

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

マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験  
(発がん性試験のための用量設定試験)

(毒性資料No.原体-13)

試験機関： [GLP 対応]

報告書作成年： 1995 年

検体の純度：

試験動物： CD-1[ICR]/BR マウス雌雄各群 15 匹

試験開始時； 雌雄約 8 週齢(平均体重；雄 28.9g, 雌 21.7g)

投与期間： 90 日間(1990 年 10 月～1991 年 1 月)

投与方法：

検体をアセトン/コーン油に溶解後、0、100、400、1600 及び 4000ppm の用量になるように飼料中に混合し 90 日間投与した。尚、対照群(0ppm)の餌は検体を含まない以外は全て投与群の飼料と同様に調製した。飼料は毎週調製した。

投与用量設定の根拠；

観察・検査項目及び結果：

1. 一般症状及び死亡率

臨床症状及び生死を少なくとも 1 日 2 回(週末と祝祭日は 1 回)観察した。全ての動物の詳細な観察として、例えば体表、天然孔、姿勢、一般行動、呼吸及び排泄物などについて、毎週 1 回実施した。認められた観察所見を表 1 に示した。

表 1 観察所見

性別	雄					雌				
	0	100	400	1600	4000	0	100	400	1600	4000
所見/投与量 (ppm)	0	100	400	1600	4000	0	100	400	1600	4000
動物数	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
飼料の食べこぼし	5	8	5	9	14*	11	11	12	15*	15*
旋回行動	0	0	0	1	6*	0	0	0	4*	4*
活動性亢進	0	0	0	9*	15*	0	0	0	11*	15*
頭部の揺れ	0	0	0	9*	15*	0	0	0	11*	15*

\*: p<0.05 (カイ二乗検定及び/または Fisher 検定)

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

表 1 に示されるように、食べこぼしの頻度が増加した。また、巡回行動が雌雄 4000ppm、雌 1600ppm で認められた。雌雄 1600 及び 4000ppm では活動性亢進、頭部の揺れも観察された。しかし、組織学的にはこれらの行動変化と結びつくような神経学的病変は認めなかった。

死亡率については雌雄共に投与群と対照群との間に差は認められなかった。

## 2. 体重

各動物の体重を、週 1 回測定した。加えて剖検の直前にも体重を記録し、臓器対体重比の計算に用いた。

その結果、週毎の平均体重の総平均について検体投与群と対照群で比較したところ、統計学的有意ではなかったが、最高投与量 4000ppm の雌雄で総平均体重が、対照群に比して 8% 及び 9% 減少した。しかし、体重の変化は本試験の高用量投与で認められた飼料の嗜好性による食べこぼしの有意な増加によるものと考えられた。1600ppm 以下の投与群では雌雄共に体重への影響は認めなかった。

体重増加状況を図 1、図 2 に示す。

図 1 体重 雄

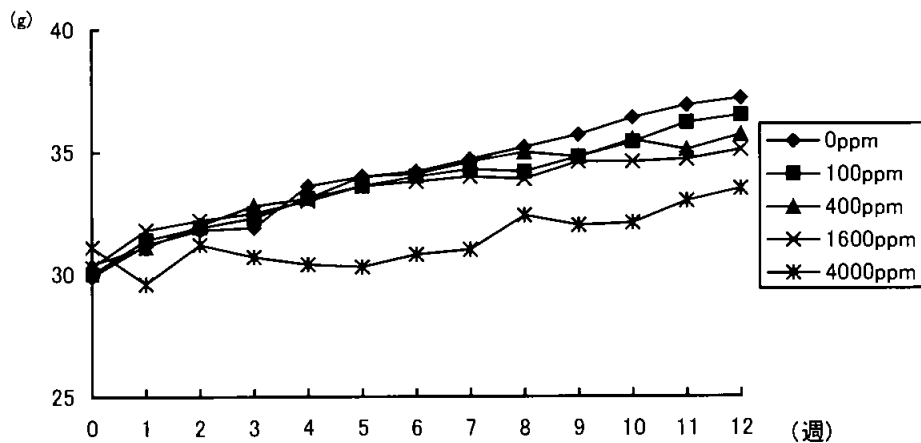
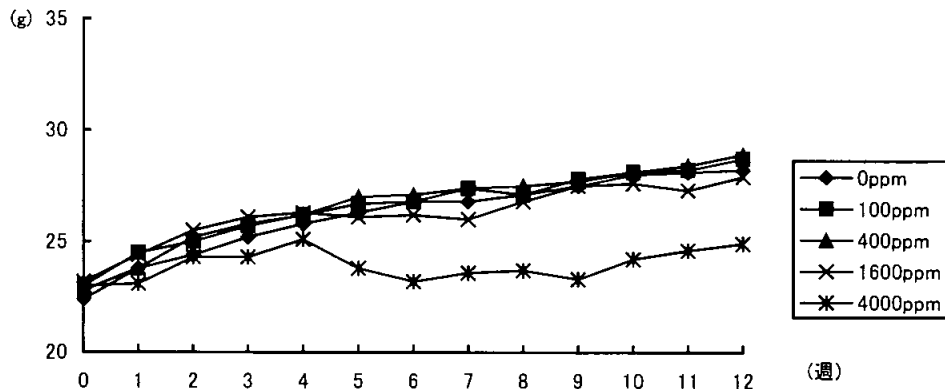


図2 体重 雌



### 3. 摂餌量及び検体摂取量

摂餌量を個体毎に週1回測定した。検体摂取量を表2に示した。

その結果、雌雄100ppm及び400ppm群及び雄1600ppmでは摂餌量に影響は認められなかった。4000ppmの雌雄では各25%及び23%、雌1600ppmでは15%摂餌量の増加が認められた。しかし、これらの変化は検体に関連した摂餌効率の低下でなく、むしろ本試験の高い投与量で認めた飼料の食べこぼし量の増加によるものと考えられた。

表2 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)		100	400	1600	4000
検体摂取量	雄	18.2	64.2	275.1	823.8
	雌	24.5	91.3	431.7	1133.8

### 4. 臨床検査

試験終了時に全生存動物においてCO<sub>2</sub>麻酔下で下大静脈より採血して血液学的及び生化学的検査を実施した。

#### 4-1. 血液学的検査

以下の項目について測定又は算定した。

血小板数(PLTS), 白血球数(WBC), 赤血球数(RBC), ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値(HCT), 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), 白血球分画, 赤血球形態, 網状赤血球数(Ret), ハイイツ小体(HZ)

血液学的検査において、投与に関連した影響は最高用量4000ppmにおいてのみ認められ、雌雄共に血小板数、赤血球数、Hb、HCTが対照群に比して有意な低値を示した。

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表3に示す。

表 3 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌				
	項目/投与量	100ppm	400ppm	1600ppm	4000ppm	100ppm	400ppm	1600ppm	4000ppm
血小板数					↓ 88				↓ 87
赤血球					↓ 91				↓ 92 <sup>k</sup>
Hb					↓ 94				↓ 92 <sup>k</sup>
HCT					↓ 92				↓ 94 <sup>k</sup>
MCH					↑ 103				
網状赤血球				↓ 2.8 <sup>a)</sup>					
赤血球サイズ <sup>b)</sup>				↓ 95		↓ 97			
異型赤血球				↑ 2 <sup>b)</sup>	↑ 3 <sup>b)</sup>				
小赤血球				↑ 1 <sup>b)</sup>					
球状赤血球				↑ 2 <sup>b)</sup>	↑ 3 <sup>b)</sup>				↑ 2 <sup>b)</sup>

↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett, <sup>k</sup>;Bartlett, Kruskal-Wallis+Mann Whitney-U)

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

<sup>a)</sup>平均実測値を示した

<sup>b)</sup>平均実測数を示した

#### 4-2. 血液生化学的検査

以下の項目について測定した。

尿素窒素(BUN), コレステロール(Chol), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT), アルカリホスファターゼ (ALP), チロキシン(T4), トリヨードチロニン(T3)

その結果、雄では 1600ppm 以上で、雌では 4000ppm で血中チロキシン濃度の統計学的に有意な低下が認められた。また、4000ppm で肝に対する影響 (雄の ALP 増加、雌の ASAT 増加) が認められた。

なお、血中甲状腺ホルモン濃度の変動<sup>\*</sup>は、本試験の後に実施されたラットを用いたメカニズム試験 (毒性資料 No. 31) から、二次的に生じたものと考えられた。

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表 4 に示す。

表 4 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌				
	項目/投与量	100ppm	400ppm	1600ppm	4000ppm	100ppm	400ppm	1600ppm	4000ppm
T4				↓ 72	↓ 46				↓ 41
T3						↑ 118			↓ 75
ALP					↑ 166 <sup>k</sup>				
ASAT									↑ 133

↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett, <sup>k</sup>;Bartlett, Kruskal-Wallis+Mann Whitney-U)

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

表 5 に T4 値、T3 値および甲状腺でみられた病理組織学的所見の頻度を示す。

表 5 T4 (µg/dL) 値/ T3 (ng/dL) 値および甲状腺で有意差のみられた病理組織学的所見

性別	雄					雌				
ppm	0	100	400	1600	4000	0	100	400	1600	4000
T4	4.42	4.63	3.87	3.18	2.05	3.91	3.96	3.41	3.12	1.61
				↓72	↓46					↓41
T3	0.47	0.45	0.46	0.44	0.48	0.40	0.47	0.43	0.42	0.30
							↑118			↓75
①	15	15	14	15	15	15	15	15	15	15
②	2	1	3	7	10*	0	0	0	0	0
③	0	0	2	9*	12*	0	0	0	2	8*

T3 /T4 ↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett), 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の、上段は;実測値

病理組織学的検査 \* : p<0.05 (Fisher 検定) ①検査数, ②コロイド増加, ③ろ胞細胞過形成

表 5 に示すように、この試験では T4 の統計学的に有意な低下のみられた用量は、ろ胞細胞の過形成について統計学的有意な頻度の増加が認められた用量と一致していた。以上のことから、表 5 に示すとおり、T3 および T4 に関する無毒性量は、雄では 400ppm、雌では 1600ppm であるものと判断した。

## 5. 剖検

全ての動物について剖検を実施した。

投与に関連した変化は認められなかった。

## 6. 臓器重量

全ての動物について、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、精巣の重量を測定し、対体重比も算出した。

1600ppm 及び 4000ppm 投与した動物の肝臓、腎臓及び脾臓重量において、統計学的に有意な変化が認められた。

雌雄 400ppm 以上で有意/または有意差を伴わない肝重量増加が認められ、腎実重量が雄 1600ppm 以上で有意に減少し、雌 4000ppm では腎対体重比が有意に増加した。雄の脾臓重量は 4000ppm で有意に増加し、1600 及び 400ppm では有意差のない増加が認められた。

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

表 6 に統計学的に有意差の認められた項目を示した。

表 6 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		100	400	1600	4000	100	400	1600	4000
体重					↓ 89				↓ 86
肝臓	実重量			↑ 126	↑ 158				↑ 132
	対体重比		↑ 113	↑ 134	↑ 176			↑ 114	↑ 151
腎臓	実重量			↓ 86	↓ 87				
	対体重比								↑ 110
脾臓	実重量				↑ 121				
	対体重比				↑ 134				
卵巣	実重量	-	-	-	-				↓ 76
	対体重比	-	-	-	-				
肺	実重量						↑ 113		
	対体重比				↑ 110				↑ 118
心臓	対体重比				↑ 115				↑ 111
脳	対体重比								↑ 115

↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett, <sup>4</sup>;Bartlett, Kruskal-Wallis+Mann Whitney-U)  
 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を。

申請者注)

## 8. 病理組織学的検査

以下の臓器について 10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定した。尚、個体識別標、膺、外耳道腺、眼窩外涙腺及び包皮腺/陰核腺を除き、常法通りにパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオシン (H&E) で染色した。

副腎、大動脈、骨(大腿骨関節、胸骨、肋骨、脊椎(脊髄含む)、骨髄、脳(大脳、小脳、橋/延髄)、頸部、背部大動脈、精巣上部、食道、眼、眼窩外涙腺、胆嚢、ハーダー氏腺、心臓、腎臓、大腸(盲腸、結腸、直腸)、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(頸部、腸間膜)、乳腺、骨格筋、視神経、坐骨神経、卵巣、脾臓、上皮小体、個体識別部位、下垂体、包皮腺/陰核腺、前立腺、唾液腺、精のう、皮膚、頭蓋骨、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状線、気管、膀胱、子宮、膺、外耳道腺、肉眼的病変部

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

本検体に起因したと考えられた所見は 400～4000ppm 投与した動物の肝臓、脾臓及び甲状腺で認められた。その病理組織学的所見を表 7 に示した。

1600 及び 4000ppm の雌雄の肝臓では肝細胞肥大が対照群に比して有意に増加し、雄 4000ppm では肝単細胞壊死も有意に認められた。脾臓では雌雄共に対照群を含めて髄外造血を認めた例が多かったが、雄 4000ppm においてのみ統計学的有意差を認めた。また、1600ppm 及び 4000ppm の雌の脾臓では色素沈着も有意に認められた。甲状腺濾胞細胞の過形成が雌雄 4000ppm 及び雄 1600ppm で有意に増加した。また、雄 4000ppm の甲状腺ではコロイドの増加も有意であった。

表 7 主要な病理組織学的所見の発生数

性	雄					雌				
	0	100	400	1600	4000	0	100	400	1600	4000
用量 (ppm)										
検査動物数	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
肝 (検査数)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
肝細胞肥大	0	0	1	15*	15*	0	0	2	14*	14*
単細胞壊死	0	1	0	3	5*	0	0	0	0	0
空胞変性	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
脾臓 (検査数)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
髄外造血	5	6	10	10	15*	12	10	10	14	14
色素沈着	0	0	0	0	0	1	2	5	8*	13*
甲状腺 (検査数)	(15)	(15)	(14)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
コロイド増加	2	1	3	7	10*	0	0	0	0	0
濾胞細胞過形成	0	0	2	9*	12*	0	0	0	2	8*

\* : p<0.05 (Fisher 検定)

以上、同系統のマウスを用いる発がん性試験の用量を設定するために本試験を実施した。その結果、4000ppm 投与では雌雄で赤血球数、血小板数、ヘモグロビン及びヘマトクリット、血中チロキシン濃度が低下し、雄で ALP、雌では ASAT が増加した。また、雌雄で肝重量増加、雄では脾臓重量も増加した。組織学的検査では雌雄で肝細胞肥大、甲状腺濾胞細胞の過形成を、雄で肝細胞壊死、脾臓の髄外造血、甲状腺コロイドの増加が認められ、雌では脾臓の色素沈着を示す例が多かった。

1600ppm 投与では、雄で肝重量の有意な増加を認めた。組織学的検査では雌雄で肝細胞肥大がみられ、雄では甲状腺濾胞細胞の過形成、雌では脾臓の色素沈着を示す例が多かった。

400ppm 以下では毒性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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

従って、本試験における無毒性量\*は、雌雄共に 400ppm (雄 ; 64.2mg/kg/日, 雌 : 91.3mg/kg/日) であると判断した。

尚、400ppm において、統計学的有意差は伴わないものの、血中チロキシン濃度に雌雄で統計学的有意差を伴わない低下(対照群に比し雄 88%, 雌 87%)が認められ、また雄の肝対体重比(対照群に比し 113%) が有意な増加を認めたことから、EPA 当局との協議の結果、投与期間がより長期にわたることも考慮に入れて、マウス発がん性試験(毒性資料 No. 原体-20)での最高用量として 400ppm を選択した。

\*申請者注



## (7) 21 日間反復経皮投与毒性

### ラットを用いた 3 週間反復経皮投与毒性試験

(資料 No. 原体-14)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 : 1995 年

検体の純度 :

試験動物 : Sprague-Dawley (Sas:CD (SD)BR) 系ラット、

主群 : 1 群雌雄各 8 匹

回復群 : 1 群雌雄各 8 匹 [3 週間投与後 14 日間の回復期間 (0、1000mg/kg)]

試験開始時 : 雄 8 週齢 (体重 227~274g)

雌 9 週齢 (体重 185~229g)

投与期間 : 3 週間 (1993 年 9 月 13 日実験開始~1993 年 10 月 19 日剖検)

投与方法 : 検体を水道水で湿らせ、0、20、150 及び 1000mg/kg の用量で 3 週間 (1 日 6 時間、週 5 回の曝露、ただし、投与最終週は雄は 7 日、雌は 8 日投与した。 - 雄 : 17 回/21 日、雌 : 18 回/22 日)、ラットの剃毛した背部から側腹部にかけて経皮投与した。毛刈りは最初の投与前とその後は最低 1 週間に 1 回実施した。回復期間についても毎週毛刈りを行った。

用量設定の根拠 :

観察・検査項目及び結果 :

一般症状及び死亡率 ; 一般状態及び生死を少なくとも 1 日 1 回観察した。

投与に関連した一般状態の変化はいずれの投与群においても認められず、また死亡例も認められなかった。

体重 ; 試験開始前、その後は週に 1 回に測定した。

いずれの投与群においても投与に関連した体重の変化は認められなかった。

摂餌量 ; 週に 1 回に測定した。

いずれの投与群においても投与に関連した摂餌量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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液学的検査；全生存動物を対象として、最終投与約 24 時間後一晩絶食させた動物の眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目について測定又は算定した。

赤血球数、ヘモグロビン量(Hb)、ヘマトクリット値(Hct)、白血球数(WBC)、白血球分画、血小板数、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球容積、赤血球形態。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 1 に示す。

表 1 血液学的検査

性別	雄				雌			
	20	150	1000	回復群 1000	20	150	1000	回復群 1000
WBC					↓ 78	↓ 65	↓ 63	
Hct					↓ 97		↓ 97	↓ 96
Hb								↓ 96
白血球分画 分葉核球 (%)				↑ 153				
リンパ球 (%)				↓ 94				

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnett' s test または Mann-Whitney U-tests)

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の。

雌の全投与群において白血球数が対照群と比較して統計学的に有意に減少した。この白血球の減少は、本検体の投与に対する生物学的反応というよりは、むしろ統計学的な変動に起因しているものと考えられた。すなわち、20mg/kg 群の減少は背景データと比較すると対照群の個体毎の変動が少ないことによる統計学的な理由によるものと考えられた。150 及び 1000mg/kg 群の減少は、対照群の平均値が背景データと比較してやや高かったことに加えて、用量に関連した減少は認められなかったこと、回復群及び雄では同様の傾向がみられなかったこと、白血球分画ではいずれの指標にも対照群との差がみられなかったこと、更に本検体による 90 日までの他の試験でも白血球数の減少が認められなかったことから、生物学的に有意な影響とは考えられなかった。雄では白血球数に統計学的に有意な差が認められなかった。

表 2 白血球背景データとの比較 (雌)

	背景 データ	主群				回復群	
		対照群	20mg/kg	150mg/kg	1000mg/kg	対照群	1000mg/kg
平均	9.1	9.9	7.7	6.4	6.2	7.7	7.0
S.D.	2.6	1.0	1.7	2.0	5.0	1.7	2.0
N	26	7	8	7	8	8	8

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

その他に散見された有意差は用量との関連性が認められないことから、偶発的なもので投与による影響とは考えられなかった。

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

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、クレアチンキナーゼ(CK)、乳酸脱水素酵素(LD)、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチターゼ、塩素(Cl)、カルシウム、無機リン、カリウム(K)、ナトリウム(Na)、アルブミン、総ビリルビン(T-Bil)、総コレステロール、クレアチニン、総蛋白、トリグリセリド(TRG)、尿素窒素、グロブリン、グルコース、尿酸、チロキシシン(T4)、遊離チロキシシン(FT4)、トリヨードチロニン、甲状腺刺激ホルモン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表3に示す。

表3 血液生化学的検査

性別	雄				雌			
	20	150	1000	回復群 1000	20	150	1000	回復群 1000
T4			↓ 51				↓ 63	
FT4		↓ 90	↓ 78				↓ 70	
Na						↓ 99		
Cl						↑ 102	↑ 103	
CK							↓ 40	
LD						↓ 57	↓ 37	
T-Bil							↓ 50	
K								↓ 94
TRG								↑ 125

↑ ↓ : p<0.05 (Dunnetts-test または Mann-Whitney U-tests)

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の。

1000mg/kg 群雌雄で、チロキシシン及び遊離チロキシシンの統計学的に有意な減少、また、150mg/kg 群雄に遊離チロキシシンの有意な減少が認められ、投与に関連した変化と考えられた。回復群では雌雄いずれにも甲状腺ホルモンの変化は認められなかった。これらの影響は、検体投与による直接的な影響というよりは肝薬物代謝酵素誘導に伴った適応反応としての間接的な影響であると考えられた。

1000mg/kg 群雌で乳酸脱水素酵素及びクレアチンキナーゼが統計学的に有意に減少したが、通常の範囲内にあることから、生物学的に有意な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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。


この他に認められた有意差は、用量関連性がない、他の関連する項目に変化が認められない、通常の範囲内で臨床的に有意な変化でない等の理由から、投与による影響とは考えられなかった。

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

肝臓、心臓、脾臓、腎臓、卵巣、精巣、副腎、脳、肺、甲状腺。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表4に示す。

表4 臓器重量

性別		雄				雌			
投与量(mg/kg)		20	150	1000	回復群 1000	20	150	1000	回復群 1000
最終体重									↓94
肝臓	実重量		↑119	↑119					
	対体重比		↑117	↑120					
心臓	実重量				↓84				
	対体重比	↑115			↓83				
肺	実重量								
	対体重比				↓90				↑108
副腎	実重量								↓88
	対体重比								

↑↓：p<0.05 (Dunnetts-test または Mann-Whitney U-tests)

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の。

1000及び150mg/kg群雄の肝臓の実重量及び対体重比ともに増加し投与による変化と考えられた。回復群及び投与群雌では肝重量の変化は認められなかった。その他に散見された変化は用量関連性もなく偶発的なものと考えられた。

肉眼的病理検査；投与終了時に全動物を、CO<sub>2</sub>により窒息死させ、臓器・組織の詳細な病理解剖学的検査を実施した。

特記すべき臓器の変化は認められなかった。

病理組織学的検査；全動物から以下の臓器を採取して、10%緩衝ホルマリン液中に固定した。

小腸(十二指腸、回腸、空腸)、盲腸、結腸、食道、肝臓\*、膵臓、直腸、唾液腺、胃、喉頭、肺\*、口腔部、気管、大動脈、骨髄、心臓\*、頸部リンパ節、腸管膜リンパ節、脾臓\*、胸腺、子宮頸部、陰核腺、精巣上体、腎臓\*、乳腺、卵巣\*、包皮腺、前立腺、精囊、精巣\*、膀胱、子宮、腔、副腎\*、涙腺(眼窩外)、上皮小体\*、甲状腺\*、脳\*(小脳、大脳-中脳、延髄/橋)、眼、視神経、坐骨神経、下垂体\*、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、骨(大腿骨、肋骨/肋軟骨接合部、胸骨)、頭蓋、肉眼的病変部\*、ハーダー腺、関節(大腿骨/頸骨)、筋肉、個体識別票、皮膚(投与部位及び非投与部位)\*、外耳道腺。

全動物の\*印の臓器を10%ホルマリン溶液に固定し、切片を作成し、ヘマトキシリン及びエオジン(H&E)で染色し、検鏡した。その他の臓器については保存をしたが、病理標本は作製しなかった。

主要な病理組織学的所見を表5に示した。

表5 主要な病理組織学的所見

性別		雄					雌				
投与群 (mg/kg)		0	20	150	1000	回復群 1000	0	20	150	1000	回復群 1000
臓器	所見/検査動物数	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
甲状腺	ろ胞細胞過形成	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
肝臓	肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	0	1	4*	0
	胆管過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

\*: p<0.05 (Fisherの直接確率検定)

1000mg/kg 群雌において小葉中心性肝細胞肥大が増加した。回復群及び投与群雄では投与部位の皮膚も含めて投与による病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果、1000mg/kg 群雌雄において、チロキシン及び遊離チロキシンの減少、雄に肝重量の増加、雌に肝細胞肥大、150mg/kg 群雄に遊離チロキシンの減少、肝重量の増加が認められたことから、本試験における無影響量(NOEL)は、雄 20mg/kg/日、雌 150mg/kg/日であると判断した。

尚、これらの変化は本薬の薬物代謝酵素誘導に基づくものと考えられ、毒性変化というよりは、検体投与に対する適応反応と考えられた。従って本試験における無毒性量(NOEL)は雌雄とも1000mg/kg/日であると判断した。

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

## (8)90日間反復吸入毒性

### 90日間反復吸入毒性試験

(毒性資料 No. 原体-15)

#### 試験成績の提出除外

本農薬原体についての90日間反復吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)⑩イの規定により提出除外にあてはまる。

#### [除外根拠]

本農薬原体の急性吸入毒性試験の結果から、他の暴露経路による急性毒性に比べ著しく強い吸入毒性は認められていない。

このようなことから、90日間反復吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

## (9) 反復経口投与神経毒性

### ラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-16)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体純度：

供試動物：Fischer 344 CDF (F-344)/BR 系ラット、一群雌雄各 12 匹

投与開始時 8 週齢、投与时体重 雄；178～249g、♀；131～161g

投与期間：13 週間（1994 年 5 月 16 日～1994 年 8 月 15 日 (91 日間) および 25 日 (101 日間) \*

\*91 日で剖検した各群 6 例以外の動物については、定量的脳波検査のため 101 日まで投与した。定量的脳波検査を実施後、体重、脳重量の測定および剖検を実施した。

