所見\検査例数	60	10	6	59	60	11	14	59
		濾胞細胞腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	60	42	42	60
		内膜腺腫(B)	-	-	-	-	0	0	0	1
		内膜腺癌(M)	-	-	-	-	0	1	1	0
		血管腫(B)	-	-	-	-	0	0	1	1
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	0	1	2	0
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	0	2	1	0
	全身腫瘍	所見\検査例数	60	60	60	60	60	60	60	60
		悪性リンパ腫(M)	1	0	0	1	6	4	4	2
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	2	0	0	0	0
		組織球肉腫(M)	1	1	1	0	2	1	1	1

注) (B)：良性腫瘍、(M)：悪性腫瘍

Fisher の直接確率計算法、*：p<0.05、**：p<0.01

全動物における腫瘍結果：

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	250	750	2250	0	250	750	2250
検査動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
腫瘍数	良性	25	33	37*	39**	17	23	40**	34**
	悪性	10	8	16	19*	9	15	12	15
腫瘍総数		35	41	53*	58**	26	38	52**	49**
担腫瘍動物数	良性	15	29*	33**	38**	14	21	35**	30**
	悪性	11	8	17	16	10	14	9	13
担腫瘍動物数		23	32	37**	43**	23	32	40**	33*

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石原産業株式会社にある。

8.5.4 マウスにおける発がん性試験 (資料 No.T-3.4)

試験機関

報告書作成年 2004 年 [GLP 対応]

試験実施の理由：先に実施したマウスの発癌性試験 (資料 No. T-3.3)において、雌雄の投与群で肺腫瘍および一部臓器 (肺、肝臓、脾臓、骨髄)に非腫瘍性病変の増加が認められ、無毒性量 (NOAEL)が求められなかった。従って、本試験は、マウスの発癌性試験の無毒性量を求めることを主目的として追加実施した。そのため、一部の検査項目については、先に実施した試験 (資料 No. T-3.3)で影響が見られた項目に限定して検査した (申請者注)。

検体純度：

供試動物： CD-1 (ICR 系)マウス、1 群雌雄各 50 匹、投与開始時 6 週齢。

試験期間： 18 カ月 (2002 年 4 月 23 日～2003 年 10 月 27 日)

投与方法： 検体を 0、10、25、80 及び 250 ppm となるように飼料に混合し、18 カ月間に亘って自由に摂取させた。飼料調製頻度は、1 週間に 1 回とした。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。その結果、対照群を含む全群に様々な症状がみられたが、いずれも用量との関連性はなく、本系統のマウスに通常認められるものであり、偶発性のものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験終了時の死亡率を下表に示す。

投与群 (ppm)		0	10	25	80	250
死亡率 (%)	雄	32	26	34	42	32
	雌	12	12	26↑	28↑	26

統計解析法：Wilcoxon 法 (↑：p<0.05)

対照群と比べ、25 及び 80 ppm 群の雌で死亡率の統計学的に有意な増加がみられた。しかし、投与用量との間に明瞭な関連性は無く、さらに、病理学的検査でこれらの動物において死因となりうる特定の疾患の有意な増加はなかったことから、いずれも偶発性のものと判断した。

体重変化；投与開始から 13 週間は週 1 回、その後は 4 週間に 1 回、全ての生存動物の体重を測定した。対照群と比較して統計学的有意差が認められた週を以下の表に示す。

性 別	雄				雌				
	週\投与量 (ppm)	10	25	80	250	10	25	80	250
2									96↓
9						95↓			
11						93↓	92↓		94↓
37	105↑								
41	105↑		105↑						
45	106↑		106↑	105↑					
49	107↑								
53	106↑								
61	108↑		107↑						
65	108↑		108↑						
69	107↑		108↑						

数字は対照群値に対する百分率 (%)

Dunnett の多重比較法 ↑↓, p<0.05 ; ↑↓, p<0.01

投与期間中、投与群の雌雄において対照群と比べ統計学的に有意な変動が散見されたが、いずれも一時的または用量との関連性のないものであったため、偶発性のものと判断した。

摂餌量；全ケージについて摂餌量を体重と同じ頻度で測定した。対照群と比較して統計学的有意差が認められた週を以下の表に示す。

性 別	雄				雌				
	週\投与量 (ppm)	10	25	80	250	10	25	80	250
2			108↑						
3									115↑
8						89↓			
11		107↑	113↑	107↑					
61							116↑	114↑	

数字は対照群値に対する百分率 (%)

Dunnett の多重比較法 ↑↓, 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石原産業株式会社にある。

投与期間中、投与群の雌雄において対照群と比べ統計学的に有意な変動が散見されたが、いずれも一時的または用量との関連性のないものであったため、偶発性のものと判断した。

検体摂餌量；投与期間中の週ごとの平均体重、摂餌量及び飼料中検体濃度から平均検体摂取量を次の通り算出した。

投与群 (ppm)		10	25	80	250
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	1.20	3.14	10.0	30.3
	雌	1.42	3.66	11.8	36.3

血液学的検査；最終計画殺全例、並びに試験途中の切迫殺例から、尾静脈あるいは後大静脈/腹部大動脈より採血し、塗沫標本を作製した。リセルカ研究所で実施したマウス発がん性試験(資料 T-3.3)で本項目に異常は認められておらず、また本試験でも造血組織に対する毒性変化が見られないことから、鏡検は実施しなかった(申請者注)。

臓器重量；リセルカ研究所で実施したマウス発がん性試験(資料 T-3.3)において臓器重量が変動した肝臓と腎臓、組織検査で検体投与の影響がみられた脾臓、そしてこれらに脳を加えた臓器重量測定を、投与終了時の全生存動物について実施し、相対重量も算出した。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性 別		雄				雌			
投与量 (ppm)		10	25	80	250	10	25	80	250
臓器									
腎臓	絶対重量	103	102	111	100	92	93	101	92↓
	相対重量	97	100	107	98	90	92	102	91

数字は対照群値に対する百分率 (%)

Dunnett の多重比較法 ↓, p<0.05

250 ppm 群の雌において、腎臓の絶対重量が統計学的に有意に減少した。しかし、相対重量値に有意な減少はみられないことから、偶発性のものと判断した。

肉眼病理学的検査；途中死亡、切迫屠殺、中間屠殺および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。以下に統計学的有意差を示した項目を掲げた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

主な肉眼病変の発生頻度

時期	性別		雄					雌					
	投与量 (ppm)		0	10	25	80	250	0	10	25	80	250	
死亡・切迫殺	リンパ節	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13	
		腫大	5	0*	1	6	3	2	2	5	6	2	
	肺	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13	
		腫瘤	1	1	3	2	6*	1	1	1	0	3	
最終解剖	肝臓	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37	
		腫瘤	8	18*	11	13	13	1	3	1	5	3	
	皮膚	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37	
		脱毛	5	6	1	2	3	10	8	6	2*	6	
	子宮	所見\検査例数	-	-	-	-	-	44	44	37	36	37	
		壁肥厚	-	-	-	-	-	14	17	15	18	20*	
	眼球	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37	
		白濁	12	9	6	2**	4*	12	11	10	7	7	
	全動物	リンパ節	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
			腫大	6	0*	1	9	4	3	4	7	7	3
眼球		所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		白濁	13	11	7	3**	4*	12	12	10	8	8	
肺		所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
		腫瘤	10	14	13	10	22**	12	13	11	14	17	

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

250 ppm 投与群の雄において、肺の腫瘤の頻度が統計学的に有意に増加し、投与に関連する肺腫瘍の増加と連動する変動と考えた。同群の雌において、子宮の壁肥厚の頻度が最終計画殺時に有意に増加したが、総発生頻度に有意差はみられず、子宮において特定の組織的变化の頻度に有意な増加はみられなかったため、偶発的なものと考えた。投与群で認められた、対照群と比較して統計学的に有意なその他の肉眼所見頻度の変化は、用量との関連性がないか減少方向のもので毒性学的意義はないものと判断した。

病理組織学的検査；以下の組織について病理標本を作製し、鏡検した。

試験途中の死亡・切迫殺例：

心臓、大動脈、脾臓、胸腺、骨と骨髓(左大腿骨と胸骨)、頸部リンパ節、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、舌、食道、前胃、腺胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膵臓、肝臓、胆嚢、腎臓、膀胱、精巣、上皮小体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、膣、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、大脳、小脳、脳幹、脊髄(頸部、中胸部、腰部)、坐骨神経あるいは脛骨神経、大腿二頭筋、皮膚(そ径部)、乳腺(雌のみ)、舌下腺、顎下腺、眼球(ハーダー腺、視神経を含む)、鼻腔ならびに肉眼的異常部位

最終計画殺例：

リセルカで実施したマウス発がん性試験 (T-3.3)における標的臓器・組織である肝臓、肺、脾臓および骨髓(左大腿骨と胸骨)、ならびに本試験の解剖時にみられた肉眼的異常部位についてのみ実施した (申請者注)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

[非腫瘍性病変]

認められた主な非腫瘍性病変を表 1 に示す。

250 ppm 群の雌雄の肺において、検体投与に起因する終末細気管支上皮細胞過形成/肥大の発生頻度増加が認められた。

[腫瘍性病変]

認められた全ての腫瘍性病変を表 2 に示す。

250 ppm 群の雄の肺において、検体投与に起因する細気管支・肺胞由来の上皮性腫瘍 (腺腫ならびに担肺上皮性腫瘍動物数)の頻度の増加が認められた。これらの肺腫瘍の発生頻度について、同群の雌ならびに 80 ppm 以下の投与群の雌雄では対照群と比べ有意な変動はみられなかった。また他の臓器・組織について催腫瘍性は認められなかった。

結 論： 以上の結果から、本剤のマウスに対する 18 カ月間混餌投与による発がん性試験における催腫瘍性変化は雄の 250 ppm 群の肺において再現された。雄の 80 ppm 以下及び雌の全投与群では腫瘍性病変の増加は認められなかった。また、雌雄の 250 ppm で肺に非腫瘍性病変の増加が認められた。

よって、本試験の無毒性量 (NOAEL)は 80 ppm (雄, 10.0 mg/kg/day; 雌, 11.8 mg/kg/day)であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1 [非腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
死亡・切迫殺	腎臓	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		尿細管腔拡張	0	2	3	5*	0	0	1	1	1	1
		腎盂拡張	2	3	6	13**	6	0	0	0	0	0
	副腎	所見\検査例数	15	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		被膜下細胞過形成	0	4*	5*	8**	4	4	4	7	4	8
	卵巢	所見\検査例数	0	0	0	0	0	6	6	13	14	13
嚢胞		-	-	-	-	-	6	3	8	6*	4**	
最終屠殺	肺	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		終末細気管支上皮細胞過形成/肥大	4	4	4	2	11*	3	5	2	3	11**
		肺胞内組織球浸潤	4	3	1	1	4	10	9	6	7	2*
	肝臓	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		巣状肝細胞壊死	1	0	0	0	0	5	3	0*	4	6
全動物	肺	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		終末細気管支上皮細胞過形成/肥大	5	5	5	3	14*	3	5	2	4	11*
		肺胞内組織球浸潤	4	3	1	2	4	11	9	8	8	3*
	肝臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		小葉中心性肝細胞脂肪化	10	14	7	11	10	0	0	0	3	5*
		巣状肝細胞壊死	1	0	2	1	1	5	3	0*	5	6

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01

表 2-1 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
死亡・切迫殺	全身	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		悪性リンパ腫(M)	5	1	1	5	2	0	2	4	6	2
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		血管肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺	所見\検査例数	0	0	0	0	0	6	6	13	14	13
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	2	0	1	0	2
	脾臓	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	胸腺	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	10
		胸腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	10
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	肺	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		細気管支・肺腺腫(B)	0	0	4	4	6**	0	0	0	0	1
		細気管支・肺癌(M)	1	1	0	1	3	0	1	0	0	1
	心臓	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		血管腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	腺胃	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		肉腫(M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
	小腸	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		肝細胞腺腫(B)	7	3	4	2*	2	0	0	0	2	0
		肝細胞癌(M)	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
		血管腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		移行上皮癌(M)	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査例数	16	13	17	21	16	0	0	0	0	0
間細胞腫(B)		0	0	1	0	0	-	-	-	-	-	
卵巢	所見\検査例数	0	0	0	0	0	6	6	13	14	13	
	悪性顆粒膜細胞腫(M)	-	-	-	-	-	1	0	0	0	0	

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、**: p<0.01

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-2 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別		雄					雌				
		群 (ppm)		0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
死亡・切迫殺	子宮	所見\検査例数		0	0	0	0	0	6	6	13	14	13
		平滑筋腫(B)		-	-	-	-	-	1	1	0	0	0
		内膜間質ポリープ(B)		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		血管腫(B)		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)		-	-	-	-	-	0	0	1	1	4
		顆粒性細胞腫(B)		-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
	膣	所見\検査例数		0	0	0	0	0	6	6	13	14	13
		血管肉腫(M)		-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
	下垂体	所見\検査例数		16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		前葉腺腫(B)		0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
	腹腔	所見\検査例数		0	1	0	0	0	0	0	1	1	2
		血管腫(B)		-	1	-	-	-	-	-	0	0	0
		血管肉腫(M)		-	0	-	-	-	-	-	0	1	0
	腫瘍数		良性	7	5	10	6	9	1	2	1	6	3
			悪性	8	3	4	7	8	4	3	9	10	9
	腫瘍総数			15	8	14	13	17	5	5	10	16	11
	担腫瘍動物数		良性	7	5	9	5	8	1	2	1	4	2
			悪性	7	3	4	7	7	4	3	8	9	8
	担腫瘍動物数			13	8	11	11	14	4	5	8	11	9

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

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-3 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
最終屠殺	全身	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		悪性リンパ腫(M)	1	0	1	1	0	4	4	3	2	3
	皮膚	所見\検査例数	0	5	5	2	1	2	2	2	0	3
		基底細胞癌(M)	-	0	0	0	0	1	0	0	-	0
		横紋筋肉腫(M)	-	0	0	0	0	0	0	0	-	1
		血管腫(B)	-	0	0	0	0	0	0	1	-	0
		悪性シロウ細胞腫(M)	-	0	1	0	0	0	0	0	-	0
		悪性線維性組織球腫(M)	-	0	0	0	0	1	0	0	-	1
	乳腺	所見\検査例数	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1
	骨髓	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		血管腫(B)	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0
		血管肉腫(M)	0	2	1	0	0	3	0	0	1	1
	骨	所見\検査例数	0	1	0	0	0	0	2	0	1	0
		骨腫(B)	-	0	-	-	-	-	1	-	0	-
	肺	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		細気管支・肺胞腺腫(B)	8	11	8	7	15	10	8	11	14	12
		細気管支・肺胞癌(M)	2	5	3	3	6	1	3	2	3	2
	唾液腺	所見\検査例数	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
		腺癌(M)	-	-	-	0	-	-	-	-	1	-
	肝臓	所見\検査例数	34	37	33	29	34	44	44	37	36	37
		胆管癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫(B)	8	15	11	13	10	0	0	0	2	2
		肝細胞癌(M)	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
		血管肉腫(M)	1	2	1	1	1	1	0	2	3	1
	胆嚢	所見\検査例数	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		乳頭腫(B)	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	精巣	所見\検査例数	1	0	1	2	0	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	0	-	0	1	-	-	-	-	-	-

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

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

表 2-4 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
最終屠殺	精巢上体	所見\検査例数	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性シロリ細胞腫(M)	1	-	0	-	-	-	-	-	-	-
	卵巣	所見\検査例数	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3
		黄体腫(B)	-	-	-	-	-	-	0	-	0	1
		悪性顆粒膜細胞腫(M)	-	-	-	-	-	-	1	-	0	0
	子宮	所見\検査例数	0	0	0	0	0	16	18	17	17	21
		腺腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	1	0	1	0	1
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
		内膜間質 ^o リ- ^o (B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	1
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	1	1	0	1	2
		顆粒性細胞腫(B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
		組織球肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0
	膣	所見\検査例数	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		悪性シロリ細胞腫(M)	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	下垂体	所見\検査例数	0	0	0	0	0	3	1	0	1	3
		前葉腺腫(B)	-	-	-	-	-	3	1	-	0	3
	ハート腺	所見\検査例数	1	1	0	0	2	0	1	0	0	0
		腺腫(B)	1	1	-	-	1	-	1	-	-	-
	腫瘍数		良性	17	28	20	21	26	14	13	14	20
		悪性	6	9	7	7	8	13	12	10	11	12
腫瘍総数			23	37	27	28	34	27	25	24	31	32
担腫瘍動物数		良性	16	23	16	18	23	13	11	14	18	17
		悪性	6	8	7	6	8	12	11	8	10	10
担腫瘍動物数			19	28	21	20	26	22	20	18	24	22

