

(2) フルミオキサジン原体のイヌにおける3ヵ月間経口投与試験

(資料5-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [GLP 対応]

検 体：フルミオキサジン原体

純 度：

使用動物：ビーグル犬 (投与開始時6~7ヵ月齢、体重：雄8.3-11.6kg、雌7.2-10.8kg)

1群雌雄各4頭

投与期間：13週間 (投与開始：1989年9月19日)

投与方法：検体を10、100、1000mg/kgの割合でゼラチンカプセルに充填し、13週間毎日経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

[投与量設定の根拠]

試験項目および試験結果

1. 一般症状および死亡：投与期間を通じ毎日一定時間おきに症状を観察した。

試験期間中に動物の死亡は認められなかった。1000 mg/kg 群の雌雄各1例において軟便がやや高頻度に認められた。この変化は投与に関連したものと考えられたが、少量かつ一過性のものであったため、その影響は非常に軽微なものと考えられた。嘔吐は全群において散見されたが、その頻度は投与群と対照群で差が認められなかった。100 および 1000 mg/kg 群の雌各1例において脱毛が見られたが、1例はアカラス症によるものであり、もう1例は投与期間中に回復した。流涙、瞬膜腺の露出、前肢の跛行、耳介の紅潮などが数例認められたが、いずれも一過性変化であった。したがって、軟便以外の変化は検体投与に起因するものとは考えられなかった。

2. 摂餌量及び食餌効率：投与 2 週間前から投与期間終了まで毎日摂餌量を算定した。食餌効率は 1 週間毎に算出した。摂餌量、食餌効率ともに変化は認められなかった。
3. 体重：投与 2 週間前から投与期間終了まで週 1 回測定した。投与期間を通じて全ての動物における体重増加は十分であり、投与群と対照群の間で体重の有意差は認められなかった。
4. 眼科学的検査：投与 0、5 および 11 週に全動物について眼瞼、角膜、結膜、強膜、虹彩および眼底の観察を実施したが、投与に関連した変化は認められなかった。
5. 心電図検査：投与 0、7 および 13 週に全動物に実施したが、異常は認められなかった。
6. 血液学的検査：投与 0、4、8 および 12 週に桡側皮静脈より採血し、検査を行った。

EDTA-3K 処理の血液を用いて以下の項目を測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、網赤血球数、白血球数、白血球分類 (好中球、好塩基球、好酸球、リンパ球、単球)、血小板数

3. 8%クエン酸ナトリウム処理による血漿サンプルを用いて以下の項目を測定した。  
 プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)  
 対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査 時期 週	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)					
		10	100	1000	10	100	1000
赤血球数	12						▽ 91
APTT	12						△ 118
好塩基球数	12					▽ 50	▽ 50

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽;  $P < 0.05$ )

有意差検定は Dunnett の多重比較検定などによって行った。

上記の表に見られるように、活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の延長が投与 12 週に 1000 mg/kg 群の雌において認められ検体投与の影響と考えられた。その他の変化は各々の投与開始前値と比較して大差ないことから、特に検体投与に起因するものとは考えられなかった。

7. 血液生化学的検査：採血時期、採血方法とも血液学的検査と同様に行い、室温放置後氷冷し、遠心により血清を分取して以下の項目を測定した。

総蛋白、蛋白分画(アルブミン、 $\alpha 1$ -グロブリン、 $\alpha 2$ -グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、 $\gamma$ -グロブリン、A/G比)、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、総ビリルビン、直接ビリルビン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、アルカリホスファターゼ(ALP)、クレアチンホスホキナーゼ(CPK)、乳酸脱水素酵素(LDH)、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ( $\gamma$ -GTP)、ナトリウム、カリウム、クロライド、カルシウム、無機リン

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査時期週	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)					
		10	100	1000	10	100	1000
ALP	8						▲270
	12						▲296
CPK	8						▽63
総コレステロール	4			▲149			▲158
	8			▲150			
	12			△150			
リン脂質	4			▲133			▲135
	8			▲131			
	12			△130			
総ビリルビン	8			▽			
$\alpha 2$ グロブリン	4						△117

表中の数字は対照群に対する割合(%)を示す。

(△、▽; P<0.05、▲、▼; P<0.01)

有意差検定はDunnettの多重比較検定などによって行った。

1000 mg/kg 群の雌雄において、総コレステロールおよびリン脂質の増加が投与4週以降に認められ、雄の群平均値では全ての検査時期で、雌の群平均値では投与4週に対照群に対して有意な高値が認められた。同群ではアルカリホスファターゼの上昇傾向が投与4週以降の雌雄に認められ、投与8および12週の雌の群平均値で対照群に対して有意な高値を示した。100 mg/kg 群では、上記の3項目に関し投与期間を通して対照群と比較して軽度な高値を示したが、統計学的に有意なものではなかった。これらの変化は、後述の病理学的検査から示唆された検体による肝臓・胆道系の傷害と関連するものと考えられた。

表中の他の有意な変化については、変動が軽度であり、各々の投与開始前値と大差ないことより、投与に関連したものとは考えられなかった。

8. 尿検査：投与0、6および12週に採尿し、以下の項目の測定を行った。

新鮮尿による検査：

pH、グルコース、蛋白、潜血、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、尿沈渣(赤血球、白血球、上皮、小円形細胞、円柱)

蓄尿による検査：

尿量、比重

検体投与に関連した影響は認められなかった。

9. 糞便検査：投与0、6および12週に糞便を採取し、潜血の検査を行った。

検体投与に関連した影響は認められなかった。

10. 肝機能検査(BSP 停滞率試験)：投与0、5および11週にBSP 停滞率試験を実施した。

検体投与に関連した影響は認められなかった。(BSP 濃度、停滞率に異常は認められなかった)

11. 腎機能検査(PAH 停滞率試験)：投与0、7および13週にPAH 停滞率試験を実施した。

検体投与に関連した影響は認められなかった。(PAH 濃度、停滞率に異常は認められなかった)

12. 骨髄検査：剖検直前の胸骨骨髄穿刺により得た骨髄サンプルを用いてミエロクリットの測定およびミエログラム検査を行った。塗抹標本は、メイ・ギムザ液で染色した。

10 および 100 mg/kg 群の雌において好中性骨髄球の比率が有意に高値を示し、1000 mg/kg 群の雌において前赤芽球の比率が有意に高値を示したが、いずれも軽度

な変化あるいは用量との関連のない変化であり、投与に関連したものとは考えられなかった。

13. 病理学的検査：3ヵ月間の投与後、全ての動物を麻酔下で放血し、剖検を行った。

(1) 臓器重量および体重に対する相対臓器重量

以下の臓器について重量の測定を行い、最終体重に対する相対重量を算出した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺、心臓、肝臓(胆嚢を含む)、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮

対照群と比べて統計学的に有意差の認められた項目は次のとおりである。

項目	雄			雌		
	投与量 (mg/kg/day)					
	10	100	1000	10	100	1000
下垂体 絶対			▽77			
下垂体 相対						

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽ ; p<0.05)

有意差検定は Dunnett の多重比較検定などによって行った。

1000mg/kg 群の雄における下垂体の絶対重量は対照群と比較して有意な低値を示したが、この値は同月齢の無処置動物で通常みられる数値であり (1000mg/kg 平均値 : 64mg および範囲 : 53~78mg、背景値平均値 : 67mg および平均値 ± 2SD : 41~93mg) 毒性学的意義は疑わしいものであった。

群平均値は対照群に対し有意な差を示さなかったが、1000 mg/kg 群の雌雄各 1 例において、肝臓の絶対重量および相対重量の高値が認められた。肝臓に関しては、病理組織学的検査および血液生化学的検査において関連する所見が認められており、検体投与の影響と考えられた。一方、1000mg/kg 群の雄 1 例において、甲状腺の絶対重量および相対重量の高値が認められたが、病理組織学的検査において関連性を示す変化なく、生物学的意義は不明であった。

(2) 肉眼的所見

以下の臓器について in situ および摘出後の両面から肉眼的に観察した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺、心臓、肝臓(胆嚢を含む)、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮、眼球(視神

経を含む)、耳下腺、舌、顎下リンパ節、喉頭、気管、大動脈、膀胱(尿管を含む)、食道、胃、小腸(十二指腸、空腸、回腸)、大腸(盲腸、結腸、直腸)、腸間膜リンパ節、脊髄(胸髄)、坐骨神経、大腿部骨格筋、腹部皮膚、乳腺、胸骨骨髓、大腿骨骨髓、精巣上体、膣、異常部位

1000 mg/kg 群の雌雄各1例において肝臓の辺縁鈍あるいは大型化が認められ、病理組織学的検査および血液生化学的検査より検体投与の影響と考えられた。1000 mg/kg 群の雄1例において甲状腺の大型化が認められたが、病理組織学的検査において関連性を示す変化なく、生物学的意義は不明であった。1000 mg/kg 群の雌1例に心臓三尖弁血腫が認められたが、病理組織学的検査では自然発生病変である毛細血管増生であった。また、同群の雌の1例に前肢の脱毛が認められたが、アカラス症によるものであった。

### (3) 光学顕微鏡所見

上記の臓器は10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色の組織標本を作製し、光学顕微鏡検査を実施した。光学顕微鏡検査における病変の程度は、軽微、軽度、中等度および重度の4段階に分類した。主要臓器に認められた所見を表1に記載した。

肝臓において、軽微から軽度の小胆管の増生が1000 mg/kg 群の雄1例、雌2例に認められた。また、1000 mg/kg 群の雄2例では、肝臓の中心静脈周囲に線維組織の軽微な増生が認められた。これらの変化は、フルミオキサジン原体が肝臓・胆道系に傷害を引き起こす可能性を示唆するものと考えられた。しかし、肝細胞傷害に関連した重篤な変化は認められないことから、肝臓に対する影響は軽微なものと考えられた。肝臓の大型化に一致する組織学的変化は光学顕微鏡レベルでは観察されなかった。その他の病変は自然発生病変と考えられ、検体投与に関連したものは考えられなかった。

### (4) 電子顕微鏡所見

剖検時、全動物の肝臓および腎臓の一部組織を2.5% グルタルアルデヒド液で前固定し、2% 四酸化オスミウムで後固定した後、電子顕微鏡標本を作製した。電子顕微鏡による検査は対照群および1000 mg/kg 群の肝臓のみについて行った。

1000mg/kg 群の雄全例および雌3例の肝細胞において、滑面小胞体の増生および拡張が認められた。他の細胞内小器官には変化が認められないことから、これらの

形態学的変化は、フルミオキサジン原体投与に起因する代謝活性の増加に伴う細胞内の適応性変化を示すものと考えられた。肝細胞における滑面小胞体の量的増加は肉眼的検査で認められた肝臓の大型化の原因と考えられた。

以上の結果より、雌雄の 1000 mg/kg 群で総コレステロール、リン脂質およびアルカリホスファターゼの増加が認められ、肝臓の小胆管増生、肝細胞滑面小胞体増生・拡張が認められた。雌雄の 100mg/kg 群においても軽度な総コレステロール、リン脂質およびアルカリホスファターゼの増加が認められた。従って、本剤の標的器官は肝臓と考えられ、無毒性量は 10 mg/kg/日であると結論された。

表1 病理組織学的所見<sup>a)</sup> (所見が認められた臓器のみを記載)

項目	雄				雌				
	投与量 (mg/kg/day)								
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
肝臓	慢性炎症、限局性	2	2	1	4	4	3	2	3
	小胆管増生	0	0	0	1	0	0	0	2
	肝細胞空胞化、限局性	0	1	0	0	0	0	0	0
	中心静脈周囲の線維組織の増生	0	0	0	2	0	0	0	0
	出血、限局性	0	0	0	0	1	0	0	0
腎臓	尿細管空胞化	0	0	0	0	1	1	1	1
脾臓	辺縁部うっ血	2	4	1	0	1	1	2	2
	鉄沈着巣	0	0	0	0	0	0	1	0
肺	泡沫細胞浸潤	0	0	0	0	2	1	1	0
	肉芽腫	1	0	3	2	0	0	0	1
	肺炎	1	0	0	1	1	0	1	2
	骨沈着巣	0	0	1	0	0	0	0	0
前立腺	嚢胞、限局性	0	0	1	1	—	—	—	—
甲状腺	傍濾胞細胞増生	3	2	3	3	1	1	3	1
	脂肪浸潤	0	0	1	0	0	0	0	0
上皮小体	嚢胞	0	0	0	0	0	2	0	0
顎下リンパ節	色素含有マクロファージ浸潤	4	0	2	2	2	1	3	1
腸間膜リンパ節	出血	1	0	0	3	1	0	1	0
胸腺	萎縮	0	1	1	0	0	0	0	1
心臓	慢性動脈炎	0	0	0	0	0	0	0	1
	毛細血管増生 (弁)	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体	嚢胞形成	2	0	1	1	1	2	1	2
	石灰化	0	0	1	0	0	0	0	0
舌	亜急性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0
食道	慢性炎症	0	0	0	1	0	0	0	1
気管	慢性炎症	0	0	0	1	0	0	0	0
耳下腺	慢性炎症	0	0	0	0	1	0	0	0
皮膚	肉芽腫性皮膚炎	0	0	0	0	0	0	0	1
脳	石灰化	0	0	0	0	0	0	1	0
	血管周囲単核細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	0
	非化膿性炎症、限局性	2	0	0	0	0	0	0	0

a) 表中の数字は所見を有する動物数を示す。

(3) フルミオキサジン原体のラットにおける21日間亜急性経皮毒性試験

(資料5-3)

試験機関: Hazleton Laboratories America, Inc.

報告書作成年: 1991年 [GLP対応]

検 体: フルミオキサジン原体

純 度:

使用動物: Crl: CD (SD) ラット (投与開始時59日齢、体重: 雄 264.2~299.8g、

雌189.5~226.4g)、1群雌雄各5匹

投与期間: 21日間 (投与開始: 1990年3月30日)

投与方法: 検体をコーンオイルに懸濁させ (投与液濃度: 50, 150及び500mg/mL)、ラットに次のような方法で100, 300及び1000mg/kg/dayの用量で21日間毎日経皮投与した。剪毛したラットの体幹部 (約10cm×6cm) にシリンジとガラス棒を用いて投与液を約5cm×5cmの範囲に塗布し、ガーゼとゴムの覆いをして透明テープで固定して経皮投与を行った。この投与は、1日最低6時間、7日間/週で3週間行った。投与部位の毛づくろいによる検体の経口摂取を最小限にするため、投与時間以外にはプラスチック製カラーを装着した。尚、対照群にはコーンオイルのみの塗布を行った。

[投与量設定根拠]

試験項目および試験結果

1. 一般症状および死亡: 生死確認を1日2回、毒性症状の観察を1日1回、詳細な観察を週1回行った。試験期間中の死亡は認められなかった。週1回の詳細な観察において、対照群の雌1例に流涙、雄1例に肩部の潰瘍、300mg/kg群の雄1例で前肢の腫脹部に潰瘍がそれぞれ認められたが、検体投与に関連すると思われる一般症状は認められなかった。

2. 皮膚刺激の観察：皮膚への影響についてはDraizeの評点に従って、検体投与直前に毎日評価を行ったが、投与期間中に皮膚の異常は認められなかった。
3. 体重：投与開始前、投与期間中の週1回および投与終了日に測定を行った。  
体重増加量に関して対照群と投与群の間に統計的に有意な差は認められなかった。
4. 摂餌量：週1回測定を行った。  
総摂餌量に関して対照群と投与群の間に統計的に有意な差は認められなかった。
5. 血液学的検査：投与期間終了日に絶食条件下で眼窩静脈叢より採血し、以下の項目について測定した。  
白血球分類、赤血球数、赤血球形態、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、白血球数、補正白血球数、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、血漿板数、網赤血球比、網赤血球絶対数  
対照群と比較して統計学的に有意な差の認められた項目を表1に示した。

表1 血液学的検査

項目	雄			雌		
	投与量 (mg/kg/day)					
	100	300	1000	100	300	1000
ヘモグロビン量						93▽
ヘマトクリット値						94▽

表中の数字は対照群に対する割合(%)を示す。(△、▽; p<0.05)  
統計検定はLevene's Test, ANOVA, Dunnett等の方法で行った。

1000mg/kg群の雌においてヘモグロビン量及びヘマトクリット値の有意な低値が認められたが、雄においては全ての項目に有意な差は認められなかった。

6. 血液生化学的検査：血液学的検査と同様に採血し、以下の項目について測定を行った。

アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルブミン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、尿素窒素、カルシウム、クロライド、クレアチニン、グロブリン、血糖、無機リン、カリウム、ナトリウム、総ビリルビン、総タンパク

対照群と比較して統計学的に有意な差の認められた項目を表2に示した。

表2 血液生化学的検査

項目	雄			雌		
	投与量 (mg/kg/day)					
	100	300	1000	100	300	1000
総タンパク	△106					

表中の数字は対照群に対する割合(%)を示す。(△、▽; p<0.05)  
統計検定はLevene's Test, ANOVA, Dunnett等の方法で行った。

100mg/kg群の雄において総タンパクの有意な高値が認められたが、高用量では変化がないため、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。雌においては全ての項目に有意な差は認められなかった。