投与方法：検体をアセトン/コーン油に溶解後、0、120、600 及び 3000ppm の用量になるように飼料中に混合し 13 週間投与した。尚、対照群 (0ppm) の餌は検体を含まない以外は全て投与群の飼料と同様に調製した。

投与用量設定の根拠；

観察・検査項目及び結果：

#### 1. 一般症状及び死亡率

少なくとも 1 日 2 回、生死及び一般症状を観察した。また、詳細な身体検査を毎週実施した。

検体に関連した臨床症状は雌雄ともに認められなかった。試験期間中に雄で 1 例 (3000ppm 群)、雌で 2 例 (対照群及び 600ppm 群) 死亡が認められた。しかし、これらの死亡例には検体に関連した症状は認められず、更に雌では用量に関連した頻度の増加も認められなかったことから、いずれの死亡も偶発的なものと考えられた。

## 2. 体重

全動物の体重を毎週測定した。

3000ppm 群で雌雄とも投与直後に体重の減少が認められ、その後も試験期間を通じ対照群に比し有意な低体重が続いた。暴露期間中の平均体重減少率は、雄で 22%、雌で 14% であった。600ppm 以下の群では投与による体重への影響は認められなかった。

図 1 体重 雄

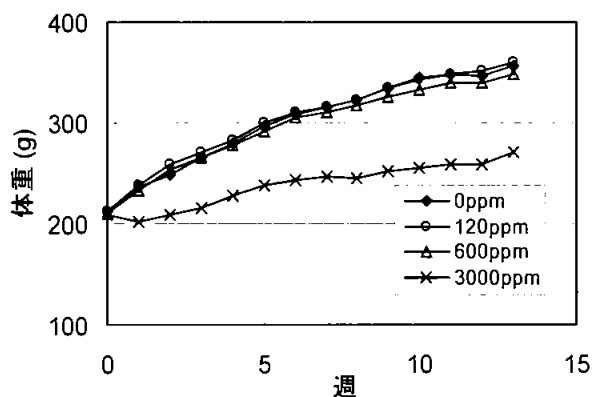
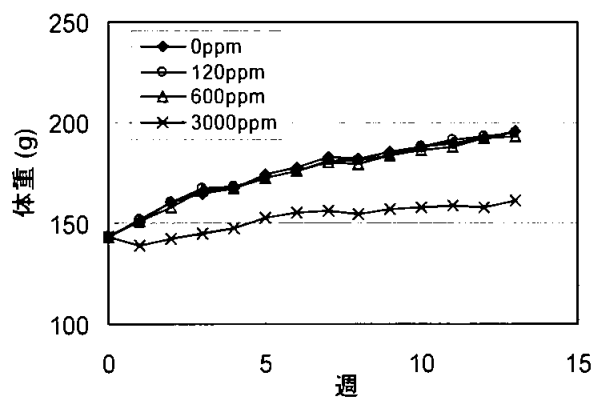


図 2 体重 雌



## 3. 摂餌量及び検体摂取量

摂餌量を毎週測定した。

摂餌量(g/動物/日)について対照群を 100 とした場合の変動を表 1 に示す。

表 1 摂餌量(g/動物/日)の比較

性別	雄			雌		
	120	600	3000	120	600	3000
1 週	101	96	↓ 72	97	96	↓ 80
2 週	104	103	↓ 86	95	97	102
3 週	102	101	↓ 83	96	95	93
4 週	100	104	↓ 88	100	96	96
5 週	101	103	↓ 90	97	94	↓ 90
6 週	99	103	↓ 88	96	97	↓ 87
7 週	97	100	↓ 82	97	98	↓ 87
8 週	97	99	↓ 79	97	98	↓ 83
9 週	100	101	↓ 89	99	99	93
10 週	102	101	↓ 88	101	98	↓ 88
11 週	102	103	↓ 91	101	98	↓ 88
12 週	103	102	↓ 89	97	97	↓ 87
13 週	97	97	↓ 87	96	96	↓ 87

↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett, two-sided)

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



表 1 に示すように、3000ppm 群の雌雄で摂餌量(g/動物/日)の低下が認められ、暴露期間中の平均摂餌量が対照群に比べて 14%少なく、同群雌は 11%少なかった。一方、試験期間全体を平均した体重 1kg あたりの 1 日平均摂餌量は、対照群に比し 3000ppm 群の雄が 7%、雌が 3%それぞれ増加した。この相反する結果は、雌雄ともに対照群に比べ低体重であったことに起因していると考えられるが、3000ppm 群の雌雄については、試験期間を通して飼料の食べこぼしが認められた。したがって、高用量群の平均摂餌量は、実際にはこれらの測定結果が示す量よりも少なかったものと推察されたことから、3000ppm 群では検体投与により摂餌量の低下が認められたものと判断した。

600ppm 以下では摂餌量に対する投与の影響は認められなかった。

検体摂取量を表 2 に示す。

表 2 検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)		120	600	3000
検体摂取量	雄	7.30	38.1	219
	雌	8.40	42.6	247

#### 4. FOB(機能観察検査)

投与開始 1 週間前、投与 4 週目、8 週目及び 13 週目に、全動物を対象として、Moser<sup>1)</sup>により提唱された一連の試験法に準拠し、以下の項目について検査を行った。

飼育ケージ内観察：体位，立毛，歩行異常，不随意運動，異常発声，その他

ハンドリングによる観察：ケージからの取り出しやすさ，取扱い時の反応，筋緊張，眼瞼閉鎖，瞳孔径，瞳孔反射，流涙，流涎，その他

オープンフィールドでの観察：立毛，呼吸異常，体位，不随意運動，常同行動，奇異行動，歩行異常，異常発声，立ち上がり，その他

反射/生理学的観察及び測定：接近反応，接触反応，聴覚反応，テイルピンチ反応，正向反射，握力，開脚着地幅，体重，体温

表 3 に対照群に比べ有意差の認められた項目について示す。

表 3 FOB 結果 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌				
	0	120	600	3000	0	120	600	3000	
前肢握力(kg)	8 週	0.88	0.93	0.89	0.76 ↓(86)	0.72	0.67	0.73	0.57 ↓(79)
	13 週	0.85	0.90	0.85	0.74 ↓(87)	0.68	0.62	0.69	0.52 ↓(76)
後肢開脚幅(mm)	13 週	63	63	60	68	47	54	48	↑65
体温(結腸温, °C)	8 週	37.5	37.6	37.5	37.3	38.1	38.4	38.1	↓37.6

↑ ↓ < 0.05 (ANOVA), ( ) ; 対照群を 100 とした場合の値

<sup>1)</sup> V. C. Moser, "Screening Approaches to Neurotoxicity: A Functional Observational Battery", J. Am. Coll. Toxicol., 1989, 8, pp. 85-93

FOB では、4 週目ではいずれの検体群においても対照群に比べ変化は認められず、8 週ないしは 13 週目に 3000ppm でのみ投与の影響が認められた。即ち、雌雄で前肢握力低下、更に雌で後肢開脚幅増加及び低体温（結腸温）が有意差を伴って認められた。一方、後肢握力の低下はいずれの検体投与群でも認められなかった。8 週および 13 週目の 3000ppm 群雌雄における前肢握力の低下は、体重が雄で平均 21~25%、雌で平均 13~16%、それぞれ対照群よりも低かったことと関連があるようにみえた。

尚、遠位軸索変性症を起こす神経毒性を有する化合物（アクリルアミド等）は主に後肢の握力低下を示すとされている<sup>2</sup>。本検体は後肢の握力低下を伴わない前肢の握力低下が認められたことから、アクリルアミドのような既知の神経毒性作用を示す物質とは明らかに異なる病態像と考えられた。

## 5. 運動能試験

投与開始 1 週間前、投与 4 週目、8 週目及び 13 週目に、全動物を対象として運動能試験を行った。運動能試験は、8 の字型迷路法を用いた自動化運動能測定装置で行い、自発運動能と移動運動能について検査した。自発運動能及び移動運動能は、各々 10 分間隔で 90 分間の試験を行った。自発運動能は、試験時間中に赤外線ビームを遮断する回数を計測して測定した。移動運動能は、ラットが迷路中で場所を移動し、別のビームの一つを遮断する回数を計測して測定した。尚、90 分間のセッション中の経時的な活動性の減少を順応性として評価した。

表 4、表 5 に自発運動能及び移動運動能の結果を示す。

3000ppm 群の雌において、13 週における自発運動能、移動運動能がともに対照群に比べ有意に増加し（それぞれ対照群に比べ +56%、+66%）、投与の影響と考えられた。同群雄でも 13 週における自発運動能、移動運動能が増加した（+49%、+29%）。雄においては統計学的有意差は認められなかったものの、雌で有意差が認められていること及び対照群に対する増加量が大きいことから、雄における両運動能の増加についても投与の影響と考えられた。尚、4 週及び 8 週の検査時には同群雌雄の自発運動能、移動運動能はいずれも対照群と同等であった。

600ppm 以下の投与量では試験期間を通じて運動能への影響は認められなかった。

順応性については、検体の影響は認められなかった。

申請者注)

一般的な指針として、この研究室における通常の変動範囲は、性別・混餌濃度あたり 12 匹のラットからなる群の場合、20%未満の差としている。

<sup>2</sup> V. C. Moser, D. C. Anthony, W. F. Sette and R. C. MacPhail, "Comparison of Subchronic Neurotoxicity of 2-Hydroxyethyl Acrylate and Acrylamide in Rats," *Fund. Appl. Toxicol.*, 1992, 18, 343-352

表4 自発運動能 - 90分間セッション- (赤外線ビームを遮断する回数)

投与量	投与前	%	4週	%	8週	%	13週	%
雄								
0ppm	547±199	-	701±305	-	652±271	-	688±419	-
120ppm	590±160	108	698±198	100	626±156	96	581±184	84
600ppm	589±233	108	719±293	103	720±211	110	589±205	86
3000ppm	483±149	88	584±245	83	682±285	105	1027±493	149
雌								
0ppm	978±343	-	1077±291	-	982±350	-	1040±332	-
120ppm	880±289	90	1006±315	93	992±453	101	1076±365	103
600ppm	961±164	98	1093±206	101	1066±301	109	1025±334	99
3000ppm	897±259	92	1007±332	94	1126±332	115	1621±428	156*

\* $<0.05$  (ANOVA), 表中の数値(平均値±標準偏差)

表中の%値; 変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものを。

表5 移動運動能 - 90分間セッション- (赤外線ビームを連続して2回遮断する回数)

投与量	投与前	%	4週	%	8週	%	13週	%
雄								
0ppm	196±51	-	257±147	-	268±128	-	303±230	-
120ppm	206±44	105	248±68	96	249±62	93	261±87	86
600ppm	222±69	113	273±120	106	305±125	114	255±94	84
3000ppm	179±52	91	185±73	72	237±129	88	392±196	129
雌								
0ppm	363±161	-	351±85	-	325±108	-	351±120	-
120ppm	309±118	85	329±111	94	342±171	105	358±133	102
600ppm	324±54	89	354±78	101	375±108	115	344±100	98
3000ppm	304±102	84	321±119	91	359±137	110	584±173	166*

\* $<0.05$  (ANOVA), 表中の数値(平均値±標準偏差)

表中の%値; 変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものを。

## 6. 脳波検査

投与13週目に組織の灌流固定に供しなかった生存動物について13週後以降も投与を続け、投与15週後に定量的脳波検査を行った。正常緊張状態下及び聴覚刺激、視覚刺激、体知覚神経刺激の各刺激後に以下の要素について脳波を測定した。

総電流(TP)、 $\delta$ 波(AD)、 $\theta$ 波(AT)、 $\alpha$ 波(AA)及び $\beta$ 波(AB)の絶対値、 $\delta$ 波(RD)、 $\theta$ 波(RT)、 $\alpha$ 波(RA)及び $\beta$ 波(RB)の相対値、 $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲にある総電流(AT-B)、波形最大幅の中央値(SF50)、波形90%部位に達した頻度(SF90)、 $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲での波形50%部位に達した頻度(MT50)。

表6に対照群に比べ統計学的に有意な項目について示す。

表6 定量的脳波検査(有意差の認められた項目)

性別	検査条件	投与量	TP	AD	AA	AB	RD	RB	AT-B	SF50	SF90	MT50
雄	正常緊張下	0ppm	76.8	48.9	5.2	14.7	55.1	21.2	28.0	3.8	23.6	13.1
		120ppm	67.5	41.1	6.5	10.7	51.2	19.6	26.5	4.9	19.6	10.4
		600ppm	114.1	54.0	10.7	26.6	41.3	27.9	60.1	6.6	24.6	12.4
		3000ppm	113.7	63.6	11.1	21.7	45.4	24.7	50.1	5.1	23.5	12.1
	聴覚刺激下	0ppm	89.9	64.4	5.2	10.0	46.0	21.0	25.6	5.2	20.6	9.7
		120ppm	62.4	26.0	10.4	17.3	39.0	31.0	36.5	7.0	25.8	13.4
		600ppm	89.8	27.4	13.6	34.1	32.5	37.3	62.4	10.0	26.3	14.3
		3000ppm	70.6	22.9	9.7	29.0	32.4	38.8	47.7	11.3	23.5	15.7
	視覚刺激下	0ppm	51.9	20.9	6.8	13.3	36.4	28.4	31.1	6.7	24.6	11.9
		120ppm	59.5	29.6	7.7	16.3	43.5	31.4	29.9	6.5	24.6	15.7
		600ppm	90.7	41.6	10.1	22.6	33.7	34.1	49.1	9.1	23.5	13.8
		3000ppm	90.6	22.4	16.1	39.2	29.7	39.0	68.3	10.3	27.5	15.7
	体知覚神経刺激下	0ppm	44.2	15.8	4.9	13.0	35.4	27.8	28.3	7.0	27.2	10.5
		120ppm	50.4	13.9	8.1	20.9	28.7	38.8	36.4	9.1	26.6	14.9
		600ppm	144.2*	89.3*	9.9	25.8	55.3*	20.7	55.0	4.8	19.6*	13.3
		3000ppm	94.9	15.7	12.4	58.3	22.6	48.1*	79.2	13.0*	25.5	17.8*
雌	正常緊張下	0ppm	71.3	43.2	6.0	9.9	53.8	18.0	28.1	4.2	18.4	10.1
		120ppm	59.8	27.3	9.6	9.0	41.4	18.4	32.4	5.7	19.0	9.5
		600ppm	64.1	18.2	9.1	18.6	30.2*	31.3	45.9	8.0*	26.1*	13.0
		3000ppm	68.7	21.5	10.5	19.6*	24.2*	32.4*	47.3	7.9*	25.1*	11.2
	聴覚刺激下	0ppm	89.6	29.4	15.2	19.2	35.6	21.1	60.3	6.2	21.1	9.3
		120ppm	65.2	31.3	10.1	11.6	40.6	20.1	33.9	6.0	21.6	9.6
		600ppm	62.6	18.1	10.9	21.4	30.0	30.9	44.5	8.8	25.2	11.4
		3000ppm	53.9	15.5	8.7	19.2	25.1	37.3*	38.3	9.9	26.6*	14.7
	視覚刺激下	0ppm	39.7	17.4	4.8	7.4	35.2	22.5	22.3	6.5	20.9	10.3
		120ppm	64.9	30.5	9.3	12.7	42.3	21.1	34.4	5.7	22.2	9.9
		600ppm	82.3	14.6	13.0	41.5*	18.2	46.5*	67.7*	12.8*	28.5*	15.6
		3000ppm	84.1	30.4	9.0	21.4	30.8	28.7	53.8*	7.3	24.8	12.0
	体知覚神経刺激下	0ppm	65.4	18.3	12.5	18.4	29.2	28.3	47.1	7.7	24.7	10.0
		120ppm	49.3	28.2	5.0*	6.6	50.6	15.5	21.1	4.4	19.9	8.6
		600ppm	105.2	29.1	17.1	46.5*	29.4	42.0	76.0	10.8	26.8	16.3*
		3000ppm	81.1	29.9	8.8	25.3	32.6	35.4	51.3	8.8	26.0	14.0*

\* $P < 0.05$  (ANOVA + Fisher's LSD)

全測定項目：総電流(TP)、 $\delta$ 波(AD)、 $\theta$ 波(AT)、 $\alpha$ 波(AA)、 $\beta$ 波(AB)の絶対値/ $\delta$ 波(RD)、 $\theta$ 波(RT)、 $\alpha$ 波(RA)、 $\beta$ 波(RB)相対値、 $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲にある総電流(AT-B)、波形最大幅の中央値(SF50)、波形90%部位に達した頻度(SF90)、 $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲での波形50%部位に達した頻度(MT50)と $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲での波形90%部位に達した頻度(TB90)

雄の投与群においては振幅の平均値、相対周波数の数値、特定した波高幅の値は同様であり、検体の影響が無いことが示された。体知覚神経刺激をした600ppm投与群でTP、AD、RD、SF90に統計学的な有意差がみられたが、3000ppm群で有意差が認められておらず、更に雌において有意差を伴う同様の変化はいずれの群においても認められていないことから、偶発的な変動と考えられた。また、体知覚神経刺激をした3000ppm群でみられたRB、

SF50、MT50 の統計学的差異は正常緊張状態、聴覚刺激、視覚刺激条件下ではみられておらず、投与の影響とは考えられなかった。

同様に、雌のデータでは、多元最小二乗回帰分析において意味のある相関性は認められず、4つの刺激経路において有意性を示す標的指標は認められなかった。

以上のことから、定量的脳波検査の結果、試験条件下において検体投与による末梢神経の障害を示唆するような影響認められなかった。また中枢神経への障害は徐波 (RD、RT) の増加を特徴とするが、本試験で徐波の変化も雌雄ともに認められず、中枢神経系への障害を示唆する影響も認められなかった。

## 7. 眼科学的検査

投与開始前及び投与 12 週目に眼科学的検査を実施した。

投与の影響は認められなかった。

## 8. 剖検及び脳重量

投与終了後 (灌流固定動物 ; 投与 13 週後、灌流固定を実施しない動物 ; 投与 15 週後)、全生存動物について剖検し、全臓器、体腔、切断面、開口部及び外表の検査を実施した。各群雌雄各 6 匹ずつを、ペントバルビタールの腹腔内投与 (50mg/kg) による深麻酔下、左心室から亜硝酸ナトリウムのリン酸緩衝溶液を流した後、リン酸緩衝液中 Universal 固定液 (1% グルタルアルデヒド及び 4% EM 級ホルムアルデヒド) で灌流固定した (投与 13 週後)。各動物から脳及び脊髄全体、両眼 (視神経含む)、末梢神経 (坐骨、脛骨、腓腹)、ガッセル神経節、腓腹筋、及び尾を採取し、10% 緩衝ホルマリンに後固定した。脳はホルマリン固定前に重量を測定した。灌流固定に用いなかった生存動物は脳波検査の後 CO<sub>2</sub> 窒息により屠殺し、脳を採取し重量を測定した。

表 7 に対照群と比べ統計学的に有意差の認められた項目を示す。

表 7 脳重量

		性別		雄			雌		
		投与量 (ppm)		120	600	3000	120	600	3000
灌流	最終体重		(101)	(100)	↓ 77	(99)	(101)	↓ 84	
	脳	実重量			(90)			↓ 92	
		対体重比			↑ 117			↑ 110	
非灌流	最終体重		(102)	(97)	↓ 79	(99)	(95)	↓ 81	
	脳	実重量			↓ 95			↓ 94	
		対体重比			↑ 119			↑ 116	

↑ ↓ : p < 0.05 (ANOVA + Dunnett, two-sided)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

( ) 内の数値は統計学的有意差は認められなかったが参考として示したもの

投与の影響によると考えられる肉眼的病変は認められなかった。

3000ppm 群雌雄において、脳の実重量は灌流動物、非灌流動物とも減少したが、対体重比は増加した。これは最終体重が対照群に比べて低値であったことによるものと考えられた。

#### 9. 病理組織学的検査

対照群及び 3000ppm 群雌雄の灌流動物の以下の組織について顕微鏡的病理検査を実施した。脳、脊髄及び馬尾については 120 及び 600ppm 群の雌雄についても検査した。

- ・ 脳(8 冠状断面)、脊髄の 4 つのレベル(頸部、胸部、腰部：各レベルについて縦断面および横断面、馬尾：脊髄円錐および関連する脊髄神経根を含む縦断面)；パラフィンに包埋しヘマトキシリン-エオシン, Luxol Fast Blue-Cresyl Violet および Sevier-Munger Silver 染色液でそれぞれ染色
- ・ 左右のガッセル神経節(縦断面)、脊髄神経細根を含む後根神経根(頸膨大および腰膨大の両方から 2 組)、左右の視神経(横断面)、左右の眼、腓腹筋(片側横断面)；メタクリル酸グリコール(GMA)に包埋し、改良 Lee 染色法により染色
- ・ 左右の坐骨神経(横断面および縦断面)、左右の脛骨神経(横断面)、左右の腓腹神経(横断面)；エポキシ樹脂に包埋し、トルイジンブルーを用いて染色した。

また、全灌流動物の小脳-延髄(脳のレベル 7 および 8) および脊髄について、倍率 250 倍で走査することにより、軸索腫脹を計数した。

更に、対照群雌 2 例、3000ppm 雌 2 例について腰髄、馬尾について、電子顕微鏡検査用に超薄切片を作成し、酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色した。これら 4 例はいずれも軸索腫脹の数が比較的多かったために選択した。

表 8 及び表 9 に対照群に比べ統計学的に有意差が認められた項目について示す。

表 8 軸索腫脹の個体ごとにおける頻度

性別	雄				雌			
	0	120	600	3000	0	120	600	3000
投与量(ppm)	0	120	600	3000	0	120	600	3000
脳レベル7及び8	0.2	0.5	1.0	2.8*	1.5	0.5	2.5	5.5*
馬尾	3.5	2.5	5.7	9.7*	3.7	4.0	7.5	13.2*
脊髄頸部	0.5	0.5	1.2	1.3	0.8	0.8	0.5	3.3 <sup>‡</sup>
脊髄胸部	1.7	1.2	1.7	3.2	1.3	1.0	0.8	8.2*
脊髄腰部	2.2	2.3	3.2	5.2	2.8	2.8	2.7	9.8*

数値は動物毎の軸索腫大の平均発生数

\* ; <0.05 (ANOVA+Dunnett, one-sided)

<sup>‡</sup> ; <0.05 (Kruskal-Wallis Anova + Mann-Whitney Rank Sum tests, one-sided)

表 9 病理組織学的検査結果 (有意差の認められた項目)

性別	雄				雌				
	0	120	600	3000	0	120	600	3000	
投与量(ppm)	0	120	600	3000	0	120	600	3000	
脳レベル7	軸索腫脹	1 (1.0)	1 (1.0)	3 (1.0)	4 (1.0)	5 (1.0)	1 <sup>‡</sup> (1.0)	3 (1.0)	6 (1.0)
	馬尾	軸索腫脹	6 (1.0)	5 (1.0)	6 (1.3)	6 (2.0*)	6 (1.0)	6 (1.0)	6 (1.5)
脊髄腰部	軸索腫脹	6 (1.0)	6 (1.0)	6 (1.0)	6 (1.3)	6 (1.0)	6 (1.0)	6 (1.0)	6 (1.8*)

数値は発生動物数 (検査動物数は何れも6)

( )内の数値は重症度(1=軽微、2=軽度、3=中等度、4=顕著、5=重度)の平均値

\* ; <0.05 (ANOVA+Dunnett, one-sided)

<sup>‡</sup> ; <0.05 (Chi-Square Test + Fisher's Exact Test, one-sided)

600及び3000ppm投与群の雌雄で小脳-延髄(脳レベル7及び8)及び脊髄における軸索腫脹の個体ごとにおける発生頻度の増加がみられ、3000ppmでは統計学的な有意差を伴った。しかし、これらは特定の繊維束や核に認められたのではなく、対照群で認められた軸索腫脹の外観及び出現分布とほぼ同様だった。また軸索腫脹を示した動物数では統計学的に有意な差はみられなかった。これらのことから、軸索腫脹が検体投与によって増加したと断定するには至っていない。尚、この変化は本検体を用いたイヌの1年間慢性毒性試験(毒性資料No.原体-19)及びラットの慢性毒性/発がん性併合試験(毒性資料No.原体-18)の1年後屠殺群でも認められている。但しこの慢性毒性/発がん性併合試験の中で、腰髄と馬尾(長軸方向切片)について特に軸索腫脹を調べる目的で病理組織学的検査を行った結果、対照群と検体投与群の間に統計学的に有意な差は認められなかった。電顕検査では、3000ppm雌の1例<sup>註)</sup>の腫脹部位はミトコンドリアと幾つかの神経フィラメント(微細線維)の集簇部位で占められており、また電子密度の高い小体(Dense body)がミトコンドリアに混在している像であることが確認された。

120ppm群では投与の影響は認められなかった。

注)報告書にはこの1例の所見が記載されている。

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

本試験条件下では、3000ppm 群雌雄で低体重、摂餌量低下、前肢握力低下等の FOB 項目の異常、自発運動能及び移動運動能の増加が認められ、600ppm 群以上の雌雄で小脳-延髄及び脊髄における軸索腫脹の数が個体毎に増加したことから、検体の本試験における総合的な無影響量\*(NOEL)は、120ppm (雄 ; 7.30mg/kg 体重/日, 雌 ; 8.40mg/kg 体重/日)であると判断した。