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-5 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
全動物	全身	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		悪性リンパ腫(M)	6	1	2	6	2	4	6	7	8	5
		骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	皮膚	所見\検査例数	16	18	22	23	17	8	8	15	14	16
		基底細胞癌(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		横紋筋肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		血管肉腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性マリン細胞腫(M)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
		悪性線維性組織球腫(M)	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
	乳腺	所見\検査例数	0	0	0	0	0	7	7	14	14	14
		腺癌(M)	-	-	-	-	-	3	1	2	0	3
	骨髄	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		血管腫(B)	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0
		血管肉腫(M)	0	2	1	0	0	3	0	0	2	1
	胸腺	所見\検査例数	16	11	17	20	14	9	10	16	17	18
		胸腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨	所見\検査例数	16	14	17	21	16	6	8	13	15	13
		血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
		骨腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	肺	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		細気管支・肺腺腫(B)	8	11	12	11	21**	10	8	11	14	13
		細気管支・肺胞癌(M)	3	6	3	4	9	1	4	2	3	3
		腺腫+癌	11	16	15	14	27**	10	12	12	16	16
	心臓	所見\検査例数	16	13	17	21	17	7	6	13	14	13
		血管腫(B)	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
	唾液腺	所見\検査例数	16	13	17	22	16	6	6	13	15	13
		腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腺胃	所見\検査例数	18	15	19	24	18	9	7	13	17	14	
	肉腫(M)	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	

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

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-6 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌				
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250
全動物	小腸	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	14
		腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	所見\検査例数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
		胆管癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
		肝細胞腺腫(B)	15	18	15	15	12	0	0	0	4	2
		肝細胞癌(M)	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
		血管肉腫(M)	1	2	1	1	1	2	0	3	3	1
	胆嚢	所見\検査例数	15	13	18	21	16	6	6	13	14	13
		乳頭腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	膀胱	所見\検査例数	16	13	17	21	16	6	6	13	14	13
		移行上皮癌(M)	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
	精巣	所見\検査例数	17	13	18	23	16	0	0	0	0	0
		間細胞腫(B)	0	0	1	1	0	-	-	-	-	-
	精巣上体	所見\検査例数	17	13	18	21	16	0	0	0	0	0
		悪性シロリ細胞腫(M)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-
	卵巣	所見\検査例数	0	0	0	0	0	6	7	13	15	16
		黄体腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	0	1
		悪性顆粒膜細胞腫(M)	-	-	-	-	-	1	1	0	0	0
	子宮	所見\検査例数	0	0	0	0	0	22	24	30	31	34
		腺腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		平滑筋腫(B)	-	-	-	-	-	2	1	1	0	1
		平滑筋肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	1	0	0
		内膜間質ポリープ(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	2	1
		血管腫(B)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	1	1	1	2	6
		顆粒性細胞腫(B)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	1
	組織球性肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	1	0	0	0	
	膣	所見\検査例数	0	0	0	0	0	6	6	14	14	13
		血管肉腫(M)	-	-	-	-	-	0	0	0	1	0
悪性シロリ細胞腫(M)		-	-	-	-	-	0	0	1	0	0	

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05, **: p<0.01

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2-7 [腫瘍性病変]

検査時期	臓器	性別	雄					雌					
		群 (ppm)	0	10	25	80	250	0	10	25	80	250	
全動物	下垂体	所見\検査例数	17	13	17	21	16	9	7	13	15	16	
		前葉腺腫(B)	0	0	0	0	1	3	2	1	0	3	
	ハタゲ腺	所見\検査例数	17	14	17	21	18	6	7	13	14	13	
		腺腫(B)	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	
	腹腔	所見\検査例数	0	1	1	1	0	1	2	1	3	3	
		血管腫(B)	-	1	0	0	-	0	0	0	0	0	
		血管肉腫(M)	-	0	0	0	-	0	0	0	1	0	
	腫瘍数		良性	24	33	30	27	35	15	15	15	26	22
			悪性	14	12	11	14	16	17	15	19	21	21
	腫瘍総数			38	45	41	41	51	32	30	34	47	43
	担腫瘍動物数		良性	23	28	25	23	31	14	13	15	22	19
			悪性	13	11	11	13	15	16	14	16	19	18
	担腫瘍動物数			32	36	32	31	40	26	25	26	35	31

Fisher の直接確率計算法 *: p<0.05、 **: p<0.01

注) (B): 良性腫瘍、(M): 悪性腫瘍

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6 繁殖毒性及び催奇形性

8.6.1 ラットを用いた繁殖毒性試験 (資料 No.T-4.1)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： Wistar 系ラット、1 群雄 24 匹 雌 24 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間： P 世代; 投与開始から F1 児離乳時までの 18 週間、F1 世代; 離乳時から F2 児離乳時までの 18 週間、F2 世代雌の選抜動物は離乳時から腔開口直後までの 2 週間 (2000 年 8 月 3 日～2001 年 4 月 12 日)

試験方法： 検体を 0, 50, 300, 1800 ppm の濃度で含有した飼料を自由に摂食させた。

投与量設定根拠；

方法及び試験項目：概要を表 1 にまとめた。

一般状態及び死亡率；全動物の全試験期間中死亡及び毒性徴候の観察を毎日行い、詳しい臨床徴候の観察を週 1 回行った。

交配及び妊娠の確認；雌雄 1 対 1 で同居させ翌日陰栓或いは精子の有無により交尾成立の有無を確認した。生存或いは死亡児を出産した雌、或いは解剖時に子宮内に児動物がいるというような明らかな妊娠の証拠を示した雌動物を妊娠動物とした。

繁殖性に関する指標；交配、妊娠、分娩及び哺育期間の観察に基づき次の指標を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

親動物指数；

$$\text{雄の交尾率} = \frac{\text{交尾を認めた雄動物数}}{\text{交配に用いた雄動物数}} \times 100$$

$$\text{雌の交尾率} = \frac{\text{交尾を認めた雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{交尾を認めた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{正常出産した雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

産児指数；

$$\text{性比} = \frac{\text{総雄産児数}}{\text{総産児数}} \times 100$$

$$\text{相対肛門生殖突起間距離 (F2 児動物のみ)} = \frac{\text{個体別の絶対肛門生殖突起間距離 (mm)}}{[\text{哺育 4 日の個体別の児動物体重 (g)} \times 1000]^{1/3}}$$

$$\text{哺育 0 日の生存率} = \frac{\text{哺育 0 日の生存児数}}{\text{産児数}} \times 100$$

$$\text{哺育 4 日の生存率} = \frac{\text{哺育 4 日の生存児数}}{\text{哺育 0 日の生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育 21 日の生存率} = \frac{\text{哺育 21 日の生存児数}}{\text{哺育 4 日に選抜された児数}} \times 100$$

精子検査；全ての P 及び F1 雄親動物について、剖検時に精巣及び精巣上体(原則として右側)からそれぞれ、精子頭部及び精子を採取し、臓器重量当りの数を算出し、後者についてはさらに運動性の測定と形態観察を行った。

臓器重量；最終計画殺時まで生存した全ての P 及び F1 親動物について以下の臓器重量を測定した。

脳、下垂体、甲状腺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、卵巣、子宮(頸部と卵管を含む)、精巣、精巣上体、精囊(凝固腺とともに分泌物を含む)、前立腺(腹側葉)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

F1及びF2世代で育成に選抜されなかった離乳児について以下の臓器重量を測定した。

脳、脾臓、胸腺、子宮 (頸部と卵管を含む)

病理組織学的検査；全てのP及びF1親動物の肝臓と腎臓について病理標本を作製し鏡検した。

さらに、対照群と高用量群の児の得られたP及びF1親動物から雌雄それぞれ10匹を無作為に選抜し、下垂体、甲状腺、副腎、卵巢(F1については原始卵胞数のカウントも行った)、卵管、子宮(角と頸)、膣、精巣(原則として左側)、精巣上体(原則として左側の頭部、体部、尾部)、精囊、凝固腺、前立腺についても組織学的検査を実施した。全ての用量群で、交尾が成立しなかった、または児の得られなかった雌雄の組、ならびに異常出産あるいは全腹児が死亡した雌について、下垂体、甲状腺、副腎及び生殖器の異常について組織学的に検査した。また、臓器重量に関して高用量群で有意な変化がみられたP世代雄の甲状腺、P世代雌の卵巢と副腎、F1世代雄の精囊・凝固腺、F1世代雌の脾臓を、対照群と高用量群の全動物について組織検査を行った。

表1 試験手順

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週)	雌雄1対1で交配。交配は膣スメア-で確認(妊娠0日)。	体重、餌を週1回測定。 9週時から発情周期を検査。 交配状況の観察。 妊娠0、7、14及び20日に体重と餌を測定。 出産状況の観察。 新生児数、死産児数、外表異常、性別及び同腹生存児体重測定。 哺育0、7、14、21日に母獣体重と餌を測定。 哺育0、4、21日目に生存児数、哺育4、7、14及び21日目に児動物の個別体重測定。 なお、途中死亡及び4日目屠殺の新生児について異常の検査。
	交配(2週)		
	妊娠(3週) 出産		
	哺育(3週)		
F1	離乳	継代用に各群原則雌雄1匹ずつ24腹から、平均体重と出生日ができるだけ同じになるよう選抜。	雌雄の親動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査、雄の精子検査を実施。 継代用以外の児動物を屠殺し、剖検、臓器重量測定。 性成熟の観察 (P世代に順ずる。) (P世代に順ずる。) (P世代に順ずる。) (P世代に順ずる。)
	生育(10週)		
	交配(2週)		
	妊娠(3週) 出産		
	哺育(3週)		
F2	離乳	雌の性成熟を確認するため、各群原則雌1匹ずつ24腹から、平均体重と出生日ができるだけ同じになるよう選抜。	(P世代に順ずる。剖検時にメカニズム試験用の採血を行った。) (F1世代に順ずる。)
	生育(2週)		

試験結果： 概要を次頁の表に示した。

親動物の一般状態及び死亡率、体重値に検体投与の影響は見られなかった。増体量に関して、P世代の1800 ppm群の雄親とF1世代の1800 ppm群の雌親に育成1週時に有意な低下がみられたが、その後は対照群と差は見られなかった。また、P世代の300及び1800 ppm群の雌親で哺育中に有意な増加がみられたが、F1世代で再現されなかった。摂餌量について、P世代の1800 ppm群の雌親で妊娠0～14日と哺育0～7日で有意に低下したが、F1世代では再現されなかった。また、F1世代の300 ppm群の雌雄親でみられた変動は用量との関連性がないことから偶発性のものと判断した。1800 ppm群において、P世代及びF1世代ともに、検体投与による腎臓への影響が雌雄ともに認められた。雄親では重量増加、肉眼的退色ならびに病理組織学的所見(近位尿細管上皮硝子滴沈着、尿細管好塩基性化、顆粒状尿円柱)が認められ、雌親では病理組織学的検査で近位尿細管上皮空胞化が所見された。

300 ppm群の雄親でもP世代とF1世代で近位尿細管上皮硝子滴沈着が認められ、相対重量もF1世代で有意に増加したが、尿細管好塩基性化や顆粒状尿円柱など組織障害を示す所見は認められなかった。この硝子滴は $\alpha 2\mu$ -グロブリンであることを抗 $\alpha 2\mu$ -グロブリン抗体を用いた免疫染色により確認している。硝子滴沈着の増加は $\alpha 2\mu$ -グロブリン腎症の一部であることから雄ラットにとっては毒性と見なすべきものと考えた(申請者の見解)。雌親ではさらにP世代で卵巣重量が有意に減少し、F1世代でも減少傾向がみられたが、病理組織学的異常は認められなかった。

その他、1800 ppm群では雌雄の親動物でそのほかにも臓器重量の変動が所見されたが、いずれも1世代に限られており、病理組織学的な異常を伴っておらず、またラットを用いた他の試験で認められていないことから偶発性のものと判断した。

雌親の性周期、雌雄親の交尾率、受胎率、雌親の着床痕数、雄親の精子検査では検体投与の影響はみられなかった。P世代の1800 ppm群の雌親で妊娠期間が有意に延長したが、F1世代では再現されず、検体投与の影響ではないものと判断した。性成熟時期について、1800 ppm群のF1世代雌動物の育成期(表中ではF1児世代に記載)において陰開口日齢が有意に遅延したが、F2世代(表中ではF0児世代に記載)では有意差はみられなかった。

児動物に関しては、産児数、出生率、相対肛門生殖突起間距離、体重及び剖検所見に関して検体投与の影響はみられなかった。F1世代の1800 ppm群の雌離乳児の子宮重量が有意に減少し、F2世代でも減少傾向がみられた。その他、性比、生存率及び一般状態(児動物消失)で統計学的に有意な変動がみられたが、用量との関連性を欠くことから偶発性のものと判断した。

以上の結果より、2世代にわたって本剤を飼料中に混入して投与した場合、1800 ppm群では親動物に腎臓に対する影響(P及びF1世代雌雄)、卵巣重量の低下(P世代雌)、陰開口遅延(F1世代雌)が認められた。児動物に対しては、子宮重量低下(F1世代雌)と性成熟の遅延(F1世代雌)が認められた。繁殖能力に対して何ら影響はみられな

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

った。

1800 ppm群のP世代雌親における卵巣重量の低下ならびにF1世代離乳児における子宮重量の低下と膣開口の遅延について、抗エストロゲン作用が示唆された。そこで、繁殖試験の中でF1世代の親動物が最終計画殺に供せられる機会に採血を行い、血清中の性腺刺激ホルモンおよび性ホルモン濃度に対する被験物質投与の影響の有無を検討するとともに、検体のエストロゲン受容体 (α および β)に対するエストロゲン様活性の有無を検討するためレセプターバインディングアッセイを行った。

その結果、検体はエストロゲン受容体 α 及び β に結合せず、内在性エストロゲンの作用に拮抗・阻害しないことが確認された。また、このメカニズム試験系では血中ホルモン測定から明かに抗エストロゲン作用の証拠は得られなかったものと申請者は判断した (資料No. T-7.2)。

以上のことから、無毒性量 (NOAEL)は親動物に対して雄 50 ppm 雌 300 ppm (P: 雄 3.07 mg/kg/day、雌 28.2 mg/kg/day、児動物に対して雄雌共 300 ppm (F1: 雄 20.7 mg/kg/day、雌 30.5 mg/kg/day)と判断される。

ただし、300 ppm 以上の雄親動物でみられた $\alpha 2\mu$ -グロブリンの沈着 (硝子滴沈着) は雄ラットに特異的な毒性変化であるため、ヒトにおけるリスク評価には外挿されないものとする。

尚、 $\alpha 2\mu$ -グロブリンの沈着 (硝子滴沈着)の所見を除いた場合の無毒性量 (NOAEL) は親動物及び児動物に対して 300 ppm (P: 雄 18.3 mg/kg/day、雌 28.2 mg/kg/day、F1: 雄 20.7 mg/kg/day、雌 30.5 mg/kg/day)である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1-1 結果

世代		親：P		児：F1		親：F1		児：F2	
投与量 (ppm)		0	50	300	1800	0	50	300	1800
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24
一般状態		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
死亡数 (切迫殺を含む)	雄	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24
	雌	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	0/24	1/24	0/24
体重	雄 生育期	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE
	雌 生育期	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE
	妊娠中	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE
	哺育中	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE
増体量 ^a									
雄	生育期 1週(g)	100	98	96	94 ↓	100	42	42	41
雌	生育期 1週(g)	100	96	96	100	100	100	97	94 ↓
	妊娠中	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE
	哺育中 0-21週(g)	100	128	156↑	200 ↑	100	50	81	156
摂餌量 ^a									
雄	生育期 3週(g)	100	100	98	97	100	101	105 ↑	101
	8週(g)	100	103	99	101	100	101	104↑	103
雌	生育期 8週(g)	100	100	99	96	100	106↑	108 ↑	100
	9週(g)	100	99	98	96	100	105	108 ↑	99
	10週(g)	100	98	99	95	100	104	109↑	99
	妊娠中 0-7日(g)	100	98	99	91↓	100	110	111	99
	7-14日(g)	100	98	101	92↓	100	109	110	101
	14-20日(g)	100	98	99	94	100	107	111↑	100
	哺育中 0-7日(g)	100	99	100	89↓	100	101	104	102
検体摂取量 (mg/kg/day)									
	雄 ^b	—	3.07	18.3	109.1	—	3.39	20.7	124.8
	雌 ^c	—	4.67	28.2	163.8	—	4.95	30.5	176.8
臓器重量 ^a									
動物	肝臓相対重量 雄	100	101	99	102	100	103	101	104↑
	腎臓相対重量 雄	100	101	103	117↑	100	99	104	117↑
	腎臓相対重量 雄	100	102	104	117↑	100	101	104↑	120↑
	精囊相対重量 雄	100	98	99	100	100	99	100	97↓
	精囊相対重量 雄	100	100	99	102	100	106	100	109↑
	甲状腺絶対重量 雄	100	99	107	113↑	100	102	113	105
	甲状腺相対重量 雄	100	100	110	114↑	100	103	113↑	108
	肝臓相対重量 雌	100	101	101	104	100	104	104	109↑
	腎臓相対重量 雌	100	101	101	102	100	102	104	106↑
	下垂体絶対重量 雌	100	99	100	99	100	106	111↑	104
	副腎相対重量 雌	100	96	100	92↓	100	100	104	98
	卵巣絶対重量 雌	100	95	96	88↓	100	98	98	93
	卵巣相対重量 雌	100	94	96	88↓	100	95	96	92
	脾臓相対重量 雌	100	98	102	100	100	102	104	107↑
肉眼的病理検査									
	腎臓：退色 雄	0/24	0/24	0/24	24/24**	0/24	0/24	0/24	10/24**
病理組織学的検査									
	腎臓：近位尿細管硝子滴沈着 雄	0/24	0/24	23/24**	24/24**	0/24	0/24	24/24**	24/24**
	腎臓：尿細管好塩基性化 雄	0/24	0/24	0/24	24/24**	0/24	0/24	0/24	21/24**
	腎臓：顆粒状尿円柱 雄	0/24	0/24	0/24	21/24**	0/24	0/24	0/24	23/24**
	腎臓：近位尿細管空胞化 雌	0/24	0/24	0/24	22/24**	0/24	0/24	0/24	24/24**