7. 病理学的検査：投与期間終了日に全動物を麻酔下で放血致死させ、剖検を行った。

(1) 剖検

以下の部位および臓器について肉眼的観察を行った。

全開口部、本体、頸部の組織および臓器、頭蓋腔、外観、脳の外観、  
鼻腔および副鼻腔、胸部、腹部および腰部の腔内および諸臓器

肝臓の褪色域が雄の対照群を含む全群、雌の高用量群を除く各群で1~3例観察された。また、腎臓の褪色域が雄の100mg/kg群で1例、腺胃の暗色域が雄の100、300mg/kg群及び雌の全投与群で数例、それぞれ観察された。さらに精巣上体の腫瘤あるいは隆起が雄の対照群で1例、1000mg/kg群で2例、また、脳の嚢胞が雌の1000mg/kg群の1例でそれぞれ認められた。しかしながら、これらの変化は散発的で用量依存性もないことから検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

(2) 臓器重量

以下の臓器について重量の測定および最終体重に対する相対重量の算出を行った。

肝臓、腎臓、精巣および精巣上体、脾臓

対照群と比較して統計学的に有意差の認められた項目を次頁表3に示した。

表3 臓器重量

項目		雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)					
		100	300	1000	100	300	1000
脾臓	絶対重量	△116					
	相対重量						

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。(△、▽ ; p < 0.05)  
統計検定はLevene's Test, ANOVA, Dunnett等の方法で行った。

絶対臓器重量において、100mg/kg群の雄の脾臓が有意な高値を示したが、用量相関性が認められないことから偶発的な変化と考えられた。相対臓器重量においては対照群と投与群はほぼ同じ値を示した。

(3) 病理組織学的検査 (光学顕微鏡所見)

以下の臓器および組織を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。パライ

ン切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、対照群および高用量群の全動物について病理組織学的検査を実施した。

肝臓、腎臓、脾臓、皮膚(投与部位およびそれ以外の部位)

病変部位(肉眼的検査で所見の見られた動物のみ)

認められた所見を表4に示した。

検査した組織において、検体投与に起因する病理組織学的な変化は認められなかった。対照群及び1000mg/kg群のラットにおいて認められた肝臓の軽度な炎症は、長時間の閉塞塗布処置に関連した変化と考えられた。脾臓の髄外造血亢進が1000mg/kg群の雌の1例でのみ認められ、同群の雌におけるヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低値との関連性が窺われたが、この個体ではヘモグロビン量及びヘマトクリット値は正常範囲内の値を示し、組織学的所見との一貫性に欠けたことから、両者の関連性は明らかではなかった。その他の病理組織学的な変化は、ラットにおける通常自然発生的に認められる変化、あるいは投与技術に関連した変化と考えられた。

表4 病理組織学的所見a) (所見が認められた臓器のみを記載)

項目		雄		雌	
		投与量 (mg/kg/day)			
		0	1000	0	1000
肝臓	炎症	5	4	5	2
	色素(沈着)	1	0	0	0
	壊死	0	0	1	0
	出血	0	0	1	0
脾臓	色素(沈着)	5	5	5	5
	髄外造血亢進	0	0	0	1
	リンパ球増生	0	0	0	1
腎臓	尿細管再生	1	0	0	0
	尿細管微小結石	0	2	3	1
皮膚(非投与部位)	慢性炎症	0	0	1	2
精巣上体*	精子肉芽腫性炎症	1/1	2/2	-	-
脳*	脳室拡張	-	-	-	1/1
胃*	炎症	-	-	-	2/2
	粘膜壊死	-	-	-	2/2
	出血	-	-	-	1/2

a) 表中の数字は検査動物数5匹のうち所見を有する動物数を示す。

\* : 肉眼的病変部位(発生数/検査動物数)

以上の結果より、ラットにフルミオキサジン原体を21日間亜急性経皮投与試験において

認められた主な影響は最高用量である1000mg/kg群の雌でヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値であった。従って、本試験における無毒性量は、雄 1000mg/kg/day、雌 300mg/kg/dayと考えられた。

## 6. 反復経口投与神経毒性

フルミオキサジン原体のラットを用いた 90 日間反復経口投与神経毒性試験

(資料6)

試験機関: WIL Research Laboratories, LTD

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体: フルミオキサジン原体

検体純度:

供試動物: CD (SD) 系ラット、1 群雌雄各 12 匹、投与開始時約 6 週齢、

投与開始時体重; 雄 143~204 g、雌 125~170 g

投与期間: 約 90 日間 (2010 年 5 月 24 日~2010 年 8 月 26 日)

投与方法: 検体を 0、500、1500 および 4500 ppm の濃度で飼料に混入し、約 90 日間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は週に約 1 回調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

死亡率; 全動物について生死および瀕死状態を 1 日 2 回 (午前と午後に) 観察した。

試験終了時の死亡率を次表に示す。

投与量 (ppm)		0	500	1500	4500
死亡率 (%)	雄	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)
	雌	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	1/12 (8.3)

検体投与による死亡動物は認められなかった。4500 ppm 群の雌 1 例において、蒼白、低体温、円背位、排便数の減少および異常歩行 (爪先歩行) が認められ、試験 49 日から体重減少が、試験 56 日から摂餌量の減少が認められたため、試験 70 日に切迫屠殺した。また、剖検では胸腺の小型化および心臓に白色部位が認められた。4500 ppm 群のその他の動物に、そのような顕著な体重減少、摂餌量減少、あるいは検体投与に関連した剖検所見が認められなかったことから、この雌 1 例の瀕死状態は検体投与に関連したものではないと考えられた。

一般状態および詳細な状態の観察; 全動物について、投与開始 1 週間前から週 1 回行った。

雌雄ともにいずれの用量においても、検体投与に関連した症状は認められなかった。

体重変化；投与開始約1週間前から週1回すべての動物の体重を測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査時期を次表に示した。

項目	検査 時期 (日)	投与量 (ppm)							
		雄				雌			
		0	500	1500	4500	0	500	1500	4500
体重増加量	56~63	21	↓14 (67)	16 (76)	↓15 (71)	6	2 (33)	7 (117)	2 (33)
	63~70	23	20 (87)	21 (91)	↓12 (52)	7	7 (100)	7 (100)	2 (29)
	84~91	2	2 (100)	6 (300)	↑8 (400)	-1	-1	0	-4

対照群との有意差検定は Dunnett 検定を用いて行った (両側検定、↑ ↓:  $P < 0.05$ 、  
↑ ↓:  $P < 0.01$ )。

表中の数値は実測値 (g)

( ) 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値

いずれの検体投与群の雌雄においても、体重あるいは体重増加量に検体投与に関連した影響は認められなかった。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた変化は、500 および 4500 ppm 群の雄の試験 56~63 日、4500 ppm 群の雄の試験 63~70 日における体重増加量の低値、4500 ppm 群の雄の試験 84~91 日における体重増加量の高値のみであった。申請者注。

摂餌量；全動物の摂餌量を投与開始1週間前から毎週測定し、g/匹/日および g/kg/日を算出した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた検査時期を次表に示した。

申請者注：500 および 4500ppm の雄の体重変化について  
統計学的に有意な差が認められたが散発的であり一貫した用量相関性がないことから、検体投与に関連した体重の変化ではないと考えられた。

項目	検査 時期 (日)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		500	1500	4500	500	1500	4500
摂餌量 (g/匹/日)	7~14	100	96	↓93	100	95	95
	14~21	97	97	↓90	100	105	95
摂餌量 (g/kg/日)	0~7	98	98	↓94	100	101	96
	7~14	101	98	↓94	102	97	100
	14~21	98	98	↓94	100	103	98

対照群との有意差検定は Dunnett 検定を用いて行った (両側検定、↑ ↓ :  $P < 0.05$ 、  
↑ ↓ :  $P < 0.01$ )。

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

いずれの用量においても、摂餌量に検体投与による影響は認められなかった。  
対照群と比較して、4500 ppm 群の雄において 0~7、7~14 および 14~21 日に  
摂餌量 (g/匹/日および/あるいは g/kg/日) の統計学的に有意な低値が認めら  
れたが、その差は軽微であり、体重増加量に影響は認められなかった。また、  
同様の影響が 4500 ppm 群の雌では認められなかったことから、4500 ppm 群の  
雄で認められた、試験初期 3 週間の摂餌量の低値は検体投与に関連したもので  
はないと考えられた。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		500	1500	4500
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	37	110	323
	雌	41	124	358

機能観察総合検査 (FOB)；投与開始前、試験 3、7 および 12 週に全動物を対象として、  
以下の項目について検査を行った。

ホームケージ内観察；姿勢、痙攣/振戦、便の硬さ、嘔み付き、眼瞼閉鎖  
保定観察；ケージからの取り出しやすさ、流涙/色素涙、立毛、眼瞼閉鎖、眼  
球突出、赤色/痲皮様付着物、動物の取り扱いやすさ、流涎、被毛外観、  
呼吸数/状態、粘膜/眼/皮膚の色調、筋緊張  
オープンフィールド観察；運動性、立ち上がり、痙攣/振戦、毛づくろい、異  
常/常同行動、動き出しまでの時間、歩行、覚醒度、排尿/排便、歩行ス  
コア、後ずさり  
感覚機能観察；接近反応、驚愕反応、瞳孔反応、前肢伸展、空中正向反射、接  
触反応、テイルピンチ反応、瞬目反応、後肢伸展、嗅覚性方向反応  
神経筋観察；後肢伸筋力、後肢開脚幅、握力-前肢および後肢、ローターロッ

ド検査

生理学的観察；カタレプシー、体重、体温

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示した。

項目	検査時期 (週)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		500	1500	4500	500	1500	4500
動き出しまでの時間	3	↑140	100	100	80	80	100
排尿数	12	200	500	↑667	50	0	0
カタレプシー時間	投与開始前	75	75	88	120	100	↑120

対照群との有意差検定は Dunnett 検定を用いて行った (両側検定,  $\uparrow \downarrow : P < 0.05$ )。表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

総合機能観察において、検体投与に関連した影響は認められなかった。

オープンフィールド観察において、500 ppm 群の雄で試験 3 週に、動き出しまでの時間の統計学的に有意な高値が認められたが、用量相関性が認められず、検体投与に関連した影響とは考えられなかった。また、4500 ppm 群の雄において試験 12 週に排尿数の統計学的に有意な高値が認められたが、その平均値は 2.0 で、背景対照データの平均最高値 (1.8) と同程度の値であった。さらに、対照群の値は 0.3 と小さく、また、同様の所見が 4500 ppm 群の雌では認められなかったことから、この変化は生物学的変動に起因するものと考えられた。

生理学的観察において、4500 ppm 群の雌においてカタレプシー時間の統計学的に有意な高値が認められたが、投与開始前の値であった。

その他、ホームケージ内観察、保定観察、感覚機能および神経筋観察において統計学的に有意な変化は認められなかった。

自発運動量；投与開始前、試験 3、7 および 12 週に全動物を対象として、プラスチック製ケージ内における移動運動量および総運動量を赤外線ビームセンサーを用いて 60 分間 (10 分間毎にデータ集計) 測定した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示した。

項目	検査時期	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		500	1500	4500	500	1500	4500
総運動量 (0~60 分)	投与開始前	113	131	118	107	122	120↑

逐次線形傾向検定 ( $\uparrow \downarrow : P < 0.05$ , NS : 有意な傾向なし)

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。

試験 3、7 および 12 週の検査において、総運動量あるいは移動運動量のいずれにおいても統計学的に有意な変化は認められず、検体投与による影響は認められなかった。また、ハビチューエーションパターンに顕著な変化は認められなかった。4500 ppm 群の雌において総運動量 (0~60 分) の統計学的に有意な高値が認められたが、投与開始前の値であった。

血液学的検査；計画的剖検時 (試験 13 週) に全動物を対象として、後眼窩洞から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

総白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、網赤血球数 (比率および絶対数)、白血球分類 (比率および絶対数) および赤血球形態

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を次表に示す。

ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の低値が 1500 および 4500 ppm 群の雌雄で認められ、平均赤血球血色素濃度の低値が 4500 ppm 群の雄と 1500 および 4500 ppm 群の雌で認められた。また、網赤血球の絶対数の高値が 4500 ppm 群の雌雄で認められ、血小板数の高値および大型非染色性球の絶対数および比率の低値が 4500 ppm 群の雌で認められた。500 ppm 群の雄における平均赤血球容積 (49.2 fL) および平均赤血球血色素量 (17.1 pg) の低値については変化の程度が小さく、同群の雌では認められないこと、さらに、その平均値が背景対照データの範囲内 (平均赤血球容積；48.3~70.9 fL、平均赤血球血色素量；16.9~21.5 pg) にあることから、毒性影響とは考えられなかった。

その他、総白血球数およびリンパ球の絶対数の低値が 500 および 1500 ppm 群の雌で認められ、赤血球数の増加が 1500 ppm 群の雌で認められたが、用量相関性が認められないことから検体投与に関連したものとは考えられなかった。網赤血球、単球および好酸球の比率における統計学的に有意な変化については、絶対数に影響がないことから、これらの変化は毒性学的意義のない変化であると考えられた。

項目	投与量 (ppm)					
	雄			雌		
	500	1500	4500	500	1500	4500
総白血球数	89	86	116	↓71	↓71	124
赤血球数	102	102	103	103	↑109	104
ヘモグロビン濃度	99	↓94	↓87	99	↓92	↓77

項目	投与量 (ppm)						
	雄			雌			
	500	1500	4500	500	1500	4500	
ヘマトクリット値	98	↓95	↓90	99	↓95	↓84	
平均赤血球容積	↓97	↓93	↓87	97	↓87	↓81	
平均赤血球血色素量	↓97	↓92	↓84	97	↓85	↓74	
平均赤血球血色素濃度	100	99	↓96	100	↓97	↓91	
血小板数	119	110	116	101	102	↑124	
網赤血球比率	106	122	↑194	95	114	↑271	
網赤血球絶対数	104	125	↑197	97	126	↑286	
白血球分類	単球比率	79	100	86	127	127	↓55
	好酸球比率	100	↑167	107	↑170	↑200	100
	大型非染色性球比率	100	80	80	100	100	↓40
	リンパ球絶対数	89	83	114	↓69	↓68	123
	大型非染色性球絶対数	80	60	100	60	60	↓40

対照群との有意差検定は Dunnett 検定を用いて行った (両側検定, ↑ ↓:  $P < 0.05$ ,  
↑ ↓:  $P < 0.01$ )

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

眼科学的検査; 投与開始前および試験 12 週にすべての動物について検査した。

いずれの投与群においても検体投与に関連した所見は認められなかった。

脳の重量および形態計測; 試験終了時 (試験 13 週)、全生存動物を対象に、4.0%パラホルムアルデヒド/1.4%グルタルアルデヒド溶液を用いて *in situ* 灌流固定した後、脳の重量およびサイズ (長さ (嗅球を除く) および幅) を測定した。

対照群と検体投与群の間で統計学的に有意な差は認められず、検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査; 試験終了時 (試験 13 週)、全生存動物を対象として、灌流固定後、脳および脊髄の肉眼的変化、色調異常あるいは病変について調べた。

検体投与に関連した肉眼的病変は認められなかった。

病理組織学的検査; 試験終了時 (試験 13 週) に対照群および 4500 ppm 群の雌雄各 6 匹を対象に、灌流固定後、以下の組織について病理標本を作成し、検鏡した。

脳 (嗅球、大脳皮質、海馬、基底核、視床、視床下部、中脳、小脳、橋および延髄)、脊髄 (頸膨大 C3~C7 および腰膨大 T13~L4)、三叉神経節/神経、腰部後根神経節 (T13~L4)、腰部後根線維 (T13~L4)、腰部前根線維 (T13~L4)、頸部後根神経節 (C3~C7)、頸部後根線維 (C3~C7)、頸部前根線維 (C3~C7)、頸部脊髄神経、腰部脊髄神経、坐骨神経 (中大

腿部) (2)、坐骨神経 (坐骨切痕) (2)、腓腹神経 (2)、脛骨神経 (2)、腓骨神経 (2)、視神経、眼球、骨格筋 (腓腹筋)、その他の部位 (必要と認められた場合)

(2) ; 右後肢の 2 切片 (横断および縦断切片)

中枢神経系組織はパラフィン包埋、末梢神経系組織はプラスチック包埋し、ヘマトキシリン-エオジン染色した。

認められた病理組織学的所見を次表に示す。

4500 ppm 群の雌雄において、検体投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、フルミオキサジン原体のラットに対する 90 日間反復経口投与による神経毒性試験において、神経毒性影響は認められなかった。検体投与に関連した影響として、血液学的検査において、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積および平均赤血球色素量の低値が 1500 および 4500 ppm 群の雌雄で認められ、平均赤血球色素濃度の低値が 4500 ppm 群の雄と 1500 および 4500 ppm 群の雌で認められた。また、網赤血球の絶対数の高値が 4500 ppm 群の雌雄で認められ、血小板数の高値および大型非染色性球の絶対数および比率の低値が 4500 ppm 群の雌で認められた。従って、亜急性神経毒性に関する無毒性量は 4500 ppm (雄 323 mg/kg/日、雌 358 mg/kg/日) であると判断された。

## 7. 慢性毒性および発癌性

### (1) フルミオキサジン原体のラットにおける慢性毒性/発癌性試験 (資料7-1)

試験機関：住友化学工業株式会社  
報告書作成年：1993年 [GLP 対応]

検体：フルミオキサジン原体  
純度：

試験動物：Crj:CD(SD) ラット (投与開始時6週齢、体重：雄 171~225g、雌 130~182g)  
1群あたり主群雌雄各50匹、衛星群雌雄各24匹  
衛星群のうち各群雌雄10匹については12ヶ月間投与後に、残りは18ヶ月間投与後に屠殺した。