\*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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(10) 28 日間反復投与遅発性神経毒性

28 日間反復投与遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-17)

試験成績の提出除外

本農薬原体についての 28 日間反復投与遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成 12 年 11 月 24 日付け 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第 4 試験成績の提出の除外について」(2) ⑬の規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、28 日間反復投与遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性

ラットを用いた混餌投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験

(毒性資料 No. 原体-18)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1995年

検体の純度：

試験動物：Fischer 344 (CDF[F-344]/BR)系ラット，試験開始時8週齢、

慢性毒性群(1年間投与)

試験開始時平均体重\* 雄 122.4～133.4g, 雌 98.3～103.5g

最高用量及び対照群；雌雄各 20 匹，中間用量群；雌雄各 10 匹

発がん性群(2年間投与)

試験開始時平均体重\* 雄 121.4～131.7g, 雌 99.0～102.4g

1 群；雌雄各 50 匹

\*試験開始日には対照群から用量の昇順に1日ずつずらしたため、例えば最高投与群は対照群投与開始日から3日後が投与開始となっている。群間で初体重にはわずかながらの差が認められているのはそのためである。

投与期間： 2年(1992年5月～1994年5月)

試験方法：

検体を0(対照群)、25、400及び800ppmとなるように粉末飼料(アセトン/コーン油添加)に混ぜ、2年間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定の根拠；

観察・検査項目及び結果：

1. 臨床症状

動物を少なくとも1日2回(週末と休日は1回)、臨床症状及び瀕死状態を観察した。各個体の詳細な検査(外観、天然孔、姿勢、一般行動、呼吸及び排泄物)は週1回実施した。

その結果、検体に起因したと考えられる臨床症状は認められなかった。

## 2. 死亡数

試験期間2年間を通じて死亡数に検体投与の影響はみられなかった。  
表1に死亡数を表に示す。

表1. 死亡数

投与量 (ppm)		0	25	400	800
雄	死亡例	4	0	5	1
	瀕死状態により切迫屠殺例	11	12	16	15
	合計	15	12	21	16
雌	死亡例	4	2	7	6
	瀕死状態により切迫屠殺例	10	11	11	9
	合計	14	13	18	15

## 3. 体重

毎週、全動物について体重を測定した。更に、臓器重量の対体重比の算出のため、計画屠殺直前に体重を測定した。

計画屠殺直前に測定した体重について対照群と検体投与群で比較したところ、慢性毒性群では体重に統計学的に有意な差は認められなかった。一方、発がん性群では、増体重抑制がみられ、雄で800ppm群(10%の低値)、雌で400ppm以上の群(400ppm; 8%, 800ppm群; 17%の低値)で対照群に比べ低値を示し、統計学的な有意差を伴っていた(Anova+Dunnetts test(両側),  $p \leq 0.05$ )。

雌雄25ppm群並びに雄の400ppmの体重増加については、対照群との間に差は認められなかった。

発がん性群についての体重推移を以下の図(図1, 図2)に示す。

図1 体重(雄)

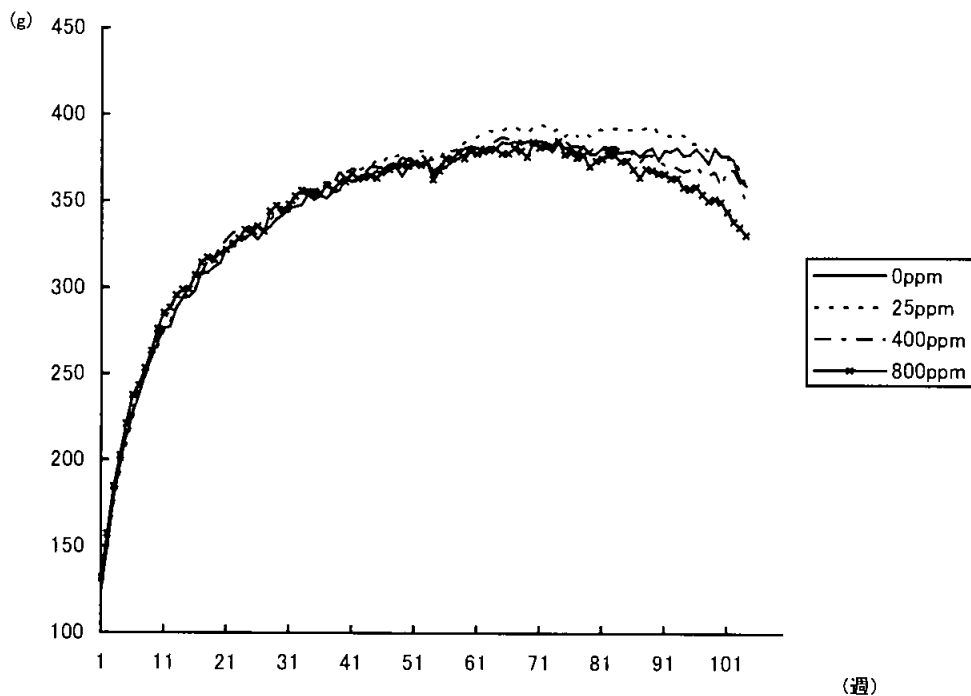
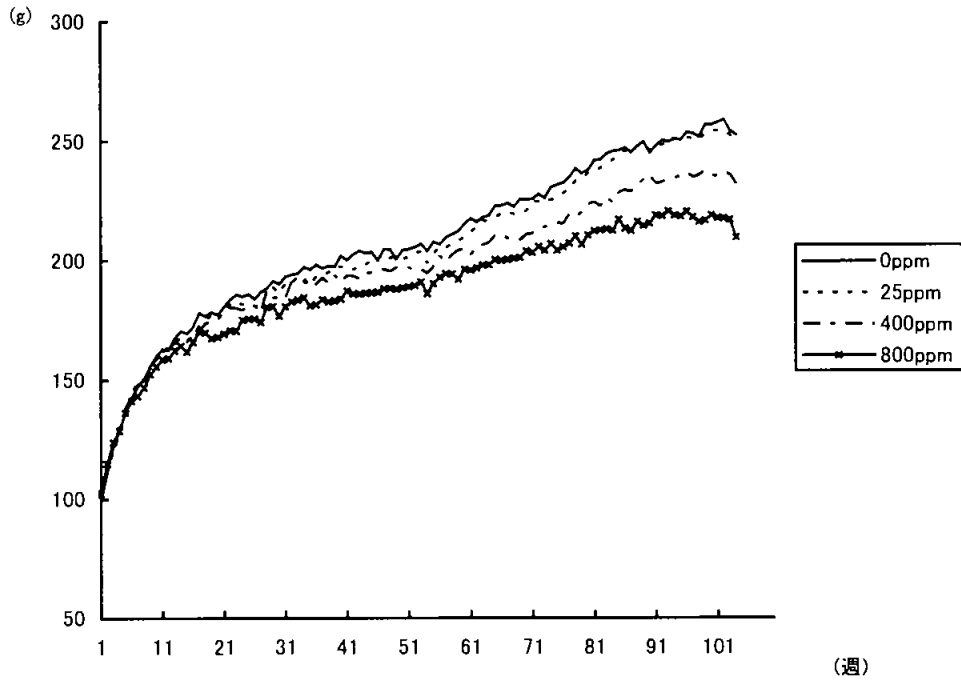


図2. 体重(雌)



#### 4. 摂餌量及び検体摂取量

摂餌量を全例について毎週1回の間隔で測定した。これを基に検体摂取量を算定した。

雌雄共に全投与群と対照群で摂餌量に差は認められなかった。各検体摂取量の比は用量比とほぼ一致していた\*。

検体摂取量(mg/kg 体重/日)を以下の表に示した。

検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与量(ppm)	25	400	800
雄	1.2	19.3	39.0
雌	1.5	24.4	49.8

\*申請者注)

#### 5. 眼科学的検査

全例について投与開始前に、更に投与12ヶ月後(慢性毒性群)及び投与24ヶ月後(発がん性群)に眼科病変の有無について検査した。

慢性毒性群並びに発がん性群共に、眼に異常所見は認められなかった。

#### 6. 臨床検査

発がん性群の生存例のうち各群番号の若い順に20例を選択し、3、6、12、18及び24ヶ月に血液(眼窩叢)及び尿を採取した。血液採取動物と尿採取動物はできる限り一致さ

せた。血液を採取する前には一晩絶食させ、尿については、血液採取より1週間前に飽食下で採取した。

### 6-1. 血液学的検査

以下の項目について検査した。

赤血球数、白血球数、ヘモグロビン濃度(Hb)、ヘマトクリット値(HCT)、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(THRO)、メトヘモグロビン(METHb;3、6ヶ月は測定せず。)、白血球分画、赤血球形態、網状赤血球(RETIC)、ハインツ小体

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

血液学的検査(統計学的に有意差が認められた項目)

投与量 検査月	25ppm					400ppm					800ppm				
	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
雄															
白血球						↑113		↑160	↑149		↑113	↑128	↑148	↑155	
赤血球		↑102					↑103			↑116	↓96	↑104			↑121
Hb									↓96		↓97			↓95	
HCT		↑102					↑102		↓96		↓96	↑105		↓94	
MCV									↓96	↓91			↓97	↓94	↓88
MCH							↓98	↓96	↓92		↓97	↓96	↓95	↓89	
MCHC							↓99				↓96	↓99			
THRO	↓94										↑110	↑111	↑112		
METHb	-	-		↑133		-	-	↑283	↑267	↑200	-	-	↑450	↑417	↑271
RETIC								↑175			↑148				
雌															
白血球								↑119	↑125				↑124	↑131	
赤血球						↓96					↑103				
Hb											↑102	↓98			
HCT						↓96					↑103		↓98		
MCV									↓99		↑102			↓98	
MCH	↑102				↑106				↓98		↑102		↓99	↓98	
MCHC	↑101														
THRO	↓95														
METHb	-	-		↑133		-	-	↑171	↑217	↑162	-	-	↑271	↑350	↑185
RETIC						↑139					↑144			↑125	
白血球分画															
Seg	↓81					↓85	↑125								
Lymph							↓94								
Eosin								↑211							

- : 検査せず, 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,

↑ ↓ : P<0.05, (D;ANOVA+Dunnettによる)

Seg; 分葉核好中球, Lymph; リンパ球, Eosin; 好酸球

雌雄共にメトヘモグロビンの増加が400ppm以上の群で認められ、このメトヘモグロビン形成は雄の400ppm以上の群及び雌の800ppm群で認められた脾臓における色素沈着と関連しているものと考えられた。尚、25ppm群の雌雄共に認められた18ヶ月目の

メトヘモグロビンの有意な増加は、24ヶ月目には有意差は認められず、また病理組織学的検査においても関連した所見が認められていないことから、検体投与に起因した変化とは考えられなかった。また雌雄400ppm以上の群で網状赤血球が散発的に増加した。更に血小板の統計学的に有意な増加が雄の最高用量群である800ppm群で認められた。血小板増加症は、鉄欠乏ないしは慢性的な失血による貧血を伴ってみられることが知られている。本試験においてメトヘモグロビン形成や網状赤血球の増加も認められていることから、この血小板の増加も検体の影響と考えた。一方、白血球数の統計学的に有意な増加が、雌雄の400ppm群以上で認められたが、24ヶ月後には有意な増加は見られず、炎症を示す臨床所見も認められず、白血球分画においても主要な寄与因子であり、かつ、通常、白血球増多症の原因である血清中リンパ球濃度を含みいずれの用量でも検体に関連した異常所見は認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

その他、赤血球数、ヘモグロビンや赤血球恒数に関連する項目に統計学的に有意差が認められたが、各項目に毒性学的に関連した影響が必ずしもみられるものではなく、それら数値は背景データ範囲内<sup>\*</sup>にあることから、少なくとも本検体の示す毒性作用とは考えられなかった。

\*背景データ

## 6-2. 血液生化学的検査

以下の項目について検査した。

### 酵素

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT), アルカリホスファターゼ (ALP),  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT), クレアチンキナーゼ (CK), 乳酸脱水素酵素 (LDH)

### 基質

総ビリルビン (t-BIL), コレステロール (CHOL), クレアチニン (CREA), 総蛋白 (t-PROT), トリグリセリド (TRIGL), 尿素窒素 (UN), アルブミン (ALB), グロブリン (GLOB), グルコース, 尿酸,

### 電解質

塩素 (Cl), カルシウム (Ca), 無機リン (P), カリウム (K), ナトリウム (Na)

### 甲状腺機能関連項目

トリヨードチロニン (T3), チロキシン (T4), 甲状腺刺激ホルモン (TSH; 2年目のみ測定)

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

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

血液生化学検査(統計学的に有意差が認められた項目)

投与量 検査月	25ppm					400ppm					800ppm				
	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
雄															
ASAT		↓ 89									↓ 86	↓ 81			
ALAT		↓ 91					↓ 89					↓ 91			
LDH		↓ 52	↓ 56				↑ 175		↓ 54	↓ 58		↓ 23	↓ 54	↓ 59	↓ 47
CK	↓ 65		↓ 60			↓ 60					↓ 51	↓ 33	↓ 56		
GGT <sup>±</sup>								↑ 3					↑ 6		↑ 16
TRIGL						↓ 80	↓ 66	↓ 62	↓ 73		↓ 59	↓ 50	↓ 42	↓ 40	
CHOL	↓ 93					↓ 90									
グルコース							↓ 90			↑ 120					↑ 125
CREA							↑ 114	↑ 117				↑ 114	↑ 117	↑ 117	
UN									↑ 114			↑ 113		↑ 121	↑ 135
尿酸												↑ 117			
t-PROT							↑ 104					↑ 107	↑ 106		
ALB									↓ 94						↓ 91
GLOB			↑ 106				↑ 108	↑ 106				↑ 113	↑ 114	↑ 108	
Ca		↑ 103	↑ 102				↑ 103	↑ 103		↑ 103		↑ 105	↑ 103		↑ 104
Cl															↑ 101
T4							↓ 85	↓ 85							
T3												↑ 157			
雌															
ASAT			↓ 83	↓ 83		↓ 88	↓ 88	↓ 73	↓ 81		↓ 89	↓ 80	↓ 70	↓ 81	
ALAT						↓ 89	↓ 80	↓ 73	↓ 73		↓ 85	↓ 71	↓ 68	↓ 78	
ALP	↓ 93	↓ 91				↓ 87	↓ 87	↓ 84	↓ 83		↓ 86	↓ 78	↓ 77	↓ 82	
LDH		↓ 70	↓ 46			↓ 46					↓ 63	↓ 45	↓ 48		
CK	↓ 66	↓ 75					↓ 53				↓ 64	↓ 41			
t-BIL <sup>±</sup>															↓ 0.1
CHOL						↑ 116	↑ 114	↑ 124	↑ 120		↑ 144	↑ 126	↑ 134	↑ 129	
グルコース															
CREA											↑ 114				
UN													↓ 90		
尿酸									↓ 75		↑ 125	↑ 114			
t-PROT								↑ 105	↑ 107		↑ 110	↑ 107	↑ 105	↑ 111	
ALB									↑ 105		↑ 106			↑ 108	
GLOB							↑ 105	↑ 108	↑ 108		↑ 112	↑ 111	↑ 114	↑ 116	
Na	↓ 98					↓ 97					↓ 98				
K						↑ 105	↑ 106					↑ 110			
Ca					↑ 103			↑ 102	↑ 103				↑ 102	↑ 103	
Cl								↓ 98					↓ 98		
T4				↑ 119						↓ 79					

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で、ただし、GGT 及び t-Bil については、実測値を記載<sup>±</sup>

↑ ↓ : p<0.05 ANOVA+Dunnett

$\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼの統計学的に有意な増加が400ppmでは雄の12ヶ月時に、800ppmでは12および24ヶ月に認められた。しかし、肝内胆汁うっ滞などの関連する所見は認められないことから検体の影響とは考えられなかった。

トリグリセリドの統計学的に有意な低下が、雄の400ppm以上の群で3、6、12、18ヶ月に認められた。

コレステロールは対照群に比べ、400ppm群以上の雌で24ヶ月を除いて統計学的に有意な増加を示した。しかし、24ヶ月目には対照群と同等であり、雄では対照群と比べいずれの群でも差が認められなかった。T4に統計学的に有意な低下が雌雄の400ppm群で一時期認められた。

一方、T4では雄の400ppm群の6および12ヶ月に統計学的に有意な低下が、一方雌25ppm群の18ヶ月時および400ppm群では24か月にそれぞれ統計学的に有意な増加および減少がみられた。またT3については雄の800ppm群の6ヶ月時に統計学的に有意な増加が認められた。これらの変化には用量および経時的な変化が認められなかったことから、これらの変動には毒性学的な意味はないものと考えられた。また投与最終時に測定したTSHはいずれの用量においても影響は認められなかった。

またグロブリンの増加が雌雄の400ppm以上の群で統計学的に有意な増加が散見された。総蛋白もグロブリンと同様な増加を示した。しかし、いずれも24ヶ月において、統計学的に有意な増加は認められなかった。また、雄の25ppm群でも12ヶ月目のみにグロブリンに統計学的に有意な増加が認められたが、総蛋白質に統計学的な有意差はなく、また他の測定時期には増加は認められていないことから、少なくとも雄の25ppm群での有意な増加は検体の影響とは考えられなかった。

電解質ではカルシウムの増加が雌雄共に全投与群で認められた<sup>\*2</sup>。これは、鏡顕所見でいくつかの臓器で鉍質沈着が認められていることに関連しているものと考えられた。しかし、雌雄800ppm群で、鉍物質沈着が高頻度に認められたものの、400ppm以下では鉍質沈着が認められていないことから、400ppm以下の雌雄群でのカルシウムの増加は、投与に関連した変化とは考えられなかった。また、上皮小体ホルモン、ビタミンDおよびカルシトニンによって保たれているこの平衡状態が崩れると、低カルシウム血症または高カルシウム血症となる場合があるが、今回の試験では、カルシウムのホメオスタシスを支配しているこれら3つの主要パラメータに平衡状態が崩れている明白な証拠は認められなかった。

その他にみられた統計学的に有意な項目は、関連する所見が認められなかったり、用量や経時的関連性がなかったり、毒性学的に意味のある変化ではないなどから検体による毒性作用とは考えなかった。

申請者注)



カルシウム値 (mg/dL)

ppm	0		25		400		800		背景データ	
測定月			(%)*		(%)*		(%)*	平均	(平均±2SD)	
雄										
3ヶ月	11.4	11.4	100	11.5	101	11.5	101	11.59 ( 9.73~13.45)		
6ヶ月	11.6	11.9	↑103	12.0	↑103	12.2	↑105	11.42 ( 9.89~12.94)		
12ヶ月	11.9	12.1	↑102	12.2	↑103	12.3	↑103	11.88 (10.45~13.50)		
18ヶ月	11.5	11.7	102	11.7	102	11.6	101	11.70 (10.45~13.50)		
24ヶ月	11.0	11.2	102	11.3	↑103	11.4	↑104	11.63 (10.45~13.50)		
雌										
3ヶ月	11.1	11.0	99	11.2	101	11.2	101	11.33 ( 9.62~13.05)		
6ヶ月	11.7	11.8	101	11.8	101	12.0	103	11.12 ( 9.67~12.57)		
12ヶ月	12.2	12.3	101	12.4	↑102	12.4	↑102	11.67 (10.10~13.23)		
18ヶ月	11.8	12.0	102	12.1	↑103	12.2	↑103	11.76 (10.54~12.97)		
24ヶ月	11.4	11.7	↑103	11.6	102	11.7	103	11.66 (10.21~13.11)		

\*対照群に対する百分率(%), ↑ ↓ : p<0.05 (ANOVA+Dunnett 検定)

6-3. 尿検査

尿の外観(透明度, 色調)、pH、蛋白、尿糖、ケトン体(KET)、ビリルビン(BIL)、潜血、亜硝酸塩、ウロビリノーゲン(URO)、比重、白血球、尿沈渣についても調べた。

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

尿検査(統計学的に有意差が認められた項目) -雄-

投与量	25ppm					400ppm					800ppm				
	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
pH	↑7.8					↑7.8	↑7.8	↑8.0			↑8.1	↑8.0	↑8.0		
蛋白 (mg/dL)											↓34	↓110	↓180		
KET (mg/dL)											↓8				
BIL	↓0	↓1				↓0	↓0				↓0	↓0			
URO (EU/dL)				↓0.2		↓0.4		↓0.5	↓0.2		↓0.2		↓0.3	↓0.2	↓0.2
亜硝酸塩						↑0					↑1	↑0	↑1	↑1	
白血球						↑2	↑2				↑2	↑3			
比重	↓100					↓99	↓99	↓98	↓99		↓98	↓97	↓98	↓99	↓99

↑ ↓ : p<0.05 ANOVA+Dunnett, †, ‡ : p<0.05 Kruskal-wallis Anova+Mann-Whitney U  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した比重を除き、実測値を記載した。

尿検査(統計学的に有意差が認められた項目) -雌-

投与量	25ppm					400ppm					800ppm				
pH		↓7.2						↑7.6			↑8.0	↑7.8	↑7.8	↑7.8	↑7.8
蛋白(mg/dL)		↑86		↑183		↓23					↓12	↓16	↓2	↓26	↓136
KET(mg/dL)											↓1	↓1			
BIL						↓0					↓0	↓0			
URO(EU/dL)				↑0.3	↓0.4						↓0.2	↓0.2	↓0.3		
亜硝酸塩															↑0
白血球															↑2
比重		↑101				↓99		↓99	↓99	↓99	↓98	↓99	↓98	↓99	↓99

↑ ↓ : p<0.05 ANOVA+Dunnnett , ↑, ↓ : p<0.05 Kruskal-wallis Anova+Mann-Whitney U  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示した比重を除き、実測値を記載した。

対照群の平均値(上記に有意差のあった項目、時期のみ記載)

投与量	雄					雌					
	検査月	3	6	12	18	24	3	6	12	18	24
pH		7.6	7.5	7.6	/	/	7.5	7.5	7.2	7.5	7.4
蛋白(mg/dL)		96	240	260	/	/	57	54	22	97	257
KET(mg/dL)		14	/	/	/	/	3	3	/	/	/
BIL		1	1	/	/	/	0	1	/	/	/
URO(EU/dL)		0.6	/	0.9	0.3	0.4	0.8	0.5	0.8	/	0.2
亜硝酸塩		0	0	0	0	/	/	/	/	0	/
白血球		1	2	/	/	/	/	/	/	1	/
比重		1.053	1.068	1.054	1.041	1.037	1.049	1.046	1.044	1.037	1.034

pH については低下のみられた雌の 25ppm を除き、統計学的に有意な上昇が雄全投与群、雌の 400ppm 以上の群で認められ、雌雄 400ppm 群以上の上昇を本検体に起因しているものと判断した。この pH の上昇は、ひとつには病理組織学的検査でみられた腎盂鉍質沈着に関連した変化とも考えられた。比重のわずかな低下が 400ppm 以上の雌雄群で認められ、更に雄の 25ppm でも 3ヶ月時に統計学的に有意な低下がみられた。しかしこれらの変化はいずれも軽微であり、毒性学的に意味のある変化とは考えなかった。

亜硝酸塩の統計学的に有意な増加が、雄の 800ppm 群では 24ヶ月を除く全測定時期に、雄の 400ppm 群では 3ヶ月のみに認められた。

その他、ケトン体、ウロビリノーゲン及び蛋白濃度に有意な低下が認められた。これらの数値は上昇していない限り一般に臨床的には重要ではないと考えられていることから、この試験において重要とはみなさなかった。

7. 臓器重量

慢性毒性群及び発がん性群について、それぞれ投与期間終了時に下記臓器の重量を測定した。 脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、肺、卵巣及び精巣、甲状腺

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を下表に示す。

臓器重量(統計学的に有意差のみられた項目)

性別		雄					
検査時期(年)		12ヶ月(慢性毒性群)			24ヶ月(発がん性群)		
投与量(ppm)		25	400	800	25	400	800
体重							↓90
脳	実重量					↓98	↓96
	対体重比						↑ <sup>§</sup> 108
心臓	実重量						
	対体重比			↑105			↑108
腎臓	実重量						
	対体重比						↑ <sup>§</sup> 111
肝臓	実重量		↑114	↑120			
	対体重比		↑111	↑120			
脾臓	実重量			↑111			↓ <sup>§</sup> 85
	対体重比			↑110	↑ <sup>§</sup> 110		↓ <sup>§</sup> 55
甲状腺	実重量			↑113			
	対体重比			↑116			↑ <sup>§</sup> 137
性別		雌					
体重				↓93		↓92	↓82
副腎	実重量						
	対体重比						↑114
脳	実重量			↓96		↓97	↓97
	対体重比					↑107	↑118
心臓	実重量						↓95
	対体重比			↑108			↑115
腎臓	実重量					↓93	↓91
	対体重比						↑ <sup>§</sup> 111
肝臓	実重量		↑109	↑110			
	対体重比		↑110	↑118		↑108	↑116
肺	実重量					↓93	↓94
	対体重比						↑114
卵巣	実重量						↑ <sup>§</sup> 145
	対体重比						↑ <sup>§</sup> 175
脾臓	実重量						
	対体重比			↑116			
甲状腺	実重量						(132)
	対体重比			↑120		↑ <sup>§</sup> 119	↑ <sup>§</sup> 157