NE：投与によると考えられる影響なし

Dunnet の検定；↑↓：P<0.05、↑↓：P<0.01 (体重、増体量、摂餌量、臓器重量、着床痕数)

Fisher の直接確率計算法；*：P<0.05、**：P<0.01 (一般状態、肉眼・病理組織学的所見)

a：対照群を 100 とした場合の値、b：1~17 週、c：生育 1 週~哺育 21 日

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 1-2 結果

世代		親 : P		児 : F1		親 : F1		児 : F2			
投与量 (ppm)		0	50	300	1800	0	50	300	1800		
動物数	雄	24	24	24	24	24	24	24	24		
	雌	24	24	24	24	24	24	24	24		
親動物	正常性周期	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	24/24	23/23	24/24		
	交尾率(%)	雄	100	95.8	100	100	100	100	100	95.8	
		雌	100	100	100	100	100	100	100	100	
	受胎率(%)	91.7	100	95.8	91.7	87.5	91.7	91.3	100		
	妊娠期間(日)	22.1	22.3	22.3	22.5↑	22.0	22.2	22.2	22.1		
	着床痕数	15.0	13.9	13.9	13.5	13.2	13.9	14.5	14.5		
	精巢の精子頭部数 ^c	100	101	98	99	100	111	106	108		
	精巢上体の精子数 ^c	100	106	113	110	100	116	105	117		
	生存精子率(%)	76.2	76.3	77.2	75.0	77.3	81.7	79.4	80.6		
正常精子率(%)	96.4	95.3	97.6	95.2	93.5	97.0	91.4	95.4			
児動物	産児数	13.5	13.8	12.7	12.6	12.5	12.4	13.2	14.0		
	出生率(%)	100	92	100	100	100	100	100	100		
	性比(雄%)	54.7	50.8	52.2	48.2	57.9	48.9↓	54.3	53.1		
	相对肛門生殖突起間距離(4日目) ^c	雄	—	—	—	—	100	108	105	105	
		雌	—	—	—	—	100	108	107	108	
	生存率(%)	0日目	91.5	88.2	85.8	85.9	91.3	95.2	92.6	89.9	
		4日目	96.7	100↑	95.9	97.1	98.8	99.7	97.4	96.9	
		21日目	100	100	99.4	100	100	99.4	99.4	99.5	
	一般状態 児動物消失(1-4日)	8/271	0/267*	11/257	3/234	2/242	1/259	5/256	8/300		
	生存児体重 ^a	0日目	雄	100	100	103	105	100	102	103	100
			雌	100	100	102	102	100	104	104	104
		4日目(間引き後)	雄	100	100	105	105	100	102	104	99
			雌	100	100	104	107	100	104	105	101
		14日目	雄	100	101	102	101	100	100	102	102
雌			100	102	102	102	100	102	103	103	
21日目		雄	100	101	101	100	100	101	102	100	
		雌	100	101	101	101	100	103	104	103	
臓器重量 ^c	子宮絶対重量 雌	100	95	98	81↓	100	96	93	88		
	子宮相対重量 雌	100	94	99	81↓	100	96	93	90		
肉眼的病理検査	—	NE	NE	NE	—	NE	NE	NE			
性成熟日齢 雌	32.6	32.5	32.7	34.1↑	32.3	32.7	32.0	33.1			
性成熟日齢体重 ^a 雌	100	101	100	105	100	106	103	106			

NE : 投与によると考えられる影響なし

Dunnet の検定 ; ↑↓ : P<0.05、↑↓ : P<0.01 (精巢の精子頭部数、精巢上体の精子数、産児数、生存児体重、児動物臓器重量、相对肛門生殖突起間距離)

Fisher の直接確率計算法 ; * : P<0.05、** : P<0.01 (正常性周期、交尾率、受胎率、出生率、性比、一般状態、肉眼的検査)

Mann-Whitney の U 検定 ; ↑↓ : P<0.05、↑↓ : P<0.01 (妊娠期間、生存精子率、正常精子率、児動物生存率、児動物の臨床・剖検所見発生率、性成熟)

^a : 対照群を 100 とした場合の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.2 ラットにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.2)

試験機関

報告書作成年

2002年 [GLP対応]

検体純度:

試験動物: Wistar系妊娠ラット、1群24匹

投与期間: 妊娠期間中14日間 (2001年8月13日~2001年8月29日)

投与方法: 検体を1%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、0、20、100及び500 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日目から19日目 (陰栓が認められた日を妊娠0日として起算)の14日間、毎日1回経口投与した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目:

親動物: 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18及び20日に体重を測定した。妊娠20日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。また、全ての雌親動物について肉眼病理学的検査ならびに肝臓、腎臓及び肉眼的異常組織の病理組織学的検査を実施した。

生存胎児: 性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹児群1/2の胎児について内臓異常を検査し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格異常を検査した。

試験結果: 概要を次頁の表に示した。

親動物の500 mg/kg投与群において、摂餌量の低下傾向が妊娠6日~9日にかけて認められた。また500 mg/kg投与群では肝臓の絶対重量および相対重量 (対体重比)の統計学的に有意な増加が認められ、病理組織学的所見として、肝臓の小葉中心性の肝細胞腫大と腎臓における尿細管の空胞化が高頻度に認められた。これらの変化は検体投与に起因するものであると考えられた。

黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胎児数などに関する指標や、胎児体重ならびに性比に関しては、検体投与による影響は認められなかった。胎盤重量は、500 mg/kg群の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

平均値が対照群の値より有意に高かった。

胎児動物の外表検査および内臓検査では、いずれの群においても検体投与によると考えられる奇形及び変異は認められなかった。骨格検査においては、親毒性の認められた 500 mg/kg/day において、変異所見として頸肋骨の有意な増加が認められた。100 mg/kg 群で、胎児および腹における胸椎椎体ダンベル状骨化の出現頻度がそれぞれ対照群の値より有意に低かった。20 および 100 mg/kg 群における骨格変異のある胎児の出現頻度にも有意な低値がみられた。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した時の母体及び胎児における無毒性量 (NOAEL) は 100 mg/kg/day であった。また、母獣に影響のない投与レベルでは、胎児に対しても影響はないと判断される。妊娠ラットに対する催奇形性は、認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	20	100	500	
1群当りの動物数		24	24	24	24	
親動物	一般状態	-	-	-	-	
	死亡数	0	0	0	0	
	妊娠数	22	24	23	24	
	体重変化 (妊娠6-20) (g)	98	101	97	102	
	摂餌量	-	-	-	妊娠6-9日 低下傾向	
	臓器重量	肝臓絶対重量(mg)	12389	12335	12512	13956**
		肝臓対体重量(mg/g)	4.91	4.89	4.92	5.49**
	病理検査	肝臓: 小葉中心性肝細胞腫大	0/22	1/24	0/23	13/24+++
		腎臓: 尿細管空胞化	0/22	0/24	0/23	24/24+++
	着床所見	検査親動物数	22	24	23	24
黄体数 (平均)		15.9	15.9	15.7	15.7	
着床数 (平均)		14.9	15.0	14.1	14.8	
生存胎児数 (平均)		13.5	14.0	13.1	14.2	
死亡胎児数 (平均)		0.0	0.13	0.0	0.04	
吸収胚数 (平均)		1.36	0.88	0.95	0.58	
胎動物	体重 (g) 雄 (平均)	3.2	3.2	3.3	3.2	
	雌 (平均)	3.1	3.0	3.1	3.0	
	性比 (雄/雌)	0.507	0.507	0.493	0.487	
	外表異常 検査胎児数	298	337	302	341	
	変異胎児数 (%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	
	内臓異常 検査胎児数	143	160	146	165	
	奇形胎児数(%) : 鎖骨下動脈位置異常	0(0)	2(1.3)	0(0)	1(0.6)	
	: 右動脈弓	0(0)	2(1.3)	0(0)	1(0.6)	
	: 卵巣位置異常	0(0)	1(1.1)	0(0)	0(0)	
	変異胎児数(%) : 頸部胸腺残存	1(0.7)	1(0.6)	0(0)	1(0.6)	
: 右鎖骨下動脈	1(0.7)	0(0)	1(0.7)	3(1.8)		
: 右臍動脈	0(0)	2(1.3)	3(2.1)	2(1.2)		
骨格異常 検査胎児数	155	177	156	176		
奇形胎児数(%) : 癒合肋骨	2(1.3)	1(0.6)	0(0)	0(0)		
: 胸椎弓欠損	1(0.6)	1(0.6)	0(0)	0(0)		
: 胸椎半椎体	1(0.6)	1(0.6)	0(0)	0(0)		
変異胎児数(%) : 頸肋骨	10(6.5)	4(2.2)	5(3.2)	60(34.1)+++		
: 過剰肋骨	3(1.9)	1(0.6)	1(0.6)	7(4.0)		
: 胸椎体ダンベル型骨化	5(3.2)	1(0.6)	0(0)+	6(3.4)		
: 腰椎体ダンベル型骨化	1(0.6)	1(0.6)	1(0.6)	1(0.6)		
: 胸椎体2分骨化	1(0.6)	0(0)	0(0)	2(1.1)		
: 胸骨配列異常	1(0.6)	1(0.6)	1(0.6)	0(0)		
: 変異を持った総胎児数	18(11.6)	8(4.5)+	8(5.1)+	70(39.8)+++		

* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001 (Dunnett 検定)

+ : P<0.05, ++ : P<0.01, +++ : P<0.001 (Fisher 直接確率法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.3 ウサギにおける催奇形性試験 (資料 No. T-4.3)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： 日本白色種妊娠ウサギ (4~5ヶ月齢)、1群 25匹

投与期間： 妊娠期間中 22日間 (2001年 7月 16日~2001年 8月 6日)

投与方法： 検体を 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、2.5、7.5 及び 25 mg/kg/day の投与量で妊娠後 6日目から 27日目 (人工授精した日を妊娠 0日として起算)の 22日間、毎日 1回経口投与した。尚、対照群には 1%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠；

観察・検査項目：

親動物； 一般状態、妊娠状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0、6、9、12、15、18、21、24、27 及び 28日目に体重を測定した。妊娠 28日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存及び死亡・吸収胎児数を検査した。

生存胎児；性別、体重及び外表異常の観察を行った。各同腹仔群 1/2 の胎児について内臓異常を検査し、残りの胎児について骨格標本作製して骨格異常を検査した。

試験結果： 概要を添付の表に示した。

親動物の 25 mg/kg/day において、体重増加量が投与期間を通じて対照群より一貫して低く、妊娠 12~28日目にかけて、統計学的に有意な低下が認められた。摂餌量の低下傾向も妊娠 9日目~21日目にかけて認められた。

黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、吸収胚数などに関する着床所見や、胎児体重ならびに性比に対して、検体投与による影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

胎児動物の外表検査および内臓検査においては、いずれの群においても検体投与によると考えられる奇形及び変異は認められなかった。骨格検査においては、対照群を含むすべての群で骨格変異として、頸肋骨、過剰肋骨、仙椎前椎骨数 27 および腰仙部移行椎が観察された。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与した時の母動物における無毒性量 (NOAEL) は 7.5 mg/kg/day であり、最小影響量は 25 mg/kg/day であった。また、催奇形性は認められなかった。

胎児に対する NOAEL は、25 mg/kg/day と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結果の概要

投与群 (mg/kg/day)		0	2.5	7.5	25
1群当りの動物数		25	25	25	25
親	一般状態	-	-	-	-
	死亡数	0	1	0	0
動物	妊娠数	24	25	25	24
	体重変化 (妊娠6-27) (g)	346	248	236	171
着床所見	体重増加量	-	-	-	妊娠6-28日 有意に低下
	検査親動物数	23	22	21	23
	黄体数 (平均)	10.1	10.5	10.0	10.3
	着床数 (平均)	8.1	8.3	8.0	8.2
	生存胎児数 (平均)	7.5	7.6	7.4	7.4
	吸収・死亡胎児数 (平均)	0.6	0.7	0.6	0.8
胎児動物	体重 (g) 雄 (平均)	39.2	36.7	38.0	35.4
	雌 (平均)	38.6	37.3	36.7	34.9
	性比 (雄/雌)	0.480	0.515	0.558	0.494
	外表異常 検査胎児数	173	167	156	170
	変異胎児数 (%)	0(0.0)	2(1.2)	2(1.3)	1(0.6)
	内臓異常 検査胎児数	173	167	156	170
	奇形胎児数 : 動脈管狭窄	0(0)	0(0)	1(0.6)	0(0)
	: 肺分葉異常	0(0)	0(0)	2(1.3)	2(1.2)
	: 精巣下降不全	1(0.6)	2(1.2)	1(0.6)	0(0)
	変異胎児数(%) : 腕頭動脈位置異常	0(0)	1(0.6)	1(0.6)	4(2.4)
: 鎖骨下動脈位置異常	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.6)	
: 胸腺頸部残留	7(4.0)	1(0.6)*	10(6.4)	7(4.1)	
骨格異常	検査胎児数	173	167	156	170
	奇形胎児数(%) : 癒合肋骨	0(0)	2(1.2)	1(0.6)	1(0.6)
	: 癒合腰椎中心	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.6)
	: 癒合尾椎中心	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.2)
	変異胎児数(%) : 頸肋骨	2(1.2)	3(1.8)	3(1.9)	4(2.4)
	: 過剰肋骨	51(29.5)	55(32.9)	38(24.4)	61(35.9)
	: 仙椎前椎骨27	10(5.8)	10(6.0)	7(4.5)	18(10.6)
: 腰仙部移行椎	1(5.8)	3(1.8)	1(0.6)	3(1.8)	

* : P<0.05 (Fisher の直接確率計算法)

8.7 変異原性

8.7.1 細菌を用いる復帰変異試験 (資料 No.T-5.1)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。試験は3連制とし、2回行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 μ g/プレート)においても、またいずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、NaN₃及び9AAではS9 Mixの非添加で、また2AAではS9 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、検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有しないものと判断される。

1 回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	117 \pm 11	6 \pm 4	18 \pm 3	14 \pm 5	6 \pm 1
検体	61.7	-	94 \pm 13	7 \pm 5	15 \pm 3	17 \pm 5	6 \pm 2
	185	-	102 \pm 14	11 \pm 3	20 \pm 4	18 \pm 3	5 \pm 2
	556	-	117 \pm 11	8 \pm 1	20 \pm 6	14 \pm 1	7 \pm 4
	1667	-	116 \pm 11	9 \pm 2	22 \pm 3	16 \pm 3	8 \pm 3
	5000	-	122 \pm 11	5 \pm 1	15 \pm 7	15 \pm 5	7 \pm 3
対照 (DMSO)	0	+	126 \pm 3	7 \pm 3	27 \pm 7	24 \pm 4	12 \pm 6
検体	61.7	+	126 \pm 16	10 \pm 5	21 \pm 5	27 \pm 6	13 \pm 6
	185	+	119 \pm 2	7 \pm 3	26 \pm 6	27 \pm 1	13 \pm 2
	556	+	103 \pm 5	8 \pm 2	20 \pm 3	20 \pm 8	13 \pm 2
	1667	+	119 \pm 11	7 \pm 1	24 \pm 7	22 \pm 2	12 \pm 2
	5000	+	113 \pm 2	6 \pm 3	22 \pm 4	21 \pm 3	13 \pm 4
AF-2	0.01	-	505 \pm 26		246 \pm 13		
	0.1	-				521 \pm 25	
NaN ₃	0.5	-		609 \pm 52			
9-AA	80	-					509 \pm 68
2-AA	0.5	+				195 \pm 19	
	1	+	743 \pm 2				
	2	+		147 \pm 3			81 \pm 10
	10	+			166 \pm 19		