投与期間：24ヶ月間 (投与開始；1989年5月25日、最終屠殺；1991年6月6日)

投与方法：検体を0、50、500 および 1000ppm の濃度で基礎飼料に混入し、24ヶ月間にわたって自由に摂取させた。検体を混入した試料は2週間に1回の頻度で調製した。

[投与量設定根拠]

### 試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；一般症状および死亡の有無を毎日観察した。全動物について1週間に1回触診を行った。いくつかの一般症状が投与期間中に認められたが、通常本系統において認められるものであった。  
下表に、主群における最終屠殺時の死亡数および率を示す。

投与量 (ppm)		0	50	500	1000
死亡数 (%)	雄	19/50 (38)	21/50 (42)	17/50 (34)	17/50 (34)
	雌	25/50 (50)	29/50 (58)	22/50 (44)	23/50 (46)

Fisher の直接確率法で検定を行った。

投与に関連した死亡率の変化は認められなかった。  
投与期間中に全身状態の悪化により切迫屠殺した動物の症状においても投与による影響は認められなかった。

体重；主群では投与開始日の他に、最初の14週間は週1回、それ以降は4週に1回の頻度で測定を行った。衛星群では投与開始日の他に、投与期間を通じて4週間に1回体重測定を行った。  
主群では投与9週から27週に雌の50および500ppm群において、体重および体重増加量の高値が認められた。衛星群では投与71週から79週に雌の50および500ppm群に

において、体重および体重増加量の高値が認められた。しかし、これらの変化は低用量および中間用量群での変化であり、投与による影響とは考えられなかった。

**摂餌量**；連続する 3、6 もしくは 7 日間の摂餌量をケージ単位で測定した。主群では試験開始後 14 週間は週 1 回の頻度で、それ以降は 4 週に 1 回の頻度で測定を行った。衛星群は投与期間を通じて 4 週に 1 回の頻度で測定を行った。体重比摂餌量を体重および摂餌量から算出した。

一過性に摂餌量および体重比摂餌量の軽微な増減が全ての投与群において認められたが、一貫性に欠け、用量相関性も明らかではなかったことから投与の影響とは考えられなかった。

**検体摂取量**；投与期間中の一日当りの平均検体摂取量は次の通りであった。

投 与 量 (ppm)		50	500	1000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	1.8	18.0	36.5
	雌	2.2	21.8	43.6

**摂水量**；尿検査対象動物について投与 26 から 27 週、50 から 51 週、78 から 79 週、102 から 103 週に連続 48 時間の摂水量をケージ単位で測定した。体重比摂水量を体重および摂水量から算出した。

雄では摂水量および体重比摂水量の変化は認められなかった。雌では投与 51 週に 50 および 1000ppm 群において摂水量の低値が認められたが、用量相関性のない変化であることから投与による影響とは考えられなかった。

**尿検査**；衛星群の各群雌雄 10 匹について投与 24 から 26 週、51 から 52 週、76 から 77 週に、主群の各群雌雄 12 匹について投与 103 週に以下の項目について検査を行った。

新 鮮 尿；pH、ブドウ糖、タンパク、ケトン体、潜血、  
 ビリルビン、ウロビリノーゲン  
 4 時間蓄尿；外観、尿比重、尿量、尿沈査

雄では投与 51 週に 500ppm 群で尿比重の低値（対照群を 100 として 99）が認められたが、1000ppm 群では変化がないことから投与の影響とは考えられなかった。また、投与 103 週に 500 および 1000ppm 群で尿 pH の高値が認められた。しかし、この変化は軽微であり、対照群の平均尿 pH (6.5) は本研究所の背景値 (7.0) よりも低く、500 および 1000ppm 群の値 (500 ppm: 6.0~8.0、1000ppm: 6.0~8.0) は背景値の範囲内 (5.5~8.0) であった。このことから尿 pH の変化は投与に関連したものではなく偶発的な変化と考えられた。雌では、異常は認められなかった。

**眼検査**；投与開始前および投与 53 週に主群の対照群および 1000ppm 群の全動物について、投与 104 週には雄は主群の対照群および 1000ppm 群、雌は主群の全例について両眼の以下の部位の検査を実施した。

眼瞼、結膜、角膜、光彩、水晶体および眼底  
 投与 52 および 104 週とも投与に関連する変化は認められなかった。

**血液学的検査**；衛星群の各群雌雄 10 匹について、投与 14 週および 27 週には眼窩静脈叢から、53 週および 79 週には腹大動脈から血液サンプルを採取した。また、主群の各群雌雄 12 匹について投与 105 週に腹大動脈採血を行った。以下の項目について測定を実施した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、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)、

白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、  
好塩基球数、血小板数、赤芽球数、網赤血球数

対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期 (週)	雄			雌		
		50ppm	500ppm	1000ppm	50ppm	500ppm	1000ppm
赤血球数	14						▲106
	27				▽ 94		△105
	53						▲107
血色素量	14		▽ 97	▽ 97		▼ 93	▼ 89
	27						▼ 92
	53						▼ 91
	79					▽ 91	▼ 88
ハトクリット値	14					▼ 95	▼ 93
	27						▼ 94
	79						▼ 91
MCV	14			▼ 95		▼ 93	▼ 88
	27					▼ 96	▼ 89
	53					▼ 93	▼ 88
	79						▽ 92
	105					▽ 93	▼ 89
MCH	14			▼ 94		▼ 90	▼ 85
	27			▼ 95	△103	▼ 95	▼ 87
	53			▼ 95		▼ 92	▼ 85
	79					▽ 95	▼ 89
	105					▽ 94	▼ 89
MCHC	14					▽ 98	▼ 96
	27						▼ 98
	53						▼ 97
	79			▼ 98		▼ 96	▽ 96
白血球数	105				△164		△168
好中球数	105				▲239		
リンパ球数	105						▲171
好塩基球数	53						▲a
好酸球数	105					△150	△133
赤芽球数	27						▲ 4b
	53						△19b
	79			▲ 2#			▲18b
	105						▲25b
網赤血球数	14					△161	▲164

有意差の検定はLSD法を用いて行った (△▽ : p<0.05、▲▼ : p<0.01)。

表中の数値は対照群(100)に対する比率(%)を示す。

a : 1000ppm群の好塩基球数は4/μL、対照群は0/μL。

b : 赤芽球数については投与105週屠殺以外の対照群の値が0のため白血球100個あたりの実数値を示す。

投与に関連した変化として、1000ppm 群の雌雄に血色素量、MCV、MCH、MCHC の低値および雌にヘマトクリット値の低値が認められ、500ppm 群では雌で程度は軽微ながら同様の変化が、雄においても血色素量の低値が認められた。本変化より小球性低色素性の貧血が示唆されたが、貧血は投与期間を通じて発現するものの増悪化はなく、進行性や不可逆性の貧血ではなかった。なお、貧血は雄よりも雌においてより顕著であった。

また、雌の 1000ppm 群では赤芽球数、網赤血球数および赤血球数の高値が認められ、貧血に起因した造血機能の促進を示唆するものと考えられた。赤芽球数の高値は雄の 1000ppm で、網赤血球の高値は雌の 500ppm でもみられた。

投与 105 週時の雌の白血球数、リンパ球数および好中球数の高値は、50ppm 群の 4 例および 1000ppm 群の 5 例における腫瘍性病変に起因するものであり、これらの動物を除いたデータでは投与群間に統計学的有意差は認められなかった。従って、これらの高値は検体投与の影響ではないと考えられた。

投与 27 週の雌の 50ppm 群の赤血球数の低値、MCH の高値、および投与 105 週の雌の 500 および 1000ppm 群の好酸球数の高値は、一貫性のあるものではなく、かつ明らかな用量相関性のない変化であることから投与による影響とは考えられなかった。投与 53 週の雌 1000ppm における好塩基球の出現数は少なく、かつ一貫性のあるものではないことより検体投与の影響ではないと考えられた。

骨髓検査；投与 53 週に衛星群の各群雌雄 10 匹について、投与 105 週に主群の各群雌雄 12 匹について大腿骨骨髓塗抹標本作製し、顆粒球系細胞と赤芽球系細胞の比率 (M/E 比) を測定した。

結果を次表に示す。

検査時期 (週)	雄			雌		
	50ppm	500ppm	1000ppm	50ppm	500ppm	1000ppm
53	▼ 72	▼ 66	▼ 73			▽ 51

有意差の検定は LSD 法を用いて行った (▽ :  $P < 0.05$ 、▼ :  $P < 0.01$ )。

表中の数値は対照群 (100) に対する比率 (%) を示す。

投与 53 週に雄では全ての投与群で M/E 比の低値が認められたが、中間用量群での変動が最も低く用量相関性がないこと、投与 53 週の雄には網赤血球数および赤芽球数に変化がなく、病理組織学的検査でも骨髓および脾臓に変化が認められないこと、さらに投与 105 週においては変化がみられないことより、検体投与による影響とは考えられなかった。

一方、雌の投与 53 週の 1000ppm 群の M/E 比の低値は、同群で同時期に明らかな貧血と赤芽球数、網赤血球数、赤血球数の高値および脾臓の髓外造血亢進等の造血機能の促進を示唆する所見がみられており、投与 105 週時に有意な変化はなかったが、検体投与の影響は否定出来なかった。

血液生化学的検査；投与 27、53、79 および 105 週に血液学的検査を行った動物および切迫屠殺を行った動物から血漿を分取し、以下の項目について測定を実施した。

総蛋白、血糖、総コレステロール、尿素窒素、アルカリ性ホスファターゼ、  
 グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ、  
 グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ、  
 トリグリセライド、カルシウム、ナトリウム、カリウム、  
 総ビリルビン、直接ビリルビン、クレアチニン、  
 γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (γ-GTP)、

乳酸脱水素酵素、クレアチンホスホキナーゼ、無機リン、クロール、  
コリンエステラーゼ、リン脂質、ロイシンアミノペプチダーゼ、  
アルブミン、 $\alpha 1$ -グロブリン、 $\alpha 2$ -グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、  
 $\gamma$ -グロブリン、アルブミン/グロブリン比

対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期 (週)	雄			雌		
		50ppm	500ppm	1000ppm	50ppm	500ppm	1000ppm
無機リン	27	▽ 93		▽ 96			
$\gamma$ -GTP	79			△300			
クレアチニン	79				▽ 80		
総蛋白	105					▲110	△108
ナトリウム	105				△101		
カリウム	105				▽ 86	▼ 80	
$\beta$ -グロブリン	105				▲122		

有意差の検定はLSD法を用いて行った (△▽:  $P < 0.05$ 、▲▼:  $P < 0.01$ )。  
表中の数値は対照群(100)に対する比率(%)を示す。

雄における投与 27 週時の無機リンの低値は、程度も軽微で、低用量群の変動が高用量群より大きいことから投与による影響とは考えられなかった。投与 79 週に 1000ppm 群において認められた $\gamma$ -GTPの高値は、他の検査時期にはどの投与群においても認められなかったことから、投与による影響とは考えられなかった。

雌における投与 79 週時のクレアチニンの低値、および投与 105 週時のカリウムの低値、総蛋白の高値、 $\beta$ -グロブリンおよびナトリウムの高値は、低および中間用量群のみの変化、または高用量群での変化が中間用量群の変動より小さい変化であることから投与による影響とは考えられなかった。

剖 検；衛星群の動物について投与 53 週に各群雌雄 10 匹の、投与 79 週に残りの剖検を行った。主群の動物については切迫屠殺時、死亡発見時もしくは投与 105 週に剖検を行った。

対照群に比べ統計学的に有意差の認められた所見の発現頻度を次表に示す。

性別	屠殺時期	所 見	発 生 頻 度			
			0ppm	50ppm	500ppm	1000ppm
雄	途中死亡(主群)	腎臓 大型化	0/19	2/21	0/17	4/17*
雌	79 週(衛星群)	卵巣 周囲液貯留	0/12	2/13	2/14	5/12*
	途中死亡(主群)	副腎 灰白色点	0/25	5/29*	3/22	4/23*
		肝臓 暗赤色斑	0/25	0/29	1/22	4/23*

Fisher の直接確率法で検定を行った (\*:  $p < 0.05$ )。

病理組織検査結果より、全ての剖検における変化は自然発生もしくは全身状態の悪化に伴う二次的変化と考えられた。

臓器重量；投与 53 週に衛星群の各群 10 匹について、投与 105 週に主群の各群 12 匹について以下の臓器の重量を測定した。

肝臓、腎臓、脾臓、心臓、脳、精巣、副腎、卵巣

対照群に比べ統計学的に有意差の認められた項目を次表に示す。

検査項目	検査時期 (週)	雄			雌		
		50ppm	500ppm	1000ppm	50ppm	500ppm	1000ppm
肝臓 体重比	53	▲108		▲110			△108
腎臓 体重比	105				△120		

有意差の検定は LSD 法を用いて行った ( $\Delta$ :  $P < 0.05$ ,  $\blacktriangle$ :  $P < 0.01$ )。

表中の数値は対照群 (100) に対する比率 (%) を示す。

(申請者注) なお、腎臓の変化に関しては最低用量のみであり、明らかに用量相関性のない変化であったことから、検体投与による影響とは考えられなかった。

投与 53 週の肝臓の体重比臓器重量の高値は、用量相関に欠ける変化であり、また、投与 105 週に変化が認められなかったことから投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；衛星群の投与 53 週時計画屠殺動物および主群の投与 105 週最終屠殺動物の対照群および 1000ppm 群、主群の切迫屠殺および死亡発見動物全例については以下の全臓器について病理組織学的検査を行った。また、50、500ppm 群の肝臓、脾臓、腎臓、肺および肉眼的病変部位についても病理組織学的検査を実施した。

皮膚、副腎、大動脈 (胸部)、脳 (延髄/脳橋、小脳および大脳)、  
精巣上体、食道、眼球、大腿骨 (骨髄)、ハーダー腺、心臓、  
腎臓、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、肝臓、肺、乳腺 (雌のみ)、  
腸間膜リンパ節、卵巣、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、  
唾液腺 (顎下腺)、坐骨神経、精囊、筋肉、  
小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、脊髄 (頸、胸、腰部)、脾臓、  
胸骨 (骨髄)、胃、顎下リンパ節、精巣、胸腺、甲状腺、舌、  
気管、膀胱、子宮、膈および肉眼的病変部位

[非腫瘍性病変]

主な非腫瘍性病変を表 1-1、1-2 に示す。

衛星群 (投与 53 週計画屠殺) では検体投与に関連した変化として、雌 1000ppm 群の脾臓の髓外造血亢進に有意な増加が認められ、雌の 500ppm 群においても増加傾向がみられた。雌の肝臓では 1000ppm 群において胆管増生および硬化症に有意な増加が認められた。肝臓の同様の所見は投与 105 週の雌ならびに投与 53 および 105 週の雄では明らかな増加はみられず、かつ同系統のラットで自然発生的に認められるものであり毒性的意義は低いと考えられた。

主群では検体投与に関連した変化として、雄の 500 および 1000ppm 群における脾臓の髓外造血亢進は有意な増加、および雄の 500 および 1000ppm 群における慢性腎症の有意な増加が認められた。腎臓の変化は雄の対照群においても認められることから、同系統のラットにおける自然発生的な加齢性変化が、検体投与により影響を受けたものと考えられた。

他の組織の所見には対照群と統計学的な有意差がみられなかった。

[腫瘍性病変]

観察された腫瘍性病変を表 2-1、2-2 に示す。投与群における各腫瘍の発現頻度は対照群のものと同じで、統計学的な有意差は認められなかった。

本試験において発生頻度の高かった腫瘍性病変は、雌雄の下垂体の腫瘍および雌の乳腺腫瘍であったが、投与量との関係は見られなかった。500ppm 群の雄 1 例に認められた膀胱、精囊、肺に浸潤する前立腺の低分化癌は通常みられない腫瘍であるが、偶発的なものと考えられた。

また、腫瘍数および担腫瘍動物数を以下の表に示す。雌雄ともに群間に差はみられず、腫瘍の発現頻度に検体投与の影響は認められなかった。

性別	雄				雌			
	0	50	500	1000	0	50	500	1000
投与量 (ppm)								
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
良性腫瘍数	57	21	33	41	96	98	95	102
悪性腫瘍数	17	11	16	15	23	26	19	16
総腫瘍数	74	32	49	56	119	124	114	118
単数腫瘍発現動物数	18	22	23	25	15	13	17	13
複数腫瘍発現動物数	21	5	11	13	33	37	28	32
担腫瘍動物数	39	27	34	38	49	50	45	45

有意差の検定は Fisher の直接確率検定を用いて行った。

以上の結果より、SDラットに対する 24 ヶ月間の混餌投与による慢性毒性・発癌性試験において、500ppm 以上の群で雌雄に血色素量の低値および脾臓の髄外造血の増加がみられ、雌ではヘマトクリット値、MCV、MCH および MCHC の低値と網赤血球数の高値が認められた。また雄では慢性腎症の増加がみられた。1000ppm 群ではさらに雌雄で赤芽球数の高値と MCV、MCH および MCHC の低値が、雌で赤血球数の高値が認められた。

従って、本試験における無毒性量は雌雄ともに 50ppm (雄: 1.8 mg/kg/day、雌: 2.2 mg/kg/day) と結論した。また、本試験条件下では腫瘍の発生頻度に投与の影響は認められず、発癌性はないものと考えられた。

表1-1 非腫瘍性病変<sup>a)</sup>

(雄)