↑ ↓ : p<0.05 ANOVA+Dunnett , ↑<sup>§</sup>, ↓<sup>§</sup> : p<0.05 Kruskal-wallis Anova+Mann-Whitney U

表中の数値は、変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したものを。

( ) : 統計学的な有意差なし

#### 1 年計画屠殺群(慢性毒性群) :

雄では、投与群の最終体重に統計学的に有意な差は認められなかったが、肝臓について、実重量、対体重比ともに 400ppm 以上の群で統計学的に有意な増加が認められた。また雄 800ppm 群で脾臓及び甲状腺についても、実重量、対体重比ともに統計学的に有意な増加が認められ、肝臓、脾臓、甲状腺でのこれらの増加は検体の影響と考えられた。心臓についても、対体重比の増加が統計学的な有意差を伴って認められたが、実重量での統計学的有意な増加を伴っておらず、また病理組織学的検査において、関連する所見が認められていないことから、検体の影響とは考えられなかった。

雌については、800ppm 群の最終体重は対照群に比較して低値を示し、統計学的有意差を伴っていた。雄と同様に、肝臓の実重量、対体重比共に 400ppm 以上の群で統計学的に有意な増加が認められ、検体の影響と考えられた。800ppm において、脳の実重量の減少、そして心臓、脾臓、甲状腺の対体重比の増加が統計学的な有意差を伴って認められたが、それぞれ対応する対体重比ないしは実重量に変化がみられず、低体重に関連した変化と考えられた。

#### 2 年計画屠殺群(発がん性群) :

最終体重は雄では 800ppm 群で、雌では 400ppm 以上の群で、対照群に比べ低値を示し、統計学的に有意差を伴っていた。

雄では 800ppm 群の脾臓について、実重量、対体重比共に統計学的に有意な減少が認められたが、病理組織学的所見の結果、萎縮など、重量減少に関連があると考えられる所見は認められず、また、1 年目の結果と相反する結果であったことから、検体の影響とは考えられなかった。その他に認められた脳、心臓、腎臓、甲状腺での有意差は、いずれも低体重によるものと考えられた。

雌では、甲状腺の対体重比の統計学的に有意な増加が 400ppm 以上の群で認められ、また 800ppm 群で、実重量は統計学的に有意ではないものの増加傾向が認められた。その他にみられた統計学的な有意差は、低体重に起因した変化と考えられた。

申請者注)

#### 8. 肉眼的病理検査

途中死亡及び切迫屠殺動物、そして 1 年間及び 2 年間の計画屠殺時に生存していた動物について剖検を実施した。

1 年計画屠殺群(慢性毒性群) :

検体に関連すると考えられるような剖検所見は認められなかった。

2 年計画屠殺群(発がん性群) :

のう胞が子宮でみられ、800ppm で、対照群に比べ発現頻度(用量昇順 ; 3-4-9-12\*  
\* $p < 0.05$ , Fishier 検定)の増加がみられた。他に検体に関連すると考えられるような剖検  
所見は認められなかった。

9. 病理組織学的検査

途中死亡した動物や切迫屠殺動物及び最終屠殺動物(1 年、2 年)から以下の臓器、組織  
を採取し、10%緩衝ホルマリンに保存した。

副腎, 大動脈, 骨(大腿骨, 肋骨/肋軟骨接合部、胸骨), 骨髄, 脳(大脳-中脳, 小脳,  
延髄/橋), 陰核腺, 精巣上部, 食道, 眼窩外涙腺, 眼球, ハーダー氏腺, 大腿脛骨関節,  
心臓, 小腸(十二指腸, 空腸, 回腸), 盲腸, 結腸, 直腸, 腎臓, 喉頭, 肝臓, 肺, リン  
パ節(頸部, 腸間膜), 乳腺, 神経(視神経, 坐骨神経), 卵巣, 睪腺, 脳下垂体, 包皮腺,  
前立腺, 唾液腺, 筋肉, 精囊, 皮膚, 頭蓋骨, 脊髄(頸部, 胸部及び腰部), 脾臓, 胃,  
精巣, 胸腺, 甲状腺, 上皮小体, 気管, 膀胱, 子宮, 膣, 個体識別部位(尾識別), 肉眼  
所見を有するすべての臓器・組織

通常、外耳道腺、膣、眼窩外涙腺、陰核腺及び包皮腺、個体識別を除き、病理標本を  
作製し、顕微鏡検査を実施した。

また、脊髄のうち腰髄と馬尾について、新たに1 年計画屠殺群全例、2 年間計画屠殺  
群については対照群と最高用量群について長軸方向切片を作成し、特に軸索腫脹を調べ  
る目的で病理組織学的検査を行った\*。

\*申請者注)

9-1. 非腫瘍性病変

主な非腫瘍性病変の頻度については表にして、後頁(毒-104~106)に記載した。

1 年計画屠殺群(慢性毒性群) :

肝細胞肥大の発現頻度が雌雄共に 400ppm 以上の群で、統計学的有意差を伴って増加  
した。また、単細胞壊死の発現頻度の増加が雌雄 800ppm 群で認められた。

脾臓においては、色素沈着の発現頻度が雄では 800ppm 群で、雌では 400ppm 以上の  
群で統計学的に有意に増加した。しかし、2 年後の発がん性群では、いずれの用量にお  
いても、色素沈着の発現頻度に増加がみられなかった。

腎臓では腎盂の鉍質沈着に頻度の増加がみられたが、用量に関連したものではなかった。

眼においては、背景病変と考えられる強膜の鉍質沈着に統計学的に有意な発現頻度の増加が雌の 800ppm 群で認められた。

脊髄(横断切片)では軸索腫脹の頻度の増加が雌の 400ppm 以上で認められた。しかし、腰髄と馬尾(長軸方向切片)について、特に軸索腫脹に着目して追加的に病理組織学的検査を行った結果、下記の表に示すとおり、対照群と検体投与群の間に統計学的に有意な差は認められず、90 日間反復経口神経毒性試験で認められたような軸索腫脹の頻度の増加は慢性暴露で認められず、再現性が見られなかったことが確認された。また、2 年間計画屠殺動物では神経腫脹を示す動物は認められなかった。

脊髄(横断切片) 軸索腫脹の頻度

投与量	雄				雌			
	0ppm	25ppm	400ppm	800ppm	0ppm	25ppm	400ppm	800ppm
検査数	20	10	10	20	20	10	10	20
頻度	17	10	9	19	12	9	10*	20*

\*; p<0.05(カイ二乗検定, Fisher 検定(片側))

脊髄(長軸方向切片) 切片あたりの軸索腫脹の平均数

性別	検査数	腰髄部切片	馬尾切片	
雄	0ppm	20	1.10 +/- 1.12	4.35 +/- 4.63
	25ppm	10	1.20 +/- 1.55	3.30 +/- 1.57
	400ppm	10	1.70 +/- 1.16	9.20 +/- 7.87
	800ppm	20	1.95 +/- 1.43	8.15 +/- 7.17
雌	0ppm	19	1.00 +/- 1.00	3.05 +/- 3.70
	25ppm	10	1.20 +/- 1.69	4.40 +/- 3.34
	400ppm	10	1.10 +/- 1.52	5.20 +/- 2.62
	800ppm	20	1.75 +/- 1.65	7.45 +/- 7.43

Levene検定, ANOVA/Dunnett' 検定あるいはKruskal-Wallis/Mann-Whitney

2 年計画屠殺群(発がん性群) :

肝臓では以下の所見がみられた。肝細胞肥大の発現頻度が雌雄共に 400ppm 以上の群で、統計学的有意差を伴って増加し、単細胞壊死の発現頻度の増加が雌雄 800ppm 群で認められた(雌では統計学的な有意差なし)。肝内胆管過形成/線維症の頻度の増加が雄の 400ppm 以上で認められた。

腎臓では背景病変と考えられる腎盂の鉍質沈着に頻度の増加がみられ、雄では 25ppm 以上で、雌では 400ppm 以上で統計学的に有意であったが、その程度に対照群と投与群で明らかな差はみられず、背景データ範囲内にあった\*(申請者注<sup>1)</sup>)。同時に雄の 400ppm 以上で上皮過形成を示す頻度の増加に統計学的な有意差が認められた。しかし、これらの頻度には明らかな用量に関連した増加はみられず、通常認められる所見であり、対照群でも高い頻度で認められていることから、検体投与群でのわずかな増加は統計学

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

的に有意ではあるものの毒性影響とは考えられなかった。

眼においては、背景病変と考えられる強膜の鉍質沈着に統計学的に有意な発現頻度の増加が雌雄 400ppm 以上の群で認められた。しかし、その程度は対照群と投与群で明らかな差は認められず、背景データ範囲内にあった\*<sup>(申請者注 1)</sup>。白内障\*<sup>(申請者注 2)</sup>は 800ppm の雌で統計学的に有意な頻度の増加が認められた。

ハーダー氏腺のリンパ球性炎症の頻度の統計学的に有意な増加が雌で認められた。雄では同様な所見は認められなかった。

心臓血管に鉍質沈着が対照群も含み多数例にみられた。途中死亡動物および最終屠殺時の動物ごとの統計学的解析ではいずれの投与群も対照群との間に有意差は認められなかった。全動物での統計学的解析において、有意差を伴った頻度の増加が雌の 400 ppm 以上でみられた。しかしその頻度の増加は用量に関連した変化ではなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。

子宮ではのう胞性子宮内膜過形成が 400ppm 以上の雌群で認められた\*<sup>(申請者注 3)</sup>。

その他、いろいろな組織で化膿性炎症性所見が認められたが、用量に関連した発生頻度の増加がみられず、偶発的なものと考えられた。

申請者注 1) 鉍質沈着の頻度および程度について

用量 (ppm)	0	25	400	800	HCD	0	25	400	800	
所見/検査数	20/50	10/50	10/50	20/50		20/50	10/50	10/50	20/50	
腎臓										
腎盂 (1 年)	5	2	8*	11	①	4	7*	4	15*	
腎盂 (2 年)	32	45*	46*	45*	②	27	35	37*	42*	
程度 (平均)	1.6	1.6	2.1	2.2	③	1.6	1.4	1.6	1.8	
眼										
強膜 (1 年)	8	6	5	12	④	4	5	5	17*	
程度 (平均)	1.4	1.7	1.2	1.5	⑤	2.0	1.8	1.6	2.1	
強膜 (2 年)	29	30	41*	44*	⑥	27	33	36*	40*	
程度 (平均)	1.6	1.7	1.9	2.1	⑦	1.4	2.5	2.1	2.5	

1 年 ; 慢性毒性試験群, 2 年 ; 発がん性試験群, 検査数 ; 1 年/2 年

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

申請者注 2)

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

申請者注 3)



## 9-2. 腫瘍性病変

腫瘍性病変の頻度については表にして、後頁(毒-107~115)に記載した。

腫瘍の種類、発現率、良悪、部位について分類した。

慢性毒性群及び発がん性群共に、全ての腫瘍性病変の腫瘍の種類、発現率、臓器分布は投与群と対照群のラットの間で有意な差を示さないかあるいは偶発的な変化と考えられた。また用量群別及び雌雄別における良性及び悪性腫瘍を担う動物の数についても、投与群と対照群との間に差は認められなかった。

以上の結果から、ラットに本検体を1年間あるいは2年間混餌投与した影響として、以下の所見が認められた。

800ppm 雌雄群で増体重抑制、肝単細胞壊死(雌の発がん性群を除く)、脾臓の色素沈着(慢性性群のみ)の頻度の増加がみられた。800ppm 雄群で血小板の増加、脾臓重量(慢性毒性群のみ；実重量及び対体重比)、甲状腺重量(慢性毒性群のみ；実重量及び対体重比)の増加、尿中の亜硝酸塩の増加がみられた。800ppm 雌群において、ハーダー氏腺のリンパ球性炎症(発がん性群のみ)、白内障の頻度の増加(発がん性群のみ)がみられた。400ppm 以上の雌雄群でメトヘモグロビン、網状赤血球、グロブリン、総蛋白及び尿 pH の上昇、肝重量(慢性毒性群のみ；実重量及び対体重比)の増加、肝細胞肥大の頻度の増加がみられた。更に400ppm 以上の雄群でトリグリセリドの低下、肝内胆管過形成/線維症の頻度の増加(発がん性群のみ)が、400ppm 以上の雌群で増体重抑制、コレステロールの増加、甲状腺重量増加(発がん性群のみ；対体重比)、脾臓の色素沈着(慢性性群のみ)がみられた。

これらのことから、本試験条件下において、フルフェナセットの雌雄ラットに対する無毒性量 (NOAEL) は、飼料中濃度が雌雄ともに 25ppm(雄；1.2mg/kg 体重/日, 雌；1.5mg/kg 体重/日)であった。

腫瘍の種類、腫瘍性病変の発生頻度及び臓器分布に検体投与群と対照群の間に差は認められなかったため、本薬の発がん性誘発作用はないものと判断された。

主な非腫瘍性病変(慢性毒性群)-1

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	25	400	800	0	25	400	800
	所見/検査数	20	10	10	20	20	10	10	20
一 年	肝臓	20	10	10	20	20	10	10	20
	肝細胞肥大	0	0	10*	17*	0	0	7*	19*
	単細胞壊死	0	0	2	8*	0	0	2	15*
	肝内胆管過形成/線維症	10	4	6	15	1	2	2	5
	脾臓	20	10	10	20	20	10	10	20
	色素沈着	3	0	5	13*	6	5	7*	16*
	腎臓	20	10	10	20	20	10	10	20
	腎盂鉍質沈着	5	2	8*	11	4	7*	4	15*
	腎盂上皮過形成	0	0	2	1	1	2	1	7
	眼	20	10	10	20	20	10	10	20
	強膜鉍質沈着	8	6	5	12	4	5	5	17*
	白内障	2	0	1	0	2	1	0	1
	子宮	/	/	/	/	20	10	10	20
	のう胞性子宮内膜過形成	/	/	/	/	0	1	0	0
	ハーダー氏腺	20	10	10	20	20	10	10	20
	リンパ球性炎症	0	1	4	7*	1	0	1	5

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

主な非腫瘍性病変(発がん性群)-1

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	25	400	800	0	25	400	800
	所見/検査数	15	12	21	16	14	13	18	15
途中死亡動物	<b>肝臓</b>	15	12	21	16	14	13	18	15
	肝細胞肥大	0	0	7*	11*	1	0	8*	6*
	単細胞壊死	2	1	5	8*	3	2	3	4
	肝内胆管過形成/線維症	5	6	15*	13*	2	1	0	2
	塩基性変異細胞巢(虎斑状)	0	3	1	1	6	2	0	1
	<b>脾臓</b>	15	12	21	16	14	13	18	15
	色素沈着	5	6	10	13	7	5	8	12
	<b>腎臓</b>	15	12	21	16	14	13	18	15
	腎盂鉍質沈着	10	11	19	16*	9	12	13	13
	腎盂上皮過形成	9	9	19	15	7	9	10	10
	<b>眼</b>	15	12	21	16	14	13	18	15
	強膜鉍質沈着	9	6	15*	13*	5	9	9	7
	白内障	2	3	4	4	1	4	4	2
	<b>子宮体部</b>	/	/	/	/	14	13	17	15
	のう胞性子宮内膜過形成	/	/	/	/	5	2	5	5
	<b>ハーダー氏腺</b>	15	12	21	16	14	13	18	15
	リンパ球性炎症	0	1	0	1	3	2	6	5
	<b>心臓</b>	15	12	21	16	14	13	18	15
	血管鉍質沈着	13	9	12	9	6	7	8	8
	<b>肺</b>	15	12	21	16	14	13	17	15
肉芽腫性肺炎	0	4	6*	11*	2	0	2	8*	
	所見/検査数	35	38	29	34	36	37	32	35
最終屠殺動物	<b>肝臓</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
	肝細胞肥大	0	0	19*	30*	1	1	24*	25*
	単細胞壊死	0	1	1	9*	1	0	1	5
	肝内胆管過形成/線維症	26	24	25	29	5	1	5	3
	塩基性変異細胞巢(虎斑状)	17	12	10	4	20	25	11	2
	<b>脾臓</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
	色素沈着	5	7	7	9	19	23	16	21
	<b>腎臓</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
	腎盂鉍質沈着	22	34*	27*	29*	18	23	24*	29*
	腎盂上皮過形成	20	27	26*	26	22	23	24	29
	<b>眼</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
	強膜鉍質沈着	20	24	26*	31*	22	24	27*	33*
	白内障	10	7	3	8	11	11	14	26*
	<b>子宮体部</b>	/	/	/	/	36	37	32	35
	のう胞性子宮内膜過形成	/	/	/	/	8	13	19*	19*
	<b>ハーダー氏腺</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
	リンパ球性炎症	0	0	3	4	10	9	15	17
	<b>心臓</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
	血管鉍質沈着	28	31	20	25	12	20	24	22
	<b>肺</b>	35	38	29	34	36	37	32	35
肉芽腫性肺炎	0	3	2	4	1	0	1	3	

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

主な非腫瘍性病変(発がん性群)-2

	性別	雄				雌			
	用量(ppm)	0	25	400	800	0	25	400	800
	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞肥大	0	0	26*	41*	2	1	32*	31*
	単細胞壊死	2	2	6	17*	4	2	4	9
	肝内胆管過形成/線維症	31	30	40*	42*	7	2	5	5
	塩基性変異細胞巣(虎斑状)	17	15	11	5*	26	27	11*	3*
	脾臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	色素沈着	10	13	17	22	26	28	24	33
	腎臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	腎盂鉍質沈着	32	45*	46*	45*	27	35	37*	42*
	腎盂上皮過形成	29	36	45*	41*	29	32	34	39
	眼	50	50	50	50	50	50	50	50
	強膜鉍質沈着	29	30	41*	44*	27	33	36*	40*
	白内障	12	10	7	12	12	15	18	28*
	子宮体部	/	/	/	/	50	50	49	50
	のう胞性子宮内膜過形成	/	/	/	/	13	15	24*	24*
	ハーダー氏腺	50	50	50	50	50	50	50	50
	リンパ球性炎症	0	1	3	5	13	11	21	22*
	心臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	血管鉍質沈着	41	40	32	34	18	27	32*	30*
	肺	50	50	50	50	50	50	49	50
肉芽腫性肺炎	0	4	6*	11*	2	0	2	8*	

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

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

腫瘍性病変(慢性毒性群)-1

	性別	雄				雌				
	用量 (ppm)	0	25	400	800	0	25	400	800	
	所見/検査数	20	10	10	20	20	10	10	20	
一 年	副腎	19	10	9	19	20	8	9	19	
	褐色細胞腫	b	0	0	0	0	0	1	0	
	皮質腺腫	b	0	0	0	0	1	0	0	
	陰核腺	/	/	/	/	0	0	1	0	
	乳頭腫	b	/	/	/	0	0	1	0	
	縦隔		0	0	0	0	2	0	0	
	横紋筋肉腫	m	0	0	0	0	1	0	0	
	下垂体		20	10	10	20	19	10	10	20
	腺腫	b	0	0	0	0	2	3	0	1
	包皮腺		0	0	1	0	/	/	/	/
	癌	m	0	0	1	0	/	/	/	/
	皮膚 (唇)		1	0	0	0	0	0	0	0
	基底細胞腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	子宮		/	/	/	/	7	3	5	6
	子宮内膜間質ポリープ	b	/	/	/	/	2	2	1	2
	子宮内膜間質肉腫	m	/	/	/	/	0	0	1	0
	血液リンパ網内系		20	10	10	20	20	10	10	20
	単核球性白血病	m	1	0	0	0	0	0	0	0

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

腫瘍性病変(発がん性群)-1

	性別	雄				雌			
		用量 (ppm)	0	25	400	800	0	25	400
	所見/検査数	15	12	21	16	14	13	18	15
	副腎	15	12	21	16	14	13	17	15
	褐色細胞腫 b	1	2	3	0	0	1	0	1
	悪性褐色細胞腫 m	1	0	0	0	1	0	0	0
	陰核腺	/	/	/	/	1	3	1	1
	腺癌 m	/	/	/	/	0	0	1	1
	腺腫 b	/	/	/	/	1	2	0	0
	心臓	15	12	21	16	14	13	18	15
	神経鞘腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0
	腎臓	15	12	21	16	14	13	18	15
	腎芽腫 m	1	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	15	12	21	16	14	13	18	15
	肝細胞腺腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0
	リンパ節(その他) =	5	5	1	0	1	3	5	1
	悪性線維性組織球腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	乳腺	15	12	21	16	14	13	17	15
	腺癌 m	0	0	0	0	0	1	2	0
	腺腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0
	線維腺腫 b	0	0	0	0	0	2	1	0
	腸間膜	0	0	1	0	1	0	0	0
	肉腫 m	0	0	0	0	1	0	0	0
	筋肉(その他) =	0	2	2	0	1	0	1	2
	悪性線維性組織球腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	脾臓	15	12	21	16	14	13	17	15
	脾島 腺腫 b	0	0	1	0	0	0	0	0
	上皮小体	15	12	20	16	14	12	15	15
	腺腫 b	2	0	0	1	0	0	0	0
	下垂体	15	12	21	16	14	13	17	15
	腺腫 b	4	5	5	2	4	6	3	1
	癌 m	1	0	0	0	0	0	1	0
	のう胞腺腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0
	直腸	15	11	21	16	14	13	17	15
	平滑筋肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	唾液腺	15	12	21	16	14	13	17	15
	腺癌 m	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮膚(耳)	0	0	0	0	1	0	0	0
	乳頭腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0
	皮膚(その他) =	1	2	4	4	1	2	2	2
	線維腫 b	1	0	1	0	1	0	0	0
	線維肉腫 m	0	0	0	0	0	0	0	1
	角化棘細胞腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0
	毛嚢上皮腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍, \*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

= : リンパ節(その他); 頸部、腸間膜リンパ節以外のリンパ節, 皮膚(その他); 両側の皮膚(乳腺域を含む)以外の皮膚, 筋肉(その他); 腓腹筋以外の筋肉

腫瘍性病変(発がん性群)-2

	性別	雄				雌			
		用量 (ppm)	0	25	400	800	0	25	400
	所見/検査数	15	12	21	16	14	13	18	15
	皮膚 (プロトコール) =	15	12	21	16	14	13	18	15
	線維腫 b	0	0	0	0	0	0	1	0
	頭蓋骨	15	12	21	16	14	13	18	15
	腺癌(シンバル腺) m	0	0	1	0	0	0	0	0
	癌(鼻甲介部) m	0	0	1	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌(口蓋部) m	0	0	0	0	0	0	0	1
	乳頭腫(舌) b	0	0	0	0	0	0	1	0
	小腸	15	12	21	16	14	13	18	15
	腺腫 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓	15	12	21	16	14	13	18	15
	血管腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫 m	0	1	1	0	0	0	0	0
	精巣	15	12	21	16	/	/	/	/
	間細胞腫 b	9	10	17	14	/	/	/	/
	甲状腺	15	12	21	16	14	13	17	15
	C-細胞腺腫 b	1	1	2	1	1	0	1	0
	ろ胞細胞腺腫 b	0	0	0	0	0	0	0	0
	C-細胞癌 m	1	0	3	1	0	0	0	0
	膀胱	15	12	21	16	14	13	17	15
	移行上皮癌 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0
途 中 死 亡 動 物	子宮体部	/	/	/	/	14	13	17	15
	腺癌 m	/	/	/	/	0	0	1	1
	子宮内膜間質ポリープ b	/	/	/	/	4	3	1	4
	子宮頸部	/	/	/	/	14	13	17	15
	平滑筋肉腫 m	/	/	/	/	0	0	1	0
	子宮内膜間質ポリープ b	/	/	/	/	0	0	0	1
	膣	/	/	/	/	0	1	2	2
	平滑筋肉腫 m	/	/	/	/	0	0	0	1
	ジンバル腺	0	0	0	1	0	0	0	0
	癌 m	0	0	0	1	0	0	0	0
	全身腫瘍	15	12	21	16	14	13	18	15
	中皮腫 m	0	1	2	0	0	0	0	0
	血液リンパ網内系	15	12	21	16	14	13	18	15
	単核球性白血病 m	8	4	2	1	3	7	4	0
	組織球肉腫 m	0	0	1	0	0	0	1	0

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定) カイ二乗検定,

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍

=: 皮膚 (プロトコール); 両側の皮膚 (乳腺域を含む)