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

NaN₃ : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine hydrochloride

2-AA : 2-Aminoanthracene

2回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート (3連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	103 \pm 12	6 \pm 5	18 \pm 8	15 \pm 4	6 \pm 2
検体	313	-	104 \pm 10	8 \pm 5	20 \pm 5	15 \pm 5	4 \pm 1
	625	-	134 \pm 7	5 \pm 2	22 \pm 3	13 \pm 1	10 \pm 1
	1250	-	112 \pm 5	9 \pm 2	23 \pm 4	15 \pm 3	4 \pm 2
	2500	-	117 \pm 1	8 \pm 3	21 \pm 6	18 \pm 8	3 \pm 3
	5000	-	121 \pm 5	6 \pm 1	17 \pm 8	21 \pm 3	7 \pm 1
対照 (DMSO)	0	+	111 \pm 11	7 \pm 2	20 \pm 7	24 \pm 3	11 \pm 4
検体	313	+	104 \pm 3	6 \pm 3	20 \pm 6	22 \pm 3	12 \pm 4
	625	+	121 \pm 12	6 \pm 2	22 \pm 3	22 \pm 6	13 \pm 2
	1250	+	109 \pm 3	8 \pm 2	17 \pm 7	25 \pm 3	9 \pm 3
	2500	+	102 \pm 4	8 \pm 2	18 \pm 2	20 \pm 4	12 \pm 3
	5000	+	116 \pm 10	8 \pm 2	15 \pm 5	22 \pm 4	7 \pm 2
AF-2	0.01	-	467 \pm 27		221 \pm 25		
	0.1	-				574 \pm 28	
NaN ₃	0.5	-		612 \pm 30			
9-AA	80	-					664 \pm 76
2-AA	0.5	+				188 \pm 3	
	1	+	778 \pm 73				
	2	+		132 \pm 4			83 \pm 3
	10	+			216 \pm 16		

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

2-AA : 2-Aminoanthracene

NaN₃ : Sodium azide

9-AA : 9-Aminoacridine hydrochloride

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.2 チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL)を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(資料 No. T-5.2)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： チャイニーズハムスター肺由来の継代した株化細胞 CHL を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって染色体異常誘発性を調べた。

検体は DMSO に溶解して用いた。観察は 1 濃度あたり 200 個の分裂中期像について行い、短時間処理法及び連続処理法の 2 試験を行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期像の数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC)及びベンツ(a)ピレン (B(a)P)では染色体異常を示す分裂中期像数の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

染色体異常試験結果 (短時間処理法)

薬物	濃度 (µg/ml)	処理時間	S-9 Mixの有無	観察細胞数	分裂頻度 (%)	倍數性細胞	染色体異常を有する細胞数										判定			
							染色体分体型		染色体型		ギャップ	断片	その他	+g (ギャップ)	-g (ギャップ)					
							切斷	交換	切斷	交換										
							切斷	交換	切斷	交換										
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	6-18	-	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
7-エカニド 原体	573	6-18	-	100	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	0(0.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
陽性対照 (MMC)	0.1	6-18	-	100	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	0(0.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	6-18	+	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	0(0.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
7-エカニド 原体	573	6-18	+	100	99	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	102	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	2(1.0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
陽性対照 [B(a)P]	40	6-18	+	100	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	102	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
陽性対照 [B(a)P]	40	6-18	+	100	87	0	6	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	-		
				100	89	1	5	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
				合計 (平均)	合計 (平均)	1(0.5)	11(5.5)	62(31.0)	2(1.0)	2(1.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

*** : p ≤ 0.001 (カイ二乗検定)
 その他 : 断片化および複合型染色体異常等
 DMSO : ジメチルスルホキシド
 MMC : マイトマイシンC
 B(a)P : ベンツ(a)ピレン

染色体異常試験結果 (連続処理法)

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	処理 時間	S-9 Mixの 有無	観察 細胞数	分裂 頻度 (%)	倍数性 細胞	染色体異常を有する細胞数						判定			
							染色体分体型		染色体型		断片	ギヤップ		その他	+B (ギヤップ)	-B (ギヤップ)
							切断	交換	切断	交換						
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	24-0	-	100	100	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
				100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				合計 (平均)	100	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)
7-エポキシ 原体	573	24-0	-	100	89	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	
				100	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				合計 (平均)	100	91	0(0.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)
7-エポキシ 原体	1145	24-0	-	100	85	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	
				100	85	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1
				合計 (平均)	100	85	1(0.5)	0(0)	0(0)	2(1.0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)
陽性対照 (MMC)	2290	24-0	-	100	73	0	0	1	0	0	1	0	0	2	1	
				100	78	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	1
				合計 (平均)	100	76	0(0.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(2.0)
溶媒対照 (DMSO)	0.1	24-0	-	100	107	0	14	43	0	5	6	0	0	51	49	
				100	103	0	8	30	1	0	5	0	0	0	38	34
				合計 (平均)	100	105	0(0.0)	22(11.0)	73(36.5)	6(3.0)	0(0)	11(5.5)	0(0)	0(0)	0(0)	89(44.5)
溶媒対照 (DMSO)	1.0%	48-0	-	100	100	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	
				100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				合計 (平均)	100	100	0(0.0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)
7-エポキシ 原体	573	48-0	-	100	90	0	1	1	0	0	1	0	0	3	2	
				100	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				合計 (平均)	100	91	0(0.0)	1(0.5)	1(0.5)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	3(1.5)
7-エポキシ 原体	1145	48-0	-	100	81	0	1	0	0	1	0	0	0	2	2	
				100	84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				合計 (平均)	100	83	0(0.0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)
陽性対照 (MMC)	2290	48-0	-	100	70	1	1	1	0	0	0	0	0	2	2	
				100	75	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				合計 (平均)	100	73	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(1.0)
陽性対照 (MMC)	0.05	48-0	-	100	100	0	15	30	4	3	3	1	40	40		
				100	104	0	8	37	1	1	0	40	40	40	40	
				合計 (平均)	100	102	0(0.0)	23(11.5)	67(33.5)	5(2.5)	4(2.0)	4(2.0)	1(0.5)	1(0.5)	80(40.0)***	80(40.0)***

***: $p \leq 0.001$ (カイ二乗検定)
 その他 : 断片および複合型染色体異常等
 DMSO : ジメチルスルホキシド
 MMC : マイトマイシンC

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7.3 マウスリンパ腫細胞を用いた in vitro 遺伝子突然変異試験 (資料 No. T-5.3)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： マウスリンパ腫株化細胞 L5178Y TK^{+/+}-3.7.2.C を用い、代謝活性化及び非代謝活性化によって遺伝子突然変異誘発性を調べた。

検体は DMSO に溶解して用いた。代謝活性化系の非存在及び存在下で対数増殖期の細胞を検体と 3 時間処理した。1 用量あたり 2 個の培養フラスコで処理し、2 回の本試験をマイクロプレート法によって実施した。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの検体処理群においても突然変異頻度に有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチル (MMS) またはシクロフォスファミド (CP) 処理群では、突然変異頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、マウスリンパ腫細胞 L5178Y に対し突然変異を誘発しないものと判断される。

マウスリンパ腫細胞 L5178Y を用いた in vitro 遺伝子突然変異試験

試験 1

S9	被験物質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	コロニー 形成率 : Day 0	コロニー 形成率 : Day 2	相対生存率 : Day 0	相対増殖率	突然変異 頻度 ($\times 10^{-6}$)
-	溶媒対照(DMSO)	1%	0.82	0.94	100	100	146.4
	検体	28.3	0.78	0.90	95	96	142.9
		84.8	1.08	0.90	133	119	148.4
		254	0.78	0.85	95	97	127.8
		763	0.80	0.90	97	98	125.1
		2290	0.73	1.13	89	97	119.0
	陽性対照(MMS)	10	0.78	0.89	95	84	849.6
+	溶媒対照(DMSO)	1%	0.73	0.89	100	100	60.3
	検体	28.3	0.99	0.88	134	97	40.0
		84.8	0.75	0.93	102	106	62.1
		254	0.82	0.86	112	94	62.1
		763	0.79	0.83	108	86	85.5
		2290	0.74	0.88	101	87	69.4
	陽性対照(CP)	3	0.14	0.26	20	7	1110.1

試験 2

S9	被験物質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	コロニー 形成率 : Day 0	コロニー 形成率 : Day 2	相対生存率 : Day 0	相対増殖率	突然変異 頻度 ($\times 10^{-6}$)
-	溶媒対照(DMSO)	1%	0.91	0.88	100	100	90.8
	検体	143	0.94	0.84	103	91	78.5
		286	0.83	0.99	91	113	71.6
		573	0.97	1.02	107	136	76.8
		1145	0.91	1.23	99	134	75.9
		2290	0.82	1.19	90	117	101.2
	陽性対照(MMS)	10	0.91	0.95	100	114	587.3
+	溶媒対照(DMSO)	1%	1.04	0.74	100	100	115.2
	検体	143	1.03	0.90	99	123	85.3
		286	1.14	0.80	109	138	107.0
		573	1.08	0.82	103	132	100.2
		1145	1.03	0.77	99	130	119.4
		2290	1.06	0.81	102	146	115.7
	陽性対照(CP)	3	0.51	0.45	49	42	1590.9

MMS : メタンスルホン酸メチル

CP : シクロフォスファミド

8.7.4 マウスを用いた小核試験 (資料 No.T-5.4)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ICR 系マウス (7 週齢、体重 雄 32.6~38.6 g、雌 25.0~31.1 g)、1 群雌雄各 5 匹

試験方法： 検体を 0.5%CMC-Na に懸濁し、雄は 250、500 及び 1000 mg/kg/day、雌は 125、250 及び 500 mg/kg/day の投与レベルにて 24 時間間隔で 2 回経口投与した。なお、対照群に 0.5%CMC-Na 水溶液を同様に投与した。2 回目投与の 24 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨を採取してスライドグラス上にメタノール固定後、ギムザ染色し骨髓標本を作製した。陽性対照群には、マイトマイシン C の 10 mg/kg を 1 回投与し、24 時間後に動物を屠殺して骨髓標本を作製した。各標本について、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した後、引き続き 2000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計数した。

用量設定根拠：

試験結果： 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

雌雄のいずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

雌雄のいずれの投与群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。陽性対照であるマイトマイシン C 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。

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 マウスの小核試験結果

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg/day)	投与回数	性別	観察動物数	MNPCE % (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE) % (平均値±SD)
24	陰性対照 (0.5%CMC-Na)	0	2	雄	5	0.19±0.14	56.3±5.2
			2	雌	5	0.09±0.04	58.2±7.9
	検体	125	2	雌	5	0.12±0.12	59.0±8.2
			2	雄	5	0.19±0.07	53.8±7.0
		250	2	雌	5	0.13±0.12	60.1±6.3
			2	雄	5	0.11±0.08	57.1±7.6
		500	2	雌	5	0.16±0.13	62.6±4.3
			2	雄	5	0.17±0.06	56.3±3.4
	陽性対照 (マイトシン C)	10	1	雄	5	5.49±2.34***	45.0±8.6
			1	雌	5	3.25±1.29***	55.6±2.5

*** : $p \leq 0.001$ (Kastenbaum-Bowman の数表またはカイ二乗検定)

8.7.5 ラット肝細胞を用いる *in vivo* 不定期 DNA 合成 (UDS)試験 (資料 No. T-5.5)

試験機関

報告書作成年 2003 年 [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット (6 週齢、雄、体重 172~213 g)、1 群 4 匹 (検体)、
2 匹 (陽性対照)

試験方法： 検体を 1%メチルセルロースに懸濁し、600 及び 2000 mg/kg の投与レベルで 1 回強制経口投与した。なお、対照群に 1%メチルセルロースを同様に投与した。
投与 2 及び 14 時間後に動物を屠殺し、肝臓を露出して灌流液で灌流し、酵素解離法によって肝細胞を遊離した。遊離肝細胞をガラス製スライドグラスに播種し、DNA 修復合成を放射能標識するためにトリチウムラベルしたチミジンを加えて 4 時間 *in vitro* で培養し、更に、非標識チミジンを添加して 20 時間培養し、固定後オートラジオグラムを作製し、肝細胞核の標識量を測定した。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体のいずれの投与群においても死亡は認められなかった。検体はいずれの投与量及びいずれのサンプリング時間においても、溶媒対照群と比較して総核粒子数ならびに純核粒子数のいずれも統計学的に有意な増加を示さなかった。陽性対照のジメチルニトロソアミン及び 2-アセチルアミノフルオレン投与群では、いずれも溶媒対照群と比較して総核粒子数ならびに純核粒子数の統計学的に有意な著しい増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体はラットの肝臓に対して DNA 損傷を誘発しないと結論される。

ラット肝細胞を用いる *IN VIVO* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

2 時間処理

被験物質	投与量 (mg/kg)	動物番号	総核粒子数		細胞質粒子数		純核粒子数	
			平均	群平均	平均	群平均	平均	群平均
1%MC (溶媒)	0	202	13.4	12.2	16.1	16.5	-2.7	-4.3
		203	11.6		18.3		-6.6	
		204	11.1		14.3		-3.2	
		205	12.6		17.4		-4.8	
検体	600	211	10.6	12.2	14.8	16.7	-4.1	-4.5
		212	13.8		19.6		-5.9	
		213	11.1		14.2		-3.1	
		215	13.4		18.2		-4.8	
	2000	221	13.1	12.9	17.0	17.2	-3.9	-4.3
		222	13.8		18.7		-4.9	
		223	11.4		16.2		-4.9	
		224	13.4		17.0		-3.6	
DMN	4	231	53.5	52.4***	23.1	23.4	30.4	28.9***
		233	51.2		23.7		27.4	

14 時間処理

被験物質	投与量 (mg/kg)	動物番号	総核粒子数		細胞質粒子数		純核粒子数	
			平均	群平均	平均	群平均	平均	群平均
1%MC (溶媒)	0	301	10.5	10.0	15.0	14.3	-4.5	-4.2
		303	11.2		16.8		-5.6	
		304	9.3		13.4		-4.1	
		305	9.1		11.9		-2.7	
検体	600	311	9.5	11.3	13.8	16.0	-4.3	-4.7
		312	13.3		17.7		-4.4	
		313	10.2		15.8		-5.7	
		315	12.3		16.5		-4.2	
	2000	321	10.0	11.2	15.6	16.2	-5.5	-5.0
		322	12.4		15.9		-3.5	
		323	10.0		14.2		-4.3	
		325	12.4		19.0		-6.6	
AAF	50	331	43.0	44.7***	21.8	24.8	21.2	19.9***
		332	46.4		27.8		18.6	

1%MC : 1%w/v メチルセルロース

DMN : ジメチルニトロソアミン

AAF : 2-アセチルアミノフルオレン

*** : P<0.001 (Student の t 検定による一元配置分散分析)

8.7.6 マウス結腸、肝および肺におけるコメットアッセイ (資料 No. T-5.6)

試験機関

報告書作成年 2002 年

検体純度：

供試動物： ddY 系マウス (8 週齢、雄)、1 群 4 匹

試験方法： 検体を 0.5% CMC-Na に懸濁し、375、750 及び 1500 mg/kg の投与レベルでマウスに 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.5% CMC-Na を同様に投与した。
投与 3 及び 24 時間後に動物を屠殺し、結腸、肝臓ならびに肺を摘出し、コメットアッセイに供した。各臓器に氷冷したホモジナイズ液を加えてホモジナイズした後アガロースゲルを作製し、氷冷した核溶解液にアガロースゲルを浸漬し、4℃で一夜静置して核を溶解させた、低温インキュベータ内で定電圧電気泳動 (25V、15 分間)を行った。電気泳動後、アガロースゲルを中和液及びメタノールに浸漬し乾燥した。
エチジウムブロマイド液で染色後 C 励起系フィルターを付けた蛍光顕微鏡を用いてコメット像を写真撮影し、現像後ネガフィルムを投影してコメット像を測定した。
各動物の各臓器の核 50 個についてコメット像の全長及び核直径を測定し、全長から核直径を減じてテール長を求めた。このテール長を実際の長さに換算した値 (Migration)について投与群と溶媒対照群を比較検定した。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を次表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。
いずれの投与群のいずれの臓器においてもテール長 (Migration)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。陽性対照のメチルメタンサルホネートではいずれの臓器においても、溶媒対照群と比較して Migration に統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から本試験条件下において、検体はマウスの結腸、肝臓及び肺のいずれの臓器にも DNA 損傷誘発性はないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