臓器・所見(程度)	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
腎臓 (検査動物数)	10	10	10	10	19	21	17	17	31	29	33	33	50	50	50	50
慢性腎症 軽微	1	0	0	0	3	1	1	3	5	6	11 **	14 **	8	7	12	17
慢性腎症 軽度	1	0	1	0	6	3	7	1	7	5	8	10	13	8	15	11
慢性腎症 中等度	0	0	0	0	0	5	4	2	1	3	7	3	1	8	11	5
慢性腎症 重度	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	2	0	1	0
肝臓 (検査動物数)	10	10	10	10	19	21	17	17	31	29	33	33	50	50	50	50
肝細胞小増殖巣 軽微	1	2	3	4	3	1	1	2	6	3	3	6	9	4	4	8
肝細胞小増殖巣 軽度	1	1	0	1	0	1	0	3	7	11	17	9	7	12	17	12
限局性肝細胞空胞化 軽微	0	0	0	1	2	1	2	2	0	2	7	5	2	3	9	7
限局性肝細胞空胞化 軽度	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	2	1	1	3	2	1
限局性肝細胞空胞化 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
水腫様変性 軽微	0	0	0	0	1	4	0	2	2	5	2	6	3	9	2	8
水腫様変性 軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
水腫様変性 中等度	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
水腫様変性 重度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
髓外造血 軽微	0	0	0	0	1	2	1	0	1	1	1	3	2	3	2	3
髓外造血 軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
髓外造血 中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0

有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行った (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01)。

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量、ppm

(つづく)

表1-1 非腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雄)

臓器・所見(程度)	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
肺 (検査動物数)	10	10	10	10	19	21	17	17	31	29	33	33	50	50	50	50
泡沫細胞集簇 軽微	2	3	6	4	7	4	3	6	4	5	8	8	11	9	11	14
軽度	1	0	0	2	0	2	2	0	0	2	1	2	0	4	3	2
中等度	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
出血 軽微	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	1	0	0	3
軽度	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
脾臓 (検査動物数)	10	10	10	10	19	19	16	16	31	29	33	33	50	48	49	49
髓外造血亢進 軽微	2	4	5	1	3	3	2	2	1	2	9 <sup>**</sup>	10 <sup>**</sup>	4	5	11 <sup>*</sup>	12 <sup>*</sup>
軽度	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0

有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行った (\* : p<0.05, \*\* : p<0.01)。

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量, ppm

表1-2 非腫瘍性病変<sup>a)</sup>

(雌)

臓器・所見(程度)	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
腎臓 (検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	23	25	21	28	27	50	50	50	50
慢性腎症 軽微	0	0	0	0	1	3	2	3	2	0	4	3	3	3	6	6
慢性腎症 軽度	0	0	0	0	2	2	2	0	1	2	4	2	3	4	6	2
慢性腎症 中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0
肝臓 (検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	23	25	21	28	27	50	50	50	50
肝細胞小増殖巣 軽微	2	1	1	1	1	4	3	4	5	4	1	7	6	8	4	11
肝細胞小増殖巣 軽度	0	1	0	0	4	4	2	3	11	8	11	13	15	12	13	16
胆管増生 軽微	1	4	1	2 <sup>*</sup>	5	5	1	1	7	4	7	4	12	9	8	5
胆管増生 軽度	0	1	0	2	1	1	0	3	2	4	2	3	3	5	2	6
胆管増生 中等度	0	0	0	1	0	0	0	1	2	0	1	2	2	0	1	3
慢性炎症 軽微	4	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
慢性炎症 軽度	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
硬化症 軽微	0	4	1	1 <sup>*</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
硬化症 軽度	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
限局性 肝細胞空胞化 軽微	0	0	0	0	2	2	1	1	2	4	2	3	4	6	3	4
限局性 肝細胞空胞化 軽度	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	2	2	0	1	2	4

有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行った (\*: p<0.05, \*\*: p<0.01)。

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量、ppm

(つづく)

表1-2 非腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雌)

臓器・所見 (程度)	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
肝臓 (検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	23	25	21	28	27	50	50	50	50
巣状壊死 軽微	0	0	0	0	0	0	1	3	1	1	1	2	1	1	2	5
軽度	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	1	2	0	2	3	2
中等度	0	0	0	0	3	3	2	1	0	0	1	0	3	3	3	1
類洞拡張 軽微	0	0	0	0	1	0	0	1	1	4	5	5	2	4	5	6
髓外造血 軽微	0	0	0	1	1	6	4	1	3	4	7	6	4	10	11	7
軽度	1	0	0	0	2	0	0	3	0	0	0	2	2	0	0	5
脾臓 (検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	22	25	21	28	27	50	50	50	49
髓外造血亢進 軽微	5	6	3	0*	2	5	8	2	7	9	8	12	9	14	16	14
軽度	0	0	4	5	2	1	3	1	6	1	5	3	8	2	8	4
中等度	1	0	0	3	0	3	0	4	0	0	2	1	0	3	2	5
重度	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0

有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行った (\* : P<0.05, \*\* : P<0.01)。

a) : 表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

b) : 投与量、ppm

表2-1 腫瘍性病変<sup>a)</sup>

(雄)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
腹腔 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1
脂肪腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
副腎 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	2	6	33	50	23	23	50
褐色細胞腫	0	0	0	0	1	1	2	0	6	1	2	5	7	2	4	5
皮質腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	2	0	0	3
悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	1	3	2	1	1	3
耳介 (検査動物数)	0	1	1	0	2	1	1	1	2	1	2	2	4	2	3	3
血管平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
線維性組織球腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
骨髓 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	0	0	33	50	21	17	50
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	3	0	1	0	0	0	1	1	3	0
悪性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
脳 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	1	5	33	50	22	22	50
星細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
悪性星細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0
悪性混合型神経膠腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雄)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
盲腸 (検査動物数)	10	0	0	10	15	18	13	11	31	0	1	33	46	18	14	44
血管腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
心臓 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	0	0	33	50	21	17	50
悪性心内膜性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
空腸 (検査動物数)	10	0	0	10	13	15	13	10	31	0	0	33	44	15	13	43
平滑筋腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腎臓 (検査動物数)	10	10	10	10	19	21	17	17	31	29	33	33	50	50	50	50
嚢胞状腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脂肪肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0
肝臓 (検査動物数)	10	10	10	10	19	21	17	17	31	29	33	33	50	50	50	50
胆管細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
過形成結節	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	3	2	4	3	3	2
肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	3	2	1	3	1	0	0	4	4	2	1
乳腺 (検査動物数)	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	3	2	1	0	3
腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
線維腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雄)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
顎下リンパ節 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	16	17	31	0	0	33	50	21	16	50
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
腸間膜リンパ節 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	0	0	33	50	21	17	50
血管腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
膵臓 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	16	17	31	0	0	33	50	21	16	50
島細胞腺腫	0	0	0	0	2	0	0	3	2	0	0	0	4	0	0	3
島細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
血管内皮腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
上皮小体 (検査動物数)	10	0	0	9	19	21	17	17	31	0	0	33	50	21	17	50
腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	0	1	0
下垂体 (検査動物数)	10	1	0	10	19	20	16	17	31	12	12	33	50	32	28	50
腺腫	1	1	0	0	9	7	3	6	11	5	10	12	20	12	13	18
腺癌 (M)	0	0	0	0	3	0	1	1	1	0	0	1	4	0	1	2
前立腺 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	0	1	33	50	21	18	50
低分化癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雄)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
皮膚 (検査動物数)	10	0	1	10	19	21	17	17	31	4	11	33	50	25	28	50
毛嚢上皮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
脂肪腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	2	2
皮脂腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	2	1
扁平上皮細胞乳頭腫	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	2
線維腫	0	0	0	0	0	0	2	0	4	1	3	1	4	1	5	1
基底細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	2	0	1	0
悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
扁平細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓 (検査動物数)	10	10	10	10	19	19	16	16	31	29	33	33	50	48	49	49
線維腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	3	0	1	0	0	0	1	1	3	0
悪性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
脊髄(頸、胸、腰) (検査動物数)	10	0	0	10 <sup>#</sup>	19	21	17	17	31	0	0	33	50	21	17	50
悪性混合型神経膠腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

# : 腰部脊髄については9例

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雄)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
胃 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	16	31	0	2	33	50	21	19	49
線維腫	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
尾 (検査動物数)	0	1	1	0	2	2	4	0	0	1	2	4	2	3	6	4
線維腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
精巣 (検査動物数)	10	1	0	10	19	21	17	17	31	1	6	33	50	22	23	50
間細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	2
胸腺 (検査動物数)	9	0	0	9	14	21	17	16	29	0	0	27	43	21	17	43
悪性リンパ腫/白血病	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
甲状腺 (検査動物数)	10	0	0	10	19	21	17	17	31	0	0	33	50	21	17	50
C細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
C細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
濾胞細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-1 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雄)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
膀胱 (検査動物数)	10	1	1	10	19	21	16	17	31	4	4	33	50	25	20	50
悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
移行上皮癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
四肢 (検査動物数)	0	0	0	0	0	0	4	0	1	1	1	2	1	1	5	2
線維腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
その他のリンパ節 (検査動物数)	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0	0	3	1	0
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0
悪性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表 2-2 腫瘍性病変<sup>a)</sup>

(雌)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
腹腔 (検査動物数)	0	0	0	0	2	3	1	2	0	1	0	0	2	4	1	2
脂肪腫	0	0	0	0	2	1	1	0	0	1	0	0	2	2	1	0
線維腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
副腎 (検査動物数)	10	2	0	10	25	29	22	23	25	11	16	27	50	40	38	50
褐色細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1	2	0	3	2	2	0
皮質腺腫	0	0	0	0	1	2	0	1	8	0	0	4	9	2	0	5
悪性褐色細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
耳介 (検査動物数)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
線維性組織球腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
骨髄 (検査動物数)	10	0	0	10	25	29	22	23	25	0	0	27	50	29	22	50
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
脳 (検査動物数)	10	0	0	10	25	29	22	23	25	7	16	27	50	36	38	50
星細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
悪性星細胞腫 (M)	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	2	2	0	1

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雌)

臓器・所見	衛星群				主群												
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計				
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	
心臓	(検査動物数)	10	0	0	10	25	29	22	23	25	0	0	27	50	29	22	50
線維肉腫	(M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
空腸	(検査動物数)	10	0	0	10	23	27	20	18	25	0	1	27	48	27	21	45
平滑筋腫		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
腎臓	(検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	23	25	21	28	27	50	50	50	50
腎芽腫	(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓	(検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	23	25	21	28	27	50	50	50	50
過形成結節		0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	3	1	0	2	3	2
肝細胞癌	(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
肺	(検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	23	25	21	28	27	50	50	50	50
腺腫		0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
腺癌	(M)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雌)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
乳腺 (検査動物数)	10	2	4	10	25	29	22	23	25	18	20	27	50	47	42	50
腺腫	0	0	0	1	9	7	4	5	6	6	10	8	15	13	14	13
囊腺腫	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2	1	1	0	2	2	1
線維腺腫	0	0	1	0	4	4	5	5	9	7	12	9	13	11	17	14
腺線維腫	0	0	0	0	7	10	2	7	10	14	15	15	17	24	17	22
腺癌 (M)	1	0	0	0	5	5	5	2	6	4	9	3	11	9	14	5
顎下リンパ節 (検査動物数)	10	0	0	10	24	29	22	23	25	0	0	27	49	29	22	50
悪性リンパ腫/白血病	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腸間膜リンパ節 (検査動物数)	10	0	0	10	25	29	22	23	25	0	0	27	50	29	22	50
悪性リンパ腫/白血病	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
卵巣 (検査動物数)	10	2	3	10	25	28	22	23	25	8	4	27	50	36	26	50
セルトリ細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
膵臓 (検査動物数)	10	0	0	10	25	28	22	23	25	0	0	27	50	28	22	50
膵管腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
上皮小体 (検査動物数)	9	0	0	9	24	28	22	23	25	1	0	27	49	29	22	50
腺腫	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雌)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
下垂体 (検査動物数)	10	0	1	10	25	29	21	22	25	17	22	27	50	46	43	49
頭蓋咽頭腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腺腫	1	0	0	1	15	15	17	15	14	15	16	14	29	30	33	29
腺癌 (M)	0	0	0	0	5	4	1	3	0	1	1	2	5	5	2	5
皮膚 (検査動物数)	10	2	0	10	25	29	22	23	25	6	5	27	50	35	27	50
毛嚢上皮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
脂肪腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
線維腫	0	0	0	0	1	2	0	2	2	1	2	2	3	3	2	4
平滑筋腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
線維性組織球腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
扁平細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
悪性組織球腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
脾臓 (検査動物数)	10	10	10	10	25	29	22	22	25	21	28	27	50	50	50	49
悪性リンパ腫/白血病	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

表2-2 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雌)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
脊髄 (検査動物数)	10	0	0	10	25	29	22	23	25	0	0	27	50	29	22	50
悪性星細胞腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1
尾 (検査動物数)	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	2
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
甲状腺 (検査動物数)	10	0	0	10	24	29	22	23	25	1	1	27	49	30	23	50
C細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0	2
濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
C細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
濾胞細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
膀胱 (検査動物数)	10	0	0	10	25	29	22	22	25	0	0	27	50	29	22	49
移行上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
子宮 (検査動物数)	10	2	0	10	25	29	22	23	25	7	2	27	50	36	24	50
線維腫	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	2	0	0	1
平滑筋腫	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	1	2	0	0
血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(つづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

表2-2 腫瘍性病変<sup>a)</sup> (つづき)

(雌)

臓器・所見	衛星群				主群											
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	<sup>b)</sup> 0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000	0	50	500	1000
四肢 (検査動物数)	0	0	0	0	3	2	2	1	1	1	0	2	4	3	2	3
脂肪腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
骨肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
その他のリンパ節 (検査動物数)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
悪性リンパ腫/白血病 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

有意差の検定はFisherの直接確率検定を用いて行った。

a) : 表中の数字は腫瘍の数を示す。

b) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(2) フルミオキサジン原体のマウスにおける発癌性試験

(資料7-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [GLP 対応]

検体：フルミオキサジン原体

純度：

試験動物：Crj:CD-1 (ICR) マウス (開始時5週齢、体重：雄 23.3~30.3、雌 17.5~23.9g)

1群主群雌雄各 51 匹、衛星群雌雄各 15 匹

試験期間：78 週間 (投与開始；1989 年 8 月 30 日、最終屠殺；1991 年 3 月 6 日)

但し、衛星群の投与期間は 52 週間とした

投与方法：検体を雌雄に 0、300、3000 および 7000ppm の濃度で基礎飼料に混入し、78 週間にわたって自由に摂取させた。

[投与量設定根拠]

試験項目および試験結果：

一般症状および死亡率；1日1回以上各動物の生死、瀕死状態および一般症状について観察した。1週に1回全動物について触診による詳細な観察を行った。

投与期間中に主群の2例に事故による死亡があった。これらの事故死を除いた主群の死亡率を以下に示す。

投与量 (ppm)	雄				雌			
	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
死亡率 (%)	27.5	28.0	29.4	25.5	35.3	31.4	29.4	30.0
	14/51	14/50a	15/51	13/51	18/51	16/51	15/51	15/50a

a：雄 300ppm 群の 1 例、雌 7000ppm 群の 1 例は事故死のため、死亡率の算出には含めなかった。

主群の死亡率において、対照群と投与群の間に有意な差はなく、検体投与による影響はないと考えられた。衛星群の死亡率も検体投与による影響は認められなかった。一般症状においても検体投与によると思われる影響は認められなかった。

体重変化；主群の全動物について投与 13 週まで 1 週に 1 回の頻度で、以降は 4 週に 1 回の頻度で体重測定した。衛星群の全動物に関しては試験期間を通じて 4 週に 1 回の頻度で測定を行った。

投与期間を通じて、平均体重には統計学的有意差は認められなかったが、7000ppm 群の平均累積体重増加量が数例高値を示した（投与 1 週；主群の雌雄、投与 4 週；主群の雄、投与 16 週；衛星群の雄）。しかしながら、これらの変化は、散発的であるため、検体投与による影響とは考えられなかった。

摂餌量；主群においては投与 13 週まで 1 週に 1 回の頻度で、それ以降は 4 週に 1 回の頻度でケージ毎に摂餌量の測定を行った。衛星群では投与期間を通じて 4 週に 1 回の頻度で測定を行った。

主群において、摂餌量及び体重比摂餌量の低値が数例観察された（摂餌量低値：投与 8 週/雌 3000ppm 群、投与 12 週/雌全投与群、投与 17 週/雌 3000ppm 群、体重比摂餌量低値：投与 1、8 週/雌 3000ppm 群、投与 12 週/雌 300、3000ppm 群、投与 17 週/雌全投与群、投与 65 週/雄 300ppm 群）。

衛星群においては、投与 49 週の雄 300ppm 群にのみ高値が認められたが、体重比摂餌量では対照群と差は認められなかった。

これらの変化は散発的であり、用量相関性も認められないことから検体投与による影響とは考えられなかった。

検体摂取量；主群の投与期間中の一日当たりの平均検体摂取量は次の通りであった。

投 与 量 (ppm)	雄			雌		
	300	3000	7000	300	3000	7000
検体摂取量 (mg/kg/日)	31.1	314.9	754.1	36.6	346.4	859.1

血液学的検査；屠殺時に全ての生存動物をエーテル麻酔し、腹大静脈より血液サンプルを採取した。血液サンプルは主群において切迫屠殺した動物からも同様に採取した。衛星群については雌雄各群動物番号の小さいものから 10 匹の生存動物について血液サンプルを採取し検査を行った。主群において切迫屠殺を行った動物についても検査を行った。休日に屠殺した動物については検査を行わなかった。