腫瘍性病変(発がん性群)-3

	性別	雄				雌				
		用量 (ppm)				用量 (ppm)				
		0	25	400	800	0	25	400	800	
	所見/検査数	35	38	29	34	36	37	32	35	
最終屠殺動物	副腎	35	38	29	34	36	37	32	35	
	褐色細胞腫	b	7	9	4	5	2	3	0	1
	悪性褐色細胞腫	m	0	0	1	0	0	0	0	0
	皮質腺腫	b	0	0	1	0	1	1	1	0
	胸骨		35	38	29	34	36	37	32	35
	骨肉腫	m	1	0	0	0	0	0	0	0
	陰核腺		/	/	/	/	1	3	1	2
	腺癌	m	/	/	/	/	1	2	1	1
	癌	m	/	/	/	/	0	0	0	1
	結腸		35	38	29	34	36	37	32	35
	腺癌	m	0	1	0	0	0	0	0	0
	眼窩外涙腺		0	1	2	0	2	1	4	2
	肉腫	m	0	1	0	0	0	0	0	0
	心臓		35	38	29	34	36	37	32	35
	神経鞘腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓		35	38	29	34	36	37	32	35
	肝細胞腺腫	b	0	1	2	1	0	0	0	0
	肝細胞癌	m	0	0	0	0	0	1	1	0
	のう胞腺腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺		35	38	29	34	36	37	32	35
	肺胞/細気管支癌	m	1	0	0	0	0	0	0	0
	乳腺		35	38	29	33	36	37	32	35
	腺癌	m	0	0	0	0	1	0	0	0
	腺腫	b	0	0	0	0	0	2	0	0
	のう胞腺腫	b	0	0	0	0	0	2	0	0
	線維腺腫	b	0	2	1	0	5	5	4	1
	線維腫	b	0	0	0	0	1	0	0	0
	筋肉(その他) =		0	2	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫	m	0	1	0	0	0	0	0	0
	卵巢		/	/	/	/	36	37	32	35
癌	m	/	/	/	/	0	0	0	1	
脾臓		35	38	29	34	36	37	32	35	
脾島 腺腫	b	0	0	0	2	0	0	0	0	
脾島 癌	m	2	2	0	0	0	0	0	0	
甲状腺		35	38	29	34	36	37	32	35	
C-細胞腺腫	b	3	2	3	2	2	0	0	5	
ろ胞細胞腺腫	b	0	1	0	0	0	0	0	1	
C-細胞癌	m	3	4	5	2	1	0	2	1	
ろ胞細胞癌	m	0	0	0	0	0	0	0	1	
上皮小体		35	38	28	34	36	36	31	34	
腺腫	b	0	0	0	1	0	0	0	0	

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定) カイ二乗検定,

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍

=: 筋肉(その他); 腓腹筋以外の筋肉



腫瘍性病変(発がん性群)-4

	性別	雄				雌				
		用量(ppm)	0	25	400	800	0	25	400	800
	所見/検査数	35	38	29	34	36	37	32	35	
最終屠殺動物	下垂体	35	38	29	34	36	37	32	35	
	腺腫	b	13	15	5	5	10	16	6	9
	癌	m	0	2	0	1	0	0	0	0
	のう胞腺腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	包皮腺		0	3	2	1	/	/	/	/
	腺癌	m	0	1	0	0	/	/	/	/
	扁平上皮癌	m	0	1	0	0	/	/	/	/
	癌	m	0	1	0	0	/	/	/	/
	皮膚(前肢)		6	1	0	0	1	1	2	0
	線維腫	b	2	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚(後肢)		1	3	1	1	0	0	0	1
	基底細胞腫瘍	b	0	0	1	0	0	0	0	0
	線維肉腫	m	0	0	0	0	0	0	0	1
	毛嚢上皮腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	皮膚(その他) <sup>1)</sup>		6	6	3	8	5	4	7	1
	腺腫	b	1	0	1	2	0	0	0	0
	線維腺腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫	b	1	1	0	2	0	0	0	0
	線維肉腫	m	1	1	0	0	0	1	0	0
	角化棘細胞腫	b	1	0	1	2	0	0	0	0
	黒色腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳頭腫	b	1	1	0	0	0	0	0	0
	毛嚢上皮腫	b	0	0	0	1	0	0	0	0
	頭蓋骨		35	38	29	34	36	37	32	35
	基底細胞腫瘍(口蓋部)	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳頭腫(口蓋部)	b	0	0	1	0	0	0	0	0
	小腸		35	38	29	34	36	37	32	35
	腺癌	m	0	0	0	0	0	0	1	0
	脾臓		35	38	29	34	36	37	32	35
	血管腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	胃		35	38	29	34	36	37	32	35
	線維肉腫	m	0	0	0	1	0	0	0	0
肉腫	m	0	0	0	0	1	0	0	0	
精巣		35	38	29	34	/	/	/	/	
間細胞腫	b	33	37	28	33	/	/	/	/	
胸腺		35	38	29	33	35	36	32	35	
肉腫	m	0	0	0	0	0	0	0	1	
膀胱		35	38	29	34	36	37	32	35	
移行上皮癌	m	0	0	0	0	1	0	0	0	

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

<sup>1)</sup>: 皮膚(その他); 両側の皮膚(乳腺域を含む)以外の皮膚

腫瘍性病変(発がん性群)-5

	性別	雄				雌			
		用量(ppm)	0	25	400	800	0	25	400
最終屠殺動物	所見/検査数	35	38	29	34	36	37	32	35
	子宮体部	/	/	/	/	36	37	32	35
	腺癌 m	/	/	/	/	1	0	1	1
	腺腫 b	/	/	/	/	0	1	0	0
	癌 m	/	/	/	/	0	0	1	0
	神経線維肉腫 m	/	/	/	/	0	0	1	0
	子宮内膜間質ポリープ b	/	/	/	/	12	15	11	10
	子宮内膜間質肉腫 m	/	/	/	/	0	0	1	0
	子宮頸部	/	/	/	/	36	37	32	35
	子宮内膜間質肉腫 m	/	/	/	/	1	0	0	0
	ジンバル腺	1	0	0	1	0	0	0	1
	癌 m	1	0	0	1	0	0	0	0
	全身腫瘍	35	38	29	34	36	37	32	35
	中皮腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	血液リンパ網内系	35	38	29	34	36	37	32	35
	単核球性白血病 m	11	19	0	1	9	16	7	5
全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
	副腎	50	50	50	50	50	50	49	50
	褐色細胞腫 b	8	11	7	5	2	4	0	2
	悪性褐色細胞腫 m	1	0	1	0	1	0	0	0
	皮質腺腫 b	0	0	1	0	1	1	1	0
	胸骨	50	50	50	50	50	50	49	50
	骨肉腫 m	1	0	0	0	0	0	0	0
	陰核腺	/	/	/	/	2	6	2	3
	腺癌 m	/	/	/	/	1	2	2	2
	腺腫 b	/	/	/	/	1	2	0	0
	癌 m	/	/	/	/	0	0	0	1
	結腸	50	50	50	50	50	50	49	50
	腺癌 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	眼窩外涙腺	0	1	2	0	5	1	4	3
	肉腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	心臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	神経鞘腫 b	0	0	0	1	0	0	1	0
	腎臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	腎芽腫 m	1	0	0	0	0	0	1	0
	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	50
	肝細胞腺腫 b	0	2	2	1	0	0	0	0
	肝細胞癌 m	0	0	0	0	0	1	1	0
	のう胞腺腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0
	肺	50	50	50	50	50	50	49	50
	肺泡/細気管支癌 m	1	0	0	0	0	0	0	0
	リンパ節(その他) =	6	6	3	1	5	3	5	3
	悪性線維性組織球腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0

m:悪性腫瘍, b:良性腫瘍,

\*= p < 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

=: リンパ節(その他); 頸部、腸間膜リンパ節以外のリンパ節

腫瘍性病変(発がん性群)-6

	性別	雄				雌			
		用量(ppm)	0	25	400	800	0	25	400
	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	50
全動物	乳腺	50	50	50	49	50	50	49	50
	腺癌 m	0	0	0	0	1	1	2	0
	腺腫 b	0	0	0	0	1	2	0	0
	のう胞腺腫 b	0	0	0	0	0	2	0	0
	線維腺腫 b	0	2	1	0	5	7	5	1
	線維腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0
	腸間膜	0	0	1	0	1	0	0	0
	肉腫 m	0	0	0	0	1	0	0	0
	筋肉(その他) =	0	4	2	0	1	0	1	2
	悪性線維性組織球腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0
	卵巢	/	/	/	/	50	50	49	50
	癌 m	/	/	/	/	0	0	0	1
	脾臓	50	50	50	50	50	50	49	50
	脾島 腺腫 b	0	0	1	2	0	0	0	0
	脾島 癌 m	2	2	0	0	0	0	0	0
	甲状腺	50	50	50	50	50	50	49	50
	C-細胞腺腫 b	4	3	5	3	3	0	1	5
	ろ胞細胞腺腫 b	0	1	0	0	0	0	0	1
	C-細胞癌 m	4	4	8	3	1	0	2	1
	ろ胞細胞癌 m	0	0	0	0	0	0	0	1
	上皮小体	50	50	48	50	50	48	46	49
	腺腫 b	2	0	0	2	0	0	0	0
	下垂体	50	50	50	50	50	50	49	50
	腺腫 b	17	20	10	7	14	22	9	10
	癌 m	1	2	0	1	0	0	1	0
	のう胞腺腫 b	2	0	0	0	0	0	0	0
	包皮腺	0	4	4	3	/	/	/	/
	腺癌 m	0	1	0	0	/	/	/	/
	扁平上皮癌 m	0	1	0	0	/	/	/	/
	癌 m	0	1	0	0	/	/	/	/
	直腸	50	49	50	50	50	50	48	49
平滑筋肉腫 m	0	0	0	1	0	0	0	0	
唾液腺	50	50	50	50	50	50	49	50	
腺癌 m	0	0	1	0	0	0	0	0	
皮膚(耳)	0	0	0	0	1	0	0	0	
乳頭腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0	
皮膚(前肢)	6	1	1	0	2	1	2	1	
線維腫 b	2	0	0	0	0	0	0	0	
皮膚(後肢)	1	4	1	2	0	0	0	1	
基底細胞腫瘍 b	0	0	1	0	0	0	0	0	
線維肉腫 m	0	0	0	0	0	0	0	1	
毛嚢上皮腫 b	1	0	0	0	0	0	0	0	

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍,

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定), =: 筋肉(その他); 腓腹筋以外の筋肉

腫瘍性病変(発がん性群)-7

	性別	雄				雌				
		用量 (ppm)	0	25	400	800	0	25	400	800
全動物	所見/検査数		50	50	50	50	50	50	50	50
	皮膚 (その他)		7	8	7	12	6	6	9	3
	腺腫	b	1	0	1	2	0	0	0	0
	線維腺腫	b	1	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫	b	2	1	1	2	1	0	0	0
	線維肉腫	m	1	1	0	0	0	1	0	1
	角化棘細胞腫	b	1	0	1	3	0	0	0	0
	黒色腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	乳頭腫	b	1	1	0	0	0	0	0	0
	毛嚢上皮腫	b	0	0	0	2	0	0	0	0
	皮膚 (プロトコール)		50	50	50	49	50	50	50	50
	線維腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	頭蓋骨		50	50	50	50	50	50	50	50
	腺癌 (ジンバル腺)	m	0	0	1	0	0	0	0	0
	基底細胞腫瘍 (口蓋部)	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	癌 (鼻甲介部)	m	0	0	1	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌 (口蓋部)	m	0	0	0	0	0	0	0	1
	乳頭腫 (口蓋部 <sup>△</sup> , 舌 <sup>△</sup> )	b	0	0	1 <sup>△</sup>	0	0	0	1 <sup>△</sup>	0
	小腸		50	50	50	50	50	50	50	50
	腺癌	m	0	0	0	0	0	0	1	0
	腺腫	b	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓		50	50	50	50	50	50	50	50
	血管腫	b	1	0	0	0	0	0	1	0
	血管肉腫	m	0	1	1	0	0	0	0	0
	胃		50	50	50	50	50	50	49	50
	線維肉腫	m	0	0	0	1	0	0	0	0
	肉腫	m	0	0	0	0	1	0	0	0
	精巣		50	50	50	50	/	/	/	/
	間細胞腫	b	42	47	45	47	/	/	/	/
	胸腺		47	50	50	48	49	49	48	50
	肉腫	m	0	0	0	0	0	0	0	1
	膀胱		50	50	50	50	50	50	49	50
移行上皮癌	m	0	0	0	1	1	0	0	0	
肉腫	m	0	0	0	1	0	0	0	0	
子宮体部		/	/	/	/	50	50	49	50	
腺癌	m	/	/	/	/	1	0	2	2	
腺腫	b	/	/	/	/	0	1	0	0	
癌	m	/	/	/	/	0	0	1	0	
神経線維肉腫	m	/	/	/	/	0	0	1	0	
子宮内膜間質ポリープ	b	/	/	/	/	16	18	12	14	
子宮内膜間質肉腫	m	/	/	/	/	0	0	1	0	

m: 悪性腫瘍, b: 良性腫瘍,

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

△: 皮膚(その他); 両側の皮膚(乳腺域を含む)以外の皮膚, 皮膚(プロトコール); 両側の皮膚(乳腺域を含む)

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

腫瘍性病変(発がん性群)-8

	性別		雄				雌				
	用量(ppm)		0	25	400	800	0	25	400	800	
全動物	所見/検査数		50	50	50	50	50	50	50	50	
	子宮頸部		/	/	/	/	50	50	49	50	
	癌		/	/	/	/	0	0	0	0	
	平滑筋肉腫 m		/	/	/	/	0	0	1	0	
	子宮内膜間質ポリープ b		/	/	/	/	0	0	0	1	
	子宮内膜間質肉腫 m		/	/	/	/	1	0	0	0	
	腫		/	/	/	/	0	1	2	2	
	平滑筋肉腫 m		/	/	/	/	0	0	0	1	
	ジンバル腺		1	0	0	2	0	0	0	1	
	癌 m		1	0	0	2	0	0	0	0	
	全身腫瘍		50	50	50	50	50	50	50	50	
	中皮腫 m		0	2	2	0	0	0	0	0	
	血液リンパ網内系		50	50	50	50	50	50	50	50	
	単核球性白血病 m		19	23	2	2	12	23	11	5	
組織球肉腫 m		0	0	1	0	0	0	1	0		
合計	検査動物数		50	50	50	50	50	50	50	50	
	腫瘍数										
			良性	87	88	76	77	46	59	34	35
			悪性	31	43	19	12	21	28	28	18
	腫瘍総数			118	131	95	89	67	87	62	53
	担腫瘍動物数										
		良性	47	50	49	49	31	26	26	24	
		悪性	22	33	16	10	19	25	24	16	
担腫瘍動物数			50	50	50	50	37	38	38	32	

m:悪性腫瘍, b:良性腫瘍,

\*= p ≤ 0.05 (Chi-Square analysis, Fisher 検定)

## イヌにおける1年間反復経口投与毒性試験

(毒性資料 No. 原体-19)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度：

試験動物：ビーグル犬、1群雌雄各4匹  
供試時月齢；5～6ヶ月齢，供試時体重；雄 6.4～10.4kg，雌 5.3～9.7kg  
投与期間：1年間(1992年5月～1993年5月)

投与方法：

検体を0(対照群)、40、800、1600ppmとなるように均質に飼料に混ぜ1年間投与した。飼料と混合する際に、1%のコーンオイルを用いた。毎日飼料を与え、自由に摂取させた。検体を添加した飼料は、1週間に1回調製した。

投与用量設定の根拠；

試験項目及び結果：

### 1. 臨床症状

病的状態及び死亡に関する観察を週末及び休日を含め、少なくとも1日1回行い、結果を記録した。毒性による一般状態の変化について、詳細な検査を週1回行った。

1600ppm 群雄2例、雌1例で試験の試験終了時期に斜頸が散発的に認められ、投与による影響と考えられた。

この他に投与に関連した臨床症状はいずれの投与群においても認められなかった。

### 2. 死亡率

1年間の試験期間中、死亡は認められなかった。

### 3. 体重変化

週に1回体重を測定した。

試験期間中、対照群に比べ統計学的に有意な体重の変化は雌雄いずれの群においても認められなかったが(Anova + Students t-test,  $p \geq 0.05$ )、最終体重は1600ppm群雌雄及び800ppm群雌において対照群と比較して10%以上低下し(1600ppm雄; 12%, 雌; 19%, 800ppm雌; 12%)、投与による影響と考えられた。体重推移を図1および2に示す。

図1. 体重(雄)

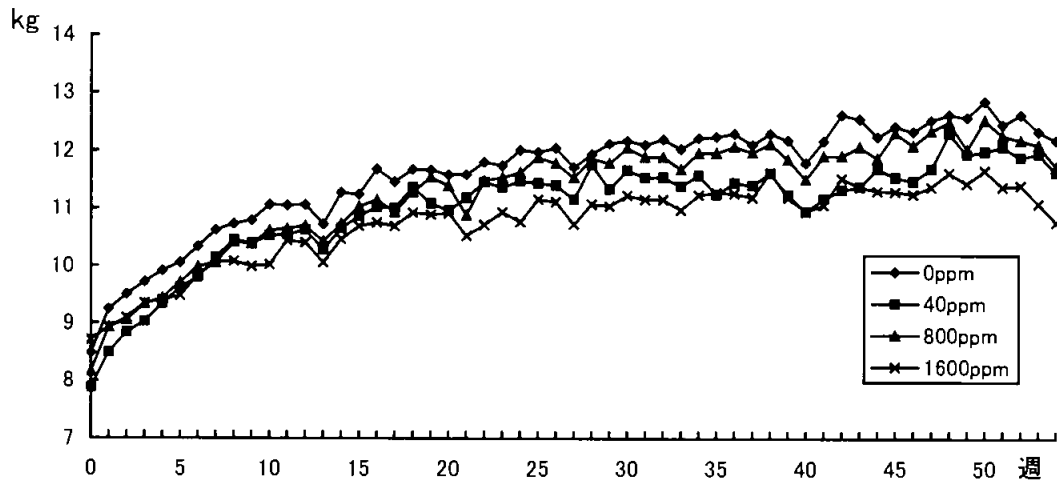
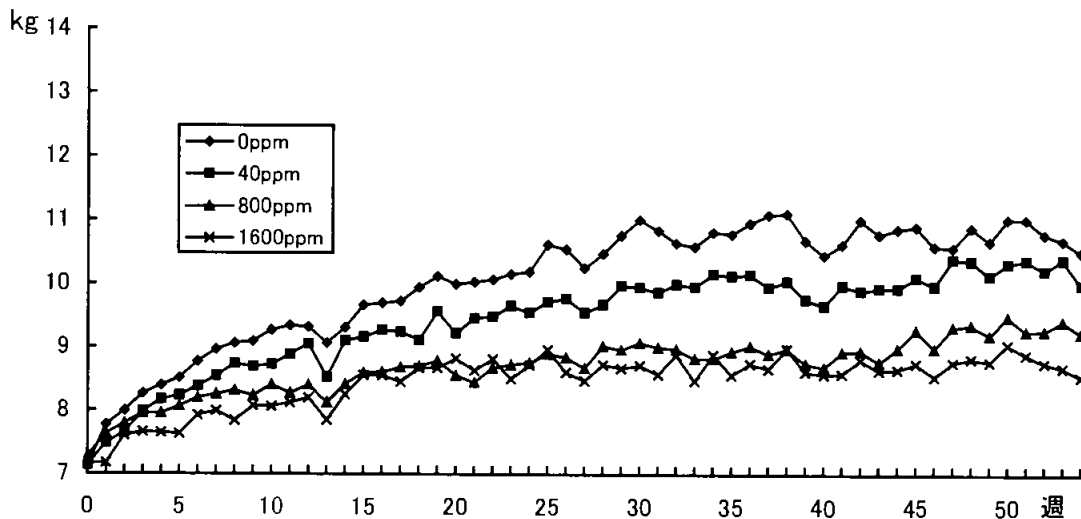


図2. 体重(雌)



#### 4. 摂餌量及び検体摂取量

摂餌量については、個体別に毎日測定した。

摂餌量については、散発的に雌雄共に 2400ppm および 800ppm 群で対照群に比べ統計学的に有意な増加が認められたが、特に意味のある変化とは考えられなかった。

表 1 有意差の認められた測定時期

性別	雄		雌	
	800ppm	1600ppm	800ppm	1600ppm
83 週		↑ 141		
90 週		↑ 156		
97 週		↑ 142		
118 週		↑ 122		
167 週	↑ 125	↑ 135		
279 週			↑ 167	↑ 178

↑:  $p < 0.05$  (Anova + Students t-test)

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の。

投与期間中の平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日) は以下のとおりであった。

表 2 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与用量 (ppm)		40	800	1600
検体摂取量	雄	1.29	27.75	62.24
	雌	1.14	26.82	58.79

#### 5. 臨床検査

投与開始前、3 ヶ月後、6 ヶ月後、9 ヶ月後、そして 12 ヶ月後の試験終了の直前に、血液一般検査、血液生化学検査及び尿検査を実施した。尚、採血前に全動物を一晩絶食させた。

##### 5-1. 血液一般検査

以下の項目について検査した。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、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 (PLTS)、メトヘモグロビン (%METHb)、白血球百分率、赤血球形態、網状赤血球数 (Retic)、ハイイツ小体

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。

1600ppm 群及び 800ppm 群の雌雄において、検体との関連性を示唆するヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH 及び MCHC に統計学的に有意な減少がみられ、更に 1600ppm 群雌雄では赤血球についても統計学的に有意な減少が見られた。これらの軽度の貧血は雄では投与期間を通じて、雌では投与後 3 ヶ月に認められた。また、1600ppm 群雄では血小板数の増加も認められた。800ppm 群雄にみられた血小板数の増加は投与開始時も認められ、その



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

後対照群と同様に減少傾向にあることから投与に関連した変化と考えられなかった。

その他の赤血球系の項目、白血球系の項目及び血液形態像については、統計学的な有意差がいくつか散見されたが、用量相関性がなかったり、時間的な関連性がなかったりしたことから生物学的に重要な変化とは考えられなかった。

表 4 血液学的検査

用量 検査月	40ppm						800ppm						1600ppm					
	-14日	0	3	6	9	12	-14日	0	3	6	9	12	-14日	0	3	6	9	12
<b>雄</b>																		
白血球														↑127	↑141	↑137		
赤血球															↓81	↓86		
Hb									↓86	↓86	↓93	↓86			↓75	↓79	↓85	↓86
HCT									↓88	↓87		↓89			↓77	↓82	↓86	↓88
MCV									↓94	↓93	↓94	↓94			↓95	↓94		
MCH									↓92	↓91	↓92	↓92			↓91	↓92	↓95	↓94
MCHC									↓97	↓98		↓97			↓96	↓98		↓98
PLTS								↑132	↑136	↑132	↑140	↑133		↑120	↑138	↑149	↑156	↑146
METH b%														↑150				
Retic%		↓47						↓35						↓35				
Band%			↓28															
Mono%						↑225						↑207						↑243
Hypo*																3/0		
<b>雌</b>																		
白血球							↓75											
赤血球															↓86			
Hb									↓89						↓79			
HCT									↓91						↓81			
MCV									↓93	↓93					↓95			
MCH									↓91	↓92	↓93	↓92			↓92	↓93		
MCHC										↓99						↓97		
Mono%							↑209	↑242										
Retic%																		↑250

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

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。

\*Hypo: 実測データを記載 投与群/対照群, 3例で軽度(評点4), 1例0

Band(桿状核球(%)), Mono(単球(%)),

## 5-2. 血液生化学的検査

以下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(ASAT), アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT), アルカリホスファターゼ(ALP), γ-グルタミルトランスフェラーゼ(GGT), 乳酸脱水素酵素(LDH), クレアチンキナーゼ(CK), 血糖(GLUC), コレステロール(CHOL),

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

トリグリセリド、クレアチニン(CREA)、尿素窒素(UN)、総ビリルビン、総蛋白(T-PROT)、アルブミン(ALB)、グロブリン(GLOB)、尿酸(Uric-A)、Na、K、Ca、CL、P、トリヨードチロニン(T3)、チロキシン(T4)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表5に示す。

表5 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

用量	40ppm					800ppm					1600ppm								
	検査月	-14日	0	3	6	9	12	-14日	0	3	6	9	12	-14日	0	3	6	9	12
雄																			
K				↓93	↑110				↓90	↓87					↓84	↓93			
Na										↑103						↑103			
Uric-A									↑125						↑125				
GLUC					↓86						↓84							↓81	
CREA												↓89			↓80	↓80	↓89		
CHOL				↓76							↑132				↑134	↑150	↑173		
CK		↑120			↑144				↓85			↓70			↓70				
ALAT									↓33	↓57	↓43	↓56			↓31	↓43	↓59	↓49	
GGT*			↓3/5						↓3/5						↓2/5				
ALP									↑165	↑199		↑189			↑172	↑211	↑212	↑279	
ALB			↓89						↓91						↓80		↓88		
T4										↓52						↓40			
T3										↓75					↓63	↓75			
雌																			
Na				↑102			↑101			↑102	↑103	↑108	↑101			↑103	↑103		
K															↓88				
Cl									↑105						↑104				
UN															↑113		↑125		
GLUC								↑114		↑114									
CHOL		↓83						↓68											↑138
LDH				↓55						↓47									↑176
ALAT								↓53	↓48		↓59				↓32	↓40		↓62	
ALP											↑151				↑177	↑249	↑306	↑255	
GGT				↑5/3					↑5/3										
T-PROT									↓89										
ALB								↓89	↓86	↓91					↓83	↓86	↓88		
Ca								↓92	↓96						↓95	↓96			
GLOB				↑107															
T4					↓68				↓51	↓50	↓48				↓46	↓32	↓35		
T3									↓67	↓71					↓56	↓71	67		