フロニカミド原体のマウスの結腸、肝臓及び肺におけるコメットアッセイ

検体	投与量 (mg/kg)	投与後の サンプリグ' 時間 (hr)	動物数	テール長 (Migration) (μm) (Mean \pm SEM)		
				結腸	肝臓	肺
0.5%CMC-Na (溶媒)	0	3	4	6.61 \pm 0.92	1.37 \pm 0.31	1.79 \pm 1.39
検体	375	3	4	7.02 \pm 1.65	1.21 \pm 0.64	2.17 \pm 0.33
	750	3	4	6.40 \pm 0.67	1.43 \pm 0.40	2.18 \pm 0.39
	1500	3	4	7.26 \pm 0.84	2.53 \pm 0.78	0.72 \pm 0.28
MMS	160	3	4	38.0 \pm 1.30 *	38.4 \pm 4.30 *	35.7 \pm 1.81 *
0.5%CMC-Na (溶媒)	0	24	4	6.60 \pm 1.60	1.62 \pm 0.59	1.60 \pm 0.26
検体	375	24	4	6.24 \pm 1.67	2.00 \pm 0.10	2.11 \pm 0.63
	750	24	4	8.05 \pm 0.91	1.54 \pm 0.23	2.16 \pm 0.46
	1500	24	4	7.82 \pm 0.85	0.70 \pm 0.27	1.85 \pm 0.41
MMS	160	24	4	38.5 \pm 4.80 *	39.5 \pm 4.69 *	23.7 \pm 1.41 *

MMS : メチルメタンスルホネート

* : P<0.05 (Dunnett test)

8.8 生体の機能に及ぼす影響

8.8.1 生体の機能に及ぼす影響に関する試験 (資料 No. T-6.1)

試験機関

報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度：

1) 中枢神経系に対する作用

①マウスにおける一般症状

供試動物：ICR 系 SPF マウス、雌雄、投与時 6 週齢、体重 雄 30.3~36.3 g、雌 22.4~24.9 g
1 群 3 匹

試験方法：検体を 1% Tween80 水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、128、320、800 及び 2000 mg/kg の用量を単回腹腔内投与し、投与前、投与後 15 分、1 及び 6 時間、1、2、3 及び 7 日後にマウスの一般症状を Irwin の方法に従って観察した。

試験結果：320 mg/kg 以上の群で用量に依存して認知力、運動性、中枢神経興奮、姿勢、運動失調、筋緊張、反射、自律神経系の項目に興奮性症状と抑制性症状を混在した非特異的な症状がみられた。これらの症状は投与後 15 分以降に発現し、雄に比べ雌に若干強く発現した。雄では 800 mg/kg 以上の群で全例が投与後 1 日以内に死亡した。雌では 320 mg/kg 投与群で 2 例、800 mg/kg 以上の投与群で全例が投与後 6 時間以内に死亡した。試験終了まで生存した動物の症状は投与後 2 日以内に正常に回復した。一方、128 mg/kg 群には異常症状は認められず、また雌雄とも体重に検体投与によると思われる明確な変化は認められなかった。

②ラットにおける一般症状

供試動物：SD 系ラット、雄、投与時 6 週齢、体重 182~224 g、1 群 5 匹

試験方法：検体を 1% Tween80 水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、320、800、2000 及び 5000 mg/kg の用量を単回経口投与し、投与前、投与 1 及び 6 時間、1、2、3 及び 7 日後にケージサイドから急性毒性症状を調べた。

試験結果：5000 mg/kg 群の 2 例に投与当日の観察において、自発運動の低下、腹這い、流涎、横臥、あえぎ呼吸、呼吸数減少、口周囲の血液による汚れ及びよろめき歩調の症状が認められ、これらの個体は投与 1 日後に死亡した。一方、2000 mg/kg 以下の投与群には異常は認められず、また体重に検体投与によると思われる変化は認められなかった。

③マウスにおける睡眠時間延長作用

供試動物：ICR系マウス、雄、投与時6週齢、体重27.6～36.1g、1群8匹

試験方法：検体を1% Tween80水溶液に懸濁し、10 mL/kgの投与容量で0、20.5、51.2、128、320及び800 mg/kgの用量を単回腹腔内投与し、ヘキソバルビタール睡眠時間を測定した。睡眠時間はヘキソバルビタールを100 mg/kgの用量で皮下投与し、正向反射の消失から回復までの時間を測定した。

試験結果：800mg/kg群ではヘキソバルビタールの投与前に1例、投与後に覚醒せずに4例が死亡した。投与前に正向反射をしていなかった2例には投与しなかった。

128 mg/kg以上の群で用量に依存した睡眠時間の延長が認められ、320 mg/kg群では対照群の約3.5倍に延長された。一方、51.2 mg/kg以下の群には検体投与によると思われる明確な変化は認められなかった。

2) ラットの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物：SD系ラット、雄、投与時6週齢、体重180～208g、1群5匹

試験方法：検体を1% Tween80水溶液に懸濁し、10 mL/kgの投与容量で0、800、2000及び5000 mg/kgの用量を単回経口投与し、最高血圧ならびに心拍数を投与前、投与1及び6時間、1、2、3ならびに7日後に測定した。

試験結果：5000 mg/kg群の4例が投与後2日以内に死亡した。2000 mg/kg以上の群で投与1時間から1日後にかけて最高血圧の有意な低下が観察された。さらに、心拍数も5000 mg/kg群の投与6時間後と1日後に減少した。一方、800 mg/kg群には検体投与によると思われる明確な変化は認められなかった。

3) ラットの自律神経系に対する作用

供試動物：SD系ラット、雄、投与時6週齢、体重182～224g、1群5匹

試験方法：検体を1% Tween80水溶液に懸濁し、10 mL/kgの投与容量で0、320、800、2000及び5000 mg/kgの用量を単回経口投与し、体温及び瞳孔径を投与前、投与1及び6時間、1、2、3ならびに7日後に測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果：体温；2000 mg/kg 以上の群で投与 1 時間後から 1 日後にかけて有意な体温低下が認められ、5000 mg/kg 群で投与 1 日後に 2 例が死亡した。一方、800 mg/kg 以下の群には検体投与によると思われる変化は認められなかった。

瞳孔径；また、2000 mg/kg 以上の投与群の投与 6 時間後に有意な縮瞳が観察された。一方、800 mg/kg 以下の投与群には検体投与によると思われる明確な変化は認められなかった。

4) マウスの消化器に対する作用

供試動物：ICR 系マウス、雄、投与時 6～7 週齢、体重 28.9～31.4 g、1 群 8 匹

試験方法：検体を 1% Tween80 水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、20.5、51.2、128、320 及び 800 mg/kg の用量を単回腹腔内投与し、検体投与 1 時間後に炭末懸濁液を 10 mL/kg の投与容量で経口投与した。炭末投与 30 分後にマウスを屠殺し全小腸の長さに対する炭末移動距離の比率を求めた。

試験結果：800 mg/kg 群の 2 例は炭末投与前に死亡し、3 例は炭末投与 30 分後の屠殺前に死亡した。320 mg/kg 以下の群には検体投与によると思われる炭末移動距離への影響は認められなかった。

5) ラットの骨格筋に対する作用

供試動物：SD 系ラット、雄、投与時 6 週齢、体重 182～224 g、1 群 5 匹

試験方法：検体を 1% Tween80 水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、320、800、2000 及び 5000 mg/kg の用量を単回経口投与し、握力測定装置 (MK-380) を用いて握力を投与前、投与 1 及び 6 時間、1、2、3 ならびに 7 日後に測定した。

試験結果：5000 mg/kg の最高投与群では 2 例が死亡したが、生存した 3 例の握力は対照群と同等であり、検体投与によると思われる変化は認められなかった。2000 mg/kg 以下の投与群では影響は認められなかった。

6) ラットの腎機能に対する作用

供試動物：SD 系ラット、雄、投与時 6 週齢、体重 206～270 g、1 群 5 匹

試験方法：検体を 1% Tween80 水溶液に懸濁し、10 mL/kg の投与容量で 0、51.2、128 及び 320 mg/kg、並びに 0、800、2000 及び 5000 mg/kg の用量を単回経口投与し、検体投与 4.5 時間後から生理食塩液を 25 mL/kg の容量で 30 分間隔で 2 回経口投与し、検体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与後5～8時間までの3時間の尿を採取した。尿量、尿中Na、K及びCl排泄量、pH、浸透圧、潜血、蛋白、ケトン体ならびにグルコース量を測定した。

試験結果：800 mg/kg以上の群でCl排泄量の有意な減少、2000 mg/kg以上の群でグルコース量の有意な増加がみられた。5000 mg/kg群でpHの有意な減少、ケトン体の有意な増加が観察された。さらに、800 mg/kgもしくは2000 mg/kg群において、尿量、Na排泄量ならびにK排泄量の有意な減少、浸透圧と蛋白質の有意な増加も観察された。320 mg/kg以下の群では、これらのパラメーターに検体投与による影響は認められなかった。一方、潜血には5000 mg/kgまで検体投与によると思われる変化は認められなかった。

結論：以上より、本検体を雌雄マウスに腹腔内投与すると、320 mg/kg以上の投与群に種々の非特異的な症状が発現し、死亡も認められた。さらに、雄マウスに本検体を腹腔内投与した結果、128 mg/kg以上の投与群でヘキサバルビタール睡眠時間の有意な延長が観察された。雄ラットに本検体を経口投与すると、800 mg/kg以上の高用量群において腎機能の変化、一過性の自律神経系の変化（縮腫）、体温、血圧ならびに心拍数の有意な低下がみられ、5000 mg/kg群には種々の非特異的な症状を発現して死亡する個体がみられた。

本試験の結果ならびに既に実施された原体及び製剤の経口、経皮あるいは吸入経路による急性毒性試験の結果は、本検体の急性毒性作用は弱いことを示している。これらの結果より、本検体を含む製剤が散布作業に伴って摂取された場合や誤って摂取された場合に急性中毒が発現する可能性は低いと考えられる。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
1.中枢神経系 1)一般症状 Irwin 法 (マウス) (ラット)	腹腔内 (1%Tween 80) 経口 (1%Tween 80)	0, 128, 320, 800, 2000 0, 320, 800, 2000, 5000	♂♀ 3 ♂ 5	128 2000	320 5000	雌雄 800mg/kg 以上の 投与群では全例死亡。 雌 320mg/kg 群では 2/3 例死亡。 320mg/kg 以上の群で は認知力、運動性、中 枢神経興奮、姿勢運動 失調、反射、興奮性症 状及び抑制症状。 雄 5000mg/kg 2/5 例 死亡、自発運動能低下、 腹這い、流涎、横臥、 あえぎ呼吸、呼吸数の 減少、口周囲の血によ る汚れ、よろめき歩調。
2)睡眠時間延長 ヘキバルビタール 睡眠 (マウス)	腹腔内 (1%Tween 80)	0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800	♂ 8	51.2	128	800mg/kg では死亡、 128mg/kg 以上で用量 に依存した睡眠時間の 延長。320mg/kg 群で は対照の約 3.5 倍。
2.呼吸、循環器系 血圧、心拍数 (ラット)	経口 (1%Tween 80)	0, 800, 2000, 5000	♂ 5	800	2000	5000mg/kg 4/5 死亡 2000mg/kg 以上で血 圧低下、500mg/kg で 心拍数減少。
3.自律神経系 体温、瞳孔径 (ラット)	経口 (1%Tween 80)	0, 320, 800, 2000, 5000	♂ 5	800	2000	5000mg/kg 2/5 死亡 2000mg/kg 以上で体 温低下及び縮瞳。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
4.消化器 小腸炭末輸送 (マウス)	腹腔内 (1%Tween 80)	0, 20.5, 51.2, 128, 320, 800	♂ 8	320	800	800mg/kg では死亡 320mg/kg 以下の投与 群では投与による影響 なし。
5.骨格筋 握力 (ラット)	経口 (1%Tween 80)	0, 320, 800, 2000, 5000	♂ 5	>5000	>5000	5000mg/kg 2/5 死亡 投与による影響なし。
6.腎機能 尿検査(ラット) 尿量、尿中 Na, K, Cl 排泄量、pH、 浸透圧、潜血、 蛋白、ケトン体、 グルコース	経口 (1%Tween 80)	0, 51.2, 128, 320, 800, 2000, 5000	♂ 5	320	800	800mg/kg 以上の群で Cl 減少。 2000mg/kg 以上の群 で GLU 増加。 5000mg/kg 群で pH 減 少及びケトン体増加。 800 または 2000g/kg 群で尿量、Na、K の排 泄量減少、浸透圧と蛋 白質増加 320mg/kg 以下で投与 群では影響なし。 潜血は全群で影響な し。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9 毒性発現機序検討試験

8.9.1 マウスの発癌性試験において認められた肺所見に関する考察 (資料 No. T-7.1)

試験機関

報告書作成年 2003 年

検体及び純度：フロニカミド原体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

まとめと総合考察：

フロニカミドは、マウス発癌性試験において、CD-1 マウスにおいて高率にみられる自然発症性の細気管支上皮腫瘍の発症を、細胞分裂亢進作用 (マイトージェン作用)によって増加させたものであり、その作用は閾値のある、非直線性 (non-linear) の作用と判断される。また、ラットおよびマウスの発癌性試験結果、全ての変異原性試験陰性の結果、および上記の各種メカニズム試験結果から、CD-1 マウスでの肺組織検査結果は、このマウスに固有の現象であり、ヒトのリスクアセスメントに直接外挿されないもの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石原産業株式会社にある。

文献：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.2 ラットを用いた繁殖毒性試験におけるメカニズム試験 (資料 No. T-7.2)

試験機関

報告書作成年 2002 年

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

まとめ：

従って、繁殖試験における高用量群の卵巣、子宮、膣でみられた変化はいずれも動物個体間の差がみられやすい項目と考えられ、これらにおける上述の変化は毒性変化とするよりむしろ偶発性のものと考えerほうが望ましいと申請者は考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10 原体混在物及び代謝物の毒性

検体選定の理由：

8.10.1 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-1)

試験機関

報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： HanBrl：Wist 系ラット、投与時 雄 8 週齢 雌 10 週齢、体重 雄 199.6~209.8 g
雌 163.5~178.3 g、1 群雌雄 3 匹

試験期間： 1 回投与後 14 日間観察

試験方法： PEG 300 (ポリエチレングリコール)を媒体として用い、 の 2000 mg/kg を
10mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与した。

試験項目： 投与後、中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14
日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄供 2000 以上
死亡	なし
症状	なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡はなく、中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織・器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.2 の細菌を用いる復帰変異試験 (資料 No.TM-2)

試験機関

報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。試験は3連制とし、2回行った。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート)においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、NaN₃、2-NF及び9-AAではS9 Mixの非添加で、また2-AA及びB[a]PではS9 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、検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有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1 回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	163 \pm 23	27 \pm 4	57 \pm 6	49 \pm 12	24 \pm 7
検体	5	-	174 \pm 9	22 \pm 2	46 \pm 9	46 \pm 4	14 \pm 3
	15	-	194 \pm 20	20 \pm 1	49 \pm 10	41 \pm 4	16 \pm 1
	50	-	159 \pm 21	28 \pm 7	50 \pm 8	45 \pm 3	25 \pm 4
	150	-	169 \pm 3	24 \pm 2	58 \pm 9	30 \pm 7	24 \pm 4
	500	-	166 \pm 19	23 \pm 1	59 \pm 8	44 \pm 3	19 \pm 8
	1500	-	172 \pm 9	29 \pm 6	54 \pm 5	38 \pm 6	16 \pm 1
	5000	-	161 \pm 19	24 \pm 6	56 \pm 9	48 \pm 3	18 \pm 7
対照 (DMSO)	0	+	182 \pm 6	16 \pm 1	63 \pm 11	63 \pm 4	36 \pm 6
検体	5	+	205 \pm 26	16 \pm 7	78 \pm 9	74 \pm 13	37 \pm 8
	15	+	207 \pm 7	20 \pm 7	67 \pm 3	58 \pm 6	25 \pm 2
	50	+	199 \pm 16	20 \pm 4	72 \pm 9	63 \pm 4	29 \pm 4
	150	+	138 \pm 12	28 \pm 7	64 \pm 14	55 \pm 9	34 \pm 2
	500	+	165 \pm 3	23 \pm 4	60 \pm 4	57 \pm 5	26 \pm 5
	1500	+	170 \pm 4	26 \pm 7	64 \pm 11	73 \pm 7	14 \pm 5
	5000	+	202 \pm 12	20 \pm 4	78 \pm 10	66 \pm 3	17 \pm 5
AF-2	0.05	-			430 \pm 64		
NaN ₃	0.5	-	596 \pm 41	388 \pm 15			
2-NF	1	-				295 \pm 21	
9-AA	50	-					1186 \pm 171
B[a]P	5	-	700 \pm 38			711 \pm 79	339 \pm 18
2-AA	2	+		57 \pm 23			
	10	+			1409 \pm 78		