検査項目を以下に示した。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、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)、  
網赤血球数および比率、白血球数、血小板数、  
白血球分類 [好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数]

対照群と比べて統計学的に有意差を認めた項目を以下の表にまとめた。

検査項目	検査時期 (週)	雄			雌		
		300 ppm	3000 ppm	7000 ppm	300 ppm	3000 ppm	7000 ppm
赤血球数	53			▼89			
好塩基球数	79			▼a			

表中の数値は対照群 (100%) に対する比率 (%) を表す。

△、▽; P<0.05、▼; P<0.01

有意差の検定はLSD法を用いて行なった。

a: 測定値は雄 7000ppm 群  $0.00 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 、雄対照群  $0.01 \times 10^3 / \mu\text{L}$  であった。

投与 53 週の雄の 7000ppm 群で赤血球数の低値が認められたが、投与 79 週における変化の程度は小さく、統計学的にも有意差は認められなかった。したがって投与 53 週の雄の 7000ppm 群における赤血球数の低値は生物学的に意義のない変化と考えられた。(申請者注: 好塩基球の低値が投与 79 週の雄の 7000ppm 群で認められたが変化の程度は小さく生物学的に意義のない変化と考えられた。)

投与 53 週および 79 週でその他の血液学的検査項目において雌雄とも対照群と検体投与群の間に統計学的有意な差は認められなかった。

臓器重量; 剖検時に摘出した、衛星群と主群の雌雄各群 10 例について、以下の臓器、組織について重量測定した。なお、解剖日の体重に基づいて体重比臓器重量 (相対重量) を算出した。

肝臓、腎臓、副腎\*、精巣、脳

\*固定後測定

投与 53 週で雄の 300ppm および 7000ppm 群の肝臓の絶対重量および相対重量の有意な高値が認められた。しかしながら、投与 79 週では絶対重量および相対重量において統計学的に有意な変化は認められなかった。さらに、次表に示すとおり、本研究所で実施した他の発癌性試験での同齡対照群の肝臓重量量とほぼ同様の値であった。従って、投与 53 週に認められた肝臓重量の高値は生物学的に意義のないものと考えられた。

投与 53 週の雄の肝臓重量

群および用量		絶対重量	相対重量
本試験の対照群	(10)	1.97±0.280	4.65±0.334
300 ppm	(10)	2.47±0.464**	5.45±0.692*
3000 ppm	(10)	2.16±0.219	4.96±0.506
7000 ppm	(10)	2.54±0.477**	5.61±1.035**
同齢の対照群 (試験 1)	(10)	2.49±0.507	5.33±0.877

平均±標準偏差、カッコ内は動物数

\*: 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 (p<0.05) があるが、試験 1 と比較すると有意差はない。

\*\* : 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 (p<0.01) があるが、試験 1 と比較すると有意差はない。

剖 検 ; 全ての計画屠殺動物および途中死亡動物について剖検を行なった。

有意差の認められた所見の発現率を以下の表に示す。

所 見	検査 時期 (週)	雄				雌			
		0ppm	300ppm	3000ppm	7000ppm	0ppm	300ppm	3000ppm	7000ppm
胸腺 大型化	—	0/14	3/14	3/15	4/13*	6/18	3/16	4/15	7/15
胃 粘膜肥厚	79	4/37	5/36	2/36	4/38	0/33	0/35	0/36	6/35*
肝臓 退色	—	1/14	4/14	1/15	2/13	6/18	5/16	1/15	0/15*
卵巣 周囲嚢胞	—	—	—	—	—	7/18	3/16	2/15	1/15*
皮膚 脱毛	79	3/37	2/36	5/36	3/38	5/33	2/35	1/36	0/35*
皮膚 脱毛	53	0/15	0/14	2/15	1/14	4/14	0/12	2/13	0/14*

\* ; p<0.05、有意差の検定は Fisher の直接確率法を用いて行なった。

— : 死亡もしくは切迫屠殺動物

雄の 7000ppm 群の途中死亡あるいは切迫屠殺動物において、胸腺の大型化の発生頻度が対照群と比較して有意に高かった。剖検における胸腺の大型化に対応する病理組織学的所見は悪性リンパ腫/白血病であり、後述するように、雄の 7000ppm 群の途中死亡あるいは切迫屠殺動物における悪性リンパ腫/白血病の発生頻度には対照群と比較して有意な差は認められなかった。さらに、計画屠殺あるいは全動物の合計値においても、検体投与による影響はみられなかった。従って、剖検における胸腺の大型化は検体投与の影響ではないと考えられた。

主群の雌の 7000ppm 群の計画屠殺動物において胃粘膜の肥厚の発生頻度が対照群と比較して有意に高かった。これらの動物では、剖検所見と対応する病理組織学的所見として、腺胃の腺腫様過形成を認めた (1 匹の雌は胃の石灰沈着であり、この個体を除く)。雌の 7000ppm 群における胃の腺腫様過形成の発生頻度は以下の本文表に示すように対照群と比較して統計学的に有意ではなかった。従って、本所見は検体投与に起因する変化と考えられなかった。

主群の胃における剖検および病理組織学的所見

所見 性および所見		対照	300ppm	3000ppm	7000ppm
<b>剖検</b>					
死亡または切迫屠殺					
胃粘膜の肥厚	雄	1/14	0/14	0/15	0/13
	雌	1/18	0/16	0/15	0/15
<b>計画屠殺</b>					
胃粘膜の肥厚	雄	4/37	5/36	2/36	4/38
	雌	0/33	0/35	0/36	6/35*
<b>病理組織学的検査</b>					
死亡または切迫屠殺					
腺腫様過形成	雄	0/14	0/14	0/15	0/13
	雌	0/15	0/15	0/14	0/14
<b>計画屠殺</b>					
腺腫様過形成	雄	4/37	4/14	2/11	6/38
	雌	4/33	0/21	0/19	8/35

分子は所見の認められた動物数を示す。

分母は検査を行った動物数を示す。

\* ; 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 (p<0.05) あり  
(Fisher の直接確率法)

雌の 7000ppm 群の途中死亡もしくは切迫屠殺群で肝臓の退色および卵巣周囲の嚢胞の発生頻度の低下が認められた。主群の雌の 7000ppm 群の計画屠殺動物で対照群と比較して脱毛の発生頻度の低下が認められた。しかし肝臓については病理組織学的変化を伴わないこと、卵巣については関連した病理組織学的所見に対照群との差を認めなかったこと、また脱毛については一般症状では差を認めないことから検体投与による影響とは考えられなかった。

その他、衛生群の雌の 7000ppm 群に脱毛の発生頻度の低下がみられたが主群と同様に一般症状では差が認められないことから検体投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査 ; 対照群および 7000ppm 群の全動物 (主群) および各群動物番号の小さ

いものから 10 匹の生存例 (衛星群) の以下に示した全ての臓器を病理組織学的に検索した。

副腎、大動脈 (胸部)、脳 (延髄/脳橋、小脳および大脳)、精巣上体、食道、眼球、大腿骨 (骨および骨髓)、胆嚢、ハーダー腺、心臓、腎臓、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、肝臓、肺、乳腺 (雌のみ)、リンパ節 (顎下および腸間膜)、卵巣、膵臓、上皮小体、下垂体、前立腺、唾液腺 (顎下腺)、坐骨神経、精囊、骨格筋 (大腿部)、皮膚 (腹部)、小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、脊髄 (頸、胸、腰部)、脾臓、胸骨 (骨および骨髓)、胃、精巣、胸腺、甲状腺、舌、気管、膀胱、子宮、膈および肉眼的病変部位

切迫屠殺および途中死亡動物についても同様に検査を行った。300 および 3000ppm 群については、主群の全動物の肝臓、胆嚢、腎臓、肺、脳および肉眼的病変部位を検索した。衛星群についても各群動物番号の小さいものから 10 匹の生存例の肝臓、胆嚢、腎臓、肺、脳、卵巣および肉眼的病変部位を検索した。事故により死亡した動物は病理組織学的評価から除いた。自己融解した臓器および組織も同様に病理組織学的評価から除いた。病理組織学的所見における統計学的解析は主な非腫瘍性病変は Mann-Whitney の U 検定、全ての腫瘍性病変は Fisher の直接確率法で行った。悪性リンパ腫、白血病ならびに肺腫瘍の発生頻度に関する用量相関性は Cochran-Armitage の傾向検定を行った。

[非腫瘍性病変] 非腫瘍性病変を表 1 に示す。

(主群) 主群の計画屠殺動物の雄の 3000ppm 群で小葉中心性肝細胞肥大および雌の 3000ppm 群でびまん性肝細胞肥大の増加が認められた。雌雄とも 7000ppm 群で小葉中心性肝細胞肥大およびびまん性肝細胞肥大の増加が認められたが統計学的に有意ではなかった。これらの病変では核の大きさの変化(核肥大)および細胞質の変化(細胞質肥大)が認められた。雌の 3000ppm 群で肝細胞の単細胞壊死の増加が認められた。雌雄の 7000ppm 群で肝細胞の単細胞壊死の増加が認められたが、本変化は統計学的に有意ではなかった。関連した本試験における結果を以下に示した。

主群の計画屠殺動物における肝臓の病理組織学的所見

所見性および程度		対照	300ppm	3000ppm	7000ppm	
検索した臓器の数	雄	37	36	36	38	
	雌	33	35	36	35	
小葉中心性肝細胞肥大	雄	軽微	2	4	7	3
		軽度	4	4	7	9
	雌	軽微	0	2	0	3
		軽度	1	2	0	1
びまん性肝細胞肥大	雄	軽微	4	0	0	2
		軽度	3	6	1	4
	雌	軽微	0	0	1	2
		軽度	1	2	6	4
肝細胞単細胞壊死	雄	軽微	10	5	5	9
		軽度	5	5	0	3
	雌	軽微	0	0	7	3
		軽度	0	0	0	0

\* : 対照群と比較して統計学的有意差あり (p<0. 05) (Mann-Whitney の U 検定)

\*\* : 対照群と比較して統計学的有意差あり (p<0. 01) (Mann-Whitney の U 検定)

核および細胞質の肥大を伴う肝細胞肥大は老齢マウスにおいてしばしば認められるものである。本試験における肝臓の形態学的特徴は、上述の加齢に関連した変化と類似したものであるが、酵素誘導もしくはペルオキシゾームの増加により誘導される好酸性の細胞質を伴った典型的な肝細胞肥大とは異なるものであった。本変化の原因は明らかではないがフルミオキサジン原体の投与は自然発生の肝臓病変の発生頻度や程度を増強する可能性が考えられた。これらの変化は検体投与に起因する変化と考えられた。

その他、全ての投与群において脳の石灰沈着の増加が認められた。しかしこれらの群の脳の石灰沈着の頻度は本研究所の過去に行った試験の対照群とほぼ同等であった。また理由は明らかではないが本試験の対照群の脳の石灰沈着の頻度は以下に示されるように過去に行った試験の対照群よりも低かった。したがって脳の石灰沈着の頻度の差は検体投与に関連したものではないと考えられた。以下に前述した脳の石灰沈着の頻度を示す。

主群の雄における脳の非腫瘍性病変の発生頻度

所見	対照	300ppm	3000ppm	7000ppm	同齢の対照 (試験 2)
途中死亡もしくは切迫屠殺					
石灰沈着 軽微	3/14 (21.4)	3/14 (21.4)	2/15 (13.3)	2/13 (15.4)	8/37 (21.6)
計画屠殺動物					
石灰沈着 軽微	3/37 (8.1)	8/36 (22.2)	11/36* (30.6)	13/38** (34.2)	35/109 (32.1)
全動物					
石灰沈着 軽微	6/51 (11.8)	11/50 (22.0)	13/51 (25.5)	15/51* (29.4)	43/146 (29.5)

分子は所見の認められた動物数を示す。

分母は検査を行った臓器数を示す。

カッコ内は頻度を示す (%)

\*: 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 ( $p < 0.05$ ) があるが、試験 2 とでは差はない (Mann-Whitney の U 検定)

\*\* : 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 ( $p < 0.01$ ) があるが、試験 2 とでは差はない (Mann-Whitney の U 検定)

(衛生群) 計画屠殺動物では雄の 300ppm 群において小葉中心性肝細胞肥大のわずかな増加が認められたが、高用量群における発生頻度の増加は認められなかった。

[腫瘍性病変] 観察された腫瘍性病変を表 2-1~6 に示す。

(主群) 途中死亡もしくは切迫屠殺動物において雄の 3000ppm 群で悪性リンパ腫/白血病の発生頻度の増加が認められた。しかし 7000ppm 群の造血器系組織における腫瘍は対照群と差が認められず、Cochran-Armitage の傾向検定でも検体投与による用量相関

性は認められなかった。また、本試験の対照群の腫瘍の発生頻度は本研究所の背景値と比較して低いものであり、本試験の 3000ppm 群の悪性リンパ腫/白血病の発生頻度は以下に示されるように背景値とほぼ同様であった。

主群の雄における造血器系組織腫瘍の発生頻度 (悪性リンパ腫/白血病)

	対照群	300ppm	3000ppm	7000ppm	背景値	
					試験 1	試験 2
途中死亡	1/14	4/14	6/15*	4/13	2/14	12/37
もしくは切迫屠殺	(7. 1)	(28. 6)	(40. 0)	(30. 8)	(14. 3)	(32. 4)
計画屠殺	0/37	2/36	0/36	1/38	0/37	1/109
	(0)	(5. 6)	(0)	(2. 6)	(0)	(0. 9)
全動物	1/51	6/50	6/51	5/51	2/51	13/146
	(2. 0)	(12. 0)	(11. 8)	(9. 8)	(3. 9)	(8. 9)

分子は所見の認められた動物数を示す。

分母は検査を行った臓器数を示す。

カッコ内は所見の頻度を表す (%)。

\*: 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 ( $p < 0.05$ ) があるが試験 1 および試験 2 とでは有意差はない (Fisher の直接確率法)。

したがって、3000ppm 群のこの腫瘍の発生頻度の増加は検体投与に起因する変化ではないと考えられた。

計画屠殺動物においては雌の 3000ppm 群で肺の腺腫の発生頻度の増加が認められた。しかし本腫瘍の 7000ppm 群における発生頻度は対照群のものと同様であり、Cochran-Armitage の傾向検定によって検体投与による用量相関性を認めなかった。また、本試験の対照群におけるこの腫瘍の発生頻度は、本研究所の背景値より低いものであった。尚、本試験の 3000ppm 群の肺腺腫の発生頻度は背景値と比較して有意な増加は認められなかった。したがって 3000ppm 群の肺腺腫は検体投与による影響とは考えられなかった。過去の対照群および本試験の肺腺腫の発生頻度を以下に示す。

主群における雄の肺腫瘍の発生頻度

所見	対照	300ppm	3000ppm	7000ppm	背景値	
					試験 1	試験 2
途中死亡および切迫屠殺						
腺腫	0/17 (0)	2/16 (12.5)	0/15 (0)	2/15 (13.3)	1/16 (6.3)	1/31 (3.2)
腺癌	1/17 (5.9)	0/16 (0)	0/15 (0)	1/15 (6.7)	1/16 (6.3)	3/31 (9.7)
計画屠殺動物						
腺腫	0/33 (0)	2/35 (5.7)	5/36* (13.9)	2/35 (5.7)	6/35 (17.1)	6/119 (5.0)
腺癌	0/33 (0)	3/35 (8.6)	3/36 (8.3)	1/35 (2.9)	1/35 (2.9)	5/119 (4.2)
全動物						
腺腫	0/50 (0)	4/51 (7.8)	5/51* (9.8)	4/50 (8.0)	7/51 (13.7)	7/150 (4.7)
腺癌	1/50 (2.0)	3/51 (5.9)	3/51 (5.9)	2/50 (4.0)	2/51 (3.9)	8/150 (5.3)

分子は所見の認められた動物数を示す。

分母は検査を行った総臓器数を示す。

カッコ内は頻度を示す (%)

\*: 本試験の対照群と比較して統計学的有意差 ( $p < 0.05$ ) があるが、試験 1 と比較すると有意差はない (Fisher の直接確率法)。

雄の 7000ppm 群の全動物で肝臓の過形成結節の発生頻度の低下が認められた。本病変は肝細胞腺腫と同義である。しかし以下に示すように本試験の雄の 7000ppm 群の本病変の発生頻度は本研究所の背景値と同等であると考えられた。したがって肝臓の過形成結節の発生頻度の低下は検体投与による影響とは考えられなかった。次に本病変の過去の対照群および本試験の発生頻度を示す。

主群の雄の肝臓腫瘍の発生頻度

所見	対照	300ppm	3000ppm	7000ppm	背景値	
					試験1	試験2
途中死亡もしくは切迫屠殺						
過形成結節	3/14 (21.4)	0/14 (0)	0/15 (0)	0/13 (0)	3/14 (21.4)	1/37 (2.7)
肝細胞癌	0/14 (0)	3/14 (21.4)	2/15 (13.3)	0/13 (0)	3/14 (21.4)	4/37 (10.8)
計画屠殺動物						
過形成結節	10/37 (27.0)	8/36 (22.2)	10/36 (27.8)	4/38 (10.5)	11/37 (29.7)	16/109 (14.7)
肝細胞癌	6/37 (16.2)	8/36 (22.2)	8/36 (22.2)	6/38 (15.8)	4/37 (10.8)	8/109 (7.3)
全動物						
過形成結節	13/51 (25.5)	8/50 (16.0)	10/51 (19.6)	4/51* (7.8)	14/51 (27.5)	17/146 (11.6)
肝細胞癌	6/51 (11.8)	11/50 (22.0)	10/51 (19.6)	6/51 (11.8)	7/51 (13.7)	12/146 (8.2)