↑↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

表中の数値は変動の日安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

\* : 実測値を記載(投与群/対照群 U/L) , 背景データ外の数値(\*次頁の申請者注参照)を下線で示した。

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

1600ppm 群雌雄にコレステロール及びアルカリホスファターゼの上昇、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルブミン、K、T4 及び T3 の減少、そして更に雄に血糖及びクレアチニンの減少が認められた。

800ppm 群雌雄にアルカリホスファターゼの上昇、アラニンアミノトランスフェラーゼ、T4 及び T3 の減少、雄に血糖及びクレアチニンの減少、コレステロールの上昇、雌にアルブミンの減少が認められた。

その他に認められた統計学的に有意差は、用量反応関係がなかったり、投与前の値と同等であったり、背景データ範囲内\*であったりしたことから、検体投与との関連性はないものと考えられた。

\*申請者注 1)

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

\*申請者注 2)

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

表 6: T4 値(μg/dL)-雄-

ppm	平均	*	幅 min-max				
- 14 日							
0	2.6	/	1.5 - 3.5				
40	2.4	-	1.5 - 3.1				
800	2.5	-	1.9 - 3.2				
1600	2.4	-	1.8 - 2.7				
0 週							
0	2.5	/	2.0 - 3.1				
40	2.4	-	1.4 - 3.1				
800	2.5	-	1.7 - 3.4				
1600	2.0	-	1.0 - 2.7				
3 ヶ月							
0	2.6	-	1.7 - 4.0				
40	2.3	-	1.5 - 3.9				
800	1.9	-	1.5 - 3.0				
1600	1.5	-	0.9 - 2.5				
6 ヶ月							
0	2.5	-	1.8 - 3.4				
40	2.0	-	1.3 - 2.8				
<b>800</b>	<b>1.3</b>	↓	1.1 - 1.4				
<b>1600</b>	<b>1.0</b>	↓	0.6 - 1.2				
9 ヶ月							
0	2.5	-	1.8 - 3.8				
40	2.4	-	1.8 - 3.2				
800	1.9	-	1.3 - 2.5				
1600	1.4	-	1.0 - 1.9				
12 ヶ月							
0	2.4	-	1.6 - 3.1				
40	1.7	-	1.3 - 2.3				
800	1.5	-	1.4 - 1.7				
1600	1.7	-	1.2 - 2.5				

n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test) 太字: 検体の影響

表 7: T4 値(μg/dL)-雌-

ppm	平均 *	幅 min-max				
- 14 日						
0	3.0 /	2.4 - 3.6				
40	2.6 -	2.1 - 3.0				
800	2.6 -	2.1 - 2.9				
1600	2.8 -	2.2 - 3.4				
0 週						
0	2.9 /	1.6 - 3.6				
40	1.9 -	1.6 - 2.2				
800	1.9 -	1.7 - 2.5				
1600	2.3 -	1.4 - 3.4				
3 ヶ月						
0	3.5 -	2.6 - 4.1				
40	2.6 -	2.0 - 3.5				
<b>800</b>	<b>1.8 ↓</b>	1.3 - 2.4				
<b>1600</b>	<b>1.6 ↓</b>	0.9 - 2.2				
6 ヶ月						
0	2.8 -	2.2 - 3.5				
40	2.5 -	1.7 - 3.2				
<b>800</b>	<b>1.4 ↓</b>	0.6 - 2.1				
<b>1600</b>	<b>0.9 ↓</b>	0.9 - 1.1				
9 ヶ月						
0	3.1 -	2.7 - 3.4				
40	2.1 ↓	1.3 - 2.9				
<b>800</b>	<b>1.5 ↓</b>	1.0 - 1.8				
<b>1600</b>	<b>1.1 ↓</b>	0.9 - 1.4				
12 ヶ月						
0	3.6 -	2.3 - 5.2				
40	2.6 -	2.4 - 2.9				
800	2.3 -	1.1 - 3.9				
1600	2.1 -	2.0 - 2.4				

, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test) 太字: 検体の影響

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

表 8: T3 値 (ng/dL) -雄-

1 年間反復経口					
ppm	平均	* 幅	min-max		
- 14 日					
0	0.8	/	0.6 - 1.0		
40	0.8	-	0.7 - 0.9		
800	0.8	-	0.7 - 0.9		
1600	0.7	-	0.5 - 0.8		
0 週					
0	0.8	/	0.8 - 0.9		
40	0.8	-	0.6 - 1.0		
800	0.8	-	0.6 - 1.1		
1600	0.7	-	0.6 - 0.9		
3 ヶ月					
0	0.8	/	0.7 - 0.9		
40	0.8	-	0.7 - 0.9		
800	0.7	-	0.6 - 0.9		
<b>1600</b>	<b>0.5 ↓</b>		0.4 - 0.6		
6 ヶ月					
0	0.8	/	0.7 - 1.0		
40	0.7	-	0.7 - 0.9		
<b>800</b>	<b>0.6 ↓</b>		0.4 - 0.7		
<b>1600</b>	<b>0.6 ↓</b>		0.4 - 0.7		
9 ヶ月					
0	0.7	/	0.5 - 0.9		
40	0.7	-	0.5 - 0.9		
800	0.6	-	0.5 - 0.7		
1600	0.5	-	0.4 - 0.7		
12 ヶ月					
0	0.7	/	0.6 - 0.9		
40	0.6	-	0.6 - 0.8		
800	0.6	-	0.5 - 0.7		
1600	0.5	-	0.3 - 0.7		

, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test) 太字: 検体の影響

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

表 9: T3 値(ng/dL)-雌-

1 年					
ppm	平均	*	幅 min-max		
- 14 日					
0	0.8	/	0.6 - 1.0		
40	0.8	-	0.7 - 0.9		
800	0.8	-	0.7 - 0.9		
1600	0.7	-	0.5 - 0.8		
0 週					
0	0.8	/	0.8 - 0.9		
40	0.8	-	0.6 - 1.0		
800	0.8	-	0.6 - 1.1		
1600	0.7	-	0.6 - 0.9		
3 ヶ月					6-12 月齢
0	0.8	/	0.7 - 0.9		
40	0.8	-	0.7 - 0.9		
800	0.7	-	0.6 - 0.9		
<b>1600</b>	<b>0.5</b>	↓	0.4 - 0.6	0.79 (n=22)	0.38 ; 0.41-1.16
6 ヶ月					12-21 月齢
0	0.8	/	0.7 - 1.0		
40	0.7	-	0.7 - 0.9		
<b>800</b>	<b>0.6</b>	↓	0.4 - 0.7		
<b>1600</b>	<b>0.6</b>	↓	0.4 - 0.7		
9 ヶ月					
0	0.7	/	0.5 - 0.9		
40	0.7	-	0.5 - 0.9		
800	0.6	-	0.5 - 0.7		
<b>1600</b>	<b>0.5</b>	↓	0.4 - 0.7		
12 ヶ月					
0	0.7	/	0.6 - 0.9		
40	0.6	-	0.6 - 0.8		
800	0.6	-	0.5 - 0.7		
<b>1600</b>	<b>0.5</b>	↓	0.3 - 0.7		

, n = 動物数 ↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test) 太字: 検体の影響



### 5-3. 尿検査

以下の項目について検査した。

尿の透明性、色調、比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン(Bil)、潜血、ウロビリノーゲン(Uro)、亜硝酸塩(Nit)、白血球(U-Leu)、尿沈渣  
 対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 10 に示す。

表 10 尿検査

用量 検査月	40ppm					800ppm					1600ppm				
	-5日	3	6	9	12	-5日	3	6	9	12	-5日	3	6	9	12
雄															
pH*		↑9.0 /7.9					↑9.0 /7.9	↓8.1 /6.6			↑8.8 /6.5	↓7.1 /8.4			↑8.4 /6.5
比重				↑101				↑102	↑102					↑102	
潜血														↓25	
Nit*								↑1/0							
雌															
ケトン体 (mg/dL)*								↓0/4						↓0/4	
Bil*								↓0/1						↓0/1	
潜血										↓36			↑1.9/0		↓16
Uro								↓25					↓25		
比重								↓98					↓97		
Nit*								↑1/0							
U-Leu*										↓0/1					↓0/1

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Students t-test)

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。

\* : 実測データを記載 投与群/対照群

その結果、用量に関連した変化が認められず、従って検体の影響は認められなかった。

### 6. 眼科学的検査

検体投与開始前及び試験終了時の剖検前に、全例について眼科学的検査を実施した。

本検査では検体に起因する所見は認められなかった。

### 7. 心電図及び血圧

検体投与 282 日及び 379 日に、全例について心電図及び血圧を調べた。

心電図から算出された測定パラメータ (P 波振幅, P 波持続時間, PR 間隔, R 波振幅, QRS 持続時間, QT 間隔)

[検体投与 282 日]

全測定項目について、対照群と比較していずれの投与群でも雌雄ともに統計学的な差は認められなかった。

[検体投与 379 日]

対照群に比べ、R波振幅については雄の40ppmで、P波振幅については雌の800ppmで統計学的に有意な低下(ANOVA + Fisher's LSD, 有意水準; $p < 0.05$ )がみられたが、用量相関性がないことから偶発的な影響とは考えられた。

心電図 (肉眼的検査)

[検体投与 282 日]

個々の心電図を肉眼的に評価した結果、800ppmまで雌雄共に影響は認められなかった。同様に1600ppm群の雄でも何ら影響はなかった。しかし1600ppm群雌において、R波ノッチ、T波の上昇及びT波ノッチがそれぞれ1例に、またT波ノッチが2例に観察され、心室の異常が示唆された。収縮期圧、拡張期圧、平均動脈圧及び心拍数に有意な差はなかった(統計処理; Anova + Students t-tests (two-sided), 有意水準; $p < 0.05$ )。

[検体投与 379 日]

個々の心電図を肉眼的に評価した結果、800ppmまで影響は雌雄共に認められなかった。1600ppm群の雄1例の心電図は心室期外収縮を示し、同群の雌ではR波ノッチが1例で、残りの3例では、R波ノッチに加え、T波の上昇及びノッチがみられた。尚、収縮期圧、拡張期圧、平均動脈圧及び心拍数に有意な差はなかった(ANOVA + Fisher's LSD, 有意水準; $p < 0.05$ )。

心室性 EEG 異常は、心筋及びミトコンドリア機能を維持するというグルタチオンの役割や、家族性抗酸化経路欠損に伴う不整脈や、グルタチオンを減少させる医薬品を投与した場合の変化と関連するとされる。更に同様の心電図の異常は、代謝物のひとつである[代謝物0]を用いたメカニズム試験 [毒性資料 No. 代謝物-32] において、やはりイヌに投与した際に認められた。

血圧

いずれの投与群においても血圧に異常は認められなかった(統計処理; Anova + Students t-tests (two-sided), 有意水準; $p < 0.05$ )。

8. 臨床神経学的検査

試験の最終段階で2回(検体投与 283 及び 379 日)、全例について一般行動、姿勢反応、歩行、脊髄及び脳反射を調べた。これらの試験のために、反射検査用木槌、ペンライト及び玩具用のボールを使用した。

主な症状の認められた動物数を表 11 に示す。

1600ppm群雌雄に反応性の低下、筋緊張亢進、姿勢反応の異常、異常歩行、異常姿勢及び異常な生理的眠振が認められた。800ppm群雌(283日観察のみ)に姿勢反応の異常、異常歩行及び異常姿勢が認められた。これらの様々な臨床所見は、複数の脳の領域の関与を示唆し1600及び800ppm群投与の動物では[代謝物0]が血液脳関門を通過していること(後述の10.

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

尿及び脳中の代謝物の分析及び[代謝物0]を用いたメカニズム試験[毒性資料No. 原体-32]を参照)、また、後述する脳波検査の結果及び病理組織学的検査において脳、脊髄及び坐骨神経に軸索変性が認められたことと関連しているものと推察される。

40ppm 群では投与による症状は認められなかった。

表 11 神経学的検査結果

検査日	283 日								379 日							
	雄				雌				雄				雌			
用量 (ppm)	0	40	800	1600	0	40	800	1600	0	40	800	1600	0	40	800	1600
異常行動																
反応性の低下												1				1
筋緊張亢進																2
姿勢反応																
手押し車反応(異常)				1			1	3		1		2	1			3
片足歩行反応(異常/減少)				2			2	2				1				4
跳び直り反応(異常/減少)							1	2				4				3
片足立ち反応(異常)								1				1				1
固有位置感覚(異常)												1				1
歩行																
後肢開脚幅の増加				2			2	3				1				3
こわばった歩行								1				1				2
腰高歩行								1								1
姿勢																
広い立ち幅				1			1	3				1				4
斜頸								1				1				4
異常な生理的眼振				2				1				4				3

空欄は所見認められず。

## 9. 脳波

試験終了直前に、神経学的検査でみられた症状を特徴づけるために全例の以下の要素について脳波を調べた。

総電流(TP)、 $\delta$ 波(AD)、 $\theta$ 波(AT)、 $\alpha$ 波(AA)及び $\beta$ 波(AB)の絶対値、 $\delta$ 波(RD)、 $\theta$ 波(RT)、 $\alpha$ 波(RA)及び $\beta$ 波(RB)の相対値、 $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲にある総電流(AT-B)、波形最大幅の中央値(SF50)、波形90%部位に達した頻度(SF90)、 $\theta$ 波と $\beta$ 波の範囲での波形50%部位に達した頻度(MT50)。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表12に示す。

800ppm 群および1600ppm 雌雄群において、RD、RB、MT50、SF50及びSF90の統計学的な有意差が認められ、これらは投与による変化と考えられた。更にAD及びRTは1600ppm 群のみで増加した。これらのパラメータは発作性活動とともに上昇し、中枢神経系全体が損傷し、特に、皮質局在性ではないことが示唆された。

40ppm 群では投与による変化は認められなかった。

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

表 12 脳波

用量 (ppm)	TP	AD	AT	AA	AB	RD	RT	RB	AT-B	SF50	SF90	MT50	TB90	
雄														
正常状態	40													
	800									↓36	↓73	↓69	↓92	
	1600										↓79	↓76		
聴覚刺激	40								↓38					
	800	↓22				↓9			↓13				↓93	
	1600	↑193	↑347	↑445	↑238		↑151	↑208	↓48		↓36	↓80	↓68	↓92
視覚刺激	40													
	800						↑210		↓64		↓52			
	1600						↑207		↓64		↓55			
体知覚刺激	40													
	800						↓12			↓17			↓81	↓96
	1600	↑557	↑1565	↑818	↑537		↑246		↓42	↑217	↓31	↓74	↓76	↓95
雌														
正常状態	40				↓25									
	800						↑224		↓60		↓52			
	1600	↑230	↑485				↑286		↓37		↓35	↓69	↓69	
聴覚刺激	40													
	800						↑251							
	1600						↑339		↓45		↓39	↓73	↓69	
視覚刺激	40													
	800						↑229		↓63					
	1600						↑223		↓61					
体知覚刺激	40													
	800													
	1600	↑640	↑1073											

↑ ↓ : p<0.05 (Anova + Fisher's LSD)

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の。

#### 10. 尿及び脳中の代謝物の分析

試験終了直前に、各群雌雄各 2 匹の尿を一晩採取して、尿中の代謝物について LC/MS および核磁気共鳴を用いて分析した。また、各群 1 匹を対象にホルマリンで固定された脳について代謝物を同様に分析した。

尿中の代謝物の分析では、雌雄共に、1600 及び 800ppm 群においてシステイン抱合体〔代謝物 S〕、メルカプツール酸抱合体〔代謝物 B〕、〔代謝物 O〕-グルクロン酸抱合体〔代謝物 Q〕が急激に増加した。

表 13-1 尿中の代謝物濃度 (ng/10 $\mu$ L) 雌雄

用量 (ppm)	〔代謝物 O〕	ジメチルスルホン	システイン抱合体〔代謝物 S〕	メルカプツール酸〔代謝物 B〕	〔代謝物 O〕-グルクロン酸抱合体〔代謝物 Q〕
40	28	3	900	38	162
800	186	5	8,200	314	427
1600	232	12	23,661*	1,550	3,876*

Student's t-test \*p<0.09, \*\*p<0.008

また 1600 及び 800ppm 群の脳中のサンプルから〔代謝物 O〕が認められたことから、血液脳関門を通過することが示唆された。このように中用量および高用量群動物からの脳抽出物では〔代謝物 O〕が認められたが、低用量動物では検出不能なレベルであった。〔代謝物 O〕が検出できなかったことは、この試験における NOEL が 40ppm であることを更に補強するものと考えられた。

表 13-2 脳中の〔代謝物 O〕の濃度 (mg/kg)

40ppm	800ppm	1600ppm
-	0.092	0.299

- ; 検出せず

#### 11. 剖検

試験終了時に、全動物について剖検を行った。

その結果、本検体に関連したと考えられる異常所見は認められなかった。

#### 12. 臓器重量

全例について、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、卵巣、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、脳、下垂体の重量を測定し、対体重比を算出した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 14 に示す。

表 14 臓器重量

性別 用量 (ppm)	雄			雌		
	40	800	1600	40	800	1600
最終体重			(89)		(86)	(80)
甲状腺 実重量			(140)			(131)
対体重比			(154)			↑ 166
肝臓 実重量		(120)	↑ 155		(103)	↑ 132
対体重比		↑ 125	↑ 175		↑ 121	↑ 164
心臓 実重量		(117)	(115)		(99)	(104)
対体重比		↑ 121	↑ 129		↑ 115	↑ 128
腎臓 実重量		(123)	(120)			(105)
対体重比		↑ 129	↑ 135			↑ 131
副腎 実重量						
対体重比						↑ 154
脾臓 実重量						
対体重比				↑ 177		

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。

( )は統計学的に有意差なし

↑ ↓ :  $p < 0.05$  (Anova + Students t-test)

1600ppm 群では、雌雄の甲状腺、肝臓、心臓及び腎臓に実重量及び対体重比の増加、また、雌の副腎に対体重比の増加が認められ、検体による影響と考えられた。800ppm 群では、雌雄の肝臓に実重量及び対体重比の増加、心臓に実重量ないし比重量の増加、雄の腎臓に実重量及び対体重比の増加がみられ、これらも検体による影響と考えられた。

この他に認められた統計学的に有意な変化は用量関連性がないことから、偶発的な変化と考えられた。

申請者注 :

### 13. 病理組織学的検査

全動物を対象として、以下の臓器について病理標本を作製した。

副腎, 大動脈, 骨(大腿骨, 肋骨/肋軟骨接合部, 胸骨), 骨髓, 脳(大脳・中脳, 小脳, 橋/延髄), 精巣上部, 食道, 眼, 胆のう, 大腿脛骨関節, 心臓, 内耳, 小腸(十二指腸, 空腸, 回腸), 盲腸, 結腸, 直腸, 腎臓, 喉頭, 肝臓, 肺, リンパ節(咽頭後, 腸間膜), 乳腺, 鼻咽頭, 鼻部, 神経(視神経, 坐骨神経), 卵巣, 脾臓, 脳下垂体, 前立腺, 唾液腺, 骨格筋, 皮膚, 脊髄(頸部, 胸部及び腰部), 脾臓, 胃, 精巣, 第三眼瞼/涙腺, 胸腺, 甲状腺, 上皮

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

小体、気管、膀胱、子宮、子宮頸部、個体識別部位、そして肉眼所見を有するすべての臓器・組織

ブアン固定液に浸漬した精巣、卵巣、精巣上部、汎用固定液に浸漬した眼球及び視神経を除き、その他の臓器については 10%緩衝ホルマリン液に浸漬した。神経組織はまた電子顕微鏡検査に備えて汎用固定液に浸漬した。

染色はヘマトキシリン及びエオジン(H&E)を用いた。800及び1600ppm群では脳、脊髄及び坐骨神経の病変部を対象に以下に記載する特殊染色も実施した。

コンゴレッド(アミロイド), PAS(糖蛋白質), ルクソール・ファスト青(ミエリン), クレシルバイオレット(ニッスル小体), Sevier-Munger(軸索)及びGFAP(グリア線維酸蛋白質)。

更に眼の毛様体上皮の空胞化を対象にPAS(糖蛋白質)とアルシアン青(ムコ多糖類)染色、肝臓の肝細胞空胞化を対象にPAS(糖蛋白質)とジアスターゼ処理下PAS染色も行った。

検体投与によると考えられた病理所見を表9に示した。

表15 明らかな病理組織学的所見

性別 用量(ppm)	雄				雌			
	0	40	800	1600	0	40	800	1600
試験動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
肝 肝細胞肥大	0	0	0	4*	0	0	2	3
(程度)	-	-	-	1.5*	-	-	1.0	1.3
肝細胞空胞化	0	0	2	2	0	1	2	1
(程度)	-	-	1.5	2.0	-	1.0	2.0	2.0
腎 腎盂上皮細胞過形成	0	1	3	4*	0	0	3	3
(程度)	-	2.0	1.7	1.5	-	-	1.7	2.0
眼 毛様体上皮空胞化	0	0	4*	4*	0	0	4*	4*
(程度)	-	-	1.8*	2.0*	-	-	1.8*	2.3*
網膜のう胞性空胞化	3	3	4	4	4	3	4	4
(程度)	1.0	1.0	2.0*	2.0*	1.0	1.3	1.8	2.5*
脳 軸索変性	2	4	3	4	2	4	4	4
(程度)	1.0	1.0	2.7	2.8*	1.0	1.3	2.5*	2.8*
脊髄 軸索変性 <sup>≠</sup>	2	0	4	4	2	1	4	4
(程度)	1.0	-	2.0	2.8*	1.0	1.0	2.0*	3.0*
坐骨神経 軸索変性	0	0	0	4*	0	0	0	4
(程度)	-	-	-	1.3*	-	-	-	1.3*

\*:  $p < 0.05$  ( $\chi^2$ 検定, Fisher's Exact Test)

程度の判断基準: 1; 軽微, 2; 軽度, 3; 中等度, 4; 顕著 (程度3から明らかな細胞の傷害を伴う。)

#: 程度はその動物で検査した1つ以上の脊髄切片(あるいは複数)で記録された“最高”等級である。

従って、脊髄3部位の切片のすべてがその領域に病変を有していたことを意味するものではない。

肝、腎、脳、脊髄、坐骨神経、眼に検体に関連した病理学的所見が認められ、これらの検体に関連した所見は雌雄ともに800ppmないしは1600ppmに限られていた。

肝臓では、1600ppm群雌雄及び800ppm群雌において小葉中心性肝細胞肥大がみられ、

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

1600ppm 群雄においてはその頻度と程度に対照群に比べて統計学的有意差が認められた。また空胞化も 800ppm 以上の雄及び 40ppm 以上の雌で認められたが、雌には用量相関性がみられず、また雌雄ともに 1600ppm まで統計学的な有意差は認められなかった。

腎臓では、1600 及び 800ppm 群雌雄の腎盂に上皮細胞過形成 (3~5 細胞の多層化) が認められた。40ppm 群雄 1 例でもこの所見が認められたが偶発的なものと考えられた。

眼では、1600 及び 800ppm 群雌雄の全動物で毛様体上皮の空胞化が認められ、用量に関連して程度の増加がみられた。PAS 染色およびアルシアンブルー染色を行ったが、いずれも結果は陰性だった。また網膜視部の周辺(peripheral optic retina)に自然発生性のう胞性空胞化が対照群も含めた全投与群に認められたが、1600 及び 800ppm 群雌雄ではより広範囲に及ぶのう胞性空胞がみられた。しかしながら、最も強く影響が出ている場合であっても、鋸状縁(ora serrate)に隣接した非光感受性部位のきわめて一部分に限定してみられるのみであった。

申請者注)



脳、脊髄及び坐骨神経では軸索変性が認められた。

坐骨神経では 1600ppm 群雌雄全動物の変性した軸索は、ミエリン鞘で囲まれた軸索が腫脹し好塩基性であった。また、軸索とミエリン鞘の間に空胞化がみられるものもあり、更に食細胞やミエリンの断片を含んでいる場合もあった。

脊髄では、1600 及び 800ppm 群雌雄全動物で軸索変性がみられた。軸索変性は一般的に頸髄、胸髄あるいは腰髄の白質及び灰白質の両方に認められた。白質部の軸索腫脹は好塩基性に加え、両染色あるいは弱酸性の軸索もみられた。ワーラー変性を示唆する病変も認められた。

脳では 1600 及び 800ppm 群雌雄において視床上部の手綱領域ないし脳幹(核及び線維路両方)に軸索変性がみられた。これらの変化は腫脹した軸索の横断面と推定される卵形～円形で好酸性の膜結合構造を特徴としていた。

#### 電子顕微鏡検査

対照及び 1600ppm 群の動物から採取した脳(手綱域及び延髄)及び脊髄(灰白質)組織について電子顕微鏡下で検査した。

電顕検査の結果、好酸性軸索は腫脹したミエリン及び/または非ミエリン線維での膜に包まれた丸ないし楕円形の構造で、多数の膜結合した細胞内小器官(主にミトコンドリア)、渦巻状膜様構造物、フィラメント様基質、微細管、及び/またはグリコーゲン様構造を含んでいることが確認された。腫脹した軸索は一般に膜結合細胞小器官—ミトコンドリア(クリステを示す)あるいは増殖中のミトコンドリア構造の遺残物と確認—で満たされていた。