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

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

B[a]P: benzo(a)pyrene

2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	152 \pm 9	24 \pm 3	62 \pm 18	45 \pm 5	13 \pm 2
検体	50	-	149 \pm 7	23 \pm 5	62 \pm 12	36 \pm 5	13 \pm 2
	150	-	131 \pm 12	16 \pm 2	58 \pm 14	46 \pm 6	14 \pm 4
	500	-	131 \pm 6	20 \pm 6	61 \pm 6	43 \pm 7	9 \pm 1
	1500	-	137 \pm 10	19 \pm 1	56 \pm 11	43 \pm 6	6 \pm 4
	5000	-	156 \pm 6	19 \pm 3	57 \pm 13	48 \pm 3	12 \pm 2
対照 (DMSO)	0	+	158 \pm 20	18 \pm 2	73 \pm 2	50 \pm 6	38 \pm 6
検体	50	+	146 \pm 22	17 \pm 7	82 \pm 12	46 \pm 8	40 \pm 4
	150	+	148 \pm 19	18 \pm 3	66 \pm 9	37 \pm 9	26 \pm 4
	500	+	166 \pm 11	21 \pm 1	83 \pm 14	43 \pm 4	30 \pm 3
	1500	+	151 \pm 13	15 \pm 2	67 \pm 6	46 \pm 9	35 \pm 7
	5000	+	159 \pm 12	18 \pm 5	71 \pm 6	48 \pm 2	32 \pm 3
AF-2	0.05	-			1033 \pm 22		
NaN ₃	0.5	-	425 \pm 49	274 \pm 39			
2-NF	1	-				301 \pm 14	
9-AA	50	-					767 \pm 148
B(a)P	5	-	743 \pm 53			538 \pm 47	349 \pm 38
2-AA	2	+		74 \pm 6			
	10	+			1216 \pm 57		

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

NaN₃: sodium azide

2-NF: 2-nitrofluorene

9-AA: 9-aminoacridine

B(a)P: benzo(a)pyrene

2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.3 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-3)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : HanBrl : Wist 系ラット、投与時 雄 8 週齢 雌 10 週齢、1 群雌雄 3 匹
体重 雄 199.9~204.9g、雌 170.8~180.7g

試験期間 : 1 回投与後 14 日間観察

試験方法 : PEG 300 (ポリエチレングリコール)を媒体として用い、 の 2000 mg/kg を 10 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与

試験項目 : 投与後、中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14 日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 2000 以上
死亡	なし
症状	なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡はなく、中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.4 の細菌を用いる復帰変異試験 (資料 No.TM-4)

試験機関

報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。試験は3連制とし、2回行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート)においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたNaN₃、4-NOPD及びMMSではS9 Mixの非添加で、また2-AAではS9 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、検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有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1 回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	105 \pm 3.5	11 \pm 1.5	54 \pm 7.0	17 \pm 3.1	8 \pm 0.6
検体	33	-	111 \pm 12.7	7 \pm 3.5	52 \pm 5.3	21 \pm 1.7	5 \pm 2.6
	100	-	105 \pm 7.5	7 \pm 1.5	46 \pm 4.0	23 \pm 3.8	6 \pm 2.6
	333	-	92 \pm 12.1	8 \pm 2.1	50 \pm 15.1	21 \pm 12.0	6 \pm 1.7
	1000	-	91 \pm 8.2	9 \pm 3.0	49 \pm 9.5	15 \pm 5.6	4 \pm 1.5
	2500	-	105 \pm 10.4	10 \pm 2.6	46 \pm 5.1	16 \pm 7.5	5 \pm 2.6
	5000	-	108 \pm 6.4	8 \pm 0.6	48 \pm 9.6	16 \pm 6.1	6 \pm 2.6
対照 (DMSO)	0	+	148 \pm 8.3	10 \pm 3.2	49 \pm 6.4	25 \pm 0.6	5 \pm 0.6
検体	33	+	87 \pm 9.5	12 \pm 2.5	54 \pm 5.5	29 \pm 4.2	6 \pm 5.1
	100	+	96 \pm 14.0	11 \pm 1.7	65 \pm 5.0	23 \pm 2.5	8 \pm 3.2
	333	+	137 \pm 30.5	14 \pm 4.0	59 \pm 5.6	21 \pm 4.4	8 \pm 3.2
	1000	+	108 \pm 14.2	12 \pm 3.1	51 \pm 14.7	31 \pm 7.5	6 \pm 1.5
	2500	+	91 \pm 7.2	11 \pm 2.6	58 \pm 12.3	26 \pm 6.0	6 \pm 1.5
	5000	+	125 \pm 5.5	9 \pm 5.5	48 \pm 15.4	25 \pm 5.3	5 \pm 0.6
NaN ₃	10	-	625 \pm 342.4	881 \pm 72.5			
4-NOPD	50	-					50 \pm 5.5
	10	-				243 \pm 13.6	
MMS	4(μL)	-			918 \pm 89.2		
2-AA	2.5	+	1065 \pm 60.5	172 \pm 13.1		673 \pm 18.6	78 \pm 5.5
	10	+			182 \pm 15.9		

NaN₃ : sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: methyl methane sulfonate

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2 回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	179 \pm 22.0	11 \pm 1.2	34 \pm 8.4	21 \pm 4.6	7 \pm 1.5
検体	33	-	176 \pm 3.0	12 \pm 2.5	56 \pm 4.0	17 \pm 1.2	7 \pm 1.2
	100	-	189 \pm 17.9	11 \pm 1.0	41 \pm 5.8	15 \pm 2.0	7 \pm 2.3
	333	-	171 \pm 7.0	10 \pm 2.0	47 \pm 1.7	14 \pm 1.0	6 \pm 1.5
	1000	-	179 \pm 8.9	12 \pm 3.6	38 \pm 5.6	13 \pm 1.5	10 \pm 3.6
	2500	-	190 \pm 12.7	12 \pm 2.1	49 \pm 1.0	15 \pm 1.7	6 \pm 1.2
	5000	-	172 \pm 14.5	9 \pm 1.5	44 \pm 5.9	17 \pm 1.0	6 \pm 0.6
対照 (DMSO)	0	+	187 \pm 12.1	15 \pm 1.0	46 \pm 5.0	21 \pm 4.6	9 \pm 2.5
検体	33	+	209 \pm 7.8	11 \pm 2.1	59 \pm 4.6	23 \pm 4.4	8 \pm 2.0
	100	+	189 \pm 17.1	16 \pm 0.6	47 \pm 4.7	20 \pm 3.1	10 \pm 1.5
	333	+	204 \pm 6.8	14 \pm 1.7	42 \pm 3.6	20 \pm 3.1	16 \pm 2.6
	1000	+	196 \pm 9.2	12 \pm 4.2	45 \pm 4.0	15 \pm 3.8	14 \pm 2.1
	2500	+	196 \pm 16.7	13 \pm 2.6	49 \pm 2.0	16 \pm 1.7	11 \pm 3.5
	5000	+	210 \pm 13.7	14 \pm 3.1	45 \pm 3.6	17 \pm 2.5	12 \pm 3.1
NaN ₃	10	-	875 \pm 34.1	918 \pm 100.6			
4-NOPD	50	-					48 \pm 2.1
	10	-				193 \pm 5.5	
MMS	4(μL)	-			195 \pm 30.3		
2-AA	2.5	+	1196 \pm 193.5	257 \pm 11.3		1058 \pm 229.5	90 \pm 6.5
	10	+			221 \pm 20.6		

NaN₃ : sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: methyl methane sulfonate

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.5 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-5)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : HanBrl : Wist 系ラット、投与時 雄 8 週齢 雌 10 週齢、体重 雄 194.9~209.3 g
雌 176.4~181.4 g、1 群雌雄 3 匹

試験期間 : 1 回投与後 14 日間観察

試験方法 : PEG 300 (ポリエチレングリコール) を媒体として用い、 の 2000 mg/kg を
10 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与

試験項目 : 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14 日目に体
重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 2000 以上
死亡	なし
症状	なし
毒性徴候の認められなかった最 高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡はなく、中毒症状も認められなかった。

剖検では、主要な組織・器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.6 の細菌を用いる復帰変異試験 (資料 No.TM-6)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。試験は3連制とし、2回行った。

用量設定根拠；

試験結果： 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート)においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたNaN₃、4-NOPD及びMMSではS9 Mixの非添加で、また2AAではS9 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、検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有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1 回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	105 \pm 3.5	11 \pm 1.5	54 \pm 7.0	17 \pm 3.1	8 \pm 0.6
検体	33	-	111 \pm 12.7	7 \pm 3.5	52 \pm 5.3	21 \pm 1.7	5 \pm 2.6
	100	-	105 \pm 7.5	7 \pm 1.5	46 \pm 4.0	23 \pm 3.8	6 \pm 2.6
	333	-	92 \pm 12.1	8 \pm 2.1	50 \pm 15.1	21 \pm 12.0	6 \pm 1.7
	1000	-	91 \pm 8.2	9 \pm 3.0	49 \pm 9.5	15 \pm 5.6	4 \pm 1.5
	2500	-	105 \pm 10.4	10 \pm 2.6	46 \pm 5.1	16 \pm 7.5	5 \pm 2.6
	5000	-	108 \pm 6.4	8 \pm 0.6	48 \pm 9.6	16 \pm 6.1	6 \pm 2.6
対照 (DMSO)	0	+	148 \pm 8.3	10 \pm 3.2	49 \pm 6.4	25 \pm 0.6	5 \pm 0.6
検体	33	+	87 \pm 9.5	12 \pm 2.5	54 \pm 5.5	29 \pm 4.2	6 \pm 5.1
	100	+	96 \pm 14.0	11 \pm 1.7	65 \pm 5.0	23 \pm 2.5	8 \pm 3.2
	333	+	137 \pm 30.5	14 \pm 4.0	59 \pm 5.6	21 \pm 4.4	8 \pm 3.2
	1000	+	108 \pm 14.2	12 \pm 3.1	51 \pm 14.7	31 \pm 7.5	6 \pm 1.5
	2500	+	91 \pm 7.2	11 \pm 2.6	58 \pm 12.3	26 \pm 6.0	6 \pm 1.5
	5000	+	125 \pm 5.5	9 \pm 5.5	48 \pm 15.4	25 \pm 5.3	5 \pm 0.6
NaN ₃	10	-	625 \pm 342.4	881 \pm 72.5			
4-NOPD	50	-					50 \pm 5.5
	10	-				243 \pm 13.6	
MMS	4(μL)	-			918 \pm 89.2		
2-AA	2.5	+	1065 \pm 60.5	172 \pm 13.1		673 \pm 18.6	78 \pm 5.5
	10	+			182 \pm 15.9		

NaN₃ : sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: methyl methane sulfonate

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	179 \pm 22.0	11 \pm 1.2	34 \pm 8.4	21 \pm 4.6	7 \pm 1.5
検体	33	-	176 \pm 3.0	12 \pm 2.5	56 \pm 4.0	17 \pm 1.2	7 \pm 1.2
	100	-	189 \pm 17.9	11 \pm 1.0	41 \pm 5.8	15 \pm 2.0	7 \pm 2.3
	333	-	171 \pm 7.0	10 \pm 2.0	47 \pm 1.7	14 \pm 1.0	6 \pm 1.5
	1000	-	179 \pm 8.9	12 \pm 3.6	38 \pm 5.6	13 \pm 1.5	10 \pm 3.6
	2500	-	190 \pm 12.7	12 \pm 2.1	49 \pm 1.0	15 \pm 1.7	6 \pm 1.2
	5000	-	172 \pm 14.5	9 \pm 1.5	44 \pm 5.9	17 \pm 1.0	6 \pm 0.6
対照 (DMSO)	0	+	187 \pm 12.1	15 \pm 1.0	46 \pm 5.0	21 \pm 4.6	9 \pm 2.5
検体	33	+	209 \pm 7.8	11 \pm 2.1	59 \pm 4.6	23 \pm 4.4	8 \pm 2.0
	100	+	189 \pm 17.1	16 \pm 0.6	47 \pm 4.7	20 \pm 3.1	10 \pm 1.5
	333	+	204 \pm 6.8	14 \pm 1.7	42 \pm 3.6	20 \pm 3.1	16 \pm 2.6
	1000	+	196 \pm 9.2	12 \pm 4.2	45 \pm 4.0	15 \pm 3.8	14 \pm 2.1
	2500	+	196 \pm 16.7	13 \pm 2.6	49 \pm 2.0	16 \pm 1.7	11 \pm 3.5
	5000	+	210 \pm 13.7	14 \pm 3.1	45 \pm 3.6	17 \pm 2.5	12 \pm 3.1
NaN ₃	10	-	875 \pm 34.1	918 \pm 100.6			
4-NOPD	50	-					48 \pm 2.1
	10	-				193 \pm 5.5	
MMS	4(μL)	-			195 \pm 30.3		
2-AA	2.5	+	1196 \pm 193.5	257 \pm 11.3		1058 \pm 229.5	90 \pm 6.5
	10	+			221 \pm 20.6		

NaN₃ : sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: methyl methane sulfonate

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.7 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No.TM-7)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験動物 : HanBrl : Wist 系ラット、投与時 雄 8 週齢 雌 10 週齢、体重 雄 194.9~209.3 g
雌 176.4~181.4 g、1 群雌雄 3 匹

試験期間 : 1 回投与後 14 日間観察

試験方法 : PEG 300 (ポリエチレングリコール)を媒体として用い、 の 2000 mg/kg を
10 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与

試験項目 : 投与後、中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14
日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果 :

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄供 2000 以上
死亡	なし
症状	なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡はなく、中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.8 の細菌を用いる復帰変異試験 (資料 No.TM-8)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO)に溶解した。試験は3連制とし、2回行った。

用量設定根拠：

試験結果： 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS9 Mixの有無にかかわらず、最高用量 (5000 µg/プレート)でも菌株の生育阻害は認められず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたNaN₃、4-NOPD及びMMSは、S9 Mixの非添加で、また2AAではS9 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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1 回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3 連制の平均 \pm 標準偏差)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	151 \pm 16.8	11 \pm 2.0	53 \pm 4.6	22 \pm 2.9	7 \pm 2.1
検体	33	-	147 \pm 7.9	11 \pm 3.8	50 \pm 5.3	19 \pm 3.5	9 \pm 1.5
	100	-	142 \pm 9.3	11 \pm 1.0	45 \pm 15.3	20 \pm 4.0	6 \pm 1.2
	333	-	157 \pm 2.5	15 \pm 2.3	42 \pm 1.0	15 \pm 1.2	7 \pm 2.5
	1000	-	154 \pm 12.7	8 \pm 1.5	40 \pm 5.2	15 \pm 4.0	8 \pm 1.7
	2500	-	151 \pm 11.2	12 \pm 2.1	43 \pm 3.5	18 \pm 3.1	7 \pm 0.6
	5000	-	129 \pm 7.1	13 \pm 2.0	53 \pm 5.5	18 \pm 2.3	6 \pm 1.0
対照 (DMSO)	0	+	165 \pm 11.0	13 \pm 2.5	56 \pm 1.5	19 \pm 4.7	10 \pm 2.1
検体	33	+	169 \pm 10.3	18 \pm 4.4	53 \pm 8.1	20 \pm 3.0	10 \pm 3.0
	100	+	171 \pm 3.8	16 \pm 5.0	53 \pm 7.6	23 \pm 9.0	8 \pm 0.6
	333	+	180 \pm 5.1	11 \pm 5.0	50 \pm 13.1	25 \pm 3.1	11 \pm 3.6
	1000	+	162 \pm 17.8	12 \pm 5.0	57 \pm 1.2	20 \pm 4.6	9 \pm 3.6
	2500	+	166 \pm 14.8	12 \pm 3.5	38 \pm 2.0	20 \pm 6.6	10 \pm 2.5
	5000	+	172 \pm 15.0	10 \pm 3.6	44 \pm 6.6	18 \pm 3.5	13 \pm 1.0
NaN ₃	10	-	1039 \pm 34.4	789 \pm 92.0			
4-NOPD	50	-					53 \pm 6.0
	10	-				191 \pm 9.0	
MMS	5(μL)	-			630 \pm 94.4		
2-AA	2.5	+	1940 \pm 379.9	158 \pm 53.5		1708 \pm 620.1	123 \pm 13.5
	10	+			327 \pm 7.6		