分子は所見の認められた動物数を示す。

分母は検査を行った臓器数を示す。

カッコ内は頻度を示す (%)

\* : 本試験の対照群と比較して統計学的に有意差 ( $p < 0.05$ ) があるが試験2と比較すると有意差は認められない (Fisher の直接確率法)。

他の腫瘍の発生頻度は雌雄とも対照群と同様であった。

また、雌雄ともに、良性および悪性腫瘍数、総腫瘍数、担腫瘍動物数、単数および複数腫瘍発現動物数に関して、群間に差は認められなかった。

(衛星群) 52 週の投与期間では腫瘍性病変の発生頻度に対照群と差は認められなかった。

以上の結果より、マウスにおける 18 ヶ月間発癌性試験において、腫瘍の発生頻度に投与の影響は認められず、発癌性はな葉中心性肝細胞肥大の増加が、雌ではびまん性肝細胞肥大および肝細胞単細胞壊死の増加が認められた。従って、本剤の無毒性量は 300ppm (雄: 31.1mg/kg/day、雌: 36.6mg/kg/day) と結論された。

表1-1 非腫瘍性病変

臓器・所見(程度)		衛星群								主群							
		投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
		0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
雄	(検査動物数)	10	0	0	10	14	14	15	13	37	0	0	38	51	14	15	51
	心臓																
	心筋線維化 軽微	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	1	3	0	0	1
	(検査動物数)	9	0	0	10	14	13	14	12	37	1	0	36	51	14	14	48
	頸下リンパ節																
	形質細胞増生																
	軽微	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	2	1	2	0	2
	軽度	0	0	0	0	3	0	1	1	2	0	0	2	5	0	1	3
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	(検査動物数)	10	0	0	9	12	14	15	12	37	0	0	38	49	14	15	50
	腸間膜リンパ節																
	リンパ腺炎 軽微	1	0	0	0	1	0	0	1	2	0	0	2	3	0	0	3
	軽度	2	0	0	2	0	2	1	2	8	0	0	0	8	2	1	2
	組織球増生 軽微	1	0	0	0	1	0	1	0	6	0	0	5	7	0	1	5
	軽度	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
	(検査動物数)	10	2	0	10	14	14	15	12	37	3	6	38	51	17	21	50
	脾臓																
	髓外造血亢進																
軽微	5	2	0	4	5	2	1	3	7	0	4	10	12	2	5	13	
軽度	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	3	1	0	0	
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
(検査動物数)	10	0	0	10	14	14	15	13	37	0	0	38	51	14	15	51	
骨髄																	
顆粒球性過形成																	
軽微	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	
軽度	1	0	0	3	2	3	3	0	4	0	0	2	6	3	3	2	
中等度	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	1	3	0	0	2	

表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

a) : 投与量、ppm

\* : p<0.05 (有意差の検定は Mann-Whitney のU検定を用いて行なった)

(次頁に続く)

表1-2 非腫瘍性病変

臓器・所見(程度)		衛星群								主群							
		投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
		a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)		10	10	10	10	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
雄	肝臓																
	肝細胞萎縮																
	軽微	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	1	1	0	0	4
	軽度	1	0	0	0	2	3	0	3	0	2	0	0	2	5	0	3
	小葉中心性肝細胞空胞化																
	軽微	3	0	0	2	1	0	0	0	3	4	2	4	4	4	2	4
	軽度	1	2	2	1	1	1	0	0	3	1	6	5	4	2	6	5
	びまん性肝細胞肥大																
	軽微	0	1	0	1	0	0	0	0	4	0	0	2	4	0	0	2
	軽度	1	0	1	0	1	0	0	1	3	6	1	4	4	6	1	5
	小葉中心性肝細胞肥大																
	軽微	0	0	0	1	0	0	0	0	2	4	7	3	2	4	7	3
	軽度	0	4	1	1	0	1	0	0	4	4	7*	9	4	5	7	9
	限局性肝細胞壊死																
	軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0
	軽度	1	2	2	0	0	2	1	1	6	5	8	7	6	7	9	8
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	単細胞壊死																
	軽微	1	0	2	2	0	1	0	2	10	5	5	9	10	6	5	11
	軽度	1	0	0	2	0	0	0	0	5	5	0	3	5	5	0	3
慢性炎症																	
軽微	0	2	0	0	0	0	0	1	16	8	8	14	16	8	8	15	
好塩基性細胞巢	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2	2	4	3	2	2	4	
明細胞巢	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	
(検査動物数)		10	10	10	10	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
腎臓																	
腎症																	
軽微	1	0	0	1	0	1	1	1	3	2	1	2	3	3	2	3	
軽度	0	1	0	0	0	0	1	0	2	3	2	3	2	3	3	3	
中等度	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	1	2	2	2	1	2	

表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

(次頁に続く)

a) : 投与量、ppm

\* : P<0.05 (有意差の検定は Mann-Whitney のU検定を用いて行なった)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

表 1-3 非腫瘍性病変

臓器・所見(程度)	衛星群								主群								
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計				
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	
雄	腎臓																
	石灰沈着																
	軽微	1	2	0	0	2	0	1	1	4	0	3	5	6	0	4	6
	嚢胞皮質																
	軽微	2	3	6	4	2	1	2	0	8	7	8	7	10	8	10	7
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	(検査動物数)	10	0	0	10	14	14	15	13	37	2	1	38	51	16	16	51
	精巣																
	精細管変性																
	軽微	0	0	0	0	1	0	2	0	4	0	0	1	5	0	2	1
	軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	1	2	0	0
重度	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
(検査動物数)	10	10	10	10	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51	
脳																	
石灰沈着																	
軽微	1	2	2	1	3	3	2	2	3	8	11*	13**	6	11	13	15*	
(検査動物数)	10	0	0	10	14	14	15	13	37	0	0	38	51	14	15	51	
脊髄																	
椎間板ヘルニア形成																	
軽微	1	0	0	3	1	1	1	1	5	0	0	9	6	1	1	10	
(検査動物数)	10	0	1	10	14	14	15	13	37	14	11	38	51	28	26	51	
胃																	
腺腫様過形成																	
	2	0	0	2	0	0	0	0	4	4	2	6	4	4	2	6	
(検査動物数)	10	10	10	10	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51	
肺																	
肺胞上皮過形成																	
	0	0	0	0	0	1	0	0	4	2	0	1	4	3	0	1	

表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

a) : 投与量、ppm

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行なった)

(次頁に続く)

表1-4 非腫瘍性病変

臓器・所見(程度)		衛星群								主群							
		投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
		a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
雌	(検査動物数)	10	0	0	10	18	16	15	15	33	0	0	35	51	16	15	50
	心臓																
	心筋線維化 軽微	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
	(検査動物数)	10	0	0	10	18	16	14	15	33	0	1	35	51	16	15	50
	顎下リンパ節																
	形質細胞増生 軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	7	1	0	0	7
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	2	0	1	0
	(検査動物数)	10	0	0	10	16	13	12	15	33	0	2	34	49	13	14	49
	腸間膜リンパ節																
	リンパ腺炎 軽微	1	0	0	0	1	0	1	0	4	0	0	5	5	0	1	5
	軽度	1	0	0	1	0	0	0	1	8	0	0	2	8	0	0	3
	形質細胞増生 軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2
	軽度	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	4	1	0	2	4
	組織球増生軽微 軽度	1	0	0	0	0	1	0	2	5	0	0	4	5	1	0	6
	軽度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
	(検査動物数)	10	0	1	10	17	16	15	15	33	3	6	35	50	19	21	50
	脾臓																
	髓外造血亢進 軽微	1	0	0	2	3	5	5	3	7	2	2	8	10	7	7	11
	軽度	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	1	1	2	0	2	1
	(検査動物数)	10	10	10	10	18	16	14	15	33	35	36	35	51	51	50	50
肝臓																	
びまん性肝細胞肥大 軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	1	2	
軽度	0	1	0	0	0	0	1	0	1	2	6	4	1	2	7	4	
限局性肝細胞壊死 軽度	1	1	4	1	0	2	0	0	16	14	15	9	16	16	15	9	
中等度	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
単細胞壊死 軽微	2	0	0	1	2	1	0	0	0	0	7**	3	2	1	7	3	

表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

(次頁に続く)

a) : 投与量、ppm

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (有意差の検定は Mann-Whitney のU検定を用いて行なった)

表1-5 非腫瘍性病変

臓器・所見(程度)	衛星群								主群								
	投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計				
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	
雌	肝臓																
	慢性炎症																
	軽微	3	0	3	0	0	0	1	0	22	12	13	13	22	12	14	13
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	明細胞巢	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	(検査動物数)	10	10	10	10	17	16	14	15	33	35	36	35	50	51	50	50
	腎臓																
	腎症																
	軽微	0	2	1	0	0	0	0	0	3	1	0	2	3	1	0	2
	軽度	0	0	0	0	0	1	0	0	4	2	2	3	4	3	2	3
	中等度	0	0	0	0	0	2	3	1	0	0	0	0	0	2	3	1
	嚢胞 皮質																
	軽微	1	2	4	1	2	2	0	0	6	3	8	12	8	5	8	12
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	3	2	3	1	3	3
	(検査動物数)	10	10	10	10	18	16	14	15	33	17	17	35	51	33	31	50
卵巣																	
嚢胞																	
軽微	4	5	4	2	2	5	1	1	12	8	10	13	14	13	11	14	
軽度	2	2	2	6	5	5	6	5	9	9	7	11	14	14	13	16	
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	
(検査動物数)	10	10	10	10	18	16	15	15	33	35	36	35	51	51	51	50	
脳																	
石灰沈着																	
軽微	0	0	0	1	1	2	1	2	6	4	9	11	7	6	10	13	
(検査動物数)	10	0	0	10	18	16	15	15	33	0	0	35	51	16	15	50	
脊髄																	
神経線維変性																	
軽微	0	0	0	0	1	0	0	0	4	0	0	7	5	0	0	7	

表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

a) : 投与量, ppm

\* : p<0.05 (有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いて行なった)

(次頁に続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

表1-6 非腫瘍性病変

臓器・所見(程度)		衛星群								主群							
		投与52週終了時屠殺				途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
		a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
雌	脊椎 椎間板ヘルニア形成 軽微	0	0	0	1	0	1	0	2	3	0	0	6	3	1	0	8
	(検査動物数)	10	0	0	10	14	14	11	14	32	3	4	35	46	17	15	49
	胸腺 リンパ過形成	6	0	0	4	0	2	1	2	14	3	4	16	14	5	5	18
	(検査動物数)	10	6	4	10	15	15	14	14	33	21	19	35	48	36	33	49
	胃 腺腫様過形成	1	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	8	4	0	0	8
	(検査動物数)	10	10	10	10	17	16	15	15	33	35	36	35	50	51	51	50
肺 肺胞上皮過形成	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	

表中の数字は病変をもつ動物数を示す。

a) : 投与量、ppm

\* : p<0.05 (有意差の検定はMann-WhitneyのU検定を用いた)

表 2-1 腫瘍性病変 (衛星群) (雄)

臓器・所見	途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)	0	1	0	1	10	10	10	10	10	11	10	11
造血器系組織 悪性リンパ腫または 白血病 (M)	0	1	0	1	1	0	0	2	1	1	0	3
(検査動物数)	0	1	0	1	10	10	10	10	10	11	10	11
肝臓 過形成結節	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2
肝細胞癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
(検査動物数)	0	1	0	1	10	10	10	10	10	11	10	11
肺 腺腫	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
(検査動物数)	0	1	0	1	10	0	0	10	10	1	0	11
ハーダー腺 腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1

表中の数字は腫瘍の数を示す。統計処理は、Fisher の直接確率検定を行った。

a) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

表 2-2 腫瘍性病変 (衛星群) (雌)

臓器・所見	途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)	1	3	2	1	10	10	10	10	11	13	12	11
造血器系組織 悪性リンパ腫または 白血病 (M)	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	2	1
(検査動物数)	1	3	2	1	10	10	10	10	11	13	12	11
肺 腺腫	0	0	0	0	2	0	0	1	2	0	0	1
(検査動物数)	1	3	1	1	10	0	0	10	11	3	1	11
子宮 ポリープ	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	1	0	0	0	5	6	5	1	6	6	5	1
皮膚 扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
(検査動物数)	1	2	2	1	10	0	0	10	11	2	2	11
ハーダー腺 腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1

表中の数字は腫瘍の数を示す。統計処理は、Fisher の直接確率検定を行った。

a) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

表 2-3 腫瘍性病変 (主群) (雄)

臓器・所見	途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)	14	14	15	12	37	3	6	38	51	17	21	50
脾臓 血管腫	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0
(検査動物数)	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
肝臓 過形成結節	3	0	0	0	10	8	10	4	13	8	10	4*
肝細胞癌 (M)	0	3	2	0	6	8	8	6	6	11	10	6
血管肉腫 (M)	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
(検査動物数)	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
肺 腺腫	2	0	1	1	9	10	8	6	11	10	9	7
腺癌 (M)	2	0	0	0	1	1	0	2	3	1	0	2
(検査動物数)	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
腎臓 腺癌 (M)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
(検査動物数)	14	14	15	13	37	0	0	38	51	14	15	51
精巣上体 悪性線維性組織球腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	14	14	15	12	37	0	0	38	51	14	15	50
前立腺 腺癌 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	13	13	13	12	37	0	0	38	50	13	13	50
下垂体 腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
(検査動物数)	14	13	15	13	37	0	0	38	51	13	15	51
甲状腺 濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
(検査動物数)	10	8	8	4	7	11	15	15	17	19	23	19
皮膚 悪性線維性組織球腫 (M)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
骨肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
線維腫	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
線維肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
(検査動物数)	14	14	15	13	37	0	0	38	51	14	15	51
皮膚 (腹部) 線維肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1

表中の数字は腫瘍の数を示す。

a) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

\* :  $p < 0.05$  (統計処理は、Fisher の直接確率検定を行った。)

(つづく)

表 2-4 腫瘍性病変 (主群) (雄)

臓器・所見	途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)	14	14	15	12	37	1	1	38	51	15	16	50
ハーター腺 腺腫	0	0	0	0	3	1	1	4	3	1	1	4
(検査動物数)	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
造血器系組織 悪性リンパ腫または 白血病 (M)	1	4	6*	4	0	2	0	1	1	6	6	5
検査動物数	14	14	15	13	37	36	36	38	51	50	51	51
良性腫瘍数	5	2	2	1	23	19	20	16	28	21	22	17
悪性腫瘍数	5	8	8	6	9	11	8	11	14	19	16	17
総腫瘍数	10	10	10	7	32	30	28	27	42	40	38	34
担腫瘍動物数	8	9	9	7	25	24	24	21	33	33	33	28
単数腫瘍発現動物数	6	8	8	7	19	18	20	15	25	26	28	22
複数腫瘍発現動物数	2	1	1	0	6	6	4	6	8	7	5	6

表中の数字は腫瘍の数を示す。

a) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

\* ; p<0.05 (統計処理は、Fisher の直接確率検定を行った。)

表 2-5 腫瘍性病変 (主群)

(雌)

臓器・所見	途中死亡・切迫屠殺				最終屠殺				合計			
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)	17	16	15	15	33	3	6	35	50	19	21	50
脾臓 血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
(検査動物数)	14	14	11	14	32	3	4	35	46	17	15	49
胸腺 胸腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	18	16	14	15	33	35	36	35	51	51	50	50
肝臓 過形成結節	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0
血管腫	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
(検査動物数)	17	16	15	15	33	35	36	35	50	51	51	50
肺 腺腫	0	2	0	2	0	2	5*	2	0	4	5*	4
腺癌 (M)	1	0	0	1	0	3	3	1	1	3	3	2
(検査動物数)	18	16	14	15	33	17	17	35	51	33	31	50
卵巣 血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
嚢胞状腺腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
(検査動物数)	16	16	14	14	33	2	7	35	49	18	21	49
子宮 ポリープ	2	0	0	1	3	0	0	4	5	0	0	5
平滑筋腫	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
悪性線維性 組織球腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
内膜肉腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	16	16	14	15	33	0	0	35	49	16	14	50
乳腺 腺癌 *	0	1	2	0	2	0	0	1	2	1	2	1
(検査動物数)	16	16	15	15	33	0	0	35	49	16	15	50
膈 乳頭腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	17	16	14	14	33	0	0	35	50	16	14	49
下垂体 腺腫	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1
(検査動物数)	17	16	15	15	33	0	1	35	50	16	16	50
副腎 腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
(検査動物数)	11	10	4	7	7	3	2	4	18	13	6	11
皮膚 悪性線維性 組織球腫 (M)	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
線維肉腫 (M)	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
悪性神経鞘腫 (M)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0

表中の数字は腫瘍の数を示す。

a) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

\* :  $p < 0.05$  (統計処理は、Fisher の直接確率検定を行った。)

(つづく)

表 2-6 腫瘍性病変 (主群) (雌)