### 特殊染色

特殊染色では病変の特徴をこれ以上特徴づけることはできなかった。

以上の結果から、本剤の影響としてみられた所見として、1600ppm 群の雌雄群では、最終時の体重が対照群に比べ低値を示し、血液学的検査では赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH 及び MCHC の減少、血小板の増加（雄）、血液生化学的検査ではコレステロール（雄）の増加、アルカリホスファターゼ（雌雄）及び乳酸脱水素酵素（雌）の上昇がみられた。心電図で心室期外収縮、R 波ノッチ、T 波ノッチ、T 波の上昇が、神経行動学的検査で行動、姿勢反応、歩行、姿勢及び生理的眼振の異常、脳波検査で RD、RT、RB、MT50、SF50、SF90 及び AD に統計学的有意差、尿中の代謝物分析でシステイン抱合体〔代謝物 S〕、メルカプツール酸〔代謝物 B〕、〔代謝物 O〕グルクロン酸抱合体〔代謝物 Q〕及び〔代謝物 O〕の増加、脳中では〔代謝物 O〕の検出、臓器重量では肝実重量及び対体重比の増加、心対体重比の増加、病理所見として、肝臓の肝細胞肥大、腎臓の腎盂上皮過形成、眼の毛様体上皮空胞化及び網膜のう胞性空胞化、脳、脊髄及び坐骨神経の軸索変性が認められた。

800ppm 群雌雄では、最終時の体重が対照群に比べ低値を示し（雌）、血液学的検査ではヘモグロビン、ヘマトクリット、MCV、MCH 及び MCHC の減少、血液生化学的検査ではアルカリホスファターゼの上昇（雄）がみられた。また、姿勢反応、歩行及び姿勢の異常（雌）、脳波検査で RD、RB、MT50、SF50 及び SF90 の統計学的な有意差、尿中の代謝物分析でシステイン抱合体〔代謝物 S〕、メルカプツール酸〔代謝物 B〕、〔代謝物 O〕-グルクロン酸抱合体〔代謝物 Q〕及び〔代謝物 O〕の増加、脳中では〔代謝物 O〕が検出された。病理所見では肝臓の肝細胞肥大（雌）、腎臓の腎盂上皮過形成、眼の毛様体上皮空胞化及び網膜のう胞性空胞化、脳及び脊髄の軸索変性が認められた。

これらのことから、本試験における無毒性量は雄雌ともに 40ppm（雄 1.29mg/kg 体重/日、雌 1.14mg/kg 体重/日）であると判断した。

## マウスを用いた発がん性試験

(毒性資料No.原体-20)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1995 年

検体の純度：

試験動物： CD-1[(ICR)/BR]系マウス

[試験開始時 8 週齢未満、平均体重 雄 27.1~27.9g, 雌 23.1~23.5g]

1 群雌雄各 50 匹

投与期間： 20 ヶ月(1993 年 2 月 1 日~1994 年 9 月 20 日)

試験方法

検体を 0 (対照群)、50、200 及び 400ppm となるように粉末飼料(アセトン/コーン油混合液を添加)に混ぜ 20 ヶ月にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定の根拠：

### 試験項目及び試験結果

#### 1. 臨床症状

動物を少なくとも 1 日 2 回 (週末と休日は 1 回)、瀕死状態及び死亡を観察した。各個体の詳細な身体検査(外観、天然孔、姿勢、一般行動、呼吸及び排泄物)は週 1 回実施した。

臨床観察ないしはケージサイドの観察において、400ppm 雌雄群で眼の混濁を示す動物の頻度の増加が認められ、また 200ppm 以上の雌雄群で眼の退色化が認められた。これらは検体の起因した変化と考えられた。これらの所見の頻度を表 1 に示す。

表 1. 臨床症状

性別	雄				雌			
	0	50	200	400	0	50	200	400
所見/用量(ppm)	0	50	200	400	0	50	200	400
眼の混濁	2	1	4	11**	0	1	2	14**
眼の退色化	5	3	17**	20**	9	14	27**	38**

\*\* =  $p \leq 0.01$  (Fisher 検定(片側))

## 2. 死亡

投与に関連した死亡数の増加はみられなかったため、本検体は 400ppm 群まで雌雄共に死亡率に影響を示さなかった。

表 2 に死亡数を示す。

表 2. 死亡数

	投与量 (ppm)	0	50	200	400
雄	死亡例	11	3	4	4
	瀕死状態により切迫屠殺例	7	4	4	8
	合計	18	7	8	12
雌	死亡例	3	5	1	5
	瀕死状態により切迫屠殺例	10	13	18	12
	合計	13	18	19	17

## 3. 体重

毎週、全動物について体重を測定した。更に、臓器重量の対体重比の算出のため、計画屠殺直前に体重を測定した。

増体重において、雌雄共に投与群と対照群との間に差は認められなかった。

## 4. 摂餌量及び検体摂取量

毎週、全動物について摂餌量を測定した。これを基に検体摂取量を算定した。

検体投与群雌雄における摂餌量は、対照群に比較して差は認められなかった。表 3 に検体摂取量 (mg/kg/日) を示す。

表 3. 検体摂取量 (mg/kg/日)

投与量 (ppm)	50	200	400
雄	7.4	30.4	62.2
雌	9.4	38.4	77.2

## 5. 血液学的検査

血液学的検査及び白血球分画を調べるために、各群 10 例について 12 ヶ月、18 ヶ月目に眼窩叢から血液を採取した。加えて残りの生存例全例についても上記 2 測定時に採血し、白血球分画を調べた。

検査項目を以下に示す。

白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット値 (HCT)、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、メトヘモグロビン (MetHb)、赤血球分布幅、ヘモグロビン分布幅、白血球分画、赤血球形態、網状赤血球数、ハインツ小体

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表 4 に示す。

表 4. 血液学的検査（統計学的に有意差の認められた項目）

性別	雄						雌					
	50ppm		200ppm		400ppm		50ppm		200ppm		400ppm	
検査週	12ヶ月	18ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	12ヶ月	18ヶ月	12ヶ月	18ヶ月
赤血球		\$↓89		\$↓89		\$↓93						
HCT		\$↓91		\$↓89								
MethHb				\$↑194	↑221	(194)				↑267		↑322
白血球分画												
Seg			↓68	\$↓65	↓81							
Band			↑0.2									
Lymph			↑113	↑120								
赤血球形態(1;軽微, 2;中等度, 3;明らか)												
Aniso		↓0		↓0		↓0						
Poly		↓0		↓0				↓0				
Hypo		↓0		↓0		↓0						

↑↓ : p<0.05, ▲▼ : p<0.01 (Anova + Dunnettes test)

\$↑\$↓ : p<0.05 \$▲\$▼ : p<0.01 (Kruskal-Wallis Anova + Mann-Whitney U-test)

\*ただし以下の項目については実測データを記載(1;+,軽度, 2;+,中等度, 3;+;;著明)

メトヘモグロビンの統計学的に有意な増加が 200ppm 以上の雌雄群で認められ、本検体の影響と考えられた。

その他に認められた統計学的な有意差は、背景データ範囲内にあり、また用量に関連した変化ではない点から検体の影響とは考えられなかった。


### 6. 剖検

途中死亡動物及び 20 ヶ月投与した最終屠殺動物の全動物を剖検した。

400ppm 群の雌雄で眼の混濁の頻度の増加が対照群に比べ統計学的な有意差を伴って認められた。この所見は病理組織学的検査の結果白内障と診断された。

認められた眼の混濁の頻度は表 5 のとおりであった。

表 5. 剖検

用量 (ppm)	雄				雌			
	0	50	200	400	0	50	200	400
眼の混濁	6	6	8	16*	1	3	5	17**

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Fisher 検定-申請者により実施)

## 7. 臓器重量

投与期間の終了時、全生存動物を対象として、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓及び精巣の臓器重量を測定し、それらの対体重比も算出した。

検体投与に起因した影響は認められなかった。

## 8. 病理組織学的検査

途中死亡した動物や切迫屠殺動物及び最終屠殺動物から以下の臓器、組織を採取し、10% 緩衝ホルマリンに保存した。

副腎、大動脈、骨(大腿骨、肋骨/肋軟骨接合部、胸骨)、骨髓、脳(大脳-中脳、小脳、延髄/橋)、陰核腺、精巣上部、食道、眼窩外涙腺、眼球、胆のう、ハーダー氏腺、大腿脛骨関節、心臓、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、盲腸、結腸、直腸、腎臓、喉頭、肝臓、肺、リンパ節(頸部、腸間膜)、乳腺、神経(視神経、坐骨神経)、卵巣、膵臓、脳下垂体、包皮腺、前立腺、唾液腺、筋肉、皮膚、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、脾臓、胃、精巣、胸腺、甲状線、上皮小体、気管、膀胱、子宮、膣、外耳道腺、個体識別部位(尾識別)、肉眼所見を有するすべての臓器・組織

通常、外耳道腺、膣、眼窩外涙腺、陰核腺及び包皮腺、個体識別を除き、病理標本を作製し、顕微鏡検査を実施した。

### 8-1. 非腫瘍性病変

本試験でみられた主な非腫瘍性病変については、後頁(毒-144 頁)に記載した。

本検体に起因した非腫瘍性病変として、白内障の増加が下記の発生頻度で認められ、その発生頻度に統計学的な有意差が、雄では 50、200、400ppm 群で認められ、雌でも同様に 200 及び 400ppm 群で認められた。その発生頻度を表 6 に、また参考として、実施施設の白内障の背景データも下記に示した。

表 6. 白内障の発生頻度

用量 (ppm)	雄				雌			
	0	50	200	400	0	50	200	400
白内障(両眼)	4	10	25**	31**	1	5	23**	36**
白内障(片眼)	3	6	7	7	4	7	10	6
白内障(合計)	7	16*	32**	38**	5	12	33**	42**
程度	1.1	1.4	1.6	2.1	1.0	1.1	1.2	2.0

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Fisher 検定-申請者により実施)


みられた白内障の程度はほとんどの例で軽微から軽度であり、形態学的には、水晶体線維の顆粒状の変化によって特徴付けられ、水晶体後極に限られていた。程度がより重篤な例では、顆粒状あるいは凝集した水晶体線維が後極周囲から水晶体前部に及んでいたが、その多くは水晶体後極に限られていた。本検体に誘発された白内障発症のメカニズムのひとつとして、水晶体内の還元型グルタチオン(GSH)量の維持に対する障害が想定され、このような条件下において、本検体によるメトヘモグロビン血症もこの白内障の頻度の増加に関連しているものと考えられた\*。そして、GSHの適量を維持する能力は、試験初期には必ずしも影響をうけないものの、特に白内障のような加齢に関連した病変の場合、老齢の動物では悪化して出現するようになるものと考えた。これは、症状観察において、400ppm群の動物で眼球混濁の発生率の著明な増加が試験終了の数週間前になってようやく認められたことと一致しているものと考えられた。

\*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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

一方、雄の 50ppm で白内障の頻度に統計学的な有意差が認められたが、1)白内障は、多くの場合、加齢に関連した病変であり、本試験施設で過去に実施された試験においても対照



群で有意な発生頻度で認められていること、2)最低用量においては、雄のみで統計学的有意差が認められたこと、3)白内障が片側のみ、あるいは両眼にみられた場合についてそれぞれ統計学的解析を行ったところ、50ppm 雄では、統計学的な有意差がなくなったことから、50ppm は、本検体が誘発する白内障を誘発する際の境界濃度と考えられ、NOAEL に近いものと推測された。

白内障のほかに、検体に関連したと考えられる非腫瘍性病変は何ら認められなかった。

#### 8-2. 腫瘍性病変

本試験でみられた全腫瘍性病変については、後頁(毒-145~149 頁)に収載した。腫瘍の種類、発現率、良悪、部位について分類した。

全ての腫瘍性病変の腫瘍の種類、発現率、臓器分布は投与群と対照群のマウスの間で有意な差を示さないかあるいは偶発的な変化と考えられた。また用量群別及び雌雄別における良性及び悪性腫瘍を担う動物の数についても、投与群と対照群との間に差は認められなかった(毒-120 頁)。

以上の結果から、50ppm 以上の雄群、200ppm 以上の雌群で白内障の発生頻度の増加、200ppm 群以上の雌雄群で眼の退色化、メトヘモグロビンの増加が、さらに 400ppm 雌雄群で眼の混濁がみられた。これらのことから、総合的な NOAEL は雄では 50ppm 未満(<7.4mg/kg/日)、雌では 50ppm(9.4mg/kg/日)と判断した。

腫瘍の種類、腫瘍性病変の発生頻度及び臓器分布に検体投与群と対照群の間に差は認められなかったため、本検体の発がん性誘発作用はないものと判断された。

主な非腫瘍性病変

	性別	雄				雌			
		用量 (ppm)	0	50	200	400	0	50	200
途中死亡動物	所見/検査数	18	7	8	12	13	18	19	17
	副腎	18	7	8	12	13	18	19	17
	皮質過形成	0	3	2	1	0	0	0	1
	被膜下紡錘形細胞過形成	8	0	2	2	8	15	18	14
	肝臓	18	7	8	12	13	18	19	17
	髓外造血	0	1	0	0	1	0	0	3
	眼球	18	7	8	12	13	18	19	17
	白内障	1	1	3	4	0	2	11	10
	脾臓	18	7	7	12	13	18	19	17
	髓外造血	5	2	1	1	7	11	9	14
	甲状腺	18	7	8	12	13	18	19	17
	のう胞	5	2	3	3	2	7	6	2
	子宮	/	/	/	/	13	18	19	17
	子宮内膜過形成	/	/	/	/	6	10	8	9
最終屠殺動物	所見/検査数	32	43	42	38	37	32	31	32
	副腎	32	43	42	38	37	32	31	32
	皮質過形成	8	14	11	9	1	2	1	0
	被膜下紡錘形細胞過形成	18	22	19	21	33	31	31	28
	眼球	32	43	42	38	37	32	31	32
	白内障	6	15	29	34	5	10	22	32
	腎臓	32	43	42	38	37	32	31	32
	慢性腎症	9	22	23	14	15	14	13	11
	脾臓	32	43	42	38	37	32	31	32
	髓外造血	3	2	8	1	28	27	28	29
	甲状腺	32	43	42	38	37	32	31	32
	のう胞	13	20	15	11	8	13	10	10
	ろ胞細胞過形成	0	1	0	0	0	0	0	0
	子宮	/	/	/	/	37	32	31	32
子宮内膜過形成	/	/	/	/	30	25	26	23	
全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	49
	副腎	50	50	50	50	50	50	50	49
	皮質過形成	8	17	13	10	1	2	1	1
	被膜下紡錘形細胞過形成	26	22	21	23	41	46	49	42
	肝臓	50	50	50	50	50	50	50	49
	髓外造血	0	1	0	0	1	0	0	3
	眼球	50	50	50	50	50	50	50	49
	白内障	7	16*	32**	38**	5	12	33**	42**
	腎臓	50	50	50	50	50	50	50	49
	慢性腎症	9	22	23	14	15	14	13	11
	脾臓	50	50	49	50	50	50	50	49
	髓外造血	8	4	9	2	35	38	37	43
	甲状腺	50	50	50	50	50	50	50	49
	のう胞	18	22	18	14	10	20	16	12
ろ胞細胞過形成	0	1	0	0	0	0	0	0	
子宮	/	/	/	/	50	50	50	49	
子宮内膜過形成	/	/	/	/	36	35	34	32	

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Fisher 検定-申請者により実施)

腫瘍性病変-1

	性別	雄				雌			
		用量 (ppm)	0	50	200	400	0	50	200
	所見/検査数	18	7	8	12	13	18	19	17
途中死亡動物	副腎	18	7	8	12	13	18	19	17
	腺腫 紡錘形細胞 b	0	0	0	0	0	0	1	0
	骨(その他) <sup>#</sup>	0	0	1	0	0	0	2	1
	骨肉腫 m	0	0	0	0	0	0	0	1
	ハーダー氏腺	18	7	8	12	13	18	19	17
	腺腫 b	0	2	0	3	1	0	1	0
	血管肉腫 m	1	0	0	0	0	0	0	0
	肝臓	18	7	8	12	13	18	19	17
	肝細胞腺腫 b	0	0	0	1	0	0	0	0
	肝細胞癌 m	0	1	0	1	0	0	0	0
	血管肉腫 m	2	1	0	0	0	1	1	0
	肺	18	7	8	12	13	18	19	17
	細気管支/肺腺腫 b	0	0	1	0	1	2	2	0
	細気管支/肺腺癌 m	1	1	0	1	1	0	0	1
	乳腺	17	7	8	12	13	17	17	16
	腺棘細胞癌 m	0	0	0	0	0	0	0	2
	筋肉(その他) <sup>#</sup>	0	1	0	0	3	0	2	0
	血管肉腫 m	0	0	0	0	1	0	1	0
	のう胞状腺腫 b	/	/	/	/	0	1	0	0
	顆粒膜細胞腫 b	/	/	/	/	0	0	0	1
	包皮腺	1	1	0	1	/	/	/	/
	腺腫 b	1	0	0	0	/	/	/	/
	頭蓋骨	18	7	8	12	13	18	19	17
	腺癌 <sup>&amp;</sup> m	0	0	0	1	0	0	0	0
	歯牙腫 b	0	0	1	0	0	0	0	0
	脾臓	18	7	7	12	13	18	19	17
	血管肉腫 m	0	1	0	0	0	0	1	0
	精巣	18	7	8	12	/	/	/	/
間細胞腺腫 b	1	0	0	0	/	/	/	/	
悪性間細胞腺腫 m	0	0	1	0	/	/	/	/	
子宮頸部	/	/	/	/	13	18	19	17	
肉腫 m	/	/	/	/	0	0	1	0	
子宮体部	/	/	/	/	13	18	19	17	
平滑筋肉腫 m	/	/	/	/	0	0	1	0	
子宮内膜間質ポリープ b	/	/	/	/	0	2	1	0	
血液リンパ網内系	18	7	8	12	13	18	19	17	
顆粒球性白血病 m	0	0	0	0	0	0	1	0	
悪性リンパ腫 m	1	1	1	0	6	6	4	4	
組織球肉腫 m	0	0	0	0	1	1	1	0	
	所見/検査数	32	43	42	38	37	32	31	32
最終屠殺動物	副腎	32	43	42	38	37	32	31	32
	褐色細胞腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0
	腺腫 皮質 b	1	2	0	2	0	0	0	0
	腺腫 紡錘形細胞 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	食道	32	43	42	38	37	32	31	32
乳頭腫 b	0	0	1	0	0	0	0	0	

&:鼻腔付近, b=良性, m=悪性, 傾向検定で有意な場合、 $\chi^2$ 検定, Fisher 検定を実施 (有意水準  $p < 0.05$ )  
#:骨(その他); 大腿骨、胸骨、肋骨、椎骨以外の骨, 筋肉(その他); 腓腹筋以外の筋肉

腫瘍性病変-2

	性別	雄				雌			
		0	50	200	400	0	50	200	400
	用量 (ppm)								
	所見/検査数	32	43	42	38	37	32	31	32
	ハーダー氏腺	32	43	42	38	37	32	31	32
	腺癌 m	1	0	0	0	1	0	0	1
	腺腫 b	4	3	8	1	1	0	4	0
	副腎	32	43	42	38	37	32	31	32
	褐色細胞腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0
	腺腫 皮質 b	1	2	0	2	0	0	0	0
	腺腫 紡錘形細胞 b	0	0	0	0	0	0	0	1
	食道	32	43	42	38	37	32	31	32
	乳頭腫 b	0	0	1	0	0	0	0	0
	ハーダー氏腺	32	43	42	38	37	32	31	32
	腺癌 m	1	0	0	0	1	0	0	1
	腺腫 b	4	3	8	1	1	0	4	0
	腎臓	32	43	42	38	37	32	31	32
	腺腫 b	0	0	1	1	0	0	0	0
	肝臓	32	43	42	38	37	32	31	32
	肝細胞腺腫 b	2	2	2	2	1	0	1	0
	肝細胞癌 m	1	1	0	0	1	0	0	0
	血管肉腫 m	1	0	1	0	0	0	0	2
	肺	32	43	42	38	37	32	31	32
最終屠殺動物	細気管支/肺腺腫 b	1	8	8	5	8	2	2	5
	細気管支/肺腺癌 m	5	1	4	1	1	1	1	2
	乳腺	32	43	42	38	36	31	31	32
	腺棘細胞癌 m	0	0	0	0	0	1	0	0
	卵巣	/	/	/	/	37	32	31	32
	腺腫 b	/	/	/	/	0	0	0	1
	のう胞状腺腫 b	/	/	/	/	1	3	1	0
	顆粒膜細胞腫 b	/	/	/	/	0	0	0	1
	黄体腫 b	/	/	/	/	0	0	0	1
	下垂体	32	42	41	34	37	32	31	32
腺腫 b	1	0	0	0	3	2	0	2	
皮膚, 耳	3	3	2	2	1	0	1	3	
乳頭腫 b	0	1	0	0	0	0	0	0	
皮膚, 前肢	0	0	0	1	0	1	1	0	
血管腫 b	0	0	0	0	0	0	1	0	
小腸	32	43	42	38	37	32	31	32	
腺癌 m	0	0	0	0	1	0	0	0	
脾臓	32	43	42	38	37	32	31	32	
血管肉腫 m	0	1	0	0	0	0	0	0	
精巣	32	43	41	38	/	/	/	/	
間細胞腺腫 b	1	0	0	0	/	/	/	/	
悪性間細胞腺腫 m	0	0	1	0	/	/	/	/	
甲状腺	32	43	42	38	37	32	31	32	
C-細胞腺腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0	
ろ胞細胞腺腫 b	0	0	0	0	0	1	0	0	
上皮小体	30	42	40	33	37	30	29	32	
腺腫 b	0	0	0	0	1	0	0	0	

b=良性, m=悪性

傾向検定で有意な場合、 $\chi^2$ 検定, Fisher 検定を実施 (有意水準  $p < 0.05$ )

腫瘍性病変-3

	性別	雄				雌			
		用量 (ppm)	0	50	200	400	0	50	200
最終屠殺動物	所見/検査数	32	43	42	38	37	32	31	32
	子宮頸部	/	/	/	/	37	32	31	32
	平滑筋腫 b	/	/	/	/	1	0	0	0
	悪性シュワン細胞腫 m	/	/	/	/	0	0	0	1
	子宮体部	/	/	/	/	37	32	31	32
	血管腫 b	/	/	/	/	0	1	0	0
	血管肉腫 m	/	/	/	/	1	0	1	0
	平滑筋腫 b	/	/	/	/	1	0	0	0
	平滑筋肉腫 m	/	/	/	/	0	1	0	0
	子宮内膜間質ポリープ b	/	/	/	/	0	0	2	1
	血液リンパ網内系	32	43	42	38	37	32	31	32
	悪性リンパ腫 m	2	2	0	1	5	2	2	4
	組織球肉腫 m	0	0	0	0	1	1	0	1
	全身腫瘍	32	43	42	38	37	32	31	32
	悪性肥満細胞腫 m	1	0	0	0	0	0	1	0
	全動物	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50
副腎		50	50	50	50	50	50	50	49
褐色細胞腫 b		0	0	0	0	0	1	0	0
腺腫 皮質 b		1	2	0	2	0	0	0	0
腺腫 紡錘形細胞 b		0	0	0	0	0	0	1	1
骨(その他) #		3	0	4	2	1	2	4	2
骨肉腫 m		0	0	0	0	0	0	0	1
食道		50	50	50	50	50	50	50	49
乳頭腫 b		0	0	1	0	0	0	0	0
ハーダー氏腺		50	50	50	50	50	50	50	49
腺癌 m		1	0	0	0	1	0	0	1
腺腫 b		4	5	8	4	2	0	5	0
腎臓		50	50	50	50	50	50	50	49
腺腫 b		0	0	1	1	0	0	0	0
血管肉腫 m		1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓		50	50	50	50	50	50	50	49
肝細胞腺腫 b		2	2	2	3	1	0	1	0
肝細胞癌 m		1	2	0	1	1	0	0	0
血管肉腫 m		3	1	1	0	0	1	1	2
肺		50	50	50	50	50	50	50	49
細気管支/肺胞腺腫 b		1	8	9	5	9	4	4	5
細気管支/肺胞癌 m		6	2	4	2	2	1	1	3
乳腺		49	50	50	50	49	48	48	48
腺棘細胞癌 m	0	0	0	0	0	1	0	2	
筋肉(その他) #	0	3	0	1	5	1	3	2	
血管肉腫 m	0	0	0	0	1	0	1	0	

b=良性, m=悪性 傾向検定で有意な場合、 $\chi^2$ 検定, Fisher 検定を実施 (有意水準  $p < 0.05$ )