NaN₃ : sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: methyl methane sulfonate

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート (3連制の平均 \pm 標準偏)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	-	134 \pm 22.6	11 \pm 1.2	55 \pm 8.7	19 \pm 3.8	6 \pm 0.6
検体	33	-	128 \pm 6.5	15 \pm 2.5	41 \pm 5.2	15 \pm 0.6	9 \pm 1.5
	100	-	126 \pm 11.9	11 \pm 1.5	44 \pm 7.8	16 \pm 2.6	5 \pm 1.7
	333	-	135 \pm 20.7	8 \pm 1.0	41 \pm 9.2	15 \pm 1.7	4 \pm 1.5
	1000	-	123 \pm 8.9	6 \pm 2.5	31 \pm 6.7	10 \pm 2.1	5 \pm 1.2
	2500	-	114 \pm 9.2	7 \pm 2.1	37 \pm 5.0	12 \pm 2.6	4 \pm 0.6
	5000	-	109 \pm 10.5	8 \pm 2.5	39 \pm 5.5	8 \pm 1.5	6 \pm 0.6
対照 (DMSO)	0	+	159 \pm 20.5	10 \pm 0.0	57 \pm 6.8	24 \pm 2.3	7 \pm 2.1
検体	33	+	150 \pm 11.7	8 \pm 1.0	45 \pm 5.5	18 \pm 1.5	6 \pm 1.2
	100	+	144 \pm 20.4	9 \pm 1.5	47 \pm 4.0	17 \pm 1.0	7 \pm 1.5
	333	+	140 \pm 2.6	8 \pm 1.7	45 \pm 4.6	16 \pm 2.1	5 \pm 2.1
	1000	+	129 \pm 9.6	8 \pm 2.1	33 \pm 7.8	14 \pm 1.5	8 \pm 1.5
	2500	+	147 \pm 10.1	5 \pm 1.2	40 \pm 3.8	12 \pm 2.6	7 \pm 2.9
	5000	+	116 \pm 8.1	10 \pm 1.5	38 \pm 2.5	16 \pm 3.1	6 \pm 2.5
NaN ₃	10	-	987 \pm 59.8	954 \pm 36.9			
4-NOPD	50	-					53 \pm 6.8
	10	-				179 \pm 29.7	
MMS	5(μL)	-			241 \pm 38.7		
2-AA	2.5	+	1400 \pm 33.0	264 \pm 34.4		775 \pm 68.2	135 \pm 35.7
	10	+			298 \pm 5.6		

NaN₃ : sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: methyl methane sulfonate

2-AA : 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.9 のラットにおける急性経口投与毒性試験 (資料 No. TM-9)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度：

試験動物： SD系ラット、投与時 雄8週齢、雌10週齢、1群雌雄各3匹
投与時体重 雄199.8~207.9g、雌164.6~195.1g

試験期間： 1回投与後14日間観察
(雄2001年11月20日~12月4日、雌2001年11月22日~12月6日)

試験方法： PEG 300を媒体として用い、10 mL/kgの容量で一晩絶食後に2000 mg/kgの投与用量で経口投与した。

試験項目： 中毒症状及び死亡を14日間にわたって観察した。投与前、投与7日及び14日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
症状発現時間及び消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

臨床症状；投与による症状は認められなかった。

剖検所見；剖検時に肉眼的異常所見はなかった。

8.10.10 の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 No. TM-10)

試験機関

報告書作成年 2002年 [GLP 対応]

検体純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA98、TA100 の 4 株及びトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 uvrA 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化酵素系 (S9 Mix) の存在下または非存在下で、Ames 等の方法で復帰変異誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解し、33~5000 µg/Plate の範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 連性とし、2 回行った。

用量設定根拠 :

試験結果 : 次表に示す様に、検体では S9 Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても溶媒対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。これに対し、陽性対照として用いた NaN₃、4-NOPD、MMS では S9 Mix の無添加において、また 2AA では S9 Mix の添加により復帰変異コロニー数の増加が認められた。

結論 : 以上の結果より、検体は本試験条件下において復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I 結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	S9 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	
陰性対照	0	-	148	12	53	20	10	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	126	11	49	16	9	
検体	33	-	157	11	52	16	7	
	100	-	142	12	51	19	13	
	333	-	141	11	46	18	12	
	1000	-	155	8	42	16	14	
	2500	-	135	7	53	20	9	
	5000	-	146	11	46	20	9	
陰性対照	0	+	167	12	60	28	17	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	195	16	53	27	13	
検体	33	+	166	17	50	29	14	
	100	+	169	15	58	31	10	
	333	+	173	17	44	41	15	
	1000	+	167	9	53	38	11	
	2500	+	156	8	51	29	12	
	5000	+	151	12	54	29	12	
陽性対照	NaN ₃	-	740	1323				
	4-NOPD	50	-				63	
		10	-				182	
	MMS	-			885			
	2-AA	2.5	+	848	319		855	144
		10	+			294		

数値は3枚のプレートの平均値を示す

NaN₃: Sodium azide

4-NOPD: 4-Nitro-o-phenylene-diamine

MMS: Methyl methane sulfonate

2-AA: 2-Aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 II 結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	S9 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	
陰性対照	0	-	141	11	54	20	6	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	134	11	55	19	6	
検体	33	-	138	12	52	19	5	
	100	-	124	13	54	16	5	
	333	-	128	14	45	16	5	
	1000	-	106	15	45	13	5	
	2500	-	106	14	45	17	6	
	5000	-	96	9	47	15	6	
陰性対照	0	+	159	11	58	22	10	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	159	10	57	24	7	
検体	33	+	162	16	67	21	9	
	100	+	150	12	62	18	9	
	333	+	159	11	57	21	8	
	1000	+	149	13	52	19	10	
	2500	+	142	12	57	18	12	
	5000	+	135	11	45	18	11	
陽性対照	NaN ₃	10	-	987	954			
	4-NOPD	50	-				53	
		10	-				179	
	MMS	4	-			241		
	2-AA	2.5	+	1400	264		775	135
		10	+			298		

数値は3枚のプレートの平均値を示す

NaN₃: Sodium azide

4-NOPD: 4-nitro-o-phenylene-diamine

MMS: Methyl methane sulfonate

2-AA: 2-aminoanthracene

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.11 のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験
(資料 No. TM-11)

試験機関

報告書作成年 2003 年

検体純度：

試験動物： Wistar 系ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与開始時 6 週齢

試験期間： 13 週間 (雄：2000 年 12 月 7 日～2001 年 3 月 8 日)

(雌：2000 年 12 月 7 日～2001 年 3 月 9 日)

試験方法： 検体を雄に対しては 0、50 及び 2000 ppm、雌に対しては 0、200 及び 5000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に全量調製した。調製した飼料は 1 回分の使用量ごとにビニール袋に分封し、-20℃の冷凍庫で使用まで保存した。

用量設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

観察・検査項目及び結果：

死亡率； 生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡数を以下に示す。

投与量 (ppm)		0	50	200	2000	5000
死亡率(%)	雄	0/5	1/5	—	0/5	—
	雌	0/5	—	0/5	—	0/5

a/b：死亡数／全動物数

投与 8 週目に 50 ppm 投与群の雄 1 例を切迫殺した。その他の群では死亡は認められなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。

投与 8 週目に 50 ppm 投与群の雄 1 例で、自発運動の低下、被毛の汚れ及び褐色尿が観察された。これらの変化は投与用量との関連性がなく、偶発性のものと判断した。その他の投与群に異常はなかった。

体重変化；投与開始時および 1 週間毎に、すべての動物の体重を測定した。

いずれの群においても、対照群の体重と同等の値で推移した。

摂餌量； 全動物について、毎週 1 回、連続 3 日分または 4 日分の個体別摂餌量を測定した。

平均摂餌量は、全投与期間を通していずれの群においても同等であった。

摂餌効率；各週毎に、群平均体重増加量をそれぞれの群平均摂餌量で除して算出した。

全投与期間を通算した総平均摂餌効率は、いずれの群においても同等であった。

検体摂取量；検体の設定混餌濃度、群平均摂餌量及び群平均体重から毎週算出した。

投与期間中 (13 週間)の平均検体摂取量は以下の通りであった。

群 (ppm)		50	200	2000	5000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.56	—	135	—
	雌	—	16.5	—	411

血液学的検査；投与終了時に全動物から採血し、以下の項目を検査した。

赤血球数(RBC)、血色素量(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(PLT)、網状赤血球数(Reti)、白血球数(WBC)、白血球百分比(WBC Differ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目	性別	雄		雌	
	群 (ppm)	50	2000	200	5000
WBC		↓76			
Reti			↑112		

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↓↑, $p < 0.05$

雄の 50 ppm 投与群で白血球数が有意に減少した。この変化は用量相関性がないため、偶発的なものと考えた。雄の 2000 ppm 投与群で網状赤血球が有意に増加した。この変化は他の関連項目の変化を伴っていないため、偶発的なものと考えた。

血液生化学的検査；投与終了時に全動物について、以下の項目を検査した。

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)、アルカリホスファターゼ(ALP)、 γ -グルタミルトランスパプチダーゼ(γ -GTP)、プチリルコリンエステラーゼ(ChE)、クレアチンホスホキナーゼ(CK)、総コレステロール(TCh)、遊離コレステロール(FCh)、総コレステロール/遊離コレステロール比(TCh/FCh)、高比重リポタンパクコレステロール(HDL)、トリグリセライド(TG)、リン脂質(PL)、総ビリルビン(T.BIL)、総蛋白(TP)、アルブミン(ALB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、グルコース(GLU)、無機リン(IP)、カルシウム(Ca)、鉄(Fe)、不飽和鉄結合能(UIBC)、鉄飽和率($Fe/(Fe+UIBC)$)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目	性別	雄		雌	
	群(ppm)	50	2000	200	5000
T.BIL				↑133	

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↑, $p < 0.05$

血液生化学的検査において、雌の 200 ppm 投与群で総ビリルビンが有意に増加した。これらの変化は用量との関連性がないため、偶発的なものと考えられた。

臓器重量；試験終了時に全動物の下記臓器の重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓(両側)、副腎(両側)、精巣(両側)、卵巣(両側)、胸腺、脾臓、心臓、脳全ての測定臓器において、統計学的に有意な絶対重量および対体重比の変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

肉眼病理学的検査；途中切迫殺動物及び試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

以下の表に記録された全ての所見を示す。

性別	雄				雌		
	0	50	2000	0	200	5000	
転帰	TK	KE	TK	TK	TK	TK	
所見\検査動物数	5	1	4	5	5	5	
心のう水貯留	0	1	0	0	0	0	
胸水貯留	0	1	0	0	0	0	
肺水腫	0	1	0	0	0	0	
肝臓 小葉像明瞭化	0	1	0	0	0	0	
肝臓 総胆管拡張	0	1	0	0	0	0	
脾臓 腫大	0	1	0	0	0	0	
腎臓 白点散在	0	1	0	0	0	0	
膀胱 腔拡張	0	0	1	0	0	0	
皮膚 びらん、左後肢	0	0	0	1	0	0	

TK：最終計画殺、KE：切迫殺

投与8週目に切迫殺した50 ppm群の雄1例において、心のう水貯留、胸水貯留、肺水腫、肝臓における小葉像明瞭化及び総胆管拡張、脾臓の腫大ならびに腎臓における白点散在が認められた。最終計画殺した50 ppm群の雄1例において膀胱の腔拡張が、2000 ppm群の雄1例において皮膚のびらんが認められた。これらは病理組織学的検査の結果からいずれも自然発生性/偶発性の所見と考えられた。

病理組織学的検査；全動物について、以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

高用量群（雄2000 ppm、雌5000 ppm）；

脳、下垂体、胸腺、甲状腺および上皮小体、副腎、脾臓、骨および骨髄(胸骨)、リンパ節(腸間膜)、心臓、唾液腺(顎下腺)、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、小腸(十二指腸、回腸および空腸)、大腸(盲腸、結腸および直腸)、肺(気管支含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮(体部および頸部)、膈、眼球、ハーダー腺、異常所見部位

低用量群（雄50 ppm、雌200 ppm）；

甲状腺および上皮小体、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、精巣上体、卵巣

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に観察された全ての所見を表す。

性別		雄				雌		
		0	50		2000	0	200	5000
投与量 (ppm)		0	50		2000	0	200	5000
転帰		TK	KE	TK	TK	TK	TK	TK
肺	検査動物数	5	—	—	5	5	—	5
	泡沫細胞集簇	2	—	—	3	1	—	2
肝臓	検査動物数	5	1	4	5	5	5	5
	総胆管拡張	0	1	0	0	0	0	0
	胆管周囲炎	0	1	0	0	0	0	0
	髓外造血亢進	1	0	0	0	0	0	0
精巣上体	検査動物数	5	1	4	5	—	—	—
	精子肉芽腫	1	0	0	2	—	—	—
腎臓	検査動物数	5	1	4	5	5	5	5
	尿細管変性	0	1	0	0	0	0	0
皮膚	検査動物数	—	—	—	1	—	—	—
	皮膚炎	—	—	—	1	—	—	—

TK：最終計画殺、KE：切迫殺

ほぼ全ての群において組織学的変化が散見されたが、本系統の同一週齢で認められる自然発生ならびに偶発性のものであり、検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、
のラットに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験における影響は認められなかった。

従って、無毒性量 (NOAEL)は雄では 2000 ppm (135 mg/kg/day)、雌では 5000 ppm (411 mg/kg/day)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石原産業株式会社にある。

8.10.12 のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験
(資料 No. TM-12)

試験機関

報告書作成年 2003 年

検体純度：

試験動物： Wistar 系ラット、1 群雌雄各 5 匹、投与開始時 6 週齢

試験期間： 13 週間 (雄：2000 年 12 月 7 日～2001 年 3 月 8 日)

(雌：2000 年 12 月 7 日～2001 年 3 月 9 日)

試験方法： 検体を雄に対しては 0、50 及び 2000 ppm、雌に対しては 0、200 及び 5000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は投与開始前に全量調製した。調製した飼料は 1 回分の使用量ごとにビニール袋に分封し、-20℃の冷凍庫で使用まで保存した。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

死亡率： 生死を毎日観察した。

試験終了時の死亡率を以下に示す。

投与量 (ppm)		0	50	200	2000	5000
死亡率(%)	雄	0	0	—	0	—
	雌	0	—	0	—	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

いずれの投与群においても、死亡は発生しなかった。

一般状態；一般状態を毎日観察した。

いずれの投与群においても異常はなかった。

体重変化；投与開始時および1週間毎に、すべての動物の体重を測定した。

いずれの群においても、対照群の体重と同等の値で推移した。

摂餌量；全ケージについて、毎週1回、連続3日分または4日分の個体別摂餌量を測定した。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

性別	雄		雌	
	50	2000	200	5000
週\投与量 (ppm)				
1	↓92		↓91	
6		↓91		
総平均	97	94	94	98

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↓, $p < 0.05$; ↓↓, $p < 0.01$

雄の 50ppm 群および雌の 200ppm 群で、投与 1 週時に摂餌量の有意な減少が認められた。また、雄の 2000ppm 群で、投与 6 週時に摂餌量の有意な減少が認められた。この変化は一貫性がないことから偶発性のものと考えられる。

摂餌効率；各週毎に、群平均体重増加量をそれぞれの群平均摂餌量で除して算出した。

全投与期間を通算した総平均摂餌効率は、いずれの群においても同等であった。

検体摂取量；検体の設定混餌濃度、群平均摂餌量及び群平均体重から毎週算出した。

投与期間中 (13 週間) の平均検体摂取量は以下の通りであった。

群 (ppm)		50	200	2000	5000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	3.42	—	136	—
	雌	—	15.9	—	409

血液学的検査；投与終了時に全動物から採血し、以下の項目を検査した。

赤血球数(RBC)、血色素量(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(PLT)、網状赤血球数(Reti)、白血球数(WBC)、白血球百分比(WBC Differ)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目	性別	雄		雌	
	群 (ppm)	50	2000	200	5000
WBC Differ, monocyte		↓55			

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↓, $p < 0.05$

雄の 50 ppm 投与群で白血球百分比の単核球が有意に減少した。この変化は用量との関連性がないため、偶発的なものと考えられた。

血液生化学的検査；投与終了時に全動物について、以下の項目を検査した。

グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GTP)、ブチリルコリンエステラーゼ(ChE)、クレアチンホスホキナーゼ(CK)、総コレステロール(TCh)、遊離コレステロール(FCh)、総コレステロール/遊離コレステロール比(TCh/FCh)、高比重リポタンパクコレステロール(HDL)、トリグリセライド(TG)、リン脂質(PL)、総ビリルビン(T.BIL)、総蛋白(TP)、アルブミン(ALB)、アルブミン/グロブリン比(A/G)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、グルコース(GLU)、無機リン(IP)、カルシウム(Ca)、鉄(Fe)、不飽和鉄結合能(UIBC)、鉄飽和率($Fe/(Fe+UIBC)$)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩素(Cl)