臓器・所見	途中死亡・切迫殺				最終屠殺				合計			
	a) 0	300	3000	7000	0	300	3000	7000	0	300	3000	7000
(検査動物数)	18	16	15	15	33	1	0	35	51	17	15	50
ハーダー腺												
腺腫	0	1	0	2	3	1	0	0	3	2	0	2
(検査動物数)	0	2	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0
腹腔 血管腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
(検査動物数)	18	16	15	15	33	0	0	35	51	16	15	50
造血組織												
悪性リンパ腫 または白血病 (M)	11	6	6	11	2	0	2	0	13	6	8	11
(検査動物数)	18	16	15	15	33	35	36	35	51	51	51	50
良性腫瘍数	3	6	0	8	10	3	8	9	13	9	8	17
悪性腫瘍数	14	7	8	13	6	4	7	5	20	11	15	18
総腫瘍数	17	13	8	21	16	7	15	14	33	20	23	35
担腫瘍動物数	15	11	8	15	13	6	14	11	28	17	22	26
単数腫瘍発現動物数	13	9	8	10	10	5	13	8	23	14	21	18
複数腫瘍発現動物数	2	2	0	5	3	1	1	3	5	3	1	8

表中の数字は腫瘍の数を示す。統計処理は、Fisher の直接確率検定を行った。

a) : 投与量、ppm

(M) : 悪性腫瘍

(3) フルミオキサジン原体のイヌにおける1年間慢性毒性試験

(資料7-3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

被験物資：フルミオキサジン原体

純度：

使用動物：ビーグル犬(投与開始時6~7ヵ月齢、体重：雄6.5-10.7kg、雌5.9-10.1kg)、  
1群雌雄各4頭

投与期間：1年間(投与開始：1990年3月20日)

投与方法：被験物質を10、100、1000 mg/kgの割合でゼラチンカプセルに充填し、1年間毎日経口投与した。対照群にはゼラチンカプセルのみを同様に投与した。

[投与量設定の根拠]

試験項目および試験結果

1. 一般症状および死亡：投与期間を通じ毎日一定時間おきに症状を観察した。

試験期間中に動物の死亡は認められなかった。1000 mg/kg 群の雌雄各1例において軟便がやや高頻度に認められ、この変化は投与に関連したものと考えられたが、少量かつ一過性であったため、この影響は非常に軽微なものと考えられた。嘔吐は全群において散見されたが、その頻度は投与群と対照群で差が認められなかった。1000 mg/kg 群の雄1例において投与38週以降に右眼球結膜の充血および腫脹、右角膜の混濁が見られたが、左眼は正常であった。脱毛あるいは粗毛が各群において認められたが、投与期間中に回復した。したがって、嘔吐、眼および脱毛における変化は投与に関連したものとは考えられなかった。その他、指間あるいは指の腫脹、片側の瞬膜腺の露出、前肢の跛行、腹部潮紅、包皮潮紅、耳介の腫脹などが数例に観察されたが、用量との相関は認められなかった。

2. 摂餌量および食餌効率：投与 2 週間前から投与期間終了まで毎日摂餌量を算定した。  
食餌効率は 1 週間毎に算出した。摂餌量、食餌効率ともに投与に関連した変化は認められなかった。
3. 体重：投与 2 週間前から投与期間終了まで週 1 回測定した。投与期間を通じて全ての動物において特に変化は認められなかった。
4. 眼科学的検査：投与 0、25 および 51 週に全動物に眼瞼、角膜、結膜、強膜、虹彩および眼底の観察を実施した。1000 mg/kg 群の雄 1 例において右結膜の充血および腫脹と右角膜の混濁が投与 51 週で認められ、10 mg/kg 群の雄 1 例において左瞬膜腺の露出が投与 25 および 51 週で見られたが、片側性の変化であり、後述の病理組織学的検査でも異常がないことから、被検物質に関連した変化はないと考えられた。この 2 例を除き、前眼部の検査に異常は観察されず、上記 2 例を含む全ての動物で眼底の異常は観察されなかった。
5. 血液学的検査：投与 0、13、26、39 および 52 週に橈側皮静脈より採血し、検査を行った。  
EDTA-3K 処理の血液を用いて、以下の項目を測定した。  
赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、網赤血球数、白血球数、白血球分類 (好中球、好塩基球、好酸球、リンパ球、単球)、血小板数  
3. 8%クエン酸ナトリウム処理による血漿を用いて、以下の項目を測定した。  
プロトロンビン時間 (PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)  
血液学的検査の各項目において投与に関連した有意な変化は認められなかった。
6. 血液生化学的検査：採血時期、採血方法とも血液学的検査と同様に行い、室温放置後氷冷し、遠心により血清を分取して以下の項目を測定した。

総蛋白、蛋白分画 (アルブミン、 $\alpha$ 1-グロブリン、 $\alpha$ 2-グロブリン、 $\beta$ -グロブリン、 $\gamma$ -グロブリン、A/G 比)、血糖、総コレステロール、トリグリセライド、リン脂質、尿素窒素、尿酸、クレアチニン、総ビリルビン、直接ビリルビン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、クレアチンホスホキナーゼ (CPK)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、 $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ ( $\gamma$ -GTP)、ナトリウム、カリウム、クロライド、カルシウム、無機リン

対照群と比較して統計学的有意差の認められた項目を次の表にまとめた。

項目	検査 時期 週	雄			雌		
		投与量 (mg/kg/day)					
		10	100	1000	10	100	1000
ALP	13			▲349		△136	△332
	26			▲474			▲404
	39			▲401		▲171	△416
	52			▲470			△360
総コレステロール	13			▲178			△151
	26			▲177			
	39			▲178			
	52			▲189			
リン脂質	13			▲146			△135
	26			▲145			
	39			▲147			
	52			▲155			
α2グロブリン	26			▲125			
	39			△117			
	52			▲127			
カルシウム	26			△106			
無機リン	13						▲120
GOT	26		△127				
尿酸	39			▽75			

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

△、▽; P<0.05、▲、▼; P<0.01

有意差検定は Dunnett の多重比較検定などによって行った。

1000 mg/kg 群では雌雄ともに投与 13 週以降に総コレステロールおよびリン脂質が増加し、表の示すように、雄の群平均値は全ての検査時期において、雌の群平均値は投与 13 週において対照群より有意な高値を示した。さらに同群では雌雄ともに投与 13 週以降の全検査時期において、アルカリホスファターゼが対照群より有意な高値を示した。100 mg/kg 群の雌雄においても、アルカリホスファターゼは全検査時に高値を示し、雌の群平均値は投与 13 週および 39 週におい

て対照群より有意な高値を示した。これらは、後述の臓器重量および病理組織学的検査において示唆された検体の肝臓・胆道系に対する影響に関連するものと考えられた。

また、雌雄 1000 mg/kg 群の  $\alpha 2$ -グロブリン比率も全検査時期において軽度の上昇を示し、雄では、投与 26 週以降に対照群に対して有意な高値を示し、検体投与の影響と考えられたが、この変化の毒性学的意義は不明であった。

その他、尿酸、GOT、カルシウム、無機リンなどにおいて対照群に対して有意差が散見されたが、いずれも軽度の変動あるいは各々の投与開始前値と大差のないことから、これらの変化は検体投与に関連したものとは考えられなかった。

7. 尿検査：投与 0、13、26、39 および 52 週に採尿し、以下の項目の測定を行った。

新鮮尿による検査

pH、グルコース、蛋白、潜血、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、尿沈渣(赤血球、白血球、上皮、小円形細胞、円柱)

蓄尿による検査

尿量、比重

この結果、検体投与に関連した影響は認められなかった。

8. 糞便検査：投与 0、13、26、39 および 52 週に糞便を採取し、潜血の検査を行った。

この結果、検体投与に関連した影響は認められなかった。

9. 肝機能検査(BSP 停滯率試験)：投与 0、12、25、38 および 51 週に BSP 停滯率試験を実施したが、検体投与に関連した影響は認められなかった。(BSP 濃度、停滯率に異常は認められなかった)

10. 骨髄検査：剖検直前の胸骨骨髄穿刺により得た骨髄サンプルを用い、ミエロクリットの測定およびミエログラム検査を行った。塗抹標本はメイ・ギムザ液で染色した。

特記すべき変化は認められなかった。

13. 病理学的検査：1年間の投与後、全ての動物を麻酔下で放血し、剖検を行った。

(1) 臓器重量および体重に対する相対臓器重量

以下の臓器について重量の測定を行い、最終体重に対する相対重量を算出した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺、心臓、肝臓(胆嚢を含む)、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮

対照群と比べて統計学的に有意差の認められた項目は次のとおりである。

項目	雄			雌		
	投与量 (mg/kg/day)					
	10	100	1000	10	100	1000
前立腺	絶対		▽51			
	相対					
下垂体	絶対					▽79
	相対					
肝臓	絶対					
	相対			▲142		

表中の数字は対照群に対する割合 (%) を示す。

(△、▽ ; p<0.05、▲、▼ ; p<0.01)

有意差検定は Dunnett の多重比較検定などによって行った。

1000 mg/kg 群において雌雄の肝臓の絶対重量あるいは相対重量に高値がみられ、雄では相対重量の平均値が対照群と比較して有意な高値を示した。また、100 mg/kg 群の雌 1 例でも肝臓の相対重量の高値が認められ、以上の変化は検体投与による影響と考えられた。

1000mg/kg 群の雄において前立腺の絶対重量の平均値 (5.2g) が対照群の平均値 (10.2g) と比較して有意に低値を示したが、同月齢の無処置動物において通常にみられる範囲内 (3.6~14.5g ; 平均値±2SD) のため、毒性学的な意義は疑わしいものであった。100 および 1000 mg/kg 群の雌において、下垂体の絶対重量が対照群と比較して統計的に有意な低値を示したが、相対重量では対照群と差を認めず、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。その他の臓器について異常は認められなかった。

## (2) 肉眼的所見

以下の臓器について in situ および摘出後の両面から肉眼的に観察した。

脳、下垂体、顎下腺、甲状腺 (上皮小体を含む)、胸腺、肺、心臓、肝臓 (胆嚢を含む)、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺、卵巣、子宮、眼球 (視神経を含む)、耳下腺、舌、顎下リンパ節、喉頭、気管、大動脈、膀胱 (尿管を含む)、食道、胃、小腸 (十二指腸、空腸、回腸)、大腸 (盲腸、結腸、直腸)、腸間膜リンパ節、脊髄 (頸髄、胸髄、腰髄)、坐骨神経、大腿部骨格筋、腹部皮膚、乳腺、胸骨骨髓、大腿骨骨髓、精巣上体、膈、異常部位

1000 mg/kg 群の雌 1 例において肝臓の辺縁鈍あるいは大型化が認められた。この個体では胆嚢および胆汁に黒色沈渣が確認された。その他の、肺、甲状腺、副腎、下垂体、心臓、脾臓、精巣、前立腺、膀胱、胃、大脳、眼球および外形における病変は、対照群においても認められ、検体投与に関連したものではないと考えられた。

### (3) 光学顕微鏡所見

上記の臓器は 10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、ヘマトキシリン・エオジン染色の組織標本を作製し、光学顕微鏡検査を実施した。光学顕微鏡検査における病変の程度は、軽微、軽度、中等度および重度の 4 段階に分類した。主要臓器に認められた所見は表 1 のとおりである。

肝臓：1000 mg/kg 群の雌雄各 1 例においてグリソン鞘(胆嚢に隣接)の結合組織の軽微な増加が認められた。これらの病変は褐色色素(ヘモジデリンあるいは非鉄色素)の沈着および胆管の増生を伴っていた。同群における肝臓の相対重量の高値、さらに血液生化学的検査での総コレステロールおよびリン脂質の増加と考えあわせ、フルミオキサジン原体が肝臓・胆道系に一時的な傷害を惹起する可能性を示唆するものと考えられた。しかし、これらの変化は 3 ヶ月間投与試験の変化と比較して憎悪化することはなく、肝細胞傷害の重篤な変化も見られないことから、肝臓に対する影響は軽微なものであると考えられた。むしろ、これらの病理学的変化は被験物質による肝臓傷害に対する代償性変化であると考えられた。肉眼的に異常が観察された動物を含めて、うっ血、単核細胞浸潤および炎症性細胞浸潤が観察されたが、これらの所見の程度は軽微であり、かつ、その出現率に用量相関性が認められなかったことから、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。その他の病変は偶発的あるいは自然発生的所見であると考えられた。

脾臓：100 mg/kg 群の雄 2 例および 1000 mg/kg 群の雄 1 例において、髄外造血の亢進あるいはヘモジデリン色素量の増加が観察された。これらの変化はいずれも軽微から軽度の変化であり、血液学的パラメータに明らかな変化が認められないことから、毒性学的意義は疑わしいと考えられた。

その他の組織：病理組織学的検査において、前立腺の萎縮が観察されておりこの変化は検体投与に起因する可能性が示唆されたが、本変化は 1000mg/kg 群の 1/4 例のみに限局性の、しかも軽微な変化として認められたものであり、毒性学的意義は無い或いは毒性学的意義があるとしても非常に低いものと考えられた。1000mg/kg 群の雌雄

において肉眼的に認められたその他の所見に対応する病理組織学的変化は確認されなかった。その他の病変は、自然発生性的変化で検体投与に関連したものではないと考えられた。

#### (4) 電子顕微鏡所見

剖検時、全動物の肝臓および腎臓の一部組織を 2.5% グルタルアルデヒド液で前固定し、2% 四酸化オスミウムで後固定した後、電子顕微鏡標本を作製した。電子顕微鏡による検査は、対照群および 1000 mg/kg 群の肝臓においてのみ行った。

1000mg/kg 群の雄 2 例および雌 1 例において、肝細胞の滑面小胞体の増生および拡張が認められた。これらの形態学的変化は、検体投与に起因する代謝活性の増加に伴う細胞内の適応性変化を示すものと考えられた。肝細胞における滑面小胞体の量的増加は肉眼的検査で認められた肝臓の大型化の原因と考えられた。

以上、1000mg/kg の雌雄において、アルカリホスファターゼ、総コレステロール、リン脂質の増加、肝臓重量の増加、グリソン鞘結合組織の増生および肝細胞滑面小胞体の増生と拡張などがみられた。100mg/kg においては、雌雄にアルカリホスファターゼの上昇がみられ、雌では肝臓重量の増加が認められた。これらの結果より、フルミオキサジン原体の標的器官は肝臓と考えられたが、その影響は軽微なものであった。従って、本剤の無毒性量は雌雄ともに 10mg/kg/日であると結論された。

表1 病理組織学的所見<sup>a</sup> (所見が認められた臓器のみを記載)

項目	雄				雌			
	投与量 (mg/kg/日)							
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
肝臓	単核細胞浸潤	4	4	4	4	4	4	3
	炎症性細胞浸潤	1	1	1	1	2	1	0
	ヘモジデリン色素沈着	1	0	0	0	2	1	0
	グリソン鞘結合組織の増生	0	0	0	1b	0	0	0
	巣状線維症	0	0	0	0	1c	0	1c
	うっ血	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	1
腎臓	石灰化	4	3	3	3	3	4	3
	単核細胞浸潤	1	2	0	1	0	2	1
	再生尿細管	2	2	1	2	0	0	0
	尿細管褐色色素(非鉄)沈着	2	1	3	2	1	0	0
	尿細管空胞化	1	1	0	1	1	0	0
脾臓	ガムナーガンディ小結節	2	0	1	0	2	2	0
	うっ血	1	3	2	0	1	3	2
	髄外造血亢進	0	0	1	1	0	0	0
	ヘモジデリン色素増加	0	0	1	1	0	0	0
肺	単核細胞浸潤	2	1	1	1	1	0	0
	泡沫細胞浸潤	2	1	1	2	1	0	2
	リンパ管拡張	0	2	1	1	0	0	0
	肺炎	3	3	2	1	2	1	1
	肺胞内好酸性物質	0	1	2	0	1	0	0
	巣状肉芽腫	2	0	2	0	1	0	0
	扁平上皮腺腫	0	0	1	0	0	0	0
	間質性肺炎	0	0	0	0	1	1	0
	間質性線維化	0	0	0	0	1	0	0
	死戦期出血	0	0	0	0	0	1	0
精巣	巨細胞形成	0	0	1	0			
	精子低形成	1	1	1	2			
	限局性精細管萎縮	1	0	0	0			
前立腺	単核細胞浸潤	1	0	0	1			
	炎症性細胞浸潤	0	0	1	1			
	限局性萎縮	0	0	0	1			
甲状腺	単核細胞浸潤	2	0	1	2	0	1	0
	傍濾胞細胞増生	0	1	2	1	2	3	1
	嚢後体遺残	0	0	0	1	0	0	0
上皮小体	嚢胞形成	1	0	2	1	0	0	1
	死戦期出血	0	0	0	0	0	0	1
	切片内組織不在	0	0	0	0	0	2	0
顎下	リンパ節	1	2	1	3	2	1	3
	ヘモジデリン色素沈着							
	褐色色素沈着(非鉄)	3	3	4	2	4	2	3
腸間膜	リンパ節	0	0	1	0	0	0	0
	食赤血球作用	0	0	0	0	0	0	1
	血液吸収	0	0	0	0	0	0	0
胸腺	腸間膜	3	2	4	3	2	2	2
	リンパ節	0	0	0	1	0	0	0
	血液吸収	0	0	0	0	0	0	0
胸腺	巨細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0
	萎縮	2	1	0	0	0	0	0
	嚢胞性変性	1	2	2	1	2	2	1
死戦期出血	1	0	0	0	0	0	0	

a: 表中の数字は所見を有する動物数を示す。

b: 胆管増生および褐色色素(ヘモジデリンおよび非鉄)を伴う

c: 胆管増生を伴う

(表1 続き)