#;骨(その他); 大腿骨、胸骨、肋骨、椎骨以外の骨, 筋肉(その他); 腓腹筋以外の筋肉

腫瘍性病変-4

	性別	雄				雌				
		用量 (ppm)	0	50	200	400	0	50	200	400
	所見/検査数	50	50	50	50	50	50	50	49	
全動物	卵巢	/	/	/	/	50	50	50	49	
	腺腫	b	/	/	/	0	0	0	1	
	のう胞状腺腫	b	/	/	/	1	4	1	0	
	顆粒膜細胞腫	b	/	/	/	0	0	0	2	
	黄体腫	b	/	/	/	0	0	0	1	
	下垂体		49	49	49	45	49	50	50	49
	腺腫	b	1	0	0	0	3	2	0	2
	包皮腺		2	3	1	3	/	/	/	/
	腺腫	b	1	0	0	0	/	/	/	/
	皮膚, 耳		4	3	4	5	1	0	1	5
	乳頭腫	b	0	1	0	0	0	0	0	0
	皮膚, 前肢		0	0	0	1	0	1	2	1
	血管腫	b	0	0	0	0	0	0	1	0
	頭蓋骨		50	50	50	50	50	50	50	49
	腺癌 <sup>&amp;</sup>	m	0	0	0	1	0	0	0	0
	歯牙腫	b	0	0	1	0	0	0	0	0
	小腸		50	50	50	50	50	50	50	49
	腺癌	m	0	0	0	0	1	0	0	0
	脾臓		50	50	49	50	50	50	50	49
	血管肉腫	m	0	2	0	0	0	0	1	0
	精巣		50	50	49	50	/	/	/	/
	間細胞腺腫	b	2	0	0	0	/	/	/	/
	悪性間細胞腺腫	m	0	0	1	0	/	/	/	/
	甲状腺		50	50	50	50	50	50	50	49
	C-細胞腺腫	b	0	0	0	0	0	1	0	0
	ろ胞細胞腺腫	b	0	0	0	0	0	1	0	0
	上皮小体		47	49	48	45	49	47	46	48
	腺腫	b	0	0	0	0	1	0	0	0
	子宮頸部		/	/	/	/	50	50	50	49
	平滑筋腫	b	/	/	/	/	1	0	0	0
	肉腫	m	/	/	/	/	0	0	1	0
	悪性シュワン細胞腫	m	/	/	/	/	0	0	0	1
	子宮体部		/	/	/	/	50	50	50	49
	血管腫	b	/	/	/	/	0	1	0	0
	血管肉腫	m	/	/	/	/	1	0	1	0
	平滑筋腫	b	/	/	/	/	1	0	0	0
	平滑筋肉腫	m	/	/	/	/	0	1	1	0
	子宮内膜間質ポリープ	b	/	/	/	/	0	2	3	1
	血液リンパ網内系		50	50	50	50	50	50	50	49
	顆粒球性白血病	m	0	0	0	0	0	0	1	0
悪性リンパ腫	m	3	3	1	1	11	8	6	8	
組織球肉腫	m	0	0	0	0	2	2	1	1	
全身腫瘍		50	50	50	50	50	50	50	49	
悪性肥満細胞腫	m	1	0	0	0	0	0	1	0	

&: 鼻腔付近, b=良性, m=悪性, 傾向検定で有意な場合、 $\chi^2$ 検定, Fisher 検定を実施 (有意水準  $p < 0.05$ )

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

腫瘍数及び担腫瘍動物数

性別		雄				雌				
合計	検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	49	
	腫瘍数	良性	12	18	22	15	19	16	16	13
		悪性	16	10	7	5	20	14	16	19
	腫瘍総数		28	28	29	20	39	30	32	32
	担腫瘍動物数	良性	12	17	19	13	15	14	13	11
		悪性	14	8	7	5	18	13	14	19
担腫瘍動物数		22	24	23	18	29	22	25	26	

傾向検定で有意な場合、 $\chi^2$ 検定, Fisher 検定を実施 (有意水準  $p < 0.05$ )

## (12) 繁殖毒性及び催奇形性

### ラットの繁殖性に及ぼす影響

(毒性資料 No. 原体-21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1995 年

検体の純度：

試験動物：Sprague-Dawley (CD) 系ラット，1 群雌雄各 30 匹，  
投与開始時 7 週齢(体重-雄：221～282g，雌：148～206g)

投与期間：P 世代；投与開始から F1 児の離乳時までの約 16 週間，  
F<sub>1</sub> 世代；離乳時から F2 児の離乳時までの約 18 週間  
(1992 年 2 月 11 日(実験開始)～1992 年 11 月 22 日(最終屠殺))

投与方法：

ラット用標準飼料にアセトン及びコーンオイルに溶解した検体を 0、20、100 及び 500ppm の用量になるように添加し動物に自由に摂取させた。

用量設定の根拠；

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

材料及び方法

[親動物]

1. 一般状態及び死亡率；

全観察期間に一般状態及び生死を毎日二回(週末及び祝日は 1 日 1 回)観察した。また週 1 回詳細な観察を行った。

2. 体重、摂餌量及び検体摂取量；

体重については、雌では交配前期間は毎週、妊娠期間中は妊娠 0、6、13 及び 20 日、哺育期間中は哺育 0、4、7、14 及び 21 日に測定した。雄は投与開始から解剖まで毎週測定した。

摂餌量については、雌では交配前期間中は毎週、妊娠期間中は 6、13 及び 20 日、哺育期



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

間中は哺育 7、14 及び 21 日に測定した。雄では投与開始から解剖するまで毎週測定した。尚、摂餌量については、同居期間は測定しなかった。

摂餌量をもとに検体摂取量を算出した。

3. 発情周期の判定；

P 及び F1 世代の雌全例において、交配前に 2 週間にわたって毎日膈垢を採取し評価した。

4. 交配及び妊娠の確認；

雌雄 1 対 1 で同居させ、毎朝膈垢の検査を行い、精子の有無により交尾を確認した。精子確認日を妊娠 0 日とした。

5. 繁殖性に関する指標；

$$\text{交尾率 (\%)} = \frac{\text{精子が確認された雌動物数}^*}{\text{雄と同居させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}^{**}}{\text{精子が確認された雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{生存児を有する雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{産出率 (\%)} = \frac{\text{総新生児数/腹}}{\text{総着床数/腹}} \times 100$$

$$\text{出生時生存率 (\%)} = \frac{\text{出生時生存児数/腹}}{\text{総新生児数/腹}} \times 100$$

生存率 (%)

$$\text{4 日 (\%)} = \frac{\text{4 日目の調整前の生存児数/腹}}{\text{出生時生存児数/腹}} \times 100$$

$$\text{4 日後 (\%)} = \frac{\text{7, 14, 21 日後における生存児数/腹}}{\text{4 日目の生存児数(調整後)/腹}} \times 100$$

\* 精子が確認されなかった妊娠雌を含む。

\*\* 着床痕は確認されたが産しなかった雌を含む。

6. 臓器重量の測定；

計画屠殺時に最終体重、肝臓、精巣及び卵巣の臓器重量測定を行った。

7. 剖検；

P 及び F1 世代の雌動物については、それぞれ F1 又は F2 新生児を離乳後、二酸化炭素で麻酔し屠殺後、肉眼的に剖検した。子宮については着床痕を算定して記録した。

P 及び F1 世代の雄動物はそれぞれ F1 又は F2 新生児が生まれた後屠殺し、肉眼的に剖検した。

8. 病理組織学的検査；

P 及び F1 全動物の以下の臓器を病理組織学的検査に供した。

肝臓、下垂体、膈、子宮、子宮頸部、卵巣、凝固腺、精のう、前立腺、精巣上体、精巣及び肉眼的異常部位

[児動物]

1. 児動物の記録；

出生時に、産児数、死産児数、生存児数及び性比を調べ、体重を測定した。生後 0 日から 21 日まで同腹児数を毎日数えた。生後 4 日、7 日、14 日、21 日に個別別体重を記録した。

2. 剖検；

腹児数を調整するために選択した児動物は、出産 4 日後に屠殺し剖検した。また、継代用に選抜されなかった全離乳児について剖検した。

表 1. 概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(10週間) (交配前)		一般状態の観察(毎日), 詳細な観察(毎週) 体重及び摂餌量の測定(毎週), 発情周期の判定(交配前期間; 2週間) 交配状況の観察
	交配 (最長3週間)	雌雄1対1で交配。 膣栓又は膣塗抹による精子の確認(妊娠0日)	
	妊娠(3週間)		一般状態の観察(毎日), 詳細な観察(毎週), 体重測定(妊娠0, 6, 13, 20日), 摂餌量測定 (6, 13, 20日)
	出産		出産状況の観察 新生児数, 死亡児数, 性比の算定, 新生児の 体重測定 雄親動物の剖検
	哺育(3週間)	出産後4日目各同腹児数を雄4匹、雌4匹に調整	親動物 一般状態の観察(毎日), 詳細な観察(毎週) 体重測定(出産0, 4, 7, 14, 21日), 摂餌量測定 (出産7, 14, 21日) 新生児 生存児数, 死亡数(毎日), 体重測定(生後 0, 4, 7, 14, 21日) 出産後4日目に淘汰された新生児の剖検
.....	離乳	.....	親動物及び継代用以外の児動物の剖検 親動物 病理組織学的検査, 臓器重量測定(肝臓、精巣、卵巣)
F1	生育(12週間)	継代用の各群雌雄30匹ずつ30腹から無作為に選抜	離乳児 継代用以外の児動物について剖検 (P世代に準ずる)
	交配 (最長3週間)	(P世代に準ずる)	
	妊娠(3週間)		(P世代に準ずる)
	出産		(P世代に準ずる)
.....	哺育(3週間)	(P世代に準ずる)	
.....	離乳	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
F2			親動物(F <sub>1</sub> )及び児動物(F <sub>2</sub> )の剖検,

## 結果

概要を表4に示した。

### [親動物に対する影響]

#### 1. 一般状態及び死亡率

P世代、F1世代共に雌雄ラットには、500ppmまで検体に関連した一般状態の変化は認められなかった。死亡動物は、P世代の対照群雌、F1世代の対照群雌、20ppm群雌及び100ppm群雄でそれぞれ1匹ずつみられたが、対照群にも認められ、検体投与群の死亡数が対照群を超えるものではなかったこと、また500ppmでは死亡例は認められなかったことから、投与に関連したものではなかった。

#### 2. 体重(図1, 図2)

P世代において、雄では対照群と比較して、最高500ppm群でも体重に投与による影響は認められなかった。一方雌では、500ppm群で、交配前期間中に対照群と比較して体重に有意な低値(63日-7%、70日-6%)がみられ、増体重量で比較すると500ppmの増体重量は、対照群の約84%であった。妊娠期間中(全測定日-6%)及び哺育期間中(-7~-5%)も持続したが、妊娠及び哺育期間中のそれぞれの体重増加量に統計学的な有意差は認められなかった。

F1世代において、雄では対照群と比較して、最高500ppm群でも体重に投与による影響は認められなかった。雌では、偶発的な統計学的有意差が20ppm群と100ppm群で散見された。しかしこれらはいずれも対照群に比べ体重が高値を示したものであった。また最高用量の500ppm群で統計学的な有意差がみられたのは哺育21日のみであり、これも対照群に比べ高値であった。しかし、いずれの測定時期においても用量に依存した増加ではなかった。妊娠期間中の体重増加量は対照群に比べ統計学的な有意差は認められなかった。一方、哺育期間中の体重増加量は、対照群に比べ統計学的な有意な高値がみられた。これらの統計学的に有意な差は毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。

図1. P世代

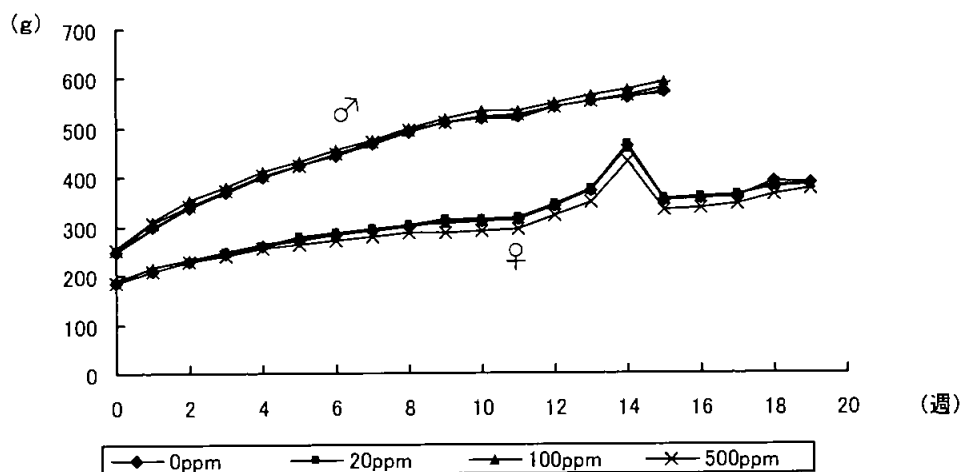
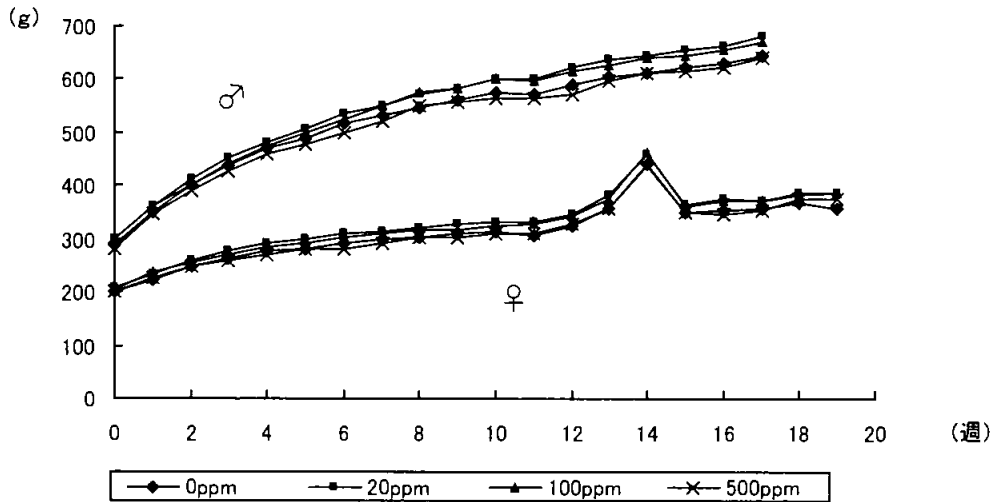


図2. F1世代



3. 摂餌量及び検体摂取量

P世代及びF1世代では雌雄共に最高500ppmまで、摂餌量に投与に関連する変化は認められなかった。

検体摂取量を表2に示す。

表2 検体摂取量 (mg/kg 体重/日)

用量 (ppm)	雄			雌			
	20	100	500	20	100	500	
P世代	交配前	1.4	7.4	37.5	1.5	8.2	41.2
	妊娠	/	/	/	1.3	7.0	36.1
	哺育*	/	/	/	2.4	13.3	70.7
	平均 <sup>‡</sup>	/	/	/	1.7	9.5	49.3
F1世代	交配前	1.4	7.3	37.2	1.5	8.2	41.5
	妊娠	/	/	/	1.2	6.8	36.2
	哺育*	/	/	/	2.4	13.3	66.6
	平均 <sup>‡</sup>	/	/	/	1.7	9.4	48.1

\*: 3週目以降は児動物も摂食するので最初の2週間の摂餌量をもとに算出した。

<sup>‡</sup>: 申請者により計算

4. 発情周期の判定

P世代ではいずれの投与群でも発情周期に対する影響は認められなかった。

F1世代では100ppm群に2週間内における平均発情周期数が統計学的に有意に減少した。しかし、用量関連性がなく、P世代の発情周期回数に影響がみられていないことや、両世代の発情周期日数に変化がみられていないことから、偶発的な変動と考えられた。

## 5. 繁殖能

P 世代、F1 世代共に交尾率、受胎率、出産率、平均妊娠期間、着床痕数及び産出率に関して、対照群と 500ppm 群を含む全ての検体投与群の間に毒性学的に意味のある差は認められなかった。F1 世代の 20ppm 及び 100ppm 群でみられた着床痕数の有意な増加は用量関連性がないことから偶発的な変化と考えられた。

## 6. 臓器重量

雌の P 世代の 500ppm 群、F1 世代の 500ppm 及び 100ppm 群では、肝臓の実重量及び対体重比が有意に増加し、検体による代謝が誘発された結果であると推定され、したがって、投与に対する有害な反応というよりはむしろ適応反応であると考えられた。尚、雄では P 世代の 100ppm 群で肝臓の対体重比が減少したが用量関連性がないことから、この変化は偶発的な所見と考えられた。

雌の P 世代 500ppm 群において卵巣の実重量及び対体重比が有意に減少したが、F1 世代では認められず、また病理組織学的変化も認められなかったことから、毒性学的に意味のない変化と考えられた。一方、F1 世代 100ppm 群では卵巣の実重量及び対体重比が有意に増加したが、用量関連性がないことから、偶発的な所見と考えられた。

雄では P 及び F1 世代ともに精巣重量に変化は認められなかった。

## 7. 剖検

P 世代及び F1 世代の雌雄共に 500ppm 群まで有意な肉眼的変化は認められなかった。

## 8. 病理組織学的検査

肝臓において、P 世代の 500ppm 群雄、F1 世代の 500ppm 群雌雄及び 100ppm 群雄で、小葉中心性の肝細胞肥大(細胞質の淡明化及び顆粒状細胞質)を示す頻度の増加が認められた。また、F1 世代 500ppm 群雌では単細胞壊死の頻度が増加した。一方 P 世代の 500ppm 群雌ではうっ血が増加(8/30)したが、F1 世代の対照群(10/30)でも同様にみられていることから、投与による変化とは考えなかった。

下垂体において、F1 世代 20ppm 群雌にのう胞の増加が統計学的に有意に認められたが、用量関連性がなく、また P 世代雌雄及び F1 世代の雄では頻度の増加は認められなかったことから、投与による変化とは考えられなかった。

## [児動物に対する影響]

### 1. 出生時のデータ

総新生児数、死亡児数、出生時生存率、性比、同腹児数について、F1 世代、F2 世代共に 500ppm まで何ら影響は認められなかった。

## 2. 新生児の一般状態

3週間の哺育期間中、F1及びF2児共に500ppmまで特記すべき一般状態の変化は認められず、また奇形も認められなかった。

共食いで死亡したF1児をもつ母動物数の増加が100ppm以上で増加した。しかしながら、母動物単位(P世代)での統計学的評価において、有意差は認められなかった。また、F2児をもつ母動物(F1世代)単位では、共食いのため死亡した児をもつ母動物数は500ppm群まで対照群との差が認められなかったことから、認められた共食いは検体投与に関連したものとは考えられなかった。

共食い児を持つ親動物数

用量(ppm)	P世代	F1世代
0	2/25(8%)	3/23(13%)
20	1/22(5%)	2/19(11%)
100	4/23(17%)	2/27(7%)
500	7/26(27%)	5/27(19%)

共食い児をもつ母動物数/児をもつ母動物数  
Fisherの直接確率検定

## 3. 新生児の体重

F1児、F2児共に投与による体重への影響は認められなかった。

F1児では、100ppm群において0、7、14及び21日に対照群と比較して統計学的に有意な増加(6~12%)が認められたが、偶発的な所見と考えられた。

F2児では、500ppm群において4、7、14及び21日に対照群と比較して低下(-6~-9%)し、14日には統計学的な有意差が認められたが、14日及び21日のF2児の体重はそれぞれF1児の対照群とほぼ同等であり、またF2児の4日、7日、14日、21日の体重は当該試験機関の1985年から1993年における背景データの範囲内にあることから、投与による影響とみなさなかつた。

背景データ 4日:9~10g、7日:15~17g、14日:30~34g、21日:47~55g

## 4. 新生児の生存率

4日及び21日生存率に関して、F1児、F2児共に、投与群と対照群との間に差は認められなかった。

## 5. 新生児又は離乳児の剖検

F1及びF2児共に500ppmまで検体に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

以上の結果をまとめると以下のとおりであった。

#### 親動物に対する毒性

P世代に対する影響は500ppm群でみられ、増体重抑制(雌)、肝臓重量の増加(雌)、小葉中心性の肝細胞肥大の頻度の増加(雄)が認められた。

一方F1世代では100ppm群で肝臓重量の増加(雌)、小葉中心性の肝細胞肥大の頻度の増加(雌)、500ppm群で肝臓重量の増加(雌)、小葉中心性の肝細胞肥大(雌雄)及び肝単細胞壊死の頻度の増加(雌)がみられた。この500ppmにおいても投与に関連した生殖器系への組織学的所見は認められなかった。

以上のことから、親に対する無影響量(NOEL)はF1世代雌100ppmで認められた肝重量の増加及び小葉中心性の肝細胞肥大から20ppmであった。しかし、肝でみられたこれらの影響は、適応変化と考えられたことから、無毒性量(NOEL)は雌ではP世代雌の500ppm群で認められた増体重抑制から100ppm、雄については500ppmと判断した。

#### 繁殖性に対する毒性

両世代共に発情周期、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間、出生時体重、総新生児数、死亡児数、産出率、性比、同腹児数には500ppmまで影響は認められなかった。

以上のことから、繁殖性に対する無毒性量(NOEL)は雌雄ともに500ppmとした。

#### 児動物に対する毒性

最高用量である500ppmにおいても、検体に関連した一般状態の変化は認められず、生存率、哺育率に変化はみられず、また剖検所見も認められなかった。

以上のことから、児動物に対する無毒性量(NOEL)は雌雄共に500ppmであった。

以上の結果から、総合的な無毒性量(NOEL)は親動物に対する影響をもとに、雄では500ppm(P世代; 37.5mg/kg/日, F1世代; 37.2mg/kg/日)、雌では100ppm(P世代; 8.2mg/kg/日, F1世代; 8.2mg/kg/日)を設定した。



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

表 4-1 総括表(親動物)

世代	親 : P				親 : F <sub>1</sub>				
	投与用量(ppm)	0	20	100	500	0	20	100	500
動物数	♂	30	30	30	30	30	30	30	30
	♀	30	30	30	30	30	30	30	29
摂餌量		投与による影響は認められなかった。				投与による影響は認められなかった。			
検体摂取量 <sup>∞</sup>	♂		1.4	7.4	37.5		1.4	7.3	37.2
	♀		1.5	8.2	41.2		1.5	8.2	41.5
死亡/屠殺動物		投与に関連する死亡なし				投与に関連する死亡なし			
一般観察		投与による変化なし				投与による変化なし			
体重					♀ ↓ <sup>#</sup>				
摂餌量		投与による変化なし				投与による変化なし			
発情周期(日)		4.4	4.7	4.5	4.8	4.5	5.2	5.0	4.4
発情回数(2週間)		2	2	2	2	2	2	1*	2
交尾率(%)		100	100	100	100	100	93	100	100
受胎率(%)		93	73	80	87	77	71	90	90
出産率(%)		93	100	96	100	100	100	100	100
妊娠期間(日)		21.5	21.5	21.7	21.7	21.9	21.8	21.8	21.9
剖検		投与による変化なし				投与による変化なし			
着床数		16	16	17	16	15	17*	17*	15
産出率		93	94	86	90	90	90	93	89
臓器重量									
最終体重	♀				↓ 95		↑ 106		
肝臓	♂			R ↓ 92					
	♀				A ↑ 119 R ↑ 124			A ↑ 119 R ↑ 113	A ↑ 122 R ↑ 122
卵巣	♀				A ↓ 82 R ↓ 86			A ↑ 117 R ↑ 113	
病理組織所見; 検査数♂/♀									
肝臓		30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	29/30
肝細胞肥大	♂	0	0	0	14*	0	2	9*	14*
	♀	0	0	0	3	0	0	2	17*
単細胞壊死	♀	1	2	2	3	2	0	6	9*
うっ血	♀	0	2	3	8*	10	14	12	15
下垂体		30/30	30/30	29/30	30/30	29/29	30/29	30/30	29/30
のう胞	♀	1	0	0	0	0	5*	2	0

∞: 交配前期間の平均摂取量 #; 体重 (対照群を 100 とした場合; 交配前期間 63 日; 93、70 日: 94)

体重、臓器重量の検定 Dunnett t-test ↓; P<0.05 (卵巣の比重量のみ Mann-Whitney U-test)

発情、着床数の検定 Mann-Whitney U-test \*: p<0.05

臓器重量 A: 臓器実重量, R: 対体重比

病理検査の検定 Fisher's exact test (片側) \*: P<0.05

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

表 4-2 総括表(児動物)

	世代	児 : F <sub>1</sub>				児 : F <sub>2</sub>			
	投与用量(ppm)	0	20	100	500	0	20	100	500
児動物	総産児数	395	337	336	367	315	301	436	371
	生存産児数	390	332	325	358	308	292	431	353
	死産児数	5	5	11	8(1)	6(1)	8(1)	4(1)	17(1)
	出生時生存率(%) <sup>§</sup>	99	99	96	98	99	98	99	96
	性比(%) 雄	53	54	53	51	49	47	49	51
	出生時同腹児数 <sup>1)</sup>	16	15	14	14	13	15	16	13
	4日生存率(%) <sup>§</sup>	99	99	95	96	95	98	99	94
	21日生存率(%) <sup>§</sup>	99	99	96	99	100	99	100	96
	体重(g) 0日	6.6	6.8	↑7.0	6.6	6.7	6.6	6.7	6.8
	4日	9.6	10.0	10.3	9.8	10.7	10.2	10.0	9.9
	7日	15.5	16.6	↑17.3	15.7	17.5	17.4	16.7	16.1
	14日	31.7	32.9	↑33.7	30.7	34.5	35.5	33.7	31.4↓
	21日	48.6	50.7	↑52.6	48.3	51.8	53.7	52.2	48.6
	剖検		投与による変化なし				投与による変化なし		

1) 生存児のみ, <sup>§</sup> 指標の算出は母動物平均に基づく, ( ) 生死不明の児数  
Dunnett 検定 ↑ ↓ ; P<0.05