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

項目	性別	雄		雌	
	群 (ppm)	50	2000	200	5000
BUN				↓86	
CRE				↓91	
GLU					↓79

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↓, $p < 0.05$

血液生化学的検査において、雌の 200 ppm 投与群で尿素窒素およびクレアチニンが有意に減少した。これらの変化は用量との関連性がないため、偶発的なものと考えられた。雌の 5000 ppm 投与群でグルコースが有意に減少したが、その他の関連項目に変化はなく、偶発的な所見と考えられた。

臓器重量；試験終了時に全動物の下記臓器の重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓(両側)、副腎(両側)、精巣(両側)、卵巣(両側)、胸腺、脾臓、心臓、脳

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

臓器	性別	雄		雌	
	群 (ppm)	50	2000	200	5000
脳	相対重量				↑105

表中の数値は対照群値に対する変動率 (%)を表わす。

Dunnett の多重比較法 ↑, $p < 0.05$

5000 ppm 群の雌において観察された脳の相対重量の有意な増加は、関連する病理組織所見を欠くことから偶発的なものと考えられた。

肉眼病理学的検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

以下の表に記録された全ての所見を示す。

性別	雄			雌		
	0	50	2000	0	200	5000
投与量 (ppm)	0	50	2000	0	200	5000
所見\検査動物数	5	5	5	5	5	5
精巣上体 黄色結節	0	1	1	—	—	—
腎臓 腎盂拡張	0	0	1	0	0	1

50 ppm 群の雄において、1 例に腎臓の黄色結節が認められた。同じ所見が 2000 ppm 群の雄 1 例においても認められた。2000 ppm 群の雄において、1 例に腎盂拡張が認められた。同じ所見が 5000 ppm 群の雌 1 例においても認められた。これらの変化は病理組織学的検査の結果から自然発生性/偶発性の所見と考えられた。

病理組織学的検査；全動物について、以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

高用量群 (雄 2000 ppm、雌 5000 ppm)：

脳、下垂体、胸腺、甲状腺および上皮小体、副腎、脾臓、骨および骨髄(胸骨)、リンパ節(腸間膜)、心臓、唾液腺(顎下腺)、胃(前胃および腺胃)、肝臓、膵臓、小腸(十二指腸、回腸および空腸)、大腸(盲腸、結腸および直腸)、肺(気管支含む)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精のう、凝固腺、卵巣、子宮(体部および頸部)、陰、眼球、ハーダー腺、異常所見部位

低用量群 (雄 50 ppm、雌 200 ppm)：

甲状腺および上皮小体、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、精巣上体、卵巣

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以下の表に観察された全ての所見を表す。

性別		雄			雌		
		0	50	2000	0	200	5000
甲状腺	検査動物数	5	5	5	3	4	5
	異所性胸腺	0	1	0	0	0	0
脾臓	検査動物数	5	5	5	5	5	5
	褐色色素沈着	0	0	1	0	0	0
肺	検査動物数	5	—	5	5	—	5
	泡沫細胞集簇	2	—	3	1	—	2
肝臓	検査動物数	5	5	5	5	5	5
	髓外造血亢進	1	0	0	0	0	0
精巣上体	検査動物数	5	5	5	—	—	—
	精子肉芽腫	1	1	1	—	—	—
腎臓	検査動物数	5	5	5	5	5	5
	好塩基性尿細管	0	0	1	0	0	0
	腎盂腎炎	0	0	0	0	0	1

全ての群において組織学的変化が散見されたが、本系統の同一週齢で認められる自然発生性/偶発性のものであり、検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、
のラットに対する飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験において、投与に起因した影響は認められなかった。

従って、無毒性量 (NOAEL)は雄では 2000 ppm (136 mg/kg/day)、雌では 5000 ppm (409 mg/kg/day)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石原産業株式会社にある。

8.11 製剤の毒性

8.11.1 10%WG 製剤の毒性

8.11.1.1 10%WG のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No.TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度： フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)

組成： フロニカミド原体 ;
 鋳物質微粉、界面活性剤等 ;

試験動物： HanBrl : Wist 系ラット、投与時 雄 8 週齢 雌 10 週齢、体重雄 193.1~204.1 g
 雌 173.8~176.6 g、1 群雌雄 3 匹

試験期間： 1 回投与後 14 日間観察

試験方法： 再蒸留水を媒体として用い、10 mL/kg の容量で一晩絶食後に経口投与

試験項目： 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14 日目に体重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡	なし
症状	なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡はなく、中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織・器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.2 10%WG のラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度: フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)

組成: フロニカミド原体 ;
 鋳物質微粉、界面活性剤等 ;

試験動物: HanBrl: Wist 系ラット、投与時 雄 9 週齢 雌 12 週齢、体重雄 220.7~233.7 g
 雌 196.3~225.9 g、1 群雌雄 5 匹

試験期間: 1 回投与後 14 日間観察

試験方法: 検体を再蒸留水 (4 mL/kg-bw) に溶解して剃毛した背部中央、体表面積の 10% (雄 6×
 8 cm、雌 5×7 cm) に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目: 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 7 日及び 14 日目に体
 重を測定した。観察終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果:

投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡	なし
症状	なし
最大無作用量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中に死亡例はなく中毒症状も認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、雌 1 匹に投与部位の皮膚に処理後 7 日目から 11 日後にかけて軽度の鱗屑が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.3 10%WG のラットにおける急性吸入毒性試験 (ダスト) (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度: フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)

組成: フロニカミド原体 ;
鉍物質微粉、界面活性剤等 ;

試験動物: HanBrl:WIST (SPF)系ラット、1群雌雄各 5 匹、投与時雄 9 週齢、雌 11 週齢、
体重雄 247.4~258.5 g、雌 199.0~223.3 g、

試験期間: 単回 (4 時間)暴露後 14 日間観察

試験方法: 検体をボール粉碎装置で微粉碎したエアロゾルは、微細ジェット粉碎装置を接続した
回転ブラシエアロゾル発生装置を用い、検体を実測濃度 2.547 mg/L の濃度でダスト
を発生させ、4 時間に亘り鼻部暴露した。

暴露条件:

設定濃度 (mg/L)	4.616
実測濃度 (mg/L)	2.547
粒子径分布 (%) ¹⁾	
19.2 以上	5.12
9.6 ~ 19.2	7.32
4.8 ~ 9.6	34.86
2.4 ~ 4.8	30.11
1.2 ~ 2.4	13.21
0.6 ~ 1.2	7.01
0.3 ~ 0.6	1.68
0.3 以下	0.7
空気力学的質量中位径 (MMAD) (μm)	3.95~3.98
吸入可能な粒子 (7 μm 以下)の割合 (%)	約 75
チャンバー容積 (L)	32
チャンバー内通気量 (L/分)	1.0
暴露条件	ダスト、4 時間、鼻部暴露

1) 分級捕手装置を用い 2 回測定した平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験項目： 空気中の検体濃度、同粉体粒度分布等の暴露条件を測定し、同粉体の空気力学的質量中位径 (MMAD)を算出した。動物については次のように観察及び測定を行った。

一般状態及び生死：暴露中、暴露終了時及び暴露終了 1 時間後、翌日から 14 日までは毎日観察した。

体重： 暴露開始前、暴露 3、7 及び 14 日後に測定した。

剖検： 全例について暴露 14 日後に屠殺して観察した。

試験結果：

死亡率 (死亡数/供試数)	雌雄共 0/5
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄共 >2.547
LC ₀ (mg/L)	雌雄共 2.547

一般状態；唯一の臨床所見は流涎 (軽度から中等度)であり、全ての動物で暴露開始後約 2 時間から 3 時間の間に観察された。

体重； 試験 1 日目 (暴露前)から 4 日目 (暴露後 3 日)にかけて、5 匹中 4 匹の雄で軽度から中等度の一時的な体重減少が、また 2 匹の雌で中等度から高度の体重減少が認められた。一時的な体重減少と検体投与との因果関係は不明であった。

剖検； 全例に異常は認められなかった。

結論； 検体の空気力学的質量中位径は 3.95~3.98 μm であり吸入可能であった。4 時間暴露の結果、LC₅₀ 値は雌雄共 2.547 mg/L 以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.4 10%WG のウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 No. TF-1.4)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度： フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)

組成：フロニカミド原体 ;
鋳物質微粉、界面活性剤等 ;

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ、11~12 週齢、体重 2150~2389 g、
1 群 3 匹 (雄 1 匹、雌 2 匹)

試験期間： 7 日間観察

投与方法： 検体 0.5 g を蒸留水で湿らせ、刈毛した動物の背中の皮膚 (2.5 cm×2.5 cm)適用し、
半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は温水で湿らせたペーパー
タオルで拭き取った。

観察項目： 暴露終了後 1, 24, 48, 72 時間及び 7 日後に適用部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫)
の有無等を観察し、EEC 基準 (1992)に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高評点*	暴露後時間				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
紅斑/痂皮	4	1.3	1.0	0.3	0.3	0.0
浮腫	4	1.7	0.3	0.0	0.0	0.0
合計		3.0	1.3	0.3	0.3	0.0

注) 表の点数は 3 匹の平均値である。

*：判定基準の最高評点

暴露 1 時間後に、ごく軽度から軽度で識別できる紅斑が全例に認められたが、2
例は 48 時間後に、他の 1 例は 7 日後に消失した。また、暴露 1 時間後にごく軽度か
ら軽度の浮腫が全例に認められたが 48 時間後には消失した。

以上の結果から、EEC の基準によればフロニカミド 10%WG 製剤はウサギの皮膚に対
して刺激性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.5 10%WG のウサギを用いた眼刺激性試験 (非洗眼) (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度: フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)

組成: フロニカミド原体 ;

鉍物質微粉、界面活性剤等 ;

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、11~12 週齢、体重 2193~2380 g、

1 群 3 匹 (雄 1 雌 2)

試験期間: 投与後 21 日間観察

投与方法: 検体 0.1 g を左眼に適用し、適用後の洗浄は行わなかった。

観察項目: 適用後 1、24、48 及び 72 時間後及び 7、10、14、17 及び 21 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、EEC 基準 (1992) に従って採点した。

試験結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高 評点*	適用後時間									
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	10 日	14 日	17 日	21 日	
角膜	程度	4	0	0	0.7	0.7	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
混濁	面積	4	0	0	2.7	2.7	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
結膜	発赤	3	2.0	2.0	2.3	2.3	1.3	1.3	1.0	0	0
	浮腫	4	3.0	2.3	2.0	1.7	0.3	0.3	0.3	0	0
合計			5.0	4.3	7.7	7.4	3.2	3.2	2.9	1.6	1.6

注) 表の点数は 3 匹の平均値である。

*: 判定基準の最高評点

角膜の刺激性変化が適用 48 時間後に 2 匹に認められ、1 匹は 7 日後に回復したが他の 1 匹は 21 日後まで持続した。虹彩の刺激性変化は全ての動物に認められなかった。結膜の刺激性変化は発赤及び浮腫が適用 1 時間後に全ての動物に認められ、この変化は 14 日後まで持続した。

以上の結果から、フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤) はウサギの眼に対して中等度から重度の刺激性があると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

申請者計算による表を添付する。

項目			最高 評点	適用後時間								
				時間				日				
				1	24	48	72	7	10	14	17	21
非洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度(E)	4	0	0	0.7	0.7	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
		面積(F)	4	0	0	2.7	2.7	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3
	加重評点 (E×F×5)		80	0	0	9.5	9.5	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	虹彩 (D)		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	加重評点 (D×5)		10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤(A)	3	2	2	2.3	2.3	1.3	1.3	1.0	0	0
		浮腫(B)	4	3	2.3	2.0	1.7	0.3	0.3	0.3	0	0
	加重評点 (A+B)×2		16	10	8.6	8.6	8.0	3.2	3.2	2.6	0	0
	合計加重評点		104	10	8.7	18.1	17.5	5.2	5.2	4.6	2.0	2.0

結膜の中で分泌物の観察が行われていないため合計加重評点を104にした(通常110)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.6 10%WG のウサギを用いた眼刺激性試験 (洗眼) (資料 No. TF-1.6)

試験機関

報告書作成年 2001年 [GLP 対応]

検体純度： フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)
組成： フロニカミド原体 ;
 鋳物質微粉、界面活性剤等 ;

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ、11~12 週齢、体重 2203~2392 g、
 1 群 3 匹 (雄 1 雌 2)

試験期間： 投与後 17 日間観察

投与方法： 検体 0.1 g を左眼に適用し、適用 30 秒後に 30 秒間生理食塩水で洗浄した。

観察項目： 適用後 1、24、48 及び 72 時間後及び 7、10、14 及び 17 日後に角膜、虹彩、結膜の
 刺激性変化を観察し、EEC 基準 (1992)に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高 評点*	適用後時間								
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	10 日	14 日	17 日	
角膜 混濁	程度	4	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0	0	0
	面積	4	1.3	1.3	1.3	1.3	0	0	0	0
虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	2.0	2.3	2.3	1.7	0.7	0.3	0.3	0
	浮腫	4	2.0	1.3	1.0	0.3	0	0	0	0
合計		5.6	5.2	4.9	3.6	0.7	0.3	0.3	0	

注) 表の点数は 3 匹の平均値である。

*: 判定基準の最高評点

角膜の刺激性変化が 1 匹に適用 72 時間後まで認められた。虹彩の刺激性変化は全ての動物に認められなかった。結膜の刺激性変化は発赤が適用 1 時間後から 72 時間後まで全ての動物に認められ、1 匹は 14 日後まで持続した。また、結膜浮腫が適用 1 時間後及び 24 時間後に全ての動物に認められたが 7 日後には回復した。

以上の結果から、フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)をウサギの眼に投与後眼を洗浄した場合、ウサギの眼粘膜に対して中等度の刺激性があると判断された。また、非洗浄試験と比較した場合、洗浄効果があると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

申請者計算による表を添付する。

項目			最高 評点	適用後時間							
				時間				日			
				1	24	48	72	7	10	14	17
非洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度(E)	4	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0	0	0
		面積(F)	4	1.3	1.3	1.3	1.3	0	0	0	0
	加重評点 (E×F×5)		80	2.0	2.0	2.0	2.0	0	0	0	0
	虹彩(D)		2	0	0	0	0	0	0	0	0
	加重評点(D×5)		10	0	0	0	0	0	0	0	0
	結膜	発赤(A)	3	2	2.3	2.3	1.7	0.7	0.3	0.3	0
		浮腫(B)	4	2	1.3	1	0.3	0	0	0	0
	加重評点 (A+B)×2		16	8	7.2	6.6	4	1.4	0.6	0.6	0
	合計加重評点		104	10	9.2	8.6	6	1.4	0.6	0.6	0

結膜の中で分泌物の観察が行われていないため合計加重評点を104にした(通常110)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.11.1.7 10%WG 1000 倍希釈液のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.7)

試験機関

報告書作成年 2002 年 [GLP 対応]

検体純度： フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)1000 倍水希釈液

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ、10-12 週齢、体重 1859~2350 g、
1 群 3 匹 (雄 1 雌 2)

試験期間： 投与後 72 時間観察

投与方法： 検体 0.1 mL を左眼に適用し、適用後の洗浄は行わなかった。

観察項目： 適用後 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、EEC 基準 (1992)に従って採点した。

試験結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目		最高評点*	適用後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
	面積	4	0	0	0	0
虹彩		2	0	0	0	0
結膜	発赤	3	0.7	0.7	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計			0.7	0.7	0	0

注)表の点数は 3 匹の平均値である。

*: 判定基準の最高評点

角膜及び虹彩の刺激性変化は、いずれの観察時間においても認められなかった。結膜の刺激性変化として 2 匹の動物に軽度の発赤が適用 1 時間後及び 24 時間後に認められたが、この変化は 48 時間後には回復した。

以上の結果から、フロニカミド 10%WG (顆粒水和剤)の 1000 倍希釈液はウサギの眼に対して刺激性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

申請者計算による表を添付する。

項目		最高 評点	適用後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度(E)	4	0	0	0	0
		面積(F)	4	0	0	0	0
	加重評点 (E×F)×5		80	0	0	0	0
	虹彩 (D)		2	0	0	0	0
	加重評点 (D×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(A)	3	0.7	0.7	0	0
		浮腫(B)	4	0	0	0	0
	加重評点 (A+B)×2		14	1.4	1.4	0	0
	合計加重評点		104	1.4	1.4	0	0

結膜の中で分泌物の観察が行われていないため合計加重評点を104にした(通常110)。