項目	雄				雌				
	投与量 (mg/kg/day)								
	0	10	100	1000	0	10	100	1000	
心臓	心筋線維変性	0	1	0	0	1	0	0	0
	三尖弁毛細血管拡張	0	1	0	0	0	0	1	0
	単核細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	1	2
	水腫	0	0	0	0	0	0	1	1
副腎	球状帯細胞空胞化	0	0	1	0	0	0	0	0
下垂体	嚢胞形成	0	4	2	0	3	2	1	1
舌	単核細胞浸潤	0	0	0	1	1	1	1	1
	限局性肉芽腫	0	0	0	0	1	0	0	0
食道	単核細胞浸潤	1	0	1	3	0	1	1	0
	炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
胃	充血	1	0	0	0	0	0	0	0
膵臓	単核細胞浸潤	0	0	0	1	0	1	0	0
精巣上体	限局性萎縮	0	1	0	0				
	単核細胞浸潤	0	1	0	0				
喉頭	単核細胞浸潤	1	0	0	0	0	0	0	0
気管	単核細胞浸潤	0	0	1	0	0	0	0	0
顎下腺	単核細胞浸潤	1	0	1	3	1	1	0	2
	導管増生	1	1	2	0	0	0	0	0
耳下腺	単核細胞浸潤	2	0	2	0	3	1	1	1
	導管増生	0	1	0	1	0	1	1	0
	腺房細胞萎縮、限局性	0	0	0	1	0	0	0	0
盲腸	石灰化	0	0	0	0	0	0	0	1
卵巣	嚢胞形成					1	0	0	1
	黄体嚢胞					0	0	2	0
	死戦期出血					0	0	0	1
子宮	単核細胞浸潤					0	0	1	0
膣	単核細胞浸潤					0	0	1	0
皮膚	単核細胞浸潤	0	0	0	0	1	0	0	0
	炎症性細胞浸潤	1	0	0	0	0	0	0	1
	潰瘍	0	0	0	1	0	0	0	0
	肉芽腫、毛包周囲	0	0	0	0	0	0	0	1
	出血、限局性	0	0	0	0	0	0	0	2
	死戦期出血	0	0	0	0	0	1	0	0
	肉芽組織増生	0	0	0	1	0	0	0	0
乳腺	単核細胞浸潤					1	1	0	0
	黄褐色色素含有肉芽腫					0	0	1	0
	出血、限局性					1	0	0	0
	死戦期出血					0	1	0	0
涙腺	単核細胞浸潤	0	-	-	1	2	-	-	0
瞬膜	単核細胞浸潤	4	1	0	4	2	-	-	2
	炎症性細胞浸潤	1	0	0	1	0	0	0	0
	限局性肉芽腫	0	1	0	0	0	0	0	0
耳介	痂皮	-	1	-	-				
	肉芽組織増生	-	1	-	-				
脳	死戦期出血	2	3	4	3	3	2	4	3
	血管周囲細胞浸潤	0	0	0	1	0	0	0	1

(表1 続き)

項目	雄				雌			
	投与量 (mg/kg/day)							
	0	10	100	1000	0	10	100	1000
脊髄 (頸部) 死戦期出血	0	0	1	2	2	3	3	1
脊髄 (胸部) 死戦期出血	0	0	0	1	0	0	0	0
脊髄 (腰部) 死戦期出血	1	0	1	2	4	1	1	1

(4) フルミオキサジン原体のラットにおける混餌投与による貧血発現検討試験

(資料7-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1995年

検 体：フルミオキサジン原体

純 度：

試験動物：Crj:CD(SD)雌ラット(投与開始時5週令)、1群6匹

体重；試験1/104-127g、試験2/100-119g

試験期間：試験1/37日間(投与開始1989年12月7日、解剖終了時1990年1月12日)

試験2/15日間(投与開始1990年7月26日、解剖終了時1990年8月9日)

試験目的：フルミオキサジン原体を3000ppmおよび10000ppmの用量で飼料に混入し、最高5週間ラットに摂食投与して、フルミオキサジン原体の貧血を誘発するメカニズムを明らかにするために血液系への影響について検討した。

投与方法：試験1；検体を3000および10000ppmの濃度で飼料中に混入して、3000ppm群は37日間、10000ppm群は15日間自由に摂取させた。

試験2；検体を3000ppmの濃度で飼料中に混入して、15日間自由に摂取させた。

尚、両試験とも飼料は投与開始前に1回調製した。

(投与量設定根拠)

試 験 1：

検査項目および結果；

(生存・死亡確認)

全ての動物について、1日1回、生死のチェックを行った。

全ての試験期間を通じて死亡は認められなかった。

(体重)

体重は投与開始日、1日目および解剖日に測定した。

いずれの群でも対照群と差は認められなかった。

(摂餌量)

投与2、5、8日目あるいは最初の2週間は修1階測定した。

投与に関連して、3000ppm以上の用量群で2日目と15日目に、また、10000ppmでは8日目に減少が見られた。

(血液学的検査)

計画屠殺例について、エーテル麻酔下で腹大動脈から採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、白血球数、血色素量、ヘマトクリット値、血小板数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球分類、赤芽球数、網赤血球数および出現率

対照群と比べて統計学的に有意差が認められた項目を以下の表に示す。

項 目	投 与 量									
	雌					雄				
	3000ppm					10000ppm				
	投 与 日 数									
	2	5	8	15	37	2	5	8	15	
赤血球数		▼ 88	▼ 85	▼ 85			▼ 88	▼ 87	▼ 82	
血色素量		▼ 85	▼ 79	▼ 73	▼ 73		▼ 83	▼ 80	▼ 70	
ヘマトクリット値		▼ 85	▼ 80	▼ 78	▼ 78		▼ 83	▼ 81	▼ 74	
MCV		▼ 96	▽ 95	▼ 92	▼ 84		▼ 94	▼ 94	▼ 91	
MCH		▼ 96	▼ 93	▼ 86	▼ 78		▼ 94	▼ 92	▼ 86	
MCHC			▼ 98	▼ 93	▼ 93			▼ 98	▼ 94	
好中球数	▽70		△165			▼ 37	▲201	▲189		
網赤血球数	▼81	▼ 37		▲256	▲275	▼ 80	▼ 36		▲220	
赤芽球数		▲8500	▲91*	▲15500	△65*	▲4400	△4900	▲148*	▲18300	

表中の数字は対照群を100をした時の比率(%)を示す。(△▽、 $p < 0.05$ ; ▲▼、 $p < 0.01$ )。

\* 対照群の赤芽球数がゼロであったため、測定値(単位:100個の白血球あたりの赤芽球数)を示した。なお、末梢血中に赤芽球は通常ほとんど見られなかった。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値はいずれの投与群も2日目では正常であった

が、5、8、15、37日目では明らかに減少した。37日目では、赤血球数は回復傾向にあり、対照群と同様の値であったが、37日目の血色素量とヘマトクリット値は15日目と同程度に減少した。また、5日目からMCVとMCHが、8日目からMCHCがそれぞれ37日目まで減少を示した。これらの変化は投与に伴い37日目まで進行した。網赤血球数葉2、5日目に減少したが、8日目では対照群の値と同様となり、その後、15、37日目では逆に増加した。末梢血の赤芽球数は2日目から15日目まで経時的に増加したが、37日目における増加の程度は15日目よりも少なかった。この変化に3000ppmと10000ppm群で明らかな差はなかった。

(骨髓検査)

骨髓塗抹標本を作製し、骨髓球系細胞と赤芽球系細胞の比率(M/E比)を算出した。M/E比は5日目に明らかな減少を始め、両投与群ともに37日目まで継続したが、用量相関性は明らかではなかった。

対照群と比べて統計学的に有意差が認められた項目を以下の表に示す。

項目	投 与 量								
	雌				雌				
	3000ppm				10000ppm				
	投 与 日 数								
	2	5	8	15	37	2	5	8	15
M/E比		▼ 36	▼ 35	▼ 24	▼ 27		▼ 57	▼ 32	▼ 28

表中の数字は対照群を100をした時の比率(%)を示す(△▽、p<0.05; ▲▼、p<0.01)。

(担鉄赤血球検査)

血液塗抹標本を作製し、100個の赤血球当たりの担鉄赤血球の出現率を算出した。担鉄赤血球の出現率は2日目から投与量に相関して増加し、この変化の程度は経時的に増大した。この出現率の増加は3000ppmよりも10000ppm群で明瞭であった。以下に結果を示す。

項目	投 与 量								
	雌				雌				
	3000ppm				10000ppm				
	投 与 日 数								
	2	5	8	15	37	2	5	8	15
担鉄赤血球	▲223	▲257	▲417	▲504	▲1023	△191	▲335	▲522	▲608

表中の数字は対照群を100をした時の比率(%)を示す(△▽、p<0.05; ▲▼、p<0.01)。

(血液生化学的検査)

血液学的検査の項で得られた血液から血清を分取し、以下の項目の検査を行った。

総ビリルビン、血糖、総蛋白、トリグリセライド、総コレステロール、GOT、GPT、ALP、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ、クレアチニン、血液尿素窒素、尿酸、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、鉄

対照群と比べて統計学的に有意差が認められた項目を以下の表に示す。

項 目	投 与 量								
	雌				雄				
	3000ppm				10000ppm				
	投 与 日 数								
	2	5	8	15	37	2	5	8	15
鉄							$\Delta$ 129		
総コレステロール								$\Delta$ 122	
トリグリセライド									$\nabla$ 63
GOT			$\nabla$ 84					$\blacktriangledown$ 78	
GPT					$\nabla$ 83				
尿素窒素		$\nabla$ 88						$\Delta$ 131	
尿酸			$\blacktriangledown$ 84					$\blacktriangledown$ 84	
ナトリウム								$\blacktriangle$ 101	$\blacktriangle$ 101
カルシウム			$\nabla$ 97					$\nabla$ 98	
カリウム					$\blacktriangle$ 111				

表中の数字は対照群を 100 をした時の比率 (%) を示す ( $\Delta$  $\nabla$ ,  $P < 0.05$ ;  $\blacktriangle$  $\blacktriangledown$ ,  $P < 0.01$ )。

2 日目では、いずれの血液生化学的検査項目にも変化は見られなかった。しかし、5 日目では、血清鉄レベルは 10000ppm 群で増加した。8 日目では、総コレステロール、尿素窒素、ナトリウムの増加が 10000ppm 群で見られ、GOT、尿酸、カルシウムが 3000ppm 以上の用量群で減少した。15 日目では、トリグリセライドの減少、ナトリウムの増加が 10000ppm 群で見られた。37 日目では、GPT の減少、カリウムの増加が 3000ppm 群で見られた。

(剖検)

計画屠殺時に、全動物について外観、内臓を肉眼的に観察した。

異常所見は、いずれの計画屠殺動物にも見られなかった。

(臓器重量)

剖検時に肝臓、腎臓、脾臓の重量を測定した。

対照群と比べて統計学的に有意差が認められた項目を以下の表に示す。

項 目	投 与 量									
	雌					雄				
	3 0 0 0 p p m					1 0 0 0 0 p p m				
	投 与 日 数									
	2	5	8	15	37	2	5	8	15	
肝臓	絶対				△120					
	相対				△106	△115		△109		△110
脾臓	絶対			▲141	▲214	△179			△139	▲183
	相対			▲145	▲217	△171			▲148	▲192

表中の数字は対照群を 100 をした時の比率 (%) を示す (△▽, P<0.05; ▲▼, P<0.01)。

2 日目では、いずれの臓器にも重量変化は見られなかったが、肝臓の相対重量は 5 日目の 10000ppm 群で増加した。8 日目では、脾臓の絶対および相対重量が 3000ppm 以上の群で増加した。15 日目では、脾臓の絶対および相対重量の増加、肝臓の相対重量の増加が 3000 ppm 以上の群で見られた。37 日目では、肝臓、脾臓の絶対および相対重量が 3000ppm 以上の群で増加した。

試 験 2 :

観察項目および結果 ;

(生存・死亡確認)

全ての動物について、1 日 1 回、生存あるいは死亡をチェックした。

全ての試験期間を通じて、死亡はなかった。

(体重)

体重は投与開始日、1 日目および解剖日に測定した。

8 日目に一時的な体重減少が見られた。

(摂餌量)

投与 2、5、8 日目あるいは最初の 2 週間は週 1 回測定した。

8 日目に一時的な摂餌量の減少が見られた。

(血液学的検査)

計画屠殺例について、エーテル麻酔下で腹大動脈から採血し、以下の項目を測定した。

赤血球数、白血球数、血色素量、ヘマトクリット値、血小板数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、白血球分類、赤芽球数、網赤血球数および出現率

対照群と比べて統計学的に有意差が認められた項目を以下の表に示す。

項目	雌			
	投与量：3000ppm			
	投 与 日 数			
	2	5	8	15
赤血球数		▽ 92	▽ 88	▼ 80
血色素量		▼ 84	▼ 80	▼ 69
ヘマトクリット値		▼ 84	▼ 82	▼ 75
MCV		▼ 91	▼ 93	▽ 93
MCH		▼ 92	▼ 92	▼ 87
MCHC				▼ 94
好中球数		△155	▲219	△224
網赤血球数	▼ 79	▼ 33		▲215
赤芽球数	▲30*	▲6900*	▲112*	▲189*

表中の数字は対照群を 100 をした時の比率 (%) を示す。

(△▽、 $p < 0.05$ ; ▲▼、 $p < 0.01$ )

\*：対照群の値が 0 であったため実数で示す。

単位：100 個の白血球あたりの赤芽球数 (/100WBC)

なお、末梢血中に赤芽球は通常ほとんど見られない。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、MCV、MCH は 5 日目から 15 日目まで減少した。これらの中で、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値は 15 日目まで経時的に低下が進行したが、MCV、MCH の低下の程度はほとんど一定であった。MCHC の減少は 15 日目に見られた。網赤血球数は 2、5 日目に減少したが、逆に 15 日目では増加した。8 日目では網赤血球数は減少傾向してであったが、対照群との差は有意ではなかった。赤芽球数は 2 日目から 15 日目まで増加し、変化は経時的に進行した。白血球系では、好中球数が 5 日目から 15 日目まで増加したが、この変化の毒性学的意義は明

らかでなかった。

(尿中コプロポルフィリン測定)

2、5、8、15日目に、4時間尿を採取し、コプロポルフィリン濃度を検査した。尿中コプロポルフィリンレベルは全投与期間を通じて上昇した。この変化の程度は2日目から8日目まで経時的に増加したが、15日目での増加の程度は8日目よりも少なかった。対照群と比べて統計学的に有意差が認められた項目を以下の表に示す。

項 目	雌			
	投与量：3000ppm			
	投 与 日 数			
	2	5	8	15
コプロポルフィリン		▲441	▲743	△301

表中の数字は対照群を100をした時の比率(%)を示す。  
(△▽、 $p < 0.05$ ; ▲▼、 $p < 0.01$ )

(赤血球中遊離プロトポルフィリン測定)

2、5、8、15日目に、血液を腹大動脈より採取し、赤血球中遊離プロトポルフィリン(FEP)濃度を測定した。赤血球中遊離プロトポルフィリンは全投与期間を通じて上昇し、この変化の程度は経時的に増加した。以下に結果を示す。

項 目	雌			
	投与量：3000ppm			
	投 与 日 数			
	2	5	8	15
FEP	▲194	▲329	▲661	▲1754

表中の数字は対照群を100をした時の比率(%)を示す。  
(△▽、 $p < 0.05$ ; ▲▼、 $p < 0.01$ )

(剖検)

計画屠殺時に、全動物について外観、内臓を肉眼的に観察した。  
異常所見は、いずれの計画屠殺動物にも見られなかった。

以上の結果より、試験1の血液学的検査において、MCV、MCH、MCHCが著しく減少したことから、赤血球におけるヘモグロビンの欠乏が持続して、小球性低色素性赤血球が産生されたことが示唆された。一方、血液生化学的検査では溶血を示唆する明らかな変化は認められなかった。小球性低色素性貧血は一般的にヘモグロビン合成阻害の結果生じるが、主に2種類に分類されることが知られている。一つは、鉄欠乏性貧血で、骨髄赤芽球のヘム合成に必要な鉄の総量が不足するために赤芽球産生が阻害される。もう一つは、鉄芽球性貧血で、鉄不足によるものではなく、鉄以外のヘムの構成要素であるポルフィリンの合成阻害による、ヘムの合成阻害である。後者の状態は、骨髄中の多数の鉄芽球や末梢血中の多くの担鉄赤血球の出現および体内へのポルフィリンの異常な蓄積に特徴づけられる。試験1において、末梢血中の担鉄赤血球は経時的に増加し、フルミオキサジン原体のラットにおける貧血は、鉄欠乏によるものではなく、鉄以外のヘムの構成要素であるポルフィリンの合成阻害により小球性低色素性貧血を誘発することが推察された。さらに、試験2では、尿中および赤血球中ポルフィリン濃度が経時的に増加した。体内へのポルフィリンの異常な蓄積は、ポルフィリンがヘモグロビンに変換されることのないことを示しており、担鉄赤血球の出現は、ヘモグロビン合成阻害のため、通常はヘモグロビン合成に用いられる鉄が赤血球に過剰に蓄積したことを示している。このように、フルミオキサジン原体のラットにおける貧血は、ヘモグロビン生合成過程におけるポルフィリン合成の阻害の結果生じた鉄芽球性貧血と分類され、血中ポルフィリン濃度の増加は、フルミオキサジン原体がラットにポルフィリアを誘発することを示していた。